



**HAL**  
open science

**Concentrations minimales inhibitrices des  
bêta-lactamines de streptococcus pneumoniae en milieu  
liquide et par la méthode e-test. Comparaison de  
méthodes**

Maxime Algoud

► **To cite this version:**

Maxime Algoud. Concentrations minimales inhibitrices des bêta-lactamines de streptococcus pneumoniae en milieu liquide et par la méthode e-test. Comparaison de méthodes. Sciences pharmaceutiques. 2018. dumas-01896544

**HAL Id: dumas-01896544**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01896544>**

Submitted on 16 Oct 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MÉMOIRE  
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES  
DE BIOLOGIE MÉDICALE

Soutenu le 12 octobre 2018

Par M. ALGOUD Maxime  
Né(e) le 12/08/1991

Conformément aux dispositions du décret n°2003-76  
du 23 janvier 2003, tenant lieu de

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

----oOo----

**CONCENTRATIONS MINIMALES INHIBITRICES DES BÊTA-LACTAMINES DE  
*STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* EN MILIEU LIQUIDE ET PAR LA METHODE E-TEST  
Comparaison de méthodes**

----oOo----

**JURY :**

Président: M. le Professeur Philippe COLSON

Membres: M. le Professeur Pierre-Edouard FOURNIER

Mme le Docteur Natalie BRIEU (directrice de thèse)

Mme le Docteur Audrey HOMOR

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05  
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

**ADMINISTRATION :**

*Doyen :* Mme Françoise DIGNAT-GEORGE  
*Vice-Doyens :* M. Jean-Paul BORG, M. Philippe CHARPIOT, M. Pascal RATHELOT  
*Chargés de Mission :* M. David BERGE-LEFRANC, M. François DEVRED, Mme Caroline DUCROS, Mme Pascale BARBIER  
*Conseiller du Doyen :* M. Patrice VANELLE  
*Doyens honoraires :* M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE  
*Professeurs émérites :* M. José SAMPOL, M. Jean-Pierre REYNIER  
*Professeurs honoraires :* M. Guy BALANSARD, M. Jacques BARBE, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI,  
*Chef des Services Administratifs :* Mme Florence GAUREL  
*Chef de Cabinet :* Mme Sandrine NOURIAN  
*Responsable de la Scolarité :* Mme Myriam TORRE

**DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

**PROFESSEURS**

BIOPHYSIQUE

M. Vincent PEYROT  
M. Hervé KOVACIC

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE

M. Philippe PICCERELLE

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI  
Mme Odile RIMET-GASPARINI  
Mme Pascale BARBIER  
M. François DEVRED  
Mme Manon CARRE  
M. Gilles BREUZARD  
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA  
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE  
M. Emmanuel CAUTURE  
Mme Véronique ANDRIEU  
Mme Marie-Pierre SAVELLI

NUTRITION ET DIETETIQUE

M. Léopold TCHIAKPE

## A.H.U.

CULTURE ET THERAPIE CELLULAIRE

M. Jérémy MAGALON

## ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Caroline MONTET

## DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe CHARPIOT

## PROFESSEURS

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Philippe CHARPIOT

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE  
Mme Laurence CAMOIN  
Mme Florence SABATIER-MALATERRE

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN  
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET  
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	Mme Dominique JOURDHEUIL-RAHMANI M. Thierry AUGIER M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Nathalie BARDIN Mme Dominique ARNOUX Mme Aurélie LEROYER M. Romaric LACROIX
MICROBIOLOGIE	Mme Michèle LAGET M. Michel DE MEO Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

## A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Sylvie COINTE
----------------------------	-------------------

## DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

## PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	M. Henri PORTUGAL Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Philippe GALLICE
CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE THERAPEUTIQUE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE	Mme Evelyne OLLIVIER

**PROFESSEURS ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (P.A.S.T.)**GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE  
ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE

M. Jean-Pierre CALISSI

**MAITRES DE CONFERENCES**

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne FAVEL  
Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Elisabeth SCHREIBER-DETURMENY  
Mme Catherine DEFOORT  
M. Alain NICOLAY  
Mme Estelle WOLFF  
Mme Elise LOMBARDCHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET  
NUISANCES TECHNOLOGIQUESM. David BERGE-LEFRANC  
M. Pierre REBOUILLON

CHIMIE THERAPEUTIQUE

Mme Catherine DIANA  
Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT  
Mme Caroline DUCROS  
M. Marc MONTANACHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE  
HYDROLOGIEM. Armand GELLIS  
M. Christophe CURTI  
Mme Julie BROGGI  
M. Nicolas PRIMAS  
M. Cédric SPITZ  
M. Sébastien REDON

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE

M. Riad ELIAS  
Mme Valérie MAHIOU-LEDDER  
Mme Sok Siya BUN  
Mme Béatrice BAGHDIKIAN**MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Anne-Marie PENET-LOREC

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET  
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Thierry ATHUYT

DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE

M. Marc LAMBERT

DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE  
ET GESTION DE LA PHARMAFAC

M. Philippe BESSON

**AHU**

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

Mme Manon ROCHE

**ATER**

CHIMIE ANALYTIQUE

Mme Camille DESGROUAS

**DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE**

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

**PROFESSEURS**

PHARMACIE CLINIQUE	Mme Diane BRAGUER
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Athanassios ILIADIS
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Bruno LACARELLE
TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT	Mme Frédérique GRIMALDI

**MAITRES DE CONFERENCES**

PHARMACODYNAMIE	Mme Suzanne MOUTERDE-MONJANEL
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Hot BUN M. Joseph CICCOLINI Mme Raphaëlle FANCIULLINO
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD M. Stéphane HONORÉ Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

**A.H.U.**

PHARMACODYNAMIE	M. Philippe GARRIGUE
-----------------	----------------------

**ATER**

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahel BOUHLEL
-----------------	--

## **CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE**

Mme Nathalie AUSIAS, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Gérard CARLES, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Nicole FRANCOIS, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Christine PENOT-RAGON, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire  
M. Alain RAGON, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

Mise à jour le 1<sup>er</sup> décembre 2015

# REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Philippe COLSON, je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury mais également de m'avoir accueilli dans votre laboratoire de virologie durant 6 mois qui ont été très formateurs et très intéressants.

A Monsieur le Professeur Pierre-Edouard FOURNIER, je vous remercie d'avoir accepté de siéger dans mon jury.

A ma directrice de thèse, Madame le Docteur Natalie BRIEU, merci de m'avoir fait découvrir cette superbe discipline qu'est la microbiologie, j'ai énormément appris grâce à toi au quotidien. Merci également pour ton humour et ta bonne humeur communicative qui permettent une super ambiance au labo. C'était un plaisir de me lever tous les matins et de venir en stage car l'ambiance y était toujours excellente et ce malgré la dette infinie de gâteaux que je te dois !

A Madame le Docteur Audrey HOMOR, je te remercie d'avoir accepté de faire partie de mon jury. Merci pour tout ce que tu as pu m'apprendre durant cette année au laboratoire. Merci pour ta gentillesse, ta bonne humeur, ton envie de transmettre et la passion que tu as réussi à me donner pour ces petites bactéries. Travailler avec toi a été un réel plaisir !

Merci à Madame le Docteur Jenny Gallou, pour ton dynamisme, ta pédagogie et ta gentillesse. J'ai beaucoup appris grâce à toi et je t'en remercie !

Merci à la team CMI, Steph et Chris, de m'avoir aidé à réaliser toutes ces manip. Vous avez été d'une aide précieuse à la fois par votre sérieux mais aussi par votre joie de vivre qui ont rendu ces moments hyper agréables.

Merci à toute l'équipe du labo d'Aix en Provence. Vous m'avez vraiment accueilli avec beaucoup de gentillesse et j'ai énormément apprécié travailler avec vous (c'est pas pour rien que je suis resté un an et demi). J'ai été impressionné de voir à quel point vous êtes proches et solidaires entre vous. Cette cohésion et cet esprit d'équipe m'ont vraiment plu !

Merci à mes parents, à mon frère et à ma sœur d'avoir été là pour moi et de m'avoir toujours poussé à me dépasser. Si j'en suis arrivé là aujourd'hui, c'est grâce à votre soutien et votre amour et je vous en remercie sincèrement. Je mesure jour après jour la chance que j'ai d'avoir une famille comme la notre. Je vous embrasse très fort.

Merci à toute ma famille, mes grands-mères, mes oncles, mes tantes, mon cousin et mes cousines que j'embrasse très fort. Une petite pensée pour mes grands pères qui auraient aimé être là et que j'embrasse très fort également.

Merci à Martine de m'avoir fait découvrir ce super métier, tu as réussi à me transmettre ta passion pour la biologie et je t'en suis très reconnaissant !

Merci à ma Steph qui m'a supporté au quotidien durant cette année de thèse, et je dois reconnaître que ça n'a pas du être tous les jours facile ;-)

Plus sincèrement, je te remercie d'être toujours là pour moi quoiqu'il se passe. C'est un pur bonheur de partager ma vie avec toi. Je me dis que j'ai vraiment de la chance et que je ne pourrais pas rêver mieux.

Merci à mon Olive pour ton soutien indéfectible durant toutes années, qui ont démarré bien avant la fac et qui ne sont pas prêtes de s'arrêter. Je mesure la chance que j'ai d'avoir un ami comme toi ! Ces 5 années de colloc ont été exceptionnelles à tes côtés avec des souvenirs à n'en plus finir. Ca a été un pur régal et j'ai qu'on s'en forge de nouveaux ;-)

Merci aux animaux : Prodo, Bovalon, la decousance ou Mr S, Colombo au jus de fruits et au lait et Boulon. Je ne compte plus le nombre de fous rires que l'on a pris ensemble et c'est ça qui est fabulbosiesque ! Et en même temps vous avez toujours été là pour moi depuis maintenant 12 ans (la vache !) et je vous en remercie avec allégritude et volupté tout simplement !

Merci à la pharma team : Clém, Popo, Cloclo, JP, Juju, Stéphane ! Je n'ai que des bons souvenirs avec vous durant toutes ces années de pharma et je suis vraiment content que l'on ait réussi à continuer à se voir malgré nos départs aux quatre coins de la France les amis ! C'est toujours un plaisir de se retrouver et j'espère que ce n'est que le début !

A tous les amis de Marseille avec qui j'ai passé de supers moments durant ces quatre années :

- A mon Lolo que je remercie pour tous ces FIFA, ces soirées sushis, ces discussions interminables entre deux têtus. Je suis hyper content de te compter parmi mes amis !
- A la team viro, Jojo Lolo et Tracy avec qui j'a passé 2, 3 voire 5 supers stages en votre compagnie ! J'ai vraiment eu beaucoup de chance de tomber sur des co-internes comme vous et j'espère qu'on arrivera à plus se voir qu'actuellement (on se l'était promis quand même !)
- A ma Lili avec qui j'ai passé une super année au labo d'Aix. Avoir été ton co-interne modèle fut un réel plaisir, malgré ta maladresse légendaire ;-). Je te remercie pour toute l'aide et le soutien que tu m'as apportés cette année, cela m'a été très précieux. J'espère qu'on continuera à se voir régulièrement mais je crois que c'est plutôt bien parti ;-)
- Et à toutes les supers rencontres que j'ai pu faire durant cet internat : Julien, Thibault, Estelle, Florence, Pauline, Chloé, Baptiste, Clémence, Léa... à bientôt j'espère !

# ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMX : Amoxicilline

$\beta$ -NAD :  $\beta$ -Nicotinamide Adénine Dinucléotide

CASFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CTX : Céfotaxime

CRO : Ceftriaxone

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CNRP : Centre National de Référence du Pneumocoque

EI : Endocardite Infectieuse

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FQ : Fluoroquinolones

I : sensibilité Intermédiaire

IC : Intervalle de confiance

IIP : Infection invasive à pneumocoque

OMA : Otite Moyenne Aiguë

OR : Odds Ratio

PAC : Pneumonie Aiguë Communautaire

PCV7 : Prevenar7®

PCV13 : Prevenar13®

PG : Pénicilline G

PLP : Protéine Liant les Pénicillines

PPP : Péritonite Primitive à Pneumocoque

PSDP : Pneumocoque de Sensibilité Diminuée à la Pénicilline

QRDR : Quinolone Resistance Determining Region

R : Résistant

S : Sensible

VIH : Virus de l'Immunodéficienc e humaine

# TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	4
<b>PARTIE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE.....</b>	<b>6</b>
I- Historique.....	6
II- Taxonomie.....	8
III- Bactériologie.....	12
A-Portage nasopharyngé.....	12
B- Identification et diagnostic.....	14
C- Sérogroupage et sérotypage.....	19
IV- Pathogénicité.....	23
A- Facteurs de risque.....	23
B- Facteurs de virulence.....	24
C- Infections à <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	27
1- Infections invasives à pneumocoque.....	27
2- Infections non invasives à pneumocoque.....	37
V- Sensibilité aux antibiotiques.....	42
A-Méthodes d'étude de la sensibilité aux antibiotiques.....	42
B-Résistances naturelles.....	43
C-Résistances acquises.....	44

<b>PARTIE II : MANIPULATIONS</b> .....	59
<b>I- Matériels et méthodes</b> .....	59
A- Souches étudiées.....	59
B- Tests statistiques utilisés.....	59
C- Identification et antibiogrammes.....	60
D- Sérogroupage.....	61
E- Détermination des CMI.....	62
<b>II- Résultats</b> .....	66
A- Souches étudiées.....	66
B- Identification.....	69
C- Sérogroupage.....	69
D- Résistances aux antibiotiques.....	73
E- Résultats des CMI.....	95
F- Comparaison de méthodes.....	112
<b>III- Discussion</b> .....	124
 <b>PARTIE III : BIBLIOGRAPHIE</b> .....	 130
 <b>PARTIE IV : ANNEXES</b> .....	 150

# INTRODUCTION

*Streptococcus pneumoniae* est un diplocoque à Gram positif d'aspect lancéolé ou « en flamme de bougie » (1). C'est une bactérie commensale des voies aériennes supérieures de l'Homme, la prévalence de son portage nasopharyngé pouvant atteindre 60% chez l'enfant (2) et 10% chez l'adulte (3).

C'est également un pathogène majeur puisqu'il est responsable de 15 millions d'infections invasives et de 1,5 millions de morts à travers le monde chaque année (4). En France, il est la première étiologie de méningites bactériennes dans la population générale (5) et de bactériémies dans la population infantile (6). Il occupe le 1er rang des espèces bactériennes responsables de pneumopathies aiguës communautaires (PAC) (7), d'otites moyennes aiguës non récidivantes (8) et de sinusites aiguës (9). Il constitue ainsi un vrai problème de Santé Publique.

Le Centre National de Référence du Pneumocoque (CNRP) a pour mission de suivre l'évolution des sérotypes du pneumocoque et leur résistance aux antibiotiques. Cela permet entre autres d'évaluer l'impact des vaccins polysides conjugués, utilisés en France depuis 2003 sur les sérotypes circulants et de suivre l'émergence des sérotypes non vaccinaux, afin de faire évoluer la formulation des vaccins.

Depuis 2001, le CNRP est en partenariat avec les 24 Observatoires Régionaux du Pneumocoque (ORP) présents sur le territoire français, afin d'assurer cette mission épidémiologique. Les centres coordinateurs de chaque ORP sont chargés de récolter les souches de pneumocoque d'infections sévères issues des laboratoires partenaires. Le CNRP publie chaque année, grâce à l'ensemble de ces informations, un rapport d'activité permettant un état des lieux précis de l'épidémiologie du pneumocoque en France.

Le laboratoire de l'Hôpital d'Aix en Provence est le coordinateur de l'ORP Provence, il est donc chargé de récolter chaque année les souches de pneumocoque et les données de leurs antibiogrammes. Par ailleurs, il réalise sur chaque souche de pneumocoque la mesure des concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour 4 bêta-lactamines : pénicilline G, amoxicilline, céfotaxime et ceftriaxone. Les années paires, il réalise également le sérogroupage de chaque souche.

Depuis 2017, selon le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM), la technique de référence pour la détermination des CMI des bêta-lactamines est la microdilution en milieu liquide.

Le travail effectué dans ce mémoire avait plusieurs objectifs. Tout d'abord, réaliser le sérogroupage de chaque souche de pneumocoque collectée dans le cadre de l'ORP puis déterminer la valeur des CMI des bêta-lactamines de ces souches (pénicilline G, amoxicilline, céfotaxime, ceftriaxone). Par ailleurs, nous avons comparé les méthodes de mesure des CMI des bêta-lactamines pour le pneumocoque. La première, E-test® de la société BioMérieux utilise le principe de diffusion en milieu gélosé d'un gradient d'antibiotique et la seconde, Sensititre® de la société Thermo Fisher® utilise le principe de la microdilution en milieu liquide. Dans cette deuxième technique, les plaques utilisées contiennent des antibiotiques lyophilisés, en concentration croissante et la lecture de la CMI est automatisée. Au terme de la comparaison, en cas de discordance sur les souches de Pneumocoque de Sensibilité Diminuée à la Pénicilline (PSDP), c'est à dire un écart de CMI strictement supérieur à une dilution, un contrôle par la technique de référence selon la norme ISO20776-1:2006 (10), la microdilution en milieu liquide, a été réalisé.

# PARTIE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE

## I- HISTORIQUE

En 1881, L. Pasteur en France et G.M. Sternberg aux Etats-Unis mettent simultanément en évidence des diplocoques lancéolés présents dans la salive humaine. Pour ce faire, les deux chercheurs injectent celle-ci à des lapins. Pasteur utilise celle d'un enfant mort de la rage tandis que Sternberg injecte à l'animal sa propre salive. Ils mettent ensuite en évidence des diplocoques dans le sang des animaux. Pasteur nomme alors ce micro-organisme « *le microbe septique de la salive* » (11–13).

Celui-ci va alors changer d'appellation à de multiples reprises au cours du XX<sup>ème</sup> siècle au fur et à mesure de l'évolution des connaissances bactériologiques et taxinomiques.

En 1884, Klein lui donne l'appellation de *Micrococcus pneumoniae* (14).

En 1885, Sternberg le renomme *Micrococcus pasteurii* (13,15).

En 1886, Fraenkel lui donne le nom de *Pneumococcus* pour sa capacité à donner des pneumopathies (13,16).

En 1901, Chester effectue la première description de ce pathogène, connu alors sous l'appellation de *Micrococcus pneumoniae*, en référence à sa morphologie et à son pouvoir pathogène (1,17).

En 1920, il est renommé *Diplococcus pneumoniae* par la Société Américaine de Bactériologie (18), cet épithète ayant déjà été suggérée par Weichselbaum dans une série de cas cliniques (13).

Enfin, sa dénomination actuelle, *Streptococcus pneumoniae*, lui fut donnée en 1974 (13,19).

Concernant la pathogénicité de ce micro-organisme, elle est mentionnée dès les années 1880 dans une série d'articles l'impliquant dans la pneumonie lobaire (13,20–23). Un peu plus tard dans la décennie, il est reconnu comme étiologie de méningite (24) et d'otite moyenne aiguë (25).

L'histoire du pneumocoque a été concomitante d'avancées scientifiques majeures.

Dans les années 1880, Gram travaille à une technique de visualisation des bactéries dans les échantillons pathologiques. Cette technique, qui portera par la suite son nom, a été expérimentée notamment sur le pneumocoque. En effet, Gram travaille initialement sur des échantillons de patients morts de pneumonie dans lesquels il mettra en évidence des diplocoques lancéolés qui retiennent le violet de gentiane (13).

En 1902, l'allemand F. Neufeld démontre les agglutinations macroscopiques et microscopiques ainsi que le gonflement capsulaire spécifiques de la capsule des souches de pneumocoque en présence d'antisérums spécifiques. Cette découverte affirmera l'existence de plusieurs sérotypes de pneumocoque et permettra la réalisation du sérotypage de ces souches par la suite (13,26).

En 1928, le britannique F. Griffith définit deux types de colonies de pneumocoque selon leur aspect macroscopique. Tout d'abord, les colonies dites « S » qui possèdent une capsule polysaccharidique, ont un aspect lisse, agglutinent en présence d'anticorps homologues, sont responsables d'infections fatales et stimulent la production d'anticorps protecteurs lorsqu'elles sont injectées chez l'animal. Ensuite, les colonies dites « R » qui ne possèdent pas de capsule polysaccharidique, ont un aspect rugueux, ne sont pas virulentes et stimulent la production d'anticorps réactifs uniquement vis à vis d'autres souches « R ». Par ailleurs, il décrit chez *Streptococcus pneumoniae* le concept de transformation naturelle. Ainsi, il démontre que des souches non capsulées de pneumocoque, donc non virulentes, peuvent entraîner la mort de souris lorsqu'elles sont injectées dans leur sang en présence de souches virulentes inactivées « S ». Cela passerait par l'acquisition de la capsule polysaccharidique des souches S inactivées (13,27).

En 1944, Avery reprend les travaux de Griffith et démontre, dans un article qui fera date, que le phénomène de transformation naturelle chez le pneumocoque est permis par l'acquisition de matériel génétique des souches « S » par les souches « R ». Il démontre que l'information génétique est contenue dans une molécule : l'acide désoxyribonucléique (ADN) (13,28).

Concernant la résistance acquise aux antibiotiques, les premières souches de pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) sont constatées en laboratoire dès 1953 (13,29).

Il faut attendre 1967, en Australie, pour que les premières souches de PSDP soient constatées chez l'homme (13,30).

En 1977, en Afrique du Sud, sont isolées les premières souches de pneumocoque multi-résistantes. Celles-ci sont alors résistantes aux bêta-lactamines, à l'érythromycine, à la clindamycine, à la tétracycline et au chloramphénicol (13,31).

Face à l'acquisition croissante de résistance du pneumocoque et pour tenter de diminuer la mortalité et la morbidité de ses infections, des programmes de vaccination anti-pneumococciques ont été mis en place. Il existe deux types de vaccins anti-pneumococciques. Tout d'abord, le vaccin non conjugué polysaccharidique Pneumo23®, mis sur le marché en 1983, qui réferme les sérotypes suivants : 1,2,3,4,5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F et 33F (13). Ensuite, des vaccins polysaccharidiques conjugués ont été développés afin de rendre possible une vaccination efficace chez l'enfant de moins de 2 ans. Le Prevenar7® (PCV7), introduit en France en 2001, contenait les sérotypes 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F. Il a été remplacé en 2010 par le Prevenar13® (PCV13) qui est constitué des sérotypes du PCV7 auxquels sont ajoutés les sérotypes 1, 3, 5, 6A, 7F et 19A. Dans ces deux vaccins, les sérotypes sont conjugués à une protéine diphtérique, la CRM 197 non toxique, afin de potentialiser leur pouvoir immunogène (1,32).

## II- TAXONOMIE

*Streptococcus pneumoniae* est un organisme procaryote qui appartient au domaine des eubactéries et au règne des bactéries. Il fait partie de l'embranchement des *Firmicutes*, à la classe des *Bacilli* et à l'ordre des *Lactobacillales*. Il appartient à la famille des *Streptococcaceae* qui renferme divers genres dont celui des *Streptococcus* auquel il est rattaché (1) (Figure 1).



Figure 1 : Position de *Streptococcus pneumoniae* au sein des procaryotes(33)

Les Streptocoques sont divisés en plusieurs ensembles dont celui des Streptocoques oraux. Au sein de celui-ci, on retrouve 5 sous-ensembles : Or1, Or3, Or4, Or5, Or6. Le sous-ensemble Or 3 est constitué uniquement de l'espèce *Streptococcus pneumoniae* (17) (Figure 2)

Ensemble	Sous ensembles	Espèce
Streptocoques oraux	Or1	<i>S.gordonii</i> <i>S.mitis</i> <i>S.oralis</i> <i>S.sanguinis</i> <i>S.parasanguinis</i> <i>S.australis</i> <i>S.infantis</i> <i>S.peroris</i> <i>S.oligofermentans</i> <i>S.sinensis</i>
	Or3	<i>S.pneumoniae</i>
	Or4	<i>S.anginosus</i> <i>S.constellatus</i> <i>S.intermedius</i>
	Or5	<i>S.mutans</i> <i>S.sobrinus</i> <i>S.criceti</i> <i>S.downei</i> <i>S.ferus</i> <i>S.macacae</i> <i>S.ratti</i> <i>S.orisratti</i>
	Or6	<i>S.salivarius</i> <i>S.thermophilus</i> <i>S.vestibularis</i>

Figure 2 : Classification des Streptocoques oraux en sous-ensembles (17)

L'analyse des séquences nucléotidiques du gène de l'ARN ribosomique 16S a démontré sa grande proximité avec d'autres espèces du groupe mitis, auquel il appartient, notamment les espèces *S.mitis* et *S.oralis*, et plus récemment *S.pseudopneumoniae*, avec lesquels il aurait en commun 99% d'homologie sur ces séquences (34,35) (Figures 3 et 4).

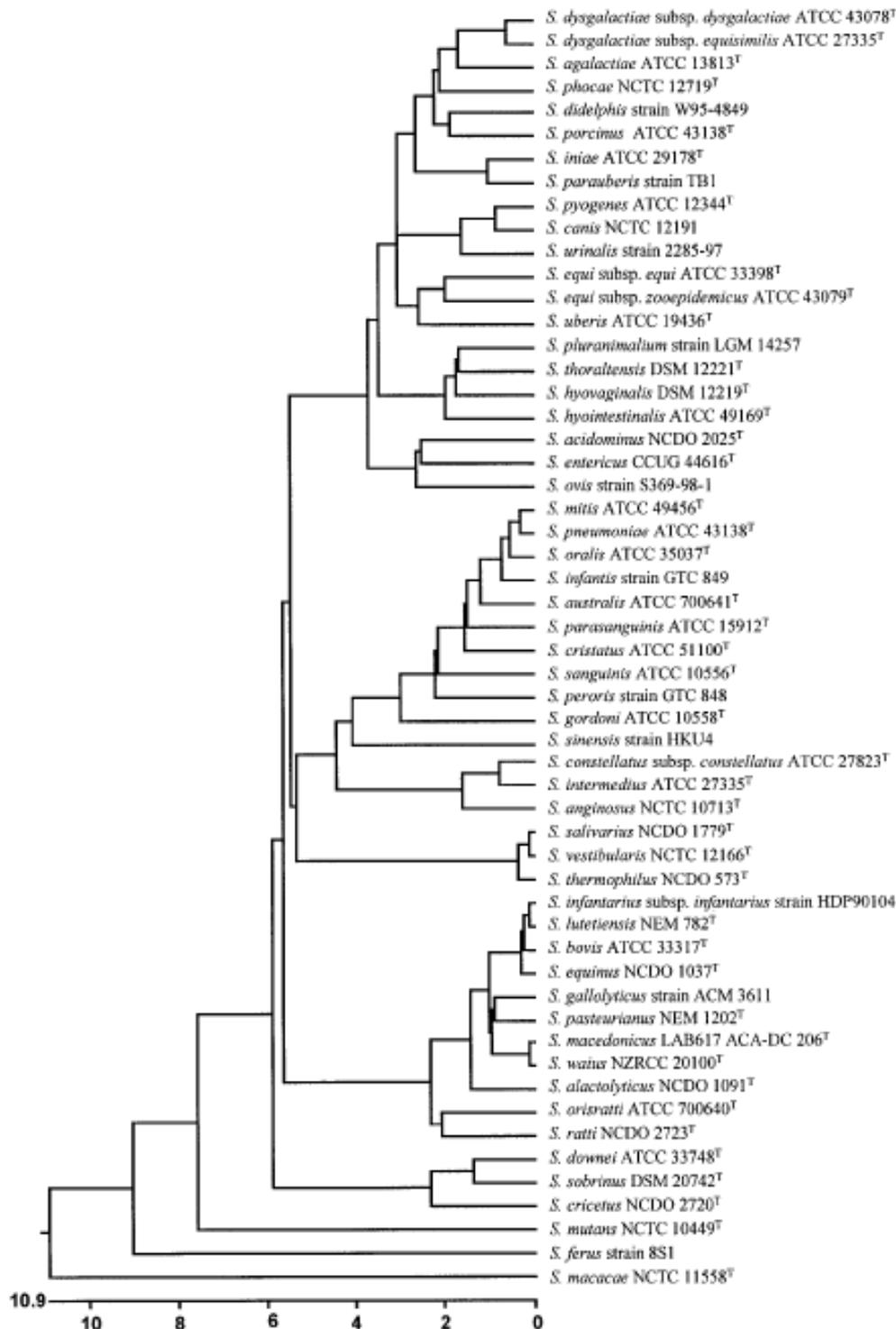


Figure 3 : Position phylogénétique de *Streptococcus pneumoniae* au sein du genre *Streptococcus* selon l'analyse des séquences du gène de l'ARN ribosomale 16S

(36)

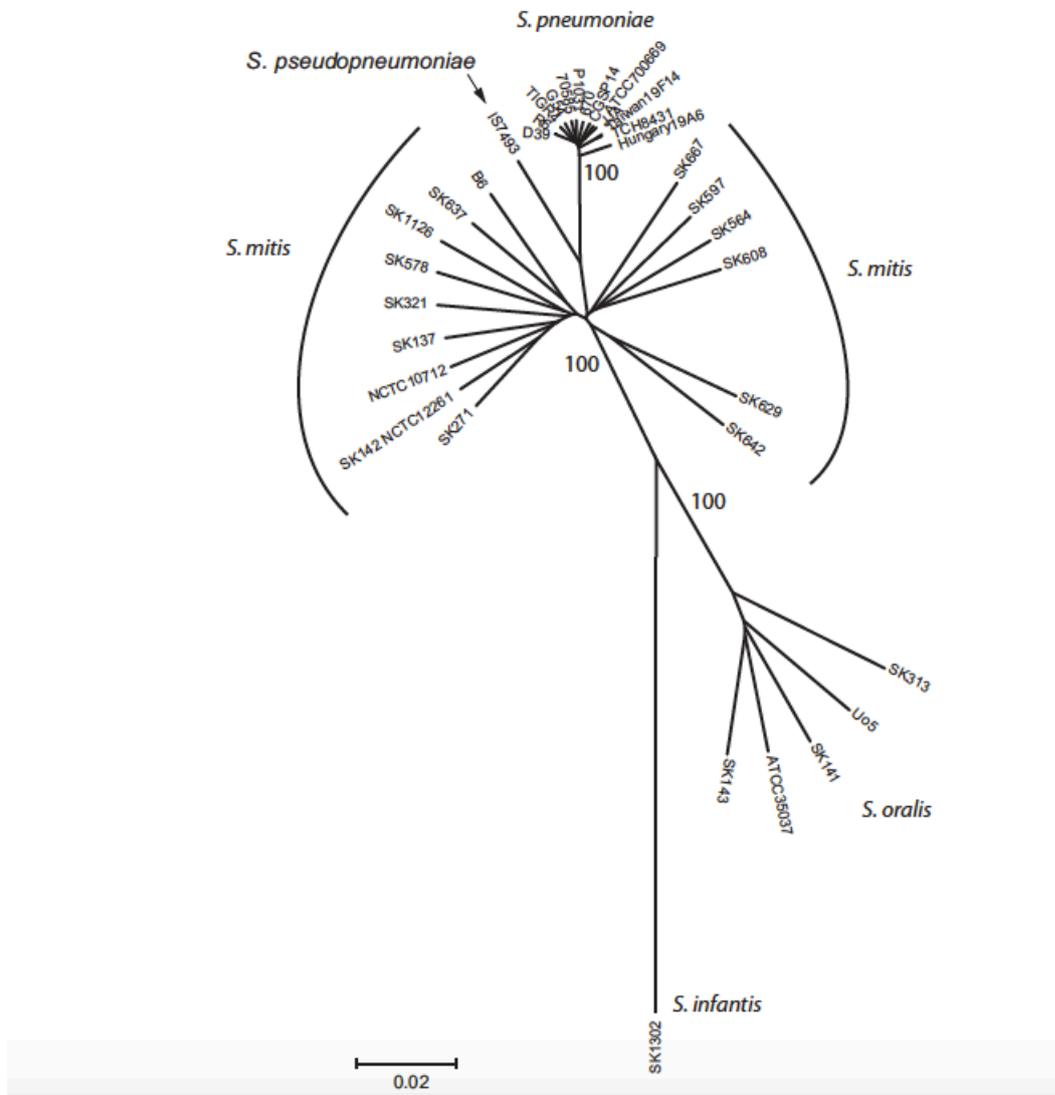


Figure 4 : Arbre phylogénétique de 5 espèces de Streptocoques du groupe mitis (37)

Ceci permettrait au pneumocoque d'intégrer continuellement des gènes issus de ces espèces afin d'assurer une diversification antigénique de sa capsule polysaccharidique et donc de son pouvoir pathogène (36,37).

### III- BACTERIOLOGIE

#### A- Portage nasopharyngé

Le pneumocoque est une bactérie commensale des voies aériennes supérieures de l'Homme (17) bien qu'elle soit retrouvée également chez l'animal dans certaines situations (38).

Il colonise le rhinopharynx dans les premiers mois de la vie selon un processus dynamique. En effet, chaque colonisation ne durerait en moyenne que 2,2 mois, avant qu'une autre souche ne vienne coloniser le rhinopharynx. Il y aurait un temps de latence moyen de 3,5 mois entre chaque épisode. Ainsi, chaque enfant serait en contact en moyenne avec 1 à 3 sérotypes de pneumocoque différents au cours de ses 3 premières années (39,40). A 2 ans, tous les enfants ont été en contact avec une souche de pneumocoque (17). De plus, un portage simultané de plusieurs sérotypes est possible. Dans une étude de 2011, Leung *et al.* retrouvent ce cas de figure dans 11,5% des portages. Selon les études, ce taux oscillerait entre 1 et 33% (41).

Ce phénomène est également multifactoriel. Certains facteurs de risque ont été clairement identifiés: l'âge inférieur à 2 ans (39,42), la vie en collectivité comme la crèche (2,39,43), l'existence d'une fratrie (2,39), des conditions socio-économiques difficiles favorisant la promiscuité (39,43) et l'existence d'une infection concomitante telles qu'une otite moyenne aiguë (7,39) ou une infection respiratoire haute (39,42,43). L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) a également été identifiée comme facteur de risque. En effet, ce virus provoque une chute des lymphocytes TCD4 qui participent à l'activation des lymphocytes B et donc à la sécrétion d'IgA1 sécrétoires. Ces anticorps sont normalement présents au niveau des muqueuses. Un taux moins important de ces IgA1 au niveau nasopharyngé favoriserait donc sa colonisation par une souche de pneumocoque (44,45). D'autres facteurs de risque ont été plus rarement mentionnés tels que le tabagisme passif (42), une crise d'asthme dans l'année (42) ou encore un portage rhinopharyngé de *Moraxella catarrhalis* (2).

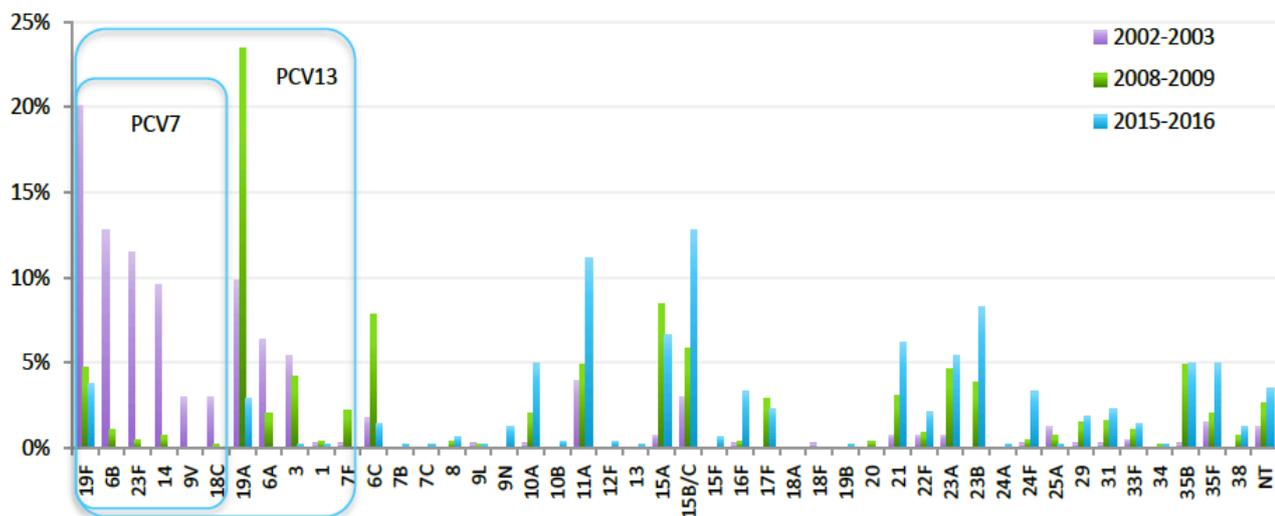
La prévalence du portage chez l'enfant est ainsi très variable car dépendante de ces différents facteurs. Elle augmente au cours des deux premières années de vie. Elle est estimée entre 10-25% à 3 mois et se situe entre 30 et 60% à 2 ans, selon les facteurs de risque de chaque enfant (2,3,39,42,43,46,47). Elle est évaluée autour de 10% chez les adolescents (39,42,43) et entre 2 et 10% chez l'adulte (3,39,43).

L'utilisation des vaccins polysides conjugués n'a pas modifié la prévalence du portage nasopharyngé du pneumocoque dans la population générale (46-48). Néanmoins, le rapport d'activité du CNRP de 2008 montre une diminution du portage chez les enfants atteints d'OMA à la

suite de l'introduction du Prevenar7® (62% versus 71% en 2002-2003) (49). Ce taux se stabilise jusqu'en 2016 (7). En revanche, elle a totalement modifié la composition sérotypique de ce portage, créant deux remplacements sérotypiques après les introductions respectives des PCV7 et PCV13. Tout d'abord, avant l'introduction du PVC7, le portage était très nettement dominé par les sérotypes contenus dans le futur vaccin heptavalent, notamment le sérotype 19F mais aussi les sérotypes 6B, 14 et 23F (7,43,48).

Ensuite, après l'introduction du Prevenar7®, il a été constaté une nette diminution voir une disparition de ces sérotypes vaccinaux et une émergence de sérotypes de remplacement tels que les sérotypes 6A, 15A, 19A mais également 3, 6C, 11A, 7F ou encore 15B.

Enfin, un dernier remplacement sérotypique eut lieu lors de l'introduction du PCV13. Il a alors été constaté une diminution des nouveaux sérotypes vaccinaux (19A, 6A, 3, 7F) et une augmentation des sérotypes non vaccinaux tels que les sérotypes 11A, 15B/C, 23B mais aussi 21, 23A, 10A, 35B ou encore 35F (2,7,47). Ainsi, selon le dernier rapport d'activité du CNRP, seul le sérotype 19F est retrouvé à 3,7%, concernant les sérotypes contenus dans le Prevenar7®. Les 6 sérotypes additionnels contenus dans le Prevenar13® ne représentent plus que 3,3% des pneumocoques de colonisation (Figure 5).



**Figure 5 : Distribution des sérotypes de souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées du rhinopharynx au cours d'OMA chez les enfants âgés de 6 à 24 mois en France (7)**

## B- Identification et diagnostic

### 1- Examen direct

*Streptococcus pneumoniae* est un cocci à Gram positif de diamètre inférieur à 2µm, immobile, asporulé et souvent capsulé. Il se présente très souvent sous la forme de diplocoques et parfois en courtes chaînettes. L'aspect typique de ce pathogène est une paire de cocci lancéolés ou « en flamme de bougie » (1,14,17).

### 2- Culture

Comme tous les streptocoques, le pneumocoque est un organisme anaérobie-aérotolérant, homofermentaire, catalase et oxydase négatifs. C'est une bactérie exigeante et sensible à l'acidification du milieu, elle nécessite donc l'utilisation de milieux de culture glucosés et tamponnés enrichis de sang défibriné de cheval ou de mouton. Ses conditions optimales de croissance sont une température de 37°C et une atmosphère enrichie de 5 à 10% de CO<sub>2</sub>. En 24 heures, elle donne des colonies petites, grisâtres, alpha hémolytiques sur gélose au sang de 1 mm de diamètre, à surface bombée et à bords irréguliers. Selon la présence ou non de la capsule polysaccharidique, elle aura respectivement un aspect lisse ou rugueux. Elle peut également avoir un aspect muqueux. Enfin, elle possède une autolysine qui va creuser la colonie en son centre et lui donner un aspect ombiliqué au delà de 24h de pousse (1,14,17).

### 3- Biochimie

Le pneumocoque est une bactérie qui fermente le glucose, le lactose, le sucrose, le maltose, le galactose ou encore l'esculine. Il ne fermente en revanche pas l'arabinose, le xylose, le dulcitol, l'inositol ou encore le sorbitol (50).

### 4- Sensibilité à l'optochine

L'optochine est un antibiotique qui est couramment utilisé dans le diagnostic d'infections à pneumocoque. En effet, à l'inverse des autres streptocoques alpha-hémolytiques, *Streptococcus pneumoniae* est sensible à l'optochine. Cependant, 5% des souches de pneumocoque sont résistantes à cet antibiotique et de très rares souches de streptocoques oraux ont été décrites comme sensible à l'optochine (17,51).

## 5- Test de solubilité dans la bile

Ce test consiste à ajouter à une suspension dense de pneumocoque du désoxycholate de sodium à 10% et de constater, après incubation 30 minutes à 37°C, un éclaircissement de la suspension comparée à une solution témoin où le désoxycholate de sodium a été remplacé par de l'eau. Cela est dû à la lyse du pneumocoque au contact de la bile par activation du système autolytique. C'est un test qui permet une grande discrimination vis à vis des streptocoques oraux bien que de très rares souches de pneumocoque non capsulées ont été décrites comme résistantes à la lyse dans la bile (17,51).

## 6- Détection d'antigènes solubles

Il est possible de rechercher la présence d'antigène soluble du pneumocoque dans les urines, le liquide céphalo-rachidien (LCR) voire le liquide pleural. Il s'agit en l'occurrence du polyside C de la paroi cellulaire commun à toutes les souches de *Streptococcus pneumoniae* (1). Plusieurs tests de diagnostic rapide sont commercialisés. Le premier est le BinaxNOW® *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test. La détection de l'antigène soluble se fait par immunochromatographie sur membrane. La révélation est colorimétrique après 15 minutes d'incubation. Il a une bonne sensibilité, évaluée entre 50 et 80% au niveau urinaire et proche de 100% au niveau méningé. Sa spécificité est excellente, supérieure à 90% dans les deux liquides biologiques. Il a été démontré que la sensibilité de ce test peut être accrue si l'on concentre l'urine et que l'on prolonge l'incubation jusqu'à 1h. On atteint alors une sensibilité de 81%. La spécificité reste elle inchangée si on considère comme faux positifs les bandes d'intensité inférieure à celle de la bande témoin du test (52). Le second test, utilisé depuis plus récemment, est le SOFIA® *Streptococcus pneumoniae*. Il peut être utilisé au niveau urinaire, sur du LCR ou encore sur du liquide pleural. La détection du polyside C se fait par immunofluorescence. La lecture est automatisée après 10 minutes d'incubation. Selon les études, sa sensibilité oscille entre 77 et 84% alors que sa spécificité varie entre 86 et 88% (7,53,54).

Il est important d'interpréter le résultat de ces tests en regard de l'histoire clinique du patient. En effet, la détection d'antigène soluble peut rester positive jusqu'à 6 mois après un épisode de PAC à pneumocoque (55).

Par ailleurs, il a été remarqué de faibles bandes positives dans le LCR de patient présentant une PAC à pneumocoque avec bactériémie, mais sans méningite (56).

## 7- Spectrométrie de masse de type MALDI TOF

La spectrométrie de masse de type MALDI TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time Of Flight) est une technique d'identification de micro-organismes par la détermination de leurs profils protéiques ribosomal et membranaire. Pour ce faire, l'échantillon à analyser est mélangé à une matrice afin d'obtenir une cristallisation du prélèvement. L'ensemble va ensuite être irradié par un laser dont les photons ont une longueur d'onde appartenant au spectre d'absorption de la matrice. Il en découle une désorption et une ionisation à l'état gazeux des molécules du prélèvement. Celles-ci sont ensuite envoyées dans un tube sous vide où elles seront séparées en fonction de leur vitesse de vol dépendante de la masse ( $m$ ) et de la charge ( $z$ ) de la molécule. Ainsi, elles seront discriminées par leur rapport  $m/z$ . Un détecteur à la sortie du tube permet de les quantifier. On obtient alors un spectre protéique qui sera comparé à une base de données et permettra une identification du pathogène s'il existe une similitude suffisante entre le spectre analysé et le spectre de référence (57). Cette technique permet un vrai gain de temps car elle identifie les espèces bactériennes en quelques minutes. Cependant, concernant les espèces du groupe mitis *S. pneumoniae*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. pseudopneumoniae*, la différenciation par spectrométrie de masse peut rester imparfaite et nécessiter des analyses complémentaires bien qu'elle ait permis une certaine amélioration dans leur discrimination (58,59).

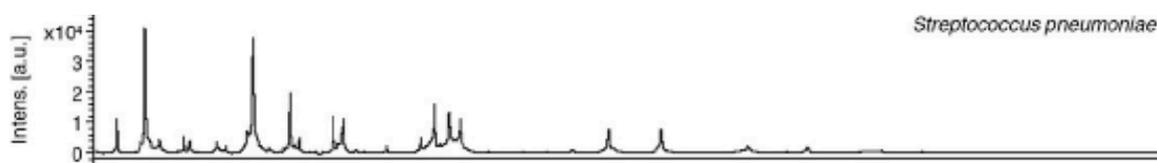


Figure 6 : Spectre de masse du pneumocoque par la technique MALDI TOF (60)

## 8- Polymerase Chain Reaction (PCR)

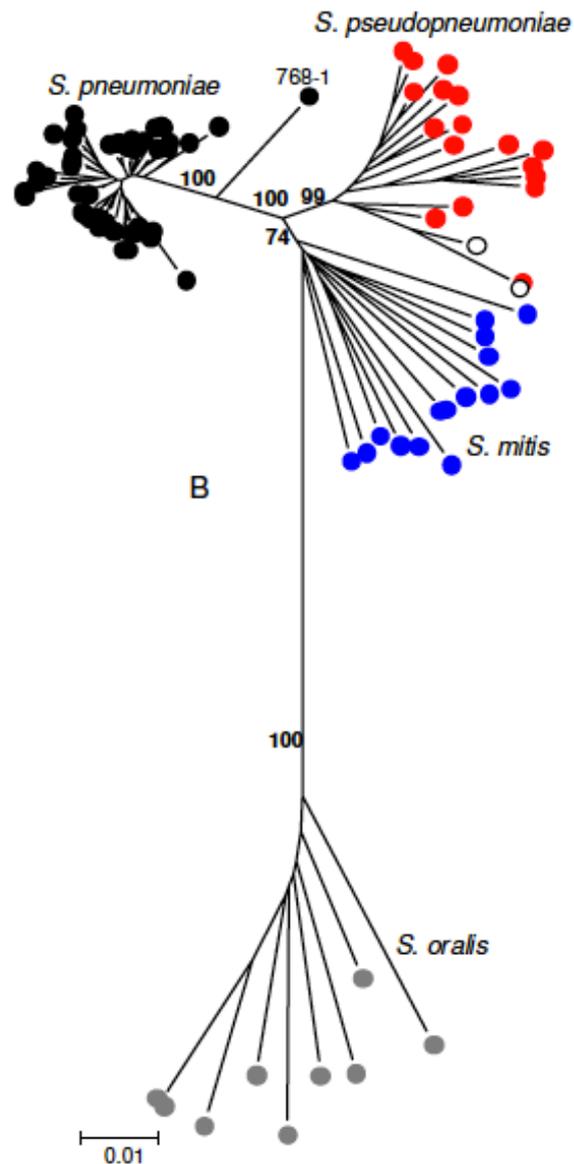
Outre les techniques d'identifications phénotypiques, il est possible d'identifier le pneumocoque au sein d'un prélèvement par des techniques de biologie moléculaire telle que la PCR. Cette technique consiste à amplifier une partie du génome d'un organisme à l'aide d'amorces spécifiques de cette séquence nucléotidique choisie. Concernant *Streptococcus pneumoniae*, plusieurs gènes ont été ciblés et amplifiés afin de l'identifier, comme par exemple celui de la pneumolysine (ply) (61), celui de l'autolysine (lytA) (62), celui de l'adhésine A (psaA) (63), ou encore celui du fragment d'ADN Spn9802 (64). Ces différentes PCR ont obtenu des résultats divers. Les meilleures performances ont été attribuées à celles du fragment d'ADN Spn9802 et celle de l'autolysine. Dans

une étude de 2008, Abdeldaim *et al.* comparent les performances des PCR Spn9802 et *lytA*. Pour cela, ils utilisent deux pools de patients : un groupe de patients atteints de pneumonie aiguë communautaire et un groupe de patients témoins sans atteinte respiratoire. Ils démontrent que les PCR Spn9802 et *lytA* ont respectivement des sensibilités de 94 et 82% et des spécificités de 98 et 97%. De plus, en élevant le seuil de positivité de la PCR Spn9802 à 10000 copies d'ADN par ml, ils retrouvent une spécificité de 100% et une sensibilité de 71% (65).

Cependant, le fragment d'ADN Spn9802 a été mis en évidence chez *S.pseudopneumoniae* et les gènes *ply* et *lytA* ont été retrouvés chez *S.mitis* (65). Ainsi, afin d'améliorer la spécificité diagnostique, il a été mis en place des PCR multiplex ciblant plusieurs gènes du pneumocoque simultanément. Par exemple, afin d'identifier les souches atypiques de pneumocoque qui lui sont envoyées, le CNRP utilise une PCR multiplex ciblant 3 gènes dont la présence conjointe est quasi spécifique de *Streptococcus pneumoniae* : *lytA*, *ply* et le gène capsulaire *cpsA* (7).

## 9- Séquençage

En cas de persistance d'un doute, il est possible de réaliser des techniques de séquençage afin d'identifier correctement le pneumocoque. Tout d'abord, il peut être mis en œuvre une identification par MLST (Multi Locus Sequence Typing), qui consiste en un séquençage de 7 gènes représentatifs et conservés du pneumocoque. Ces 7 séquences sont alors comparées à des séquences de référence. Cela permet d'affilier la souche étudiée dans un cluster et donc de remonter à son identification (Figure 6) (66). Par ailleurs, il est possible de séquencer une portion du gène capsulaire *wzh*. Cette technique permet dans le même temps d'obtenir avec précision le sérotype du pneumocoque étudié (7).



**Figure 7 : Arbre phylogénétique de 4 espèces de streptocoques du groupe mitis obtenu par MLST (66)**

### 10- Synthèse

Beaucoup d'études démontrent que l'identification de *Streptococcus pneumoniae* par une seule technique est hasardeuse et peut conduire au rendu de faux positifs ou de faux négatifs. Il est donc recommandé d'utiliser plusieurs méthodes d'identification (67). Slotved *et al.* déterminent, dans une étude de 2017, un algorithme décisionnel pour l'identification du pneumocoque selon deux tests : la solubilité dans la bile et la spectrométrie de masse. Ils objectivent le test de solubilité dans la bile en réalisant une lecture par spectrophotométrie des échantillons. Ils déterminent alors une valeur seuil pour l'identification de *S. pneumoniae*. Sur les 84 souches étudiées appartenant au groupe mitis,

toutes les souches de pneumocoque ont été correctement identifiées et seule une souche de *S.mitis* ne respectait pas la valeur seuil diagnostique. A noter que cette souche possédait le gène de *lytA*. Concernant la spectrométrie de masse, les spectres obtenus ont été analysés soit en se fiant aux valeurs des scores MALDI TOF, soit en réalisant une inspection visuelle de ces spectres. Grâce à cette dernière, deux pics caractéristiques de *S. pneumoniae* ( $m/z$  2937,5 et  $m/z$  5877) ont été identifiés. A l'aide de ces derniers, toutes les souches de pneumocoque ont été correctement identifiées et seuls 3 *S.mitis* ont été mal identifiés en pneumocoque. En combinant ces deux tests et donc en utilisant l'algorithme décisionnel qui en découle, toutes les souches de l'étude ont clairement été identifiées en *S.pneumoniae* ou non *pneumoniae* (67).

### C- Sérogroupage et sérotypage

Il existe 97 sérotypes de pneumocoque connus, se différenciant les uns des autres par la structure biochimique de leur capsule polysaccharidique. Ils sont ordonnés selon la classification danoise, qui est la plus utilisée dans le monde (il existe également une classification américaine), en sérogroupe allant de 1 à 48. A l'intérieur de chaque sérotype, les sérotypes sont identifiés par une lettre. Un sérotype est ainsi identifié par le numéro de son sérotype et par une lettre, s'il existe plusieurs sérotypes au sein de ce sérotype (68).

#### 1- Agglutination sur lame à l'aide de latex sensibilisés

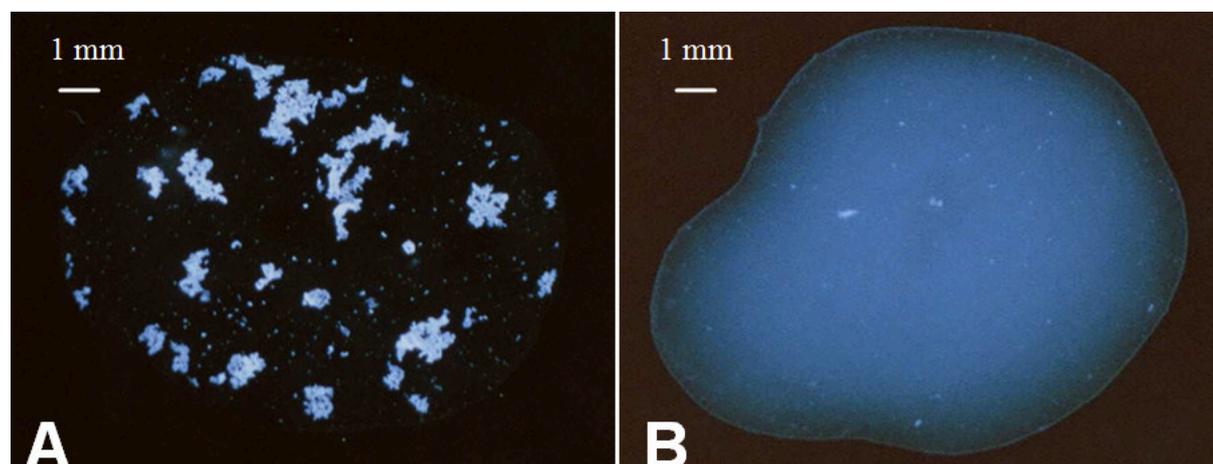
Facile à mettre en œuvre, c'est la technique la plus répandue actuellement dans les laboratoires. Elle utilise des sérums spécifiques de sérogroupe et de sérotype de pneumocoque, fournis par le Statens Serum Institut de Copenhague. Elle se déroule en plusieurs étapes. Tout d'abord, la souche de pneumocoque à sérotyper sera mise en contact avec 14 pools de sérums. Ceux-ci renferment chacun entre 7 et 11 anticorps spécifiques et couvrent l'ensemble des sérotypes de pneumocoque connus (7,69). Les pools de sérums A,B,C,D,E,F,G,H,I réagissent avec l'ensemble des sérotypes alors que les pools de sérums P,Q,R,S,T ne réagissent qu'avec les sérogroupe contenus dans le vaccin Pneumo23®. Un échiquier de lecture permet d'interpréter pour chaque colonie testée l'ensemble des 14 réactions et d'arriver à un résultat intermédiaire, voire parfois définitif (Figure 7) (70). Ensuite, en fonction du ou des pools de sérums avec lesquels a réagi la souche, elle sera testée vis à vis de sérums spécifiques de sérogroupe et de sérotype, afin de parvenir à un résultat définitif. Ainsi, grâce à plusieurs étapes le sérotype de la souche étudiée est obtenu (7,69). Si toutefois les colonies ne réagissent avec aucun des 14 pools de sérums, elles seront testées vis à vis

d'un « omni-sérum » qui renferme les anticorps dirigés contre l'ensemble des sérotypes connus. En cas de nouvelle réponse négative, la souche sera déclarée non typable (7).

Lorsque le résultat de cette technique d'agglutination est douteux ou ininterprétable, des techniques complémentaires sont mises en œuvre (7).

Pool	P	Q	R	S	T	Non-vaccine types/groups
A	1*	18(A,B,C*,F)	4*	5*	2	
B	19(F*, A*,B, C)	6(A*, B*, C)	3*	8		
C	7(F*, A, B, C)					
D			9(A, L, N, V*)		20	24(F, A, B), 31, 40
E			12(F, A, B)	10(F, A, B, C)	11(F, A, B, C, D)	16(F, A), 36, 37
F				17(F, A)	33(F, A, B, C, D)	21, 39
G					22(F, A)	27, 32(F, A), 41(F, A)
H	14*	23(F*, A, B)		15(F, A, B, C)		29, 34, 35(F, A, B, C), 42, 47(F, A)
I						13, 28(F, A)
						25(F, A), 38, 43, 44, 45, 46, 48

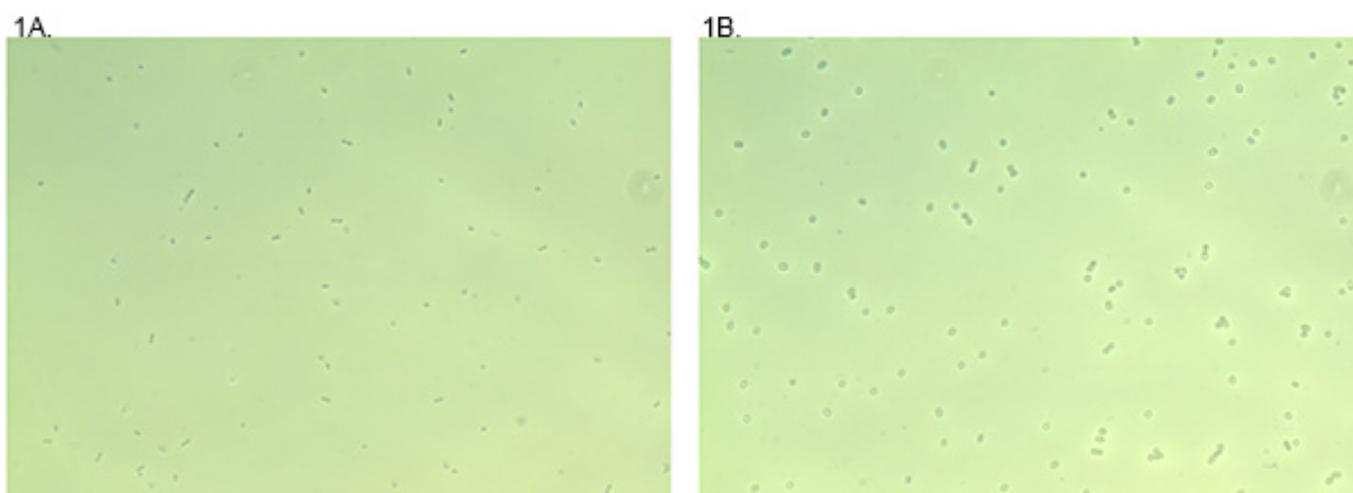
**Figure 8 : Echiquier utilisé pour déterminer le sérotype d'une souche de pneumocoque (70)**



**Figure 9 : Réaction positive (A) et négative (B) de sérotypage par agglutination (69)**

## 2- Gonflement capsulaire ou Quellung Reaction

Cette méthode a été mise au point en 1902 par Neufeld (26) et est encore aujourd'hui considérée comme le gold standard du sérotypage d'une souche de pneumocoque (70,71). Le principe est l'observation au microscope du gonflement capsulaire d'une souche lorsqu'elle est mise en contact avec le sérum qui lui est spécifique (Figure 8). Cette réaction s'explique par le changement d'indice de réfraction de la capsule lorsque l'anticorps contenu dans le sérum qui lui est spécifique vient s'y fixer. Cette technique n'est utilisée qu'en cas d'échec de la méthode par agglutination (7). Elle utilise également des pools de sérums puis des sérums spécifiques. L'interprétation est réalisée par le même échiquier utilisé dans la technique par agglutination (71).



**Figure 10 : Réaction de gonflement capsulaire positive (1A) et négative (1B) d'une souche de pneumocoque de sérotype 9V (71)**

## 3- PCR multiplex

Cette technique a été publiée par Brito *et al.* en 2003 (72). Elle permet de travailler directement sur le prélèvement et donc de typer des souches qui n'auraient pas poussé en culture, comme par exemple lors de l'utilisation d'antibiotique en amont du prélèvement (7). Elle peut également permettre de mettre en évidence plusieurs sérotypes au sein d'un même échantillon (70). Cependant, c'est une technique assez lourde qui nécessite de réaliser plusieurs PCR multiplex successives. Par ailleurs, malgré des améliorations depuis sa mise au point, elle ne permet pas de déterminer avec exactitude l'ensemble des sérotypes existants et nécessite donc d'être complétée par d'autres techniques de sérotypage (7).

#### 4- Séquençage

Il est possible d'avoir recours au séquençage afin d'obtenir le sérotypage d'une souche de pneumocoque si les autres techniques se sont révélées infructueuses. La technique utilisée par le CNRP est le Capsular Sequence Typing (CST) qui consiste à amplifier par PCR multiplex puis séquencer une portion du gène capsulaire wzh. Elle a l'avantage de détecter tous les sérotypes de pneumocoque et de mettre en évidence de nouveaux variants du gène wzh (7).

## IV- PATHOGÉNICITÉ

### A- Facteurs de risque (73)

*Streptococcus pneumoniae* est un pathogène responsable d'infections diverses que l'on peut classer en deux grandes catégories : les infections invasives à pneumocoque (IIP), comprenant les septicémies et les méningites, et les infections non invasives telles que les pneumonies sans bactériémie, les otites moyennes aiguës, les sinusites ou encore les conjonctivites. Certains facteurs de risque ont été associés à la survenue d'IIP. Ceux-ci peuvent être classés en 3 catégories : avérés, probables, possibles, selon qu'ils ont été retrouvés dans de nombreuses, quelques ou rares études cliniques sur les IIP.

#### 1- Facteurs de risque avérés

Cette catégorie est constituée des facteurs de risque identifiés à l'aide de nombreuses études cliniques sur les IIP. Elle renferme l'âge <2 ans ou >65 ans (74), les troubles spléniques (74), l'alcoolisme (75), le diabète (74), la grippe, l'immunodépression (74), le portage récent d'un sérotype invasif de pneumocoque. L'infection par le VIH est également un facteur de risque important dans la survenue d'IIP. Dans une étude de 1997 en Afrique du sud, Gilks *et al.* comparent la survenue d'IIP dans deux groupes de prostituées, selon qu'elles soient séropositives ou séronégatives pour le VIH. Il démontre alors que le risque relatif de la survenue d'une IIP est de 17,8 (IC à 95% : 2,5-126,5) entre les deux cohortes (76). En 2010, Feikilin *et al.* retrouvent un risque relatif d'IIP de 19,7 (IC à 95% : 12,4-31,1) chez des patients séropositifs comparés à des patients séronégatifs pour le VIH (77). Enfin, dans une étude publiée en 2016 et regroupant plus de 17000 cas d'IIP en Afrique du sud, Meiring *et al.* démontrent que le risque relatif de survenue d'IIP entre les cohortes de patients séropositives et séronégatives pour le VIH est de 43 (IC à 95% : 39-47), quel que soit l'âge (78) (Figure 11).

Age category	Invasive pneumococcal disease incidence			Relative Risk	(95% confidence interval)
	Overall (95% confidence interval)	HIV-infected (95% confidence interval)	HIV-uninfected (95% confidence interval)		
5–19yrs	3.2 (3–3.5)	81.4 (73.4–90)	0.6 (0.5–0.8)	127	(101–160)
20–49yrs	10.1 (9.7–10.5)	46.3 (44.3–48.4)	1 (0.9–1.2)	46	(40–54)
50–64yrs	7.9 (7.1–8.8)	74.7 (66.1–84.1)	2.3 (1.9–2.8)	32	(26–41)
> 65yrs	5.8 (4.9–6.9)	237.2 (171–320.7)	4.1 (3.3–5)	58	(40–83)
All ages	7.3 (7.1–7.6)	52 (50.1–54)	1.2 (1.1–1.3)	43	(39–47)

**Figure 11 : Incidence d'infection invasive à pneumocoque chez des patients séropositifs et séronégatifs pour le VIH en Afrique du sud (78)**

## 2- Facteurs de risque probables

Sont classés dans cette catégorie les facteurs de risque identifiés par plusieurs études sur les IIP. Certains polymorphismes génétiques touchant le système immunitaire comme la présence d'un variant du gène Mannose Binding Lectine (MBL), un déficit en IL-1 receptor-associated kinase-4 (IRAK-4) augmentent le risque d'IIP. Une couverture vaccinale anti-pneumococcique faible, le tabagisme (75), les infections respiratoires chroniques comme la Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive (BPCO), les infections hépatiques sévères, un dysfonctionnement de l'appareil muco-ciliaire ont également été identifiés comme majorant le risque de survenue d'IIP. Certaines populations isolées sont plus à risque de développer une IIP. Par ailleurs, la promiscuité et les conditions socio-économiques défavorables, qui sont des facteurs de risque de colonisation par le pneumocoque, augmentent le risque de développer une IIP.

Dans une étude de 2005 réalisée sur 635 personnes souffrant d'IIP, Talbot *et al.* démontrent que l'asthme en est un facteur de risque indépendant de survenue d'infections invasives à pneumocoque (OR 2,4 ; IC à 95% 1,9-3,1). L'incidence retrouvée dans le groupe asthmatique est deux fois plus élevée que dans le groupe témoin (79).

## 3- Facteurs de risque possibles

Cette dernière catégorie renferme des facteurs de risque mentionnés dans de rares études cliniques. On y retrouve la récente exposition aux antibiotiques, la diminution du réflexe de toux, les pneumopathies d'inhalation, la prise d'inhibiteurs de la pompe à protons ou encore les crèches, ces dernières ayant déjà été mentionnées comme facteurs de risque de portage de *Streptococcus pneumoniae*.

### B- Facteurs de virulence (17,44,73,80–83)

Le plus important d'entre eux est la capsule polysaccharidique. Cette structure qui entoure la bactérie a plusieurs rôles. Tout d'abord, elle s'oppose à l'élimination mécanique du pneumocoque par le mucus. Cela serait dû à un effet électrostatique, l'excès de charges négatives porté par les acides sialiques de la capsule diminuant l'interaction du mucus avec celle-ci (81). Par ailleurs, elle permet la résistance à la phagocytose. Enfin, elle inhibe l'interaction du C3b et de la fraction constante des immunoglobulines, présents à la surface de la bactérie, avec les cellules phagocytaires de l'organisme, bloquant ainsi le phénomène d'opsonisation.

La pneumolysine (ply) est une protéine intracellulaire du pneumocoque. Elle a une action cytolytique directe sur les cellules respiratoires et endothéliales, permettant un envahissement de l'arbre respiratoire. Elle possède également un pouvoir pro inflammatoire grâce à sa fixation à la fraction constante des immunoglobulines et au C1q, permettant une activation du complément par la voie classique. Elle diminuerait enfin la mobilité des cils de l'arbre respiratoire, empêchant l'élimination mécanique du pneumocoque.

L'autolysine A (lytA) est une protéine appartenant à la famille des Choline Binding Proteins (CBP). Elle permet l'autolyse du pneumocoque et donc la libération des facteurs de virulence cytoplasmiques tels que la pneumolysine ou les acides lipotéichoïques.

Les protéines de surface PspA (Pneumococcal surface protein A) et PspC (Pneumococcal surface protein C) sont des protéines membranaires appartenant également à la famille des CBP. Elles empêchent la fixation du C3b sur la bactérie et donc l'activation du complément par la voie alterne. La PspA se lie à la lactoferrine, libérant le fer séquestré et essentiel au fonctionnement des enzymes bactériennes. Cette fixation empêche par ailleurs l'activité bactéricide de l'apolactoferrine (44). Quant à la PspC, elle fixe le facteur régulateur H du complément et freine donc l'activation de ce dernier (83).

La lipoprotéine PsaA (Pneumococcal surface antigen A) appartient au système de transport ABC (ATP-binding cassette). Elle permet la résistance au stress oxydatif et l'approvisionnement en ions manganèse nécessaires à la croissance du pneumocoque. Les lipoprotéines PiaA (Pneumococcal iron acquisition A) et PiuA (Pneumococcal iron uptake A) appartiennent également au système de transport ABC et fournissent au pneumocoque le fer nécessaire à son développement (44,73,82).

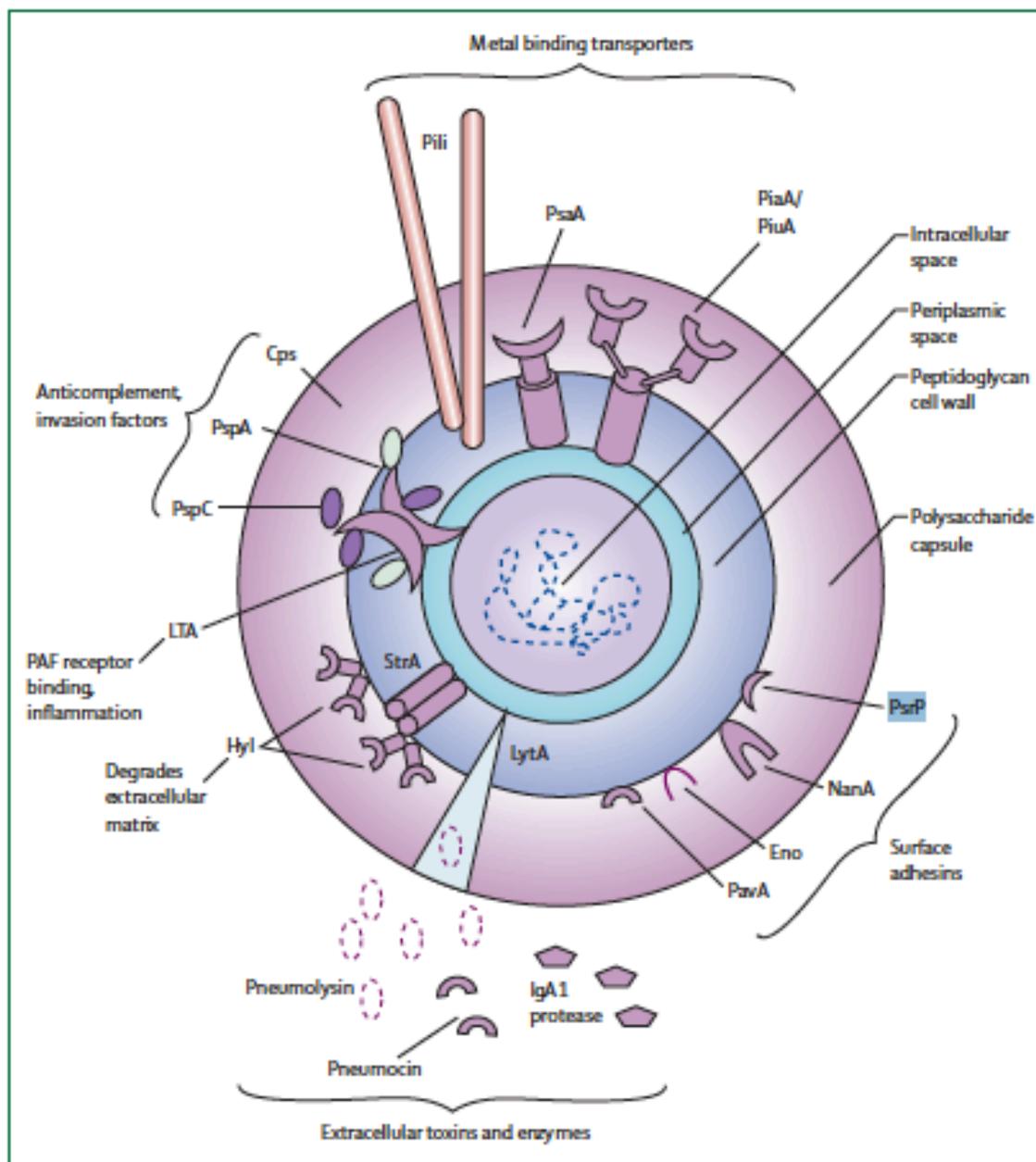
Les acides lipotéichoïques sont des éléments cytoplasmiques libérés sous l'action de l'autolysine A. Ils ont un effet pro-inflammatoire en activant la voie classique du complément par leur fixation sur la CRP (C-Reactive Protein). Ils permettent l'adhésion aux cellules de l'hôte en fixant le PAF (Platelet Activating Factor) (73,82).

L'IgA1 protéase est une enzyme qui permet le clivage des IgA1 sécrétoires présentes dans les muqueuses. Elle permet donc de supprimer une des premières lignes de défense de l'organisme. Par ailleurs, les Fab des IgA1 clivées peuvent toujours se fixer à des antigènes bactériens mais ne possèdent plus de fragment constant Fc. Ils ne peuvent donc plus provoquer d'opsonisation et protègent ainsi ces antigènes bactériens des IgA1 fonctionnelles (44,82).

Les neuraminidases NanA et NanB clivent les acides sialiques des glycoprotéines et les glycolipides présents à la surface des cellules de l'hôte. Cela permettrait de révéler des récepteurs de surface permettant l'adhésion du pneumocoque aux cellules de l'arbre respiratoire. Elles permettraient

également la polymérisation du complexe d'attaque membranaire et participeraient, avec la pneumolysine, à l'effet cytotoxique (44,73,82).

La protéine PavA (Pneumococcal adhesion and virulence A) permet la liaison à la fibronectine et donc l'attachement aux cellules endothéliales de l'hôte (44,73).



**Figure 3: Virulence factors of pneumococcus**

PsaA–pneumococcal surface antigen A. PiaA/PiuA–pneumococcal iron acquisition and uptake.  
PsrP–pneumococcal serine-rich repeat protein. NanA–neuraminidase. Eno–enolase. PavA–pneumococcal adhesion and virulence. LytA–autolysin. StrA–sortase A. Hyl–hyaluronate lyase. LTA–lipoteichoic acid.  
PspC–pneumococcal surface protein C. PspA–pneumococcal surface protein A. Cps–polysaccharide capsule.  
PAF–platelet-activating factor.

**Figure 12 : Facteurs de virulence de *Streptococcus pneumoniae* (73)**

## C- Infections à *Streptococcus pneumoniae*

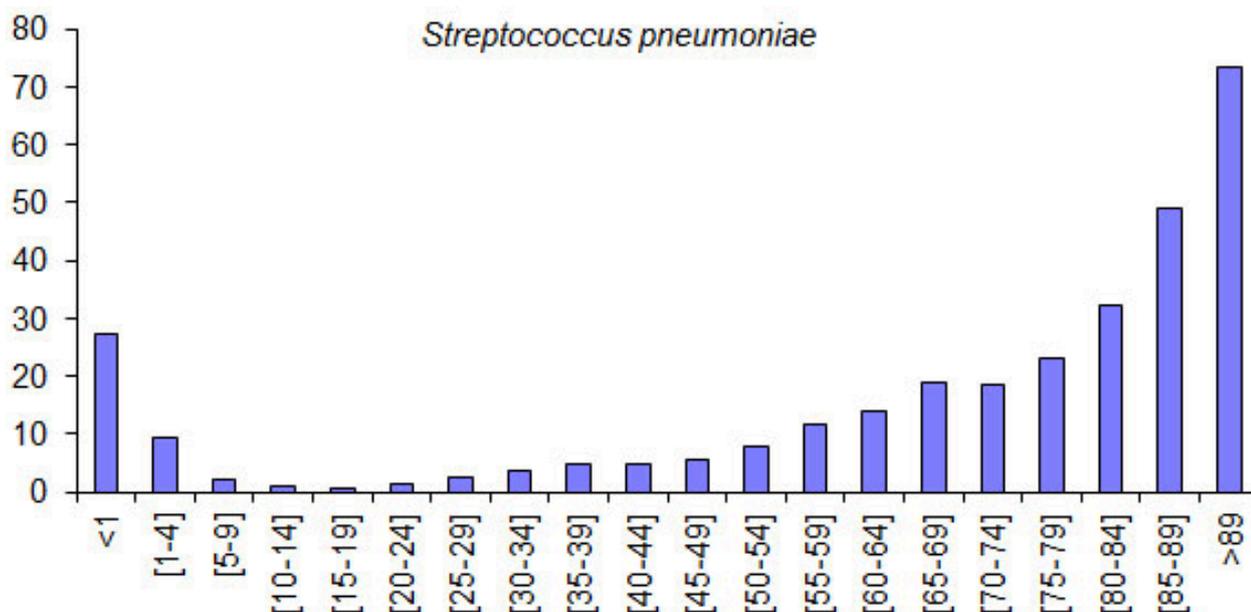
*Streptococcus pneumoniae* est une bactérie commensale du nasopharynx de l'Homme. La contamination est interhumaine et se fait par l'intermédiaire de gouttelettes de Pflügge contaminées provenant d'une personne colonisée. Les infections à pneumocoque ne revêtent pas de caractère épidémique dans leur très large majorité (1). Néanmoins, de rares épidémies ont pu être fortement suspectées dans des prisons (84), des maisons de retraite (85), au sein de régiments de l'armée (86) ou encore dans certaines communautés où régnaient promiscuité et conditions socio-économiques difficiles (87). Toute infection débute par une phase de colonisation. Ensuite, le pneumocoque peut rester au niveau du nasopharynx et être éliminé ou, dans de plus rares situations, provoquer une pathologie. L'évolution du portage vers l'infection est un phénomène complexe qui dépend de nombreux facteurs, certains étant liés à l'hôte et d'autres au pathogène (1).

### 1- Infections invasives à pneumocoque (IIP)

#### a. Généralités

Une infection est dite invasive lorsqu'elle touche un liquide biologique normalement stérile tel que le sang ou le LCR. Certaines études intègrent dans la définition d'infection invasive les pleuro pneumopathies (5,88), les arthrites septiques et les mastoïdites (88).

*Streptococcus pneumoniae* est une étiologie majeure d'infection invasive puisqu'il est responsable de 15 millions d'IIP dans le monde chaque année (7). En 2016, l'incidence globale des IIP en France est de 7,7 cas pour 100 000 habitants. Il existe toutefois une grande variabilité de l'incidence en fonction de l'âge. Elle est maximale chez les enfants de moins de 1 an (27 cas pour 100 000 habitants) et chez les adultes de plus de 65 ans (18,8 entre 65 et 70 ans à 77,1 cas pour 100 000 habitants chez les plus de 90 ans) (Figure 13). L'utilisation des vaccins polysides conjugués en France à partir de 2002 a eu un impact sur l'incidence des IIP. Elle a tout d'abord augmentée après l'utilisation du Prevenar 7® passant de 9,2 à 11,7 cas pour 100 000 habitants, malgré une diminution de cette incidence chez les enfants de moins de 2 ans durant la même période. Elle a ensuite diminuée chez toutes les classes d'âge suite à l'introduction du Prevenar 13® en juin 2010 pour atteindre 6,6 cas pour 100 000 habitants en 2014. Il a été constaté une légère augmentation de cette incidence entre 2014 et 2016 (89,90).



**Figure 13 : Incidence pour 100 000 habitants des IIP en France en 2016. Réseau EPIBAC (89)**

Les infections invasives à pneumocoque ont un taux de mortalité élevé pouvant atteindre 30% (7). Plusieurs études retrouvent une mortalité moyenne de 10% avec des variations importantes selon la classe d'âge : autour de 3% chez les moins de 18 ans, de 9% chez les 18-64 ans et de 20% chez les plus de 65 ans (74,91,92). Certains facteurs de risque, tels que l'âge >65 ans, la survenue d'une méningite surtout si elle est due à une souche de PSDP, ont été associés à un risque de décès plus élevé lors d'épisodes d'IIP (92). Dans une méta-analyse de 2014 portant sur 28 études, Grabenstein *et al.* montrent que certains sérotypes de pneumocoque, tels que les sérotypes 3, 6B, 9N, 11A, 16F, 19F, 19A, sont associés à un risque de mortalité plus élevé (93).

Certains sérotypes de pneumocoque ont été décrits comme ayant un caractère invasif. En 2015, Varon *et al.* comparent les sérotypes retrouvés dans les IIP et le portage nasopharyngé d'enfants à deux périodes, en 2008-2009 (période 1) et en 2012-2013 (période 2). Les sérotypes 1, 3, 7F, 19A (période 1) et 24F (périodes 1 et 2) sont alors statistiquement plus retrouvés dans les IIP que dans le portage, ce qui signe le caractère invasif de ces sérotypes (5).

L'utilisation successive de vaccins polysides a profondément modifié l'épidémiologie des IIP donnant lieu à 2 épisodes de remplacements sérotypiques. Avant 2002 et l'introduction du Prevenar 7®<sup>®</sup>, les IIP étaient principalement dues aux sérotypes 14, 6B, 9V, 19A, 19F, 23F dans toutes les classes d'âges et également au sérotype 3 chez l'adulte de plus de 65 ans. Entre 2002 et 2010, l'épidémiologie des IIP était très largement dominée par les sérotypes 1, 3, 7F, 19A dans des proportions variables selon les classes d'âge (5,7,88,90,91) suivis de loin par des sérotypes tels que

le 12F, le 24F ou encore le 22F (5,88,90). Après 2010, l'effet des deux vaccins est retentissant. Chez l'enfant de moins de 2 ans, les sérotypes contenus dans le Prevenar 7® ont disparu à l'exception du sérotype 19F. Dans l'ensemble de la population, les 6 sérotypes additionnels du Prevenar 13® ont très fortement diminué à l'exception du sérotype 3 chez l'adulte qui conserve sa première position. Par ailleurs, de nombreux sérotypes non vaccinaux émergent dans l'ensemble de la population, tels que les sérotypes 12F, 22F, 24F ou encore 15B/C, sans qu'il y ait de prédominance nette (5,7,90).

En 2016, Hays *et al.* comparent l'épidémiologie des IIP de l'adulte et de l'enfant de l'ORP Ile de France-Ouest en 2009 et en 2015. Entre ces deux années, la couverture sérotypique du Prevenar 13® passe respectivement de 75,1% à 18,5% chez l'enfant et de 67,7% à 25,2% chez l'adulte. Cela démontre ainsi l'effet indirect important de la vaccination de l'enfant de moins de 2 ans sur l'épidémiologie des IIP de l'adulte (94).

L'évolution des sérotypes en France selon le groupe d'âge est résumée dans la Figure 14.

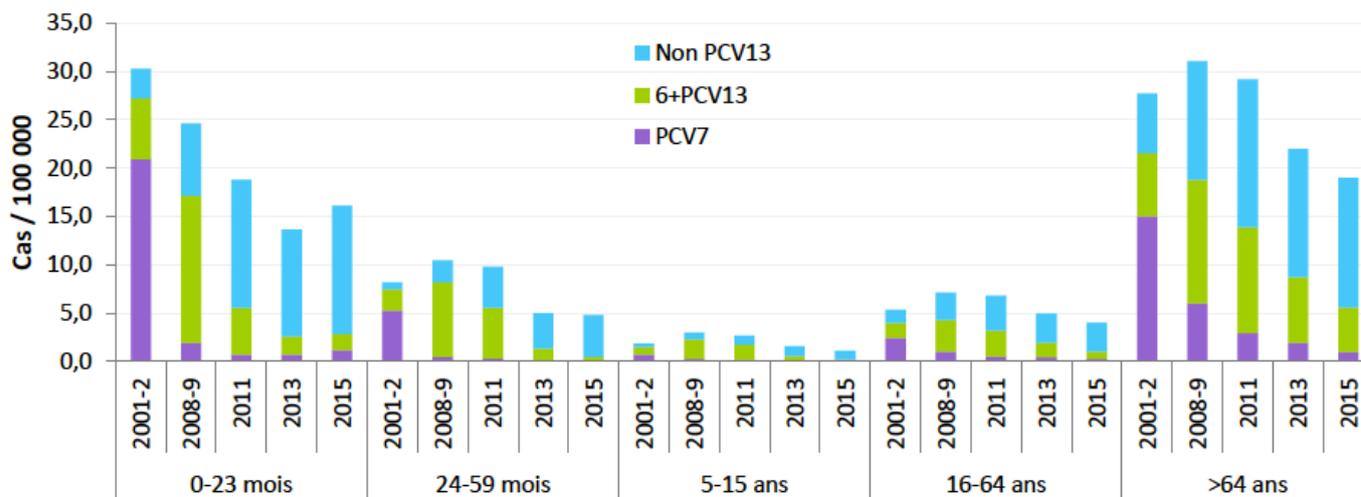


Figure 14 : Evolution de l'incidence des IIP à sérotypes vaccinaux et non vaccinaux selon le groupe d'âge en France (7)

Sérotype	Bactériémies (n=857)		Méningites (n=312)		Total (n=1169)
	Enfant (≤15 ans) (n=161)	Adulte (n=696)	Enfant (≤15 ans) (n=89)	Adulte (n=223)	
3*	2,5%	13,1%	-	9,0%	9,8%
12F°	13,0%	8,5%	6,7%	6,3%	8,6%
8°	3,1%	8,3%	2,2%	4,5%	6,4%
19A*	4,3%	7,6%	3,4%	4,0%	6,2%
22F°	3,1%	6,2%	10,1%	6,3%	6,1%
9N°	3,7%	6,0%	4,5%	6,3%	5,6%
15A	3,1%	4,9%	5,6%	6,3%	5,0%
24F	11,2%	2,7%	12,4%	2,7%	4,6%
10A	7,5%	2,0%	7,9%	4,5%	3,7%
11A°	1,9%	3,4%	4,5%	4,9%	3,6%
23B	3,7%	2,2%	6,7%	6,7%	3,6%
19F*	4,3%	1,7%	3,4%	8,1%	3,4%
15B°/C	9,9%	1,7%	9,0%	1,3%	3,3%
23A	2,5%	2,9%	-	6,7%	3,3%
20	0,6%	3,9%	2,2%	2,2%	3,0%
6C	-	2,7%	1,1%	3,6%	2,4%
33F°	1,2%	1,9%	5,6%	2,7%	2,2%
35F	1,9%	2,0%	2,2%	1,8%	2,0%

\* Sérotype contenu dans le vaccin conjugué 13-valent et dans le vaccin polysidique 23-valent,  
° Sérotype contenu uniquement dans le vaccin polysidique 23-valent.

Figure 15 : Fréquence des principaux sérotypes retrouvés dans les infections invasives en France en 2015 (7)

b. Bactériémies, endocardites et péricardites

*Streptococcus pneumoniae* est une étiologie majeure des bactériémies communautaires puisqu'il occupe le troisième rang des espèces bactériennes incriminées derrière *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (Figure 16) (95–100). Concernant la population pédiatrique, il est même l'agent bactérien le plus fréquemment isolé, suivi d'*Escherichia coli* puis du *Staphylococcus aureus*. Cela s'explique par sa nette prédominance dans la classe d'âge des 2 mois-5ans. Il est en revanche beaucoup plus rare chez le nouveau-né (Figure 17) (6,101).

Species	n	Incidence (per 100 000 population)	Incidence (per 100 000 population)		Risk ratio (95 % CI)	Poly- microbial	Median age (years)
			Male	Female			
<i>Escherichia coli</i>	1414	25.8	20.1	31.5	0.64 (0.57–0.71)	96 (7%)	66.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	737	13.5	16.7	10.3	1.63 (1.40–1.90)	42 (6%)	60.4
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	552	10.1	10.8	9.4	1.15 (0.97–1.37)	9 (2%)	44.4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	288	5.3	6.0	4.5	1.35 (1.06–1.71)	43 (15%)	70.0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	178	3.3	3.8	2.6	1.46 (1.07–2.00)	8 (4%)	48.4
<i>Enterococcus faecalis</i>	156	2.9	3.6	2.1	1.70 (1.21–2.39)	33 (21%)	69.3
<i>Bacteroides fragilis</i>	132	2.4	2.2	2.6	0.84 (0.58–1.19)	27 (20%)	68.1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	128	2.3	2.2	2.5	0.89 (0.62–1.27)	15 (12%)	54.7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	109	2.0	2.3	1.7	1.37 (0.92–2.06)	27 (25%)	69.5
<i>Proteus mirabilis</i>	71	1.3	1.4	1.2	1.09 (0.67–1.79)	19 (27%)	77.0
Other	959	17.5	19.5	15.4	1.27 (1.12–1.45)	175 (18%)	60.3

Figure 16 : Principales étiologies de bactériémies dans la région de Calgary au Canada entre 2000 et 2004 (97)

Pathogen	Age						Total (n = 490)
	<4 days (n = 27, 5.5%)	4–28 days (n = 38, 7.8%)	29 days to 3 months (n = 68, 13.9%)	3 months to 2 y (n = 165, 33.5%)	2–5 years (n = 82, 33.7%)	>5 years (n = 110, 22.4%)	
<b>Gram negative</b>							
<i>E. coli</i>	6 (22%)	21 (55%)	32 (47%)	27 (16.5%)	7 (8.5%)	10 (9%)	103 (21%)
Other Enterobacteriaceae	2 (7.5%)	0	3 (4.5%)	6 (3.5%)	2	2	15 (3%)
<i>H. influenzae</i>	0	0	1	5 (3%)	0	1	7 (1.5%)
<i>Neisseria meningitidis</i>	0	1	0	3 (2%)	5 (7%)	1	10 (2%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0	1	0	1	1	4 (1%)
<i>Salmonella typhi/paratyphi</i>	0	0	0	4 (2.5%)	3 (4.5%)	11 (11.5%)	18 (4%)
Other salmonellae	0	0	0	17 (10.5%)	18 (22%)	10 (10%)	45 (9%)
<b>Gram positive</b>							
<i>S. aureus</i>	0	3 (8%)	3 (4.5%)	10 (6.5%)	4 (5%)	37 (33.5%)	57 (12%)
Group A streptococci	0	0	0	11 (7.5%)	6 (7.5%)	7 (7%)	24 (5%)
GBS	14 (52%)	9 (23.5%)	16 (23.5%)	4 (2.5%)	0	0	43 (9%)
<i>S. pneumoniae</i>	1	2 (5.5%)	8 (12%)	72 (43.5%)	31 (38%)	20 (18%)	134 (27.5%)
Enterococci	2 (7.5%)	2 (5.5%)	3 (4.5%)	1	0	1	9 (2%)
Other streptococci	0	0	0	1	1	3	5 (1%)
Others	0	0	1	2	2	2	7 (1.5%)
Anaerobic bacteria	1	0	0	2	2	2	7 (1.5%)
Yeasts	0	0	0	0	0	2	2 (0.5%)

Figure 17 : Principales étiologies de bactériémies chez l'enfant à Paris, en France, entre 2001 et 2008 (6)

Par ailleurs, le pneumocoque est le principal agent de bactériémies occultes. Celles-ci se définissent par la présence d'une hémoculture positive chez un enfant de 2 à 36 mois, fébrile ( $\geq 39^{\circ}\text{C}$ ), en bon état général, et sans point d'appel infectieux. La prévalence des bactériémies occultes à pneumocoque est estimée à moins de 1% de la population pédiatrique et leur résolution spontanée est fréquente (102).

En 2016, l'incidence globale des bactériémies à pneumocoque en France est de 6,8 cas pour 100 000 habitants. Elle est maximale chez les personnes de plus de 65 ans (20,3 cas pour 100 000 habitants) puis chez les enfants de moins de 2 ans (12,1 cas pour 100 000 habitants). L'utilisation successive des vaccins polysides conjugués a permis une diminution significative de cette incidence, passant de 8,2 cas pour 100 000 habitants en 2002 à 6,8 cas pour 100 000 habitants en 2016 (89).

Les bactériémies à pneumocoques sont essentiellement d'origine communautaire. Elles sont dans la grande majorité des cas d'origine pulmonaire et parfois méningée (96).

La mortalité de ces infections oscille entre 10 et 20% selon les études. Elle augmente notamment avec l'âge du patient, le caractère nosocomial de l'infection et la gravité du sepsis (96–98,103).

Selon le rapport d'activité du CNRP de 2016, les sérotypes les plus fréquemment retrouvés dans les bactériémies à pneumocoques sont les sérotypes vaccinaux 3 et 19A, majoritaires chez les plus de 65 ans, et les sérotypes non vaccinaux 8 et 9N, 12F, 22F et 24F. L'utilisation du Prevenar13® depuis 2010 a permis la disparition des sérotypes vaccinaux, à l'exception du sérotype 19F, chez l'enfant de moins de 2 ans, et leur nette diminution dans la population générale. En contrepartie, il a été constaté une augmentation de sérotypes non vaccinaux dans des proportions variables. La couverture sérotypique dans les bactériémies est de 31,7% (Figure 18) (7).

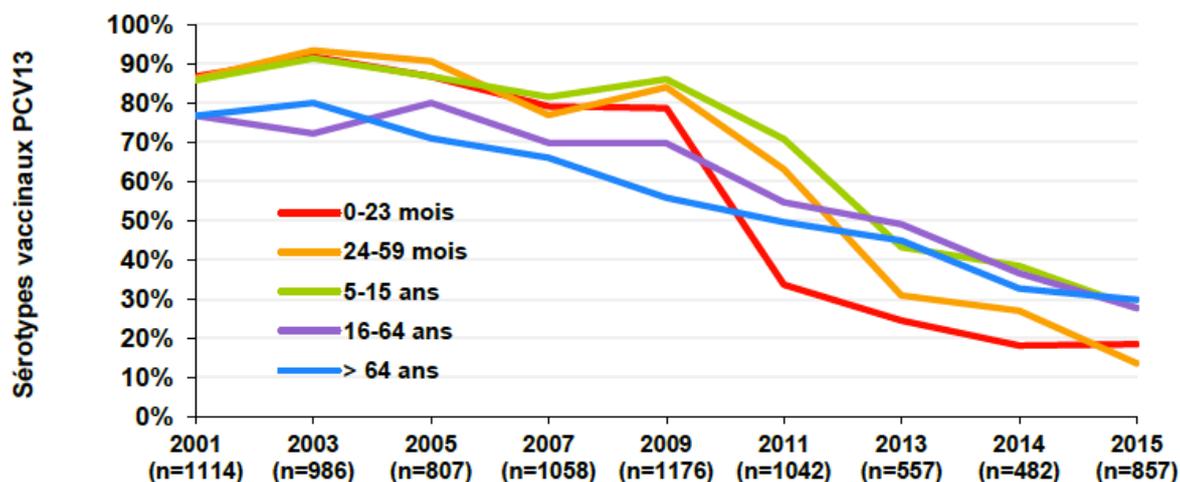


Figure 18 : Evolution de la couverture sérotypique du vaccin conjugué 13-valent dans les bactériémies entre 2001 et 2015 en France (7)

*Streptococcus pneumoniae* est également un agent d'endocardite infectieuse (EI). Alors qu'il était responsable de 15% d'entre elles à l'époque pré-antibiotique, il en est aujourd'hui une étiologie rare dans les pays occidentaux. Les données de la littérature retrouvent une fréquence du pneumocoque de moins de 3% chez l'adulte (104–107) et de 3 à 7% chez l'enfant (108). Cette fréquence peut être

beaucoup plus élevée dans certaines populations à risque d'IIP. Ainsi, Madsen *et al.* retrouvent dans une étude de 2004 une fréquence du pneumocoque dans les EI de la population du Groenland de 24% (109).

Parmi les patients ayant une bactériémie à pneumocoque, une évolution vers l'endocardite est retrouvée entre 0,18 et 3,4% des cas (105,106,109,110).

Les endocardites à pneumocoque touchent essentiellement les valves natives, dans plus de 85% des cas, et aortiques dans 75% des situations (104,106,111).

Les facteurs de risque majeur d'EI à pneumocoque sont l'alcoolisme (105,107,112) mais aussi les affections valvulaires préexistantes (104,107), l'immunosuppression et les troubles spléniques (104,112).

La porte d'entrée est largement d'origine pulmonaire. La pneumopathie persiste et est concomitante de l'endocardite dans 60% des cas (107,111).

Des végétations sont retrouvées à l'échographie dans plus de 50% des cas (104,107).

Une des complications de l'endocardite infectieuse est la méningite, retrouvée dans 60% des cas. Des embolies septiques surviennent dans 25 à 30% des situations (104,107,111).

La mortalité de cette infection est élevée, oscillant entre 20 et 60% des cas (104–107,109).

La triade d'Osler est définie comme la présence concomitante d'une endocardite, d'une pneumopathie et d'une méningite. Lorsque cette triade est due à *Streptococcus pneumoniae*, il s'agit du syndrome d'Austrian, mentionné pour la première fois en 1957 (113). Il est retrouvé dans 17 à 26% des endocardites à pneumocoque (104,107–109,111,112). Il touche généralement l'homme d'une cinquantaine d'années, bien que des cas chez la femme et l'enfant aient été décrits. L'éthylisme chronique est le facteur de risque majeur de ce syndrome (114).

Le pneumocoque peut également être responsable de péricardites purulentes. Il en était une étiologie majeure avant l'utilisation des antibiotiques, étant retrouvé dans la moitié de ces infections (115). Actuellement, les péricardites purulentes, d'autant plus lorsque le pneumocoque en est l'agent responsable, sont devenues des phénomènes rarissimes. En effet, 113 cas avaient été décrits dans la littérature anglophone entre 1900 et 1973 (116) alors que 25 cas ont été constatés entre 1980 et 2015 (117). Elles sont généralement associées à une pneumopathie (115,116) bien que d'exceptionnelles péricardites primitives aient été décrites (117). L'infection est presque systématiquement fatale sans traitement antibiotique (117). Avec un traitement adapté, elle oscille entre 10 et 40% selon les études (115–117).

### c. Méningites

*Streptococcus pneumoniae* est la première étiologie de méningite bactérienne en France en 2016 avec une incidence globale de 0,9 cas pour 100 000 habitants et une fréquence relative de plus de 50%. Il représente ainsi la grande majorité des méningites bactérienne chez les plus de 25 ans avec une fréquence relative supérieure à 60% (89). Néanmoins, il se place en deuxième position chez les enfants de moins de 2 mois, nettement derrière *Streptococcus agalactiae* (89,118,119) et dans la tranche d'âge des 2 mois-25 ans, derrière *Neisseria meningitidis* (89).

L'incidence des méningites à pneumocoque a évolué au fil des années, suite à l'utilisation successive des vaccins polysides conjugués. Elle est tout d'abord restée stable entre 2002 et 2008 à 1 cas pour 100 000 habitants, malgré l'introduction du Prevenar7® et une diminution constatée chez les enfants de moins de 2 ans (120,121). Plusieurs hypothèses ont été évoquées afin d'expliquer cette stabilité. Premièrement, la couverture sérotypique de ce vaccin lors de son introduction n'était que de 65%. Secondement, la couverture vaccinale a longtemps été trop faible et son augmentation s'est faite lentement, permettant un remplacement sérotypique et donc la création d'un réservoir de sérotypes non vaccinaux dans la population des enfants vaccinés. Ces sérotypes se sont ensuite répandus dans la population générale, diminuant ainsi l'efficacité du vaccin (120).

Cette incidence a fini par diminuer à partir de 2011 et jusqu'en 2015 pour atteindre un taux de 0,6 cas pour 100 000 habitants sous l'effet de l'introduction du Prevenar13® (89,122,123). Il est à noter une augmentation de cette incidence à 0,9 cas pour 100 000 habitants pour l'année 2016.

Selon les groupes d'âges, elle est maximale chez les moins de 2 ans (5,4 cas pour 100 000 habitants) puis chez les plus de 65 ans (1,6 cas pour 100 000 habitants) (89).

Il existe des facteurs de risque à l'apparition d'une méningite à pneumocoque, en plus de ceux évoqués pour les IIP. Il s'agit des brèches méningées, des méningites récurrentes, de traumatismes crâniens, d'implants cochléaires ou encore d'otites ou sinusites à pneumocoque mal traitées et évolutives. Chez l'enfant, ces facteurs de risque sont plus fréquemment retrouvés chez les plus de 2 ans (120,123–125).

La mortalité de cette infection oscille entre 10,7 et 11,6 selon les études (120,121,123,124,126).

Sur le plan sérotypique, une nette diminution des sérotypes vaccinaux est constatée et n'est que partiellement compensée par une augmentation de sérotypes non vaccinaux depuis 2010. Chez l'enfant de moins de 2 ans, certains sérotypes vaccinaux persistent tels que le 19F mais aussi, dans une moindre mesure, les 1, 7F, 19A tandis que les sérotypes non vaccinaux continuent leur émergence, notamment les sérotypes 24F, 22F, 15B/C, 12F, 10A (7,122,123,127).

Chez l'adulte, les sérotypes vaccinaux sont en baisse mais restent prédominants, notamment les sérotypes 19F, 3 voir 19A. Aucune tendance ne se dégage chez les sérotypes non vaccinaux.

La couverture sérotypique dans les méningites est de 21,7% en 2015 (7).

Par ailleurs, certains sérotypes ont été associés à un risque plus élevé de méningite, tels que les sérotypes 10A, 15B, 19F, 23F (93).

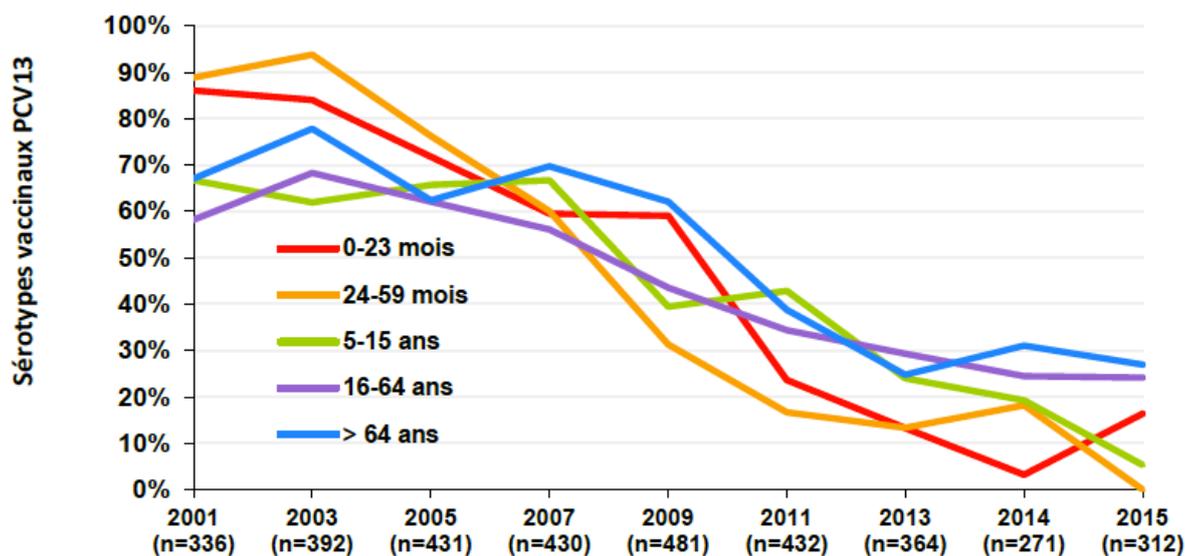


Figure 19 : Evolution de la couverture sérotypique du vaccin conjugué 13-valent dans les méningites entre 2001 et 2015 en France (7)

#### d. Pleuro-pneumopathies

La pleuro-pneumopathie ou l'empyème pleural sont des complications rares mais graves des pneumopathies. L'espèce bactérienne responsable est identifiée dans à peine 50% des cas au moyen de techniques conventionnelles, comme la culture bactérienne, dû à l'utilisation d'antibiotiques avant le prélèvement devant l'urgence de la situation. Les méthodes de biologie moléculaire telle que la PCR ou encore la détection d'antigènes solubles par méthodes immunochromatographiques permettent d'élever ce seuil (128). *Streptococcus pneumoniae* est une étiologie majeure de cette complication puisqu'il est retrouvé en première position chez les enfants dans plus de 50% des cas (128–131) et en seconde chez l'adulte, dans 20% des cas, juste derrière les streptocoques du groupe *milleri*, néanmoins composé de trois espèces : *S. constellatus*, *S.intermedius*, *S.anginosus* (129,132). Les autres espèces bactériennes majoritairement associées à cette complication sont *S. aureus*, *S. pyogenes*, et certains anaérobies (129).

Certains sérotypes de pneumocoque sont associés à un risque plus élevé d'empyème pleural tels que les sérotypes 1, 3, 5, 7F, 8, 19A (93).

La mortalité de cette infection est élevée et oscille entre 15 et 50% selon l'espèce identifiée. Elle est nettement plus élevée dans les infections nosocomiales que dans les infections communautaires. Elle est de l'ordre de 20% pour *S.pneumoniae* (129,132).

#### e. Péritonites

Les péritonites sont définies comme une inflammation du péritoine et sont généralement d'origine infectieuse. On parle de péritonite primaire, primitive ou spontanée lorsque la source de l'infection n'est pas d'origine intestinale alors que les péritonites secondaires sont dues à une perforation ou à une nécrose d'une partie du tube digestif (133).

Le pneumocoque est responsable de péritonites primaires, étant retrouvé dans 3 à 15% de celles-ci, et plus rarement de péritonites secondaires (133–136).

Les péritonites primitives à pneumocoque (PPP) sont associées à certains facteurs de risque. En effet, elles sont retrouvées essentiellement chez le patient cirrhotique, mais également chez l'enfant avec un syndrome néphrotique ou encore chez la personne âgées présentant des ulcères gastriques (134,137–140). Par ailleurs, elles peuvent se produire beaucoup plus rarement chez des patients ne présentant aucune de ces pathologies. Dans ces cas, il s'agit presque exclusivement de femmes jeunes, présentant une infection ou un portage génital à *S.pneumoniae*. La présence d'un dispositif intra-utérin est retrouvée dans la majorité des situations. Le portage peut être également favorisé par une grossesse, un accouchement ou encore une chirurgie récente (135,137–142).

Les péritonites secondaires à pneumocoque sont beaucoup plus rares et sont très souvent associées à une appendicite (135,138–140).

Les péritonites à pneumocoque sont très souvent associées à une bactériémie (134,135,140) et ont une mortalité élevée de l'ordre de 10% (134).

#### f. Autres infections invasives

Le pneumocoque peut être responsable d'un grand nombre d'infections invasives autres que celles citées ci-dessus.

Dans un article de 2002, Ross *et al.* effectuent une revue de la littérature des cas d'infections d'arthrites septiques. Sur 9 grandes séries de cas rapportés, ils retrouvent le pneumocoque en troisième position dans 6% des cas derrière *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes* (143).

Taylor *et al.* recensent, en 1999, toutes les infections inhabituelles à pneumocoque dans la littérature anglophone depuis 1966. Ils retrouvent 2064 cas d'infections telles que des ostéomyélites, abcès de

divers organes, appendicites, cholecystites, endométrites, salpingites, bartholinites, chorioamniotites, parotidites, épiglottites, cellulites, pyomyosites, mastoïdites, nécroses pulmonaires... (144)

## 2- Infections non invasives à pneumocoque

### a. Pneumonies

*Streptococcus pneumoniae* est l'agent infectieux le plus fréquemment rencontré dans les épisodes de pneumonies aiguës communautaires. Sa fréquence oscille entre 15 et 60% des cas selon les publications sachant que dans 45 à 50% des situations, aucune étiologie n'est retrouvée. Il représente donc à lui seul généralement la moitié des étiologies infectieuses (145–154). Plusieurs méta-analyses, majoritairement européennes, ont étudié l'importance du pneumocoque dans les pneumonies de l'adulte, et le retrouvent dans 19 à 35% d'entre elles, loin devant les autres pathogènes respiratoires (Figure 20) (145,148–151). De même, il domine l'épidémiologie des pneumonies de l'enfant, étant retrouvé dans 20 à 60% des situations, bien que concurrencé par le *Virus Respiratoire Syncytial* (VRS) (152,153,155). Il est bien évidemment, et de loin, l'étiologie majeure chez la personne âgée. En 2004, une méta-analyse effectuée par Janssens *et al.* le retrouve jusque dans 58% des PAC et 30% des pneumonies associées aux soins, évoquant même quelques épidémies dans certains établissements de santé (154).

Pathogen	Denmark	Estonia	Finland	France	Ireland	Italy	Slovenia	Spain	Switzerland	Netherlands	Turkey	UK	Germany
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	26.1	25.8	68.3	37.2	37	11.9	17.7	33.7	48.9	44.5	25.5	42.1	40
<i>Haemophilus influenzae</i>	10.7	2.4	6.6	10.3	18	5.1	2.9	5.3	14.6	12.3	44.9	12.3	8
<i>Legionella</i> spp.	4.3	0	0	2.0	0	4.9	2.9	12.9	8.6	6.7	0	9.1	3.1
<i>Staphylococcus</i> spp.	1.6	4.3	0	11.7	0	6.5	0	3.2	9.1	1.0	1.0	2.6	5
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1.1	12.0	4.4	3.3	10	1.0	2.9	2.7	5.5	1.0	12.2	0.8	0
Gram-negative bacilli	2.7	41.6	0	16.8	0	24.3	1.5	7.9	4.7	9.4	4.1	2.6	7
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	9.5	6.2	16.34	0.7	1.3	7.0	32.4	8.4	9.7	14.0	0	5.3	5.6
<i>Chlamydia</i> spp.	1.6	5.3	20.2	1	0	2.4	26.5	7.2	3.2	7.6	0	5.9	1.3
<i>Coxiella burnetii</i>	0	0	0	0.2	0	0.4	0	6.2	0	0.7	0	0.3	0
Viruses	6.3	0	15.9	1.7	0	11.6	0	5.9	0	16.5	0	18.6	9
No pathogen identified	59.8	52.4	39.8	35.6	39.4	67.3	39.8	56.8	67.1	35.3	40.6	38.4	NR

**Figure 20 : Fréquence d'isolement de différents pathogènes respiratoires au cours de PAC en Europe (145)**

La recherche d'antigènes solubles urinaires et les techniques de PCR ont permis d'augmenter la sensibilité de la détection du pneumocoque lors d'épisode de PAC. Néanmoins, son importance reste malgré tout sous estimée (148).

Selon une méta-analyse effectuée en 2013 par Said *et al.* et regroupant 12782 cas, les PAC à pneumocoque sont bactériémiques dans 25% des situations (150).

Le taux mortalité de cette infection est variable selon les études mais reste élevé, pouvant atteindre 46% dans certaines d'entre elles (149).

Par ailleurs, le pneumocoque est l'étiologie majeure de surinfection bactérienne au décours d'un épisode grippal. Selon une méta-analyse réalisée par Klein *et al.* en 2016 et regroupant 3215 patients issus de 27 études, il y avait présence d'une co-infection bactérienne chez les patients grippés dans 11 à 27% des situations. De plus, l'agent bactérien retrouvé était avant tout le pneumocoque (35%) devant *Staphylococcus aureus* (28%) (156).

L'utilisation successive des vaccins polysides conjugués a profondément modifié l'épidémiologie des pneumonies à *S. pneumoniae*. Tout d'abord, l'introduction du Prevenar13® semble avoir eu un impact sur le nombre de PAC global et à pneumocoque chez l'enfant. En effet, en 2014, une étude dirigée en France retrouve une diminution du nombre de PAC et de PAC à pneumocoque de respectivement 16% et 63% entre les périodes précédant et suivant l'introduction du vaccin à 13 valences (157).

Selon le rapport du CNRP de 2016, la couverture sérotypique du Prevenar13® dans les infections respiratoires est de 23%. En 2009, les sérotypes dominants étaient les sérotypes vaccinaux 19F, 3, 19A et le sérotype non vaccinal 35B. En 2013, la vaccination a provoqué la diminution des sérotypes 19F, 3 et 19A, ces derniers restant tout de même prépondérants et l'émergence de sérotypes non vaccinaux tels que les sérotypes 11A et 15A. Le sérotype 35B est, quant à lui, resté à un taux similaire à 2009 (7).

#### b. Exacerbations de (BPCO)

*S.pneumoniae* est une étiologie importante d'exacerbations de BPCO. Selon les études, il est retrouvé dans 9 à 27% des situations, derrière *H.influenzae* (13,3 à 45%). Il se place au même niveau que *P.aeruginosa* (13,3-15%) et devance *M.catarrhalis* (3,3-9%) et les entérobactéries (1-7%) (158–160). Les sérotypes majoritairement retrouvés sont les sérotypes 9V, 19F, 15A et 11A, les deux premiers étant associés à la notion d'épisodes de rechute (161).

#### c. Otites moyennes aiguës (OMA)

*S.pneumoniae* est une étiologie majeure d'OMA, tant chez l'enfant que chez l'adulte. Une méta-analyse effectuée en 2016 par Chinh *et al.* et regroupant 66 articles issus des cinq continents sur les otites moyennes de l'enfant de moins de 8 ans le démontre. En effet, le pneumocoque est retrouvé

comme le premier agent bactérien responsable d'OMA, dans chaque région et sur l'ensemble de l'étude, avec une fréquence moyenne de 27,8%. Il devance *H.influenzae* (23,1%) et *M.catarrhalis* (7%). En revanche, il se place en deuxième position derrière *H.influenzae* pour les cas d'OMA récidivante ou en situation d'échec thérapeutique et les cas d'otites moyennes avec épanchement, retrouvé dans respectivement 18,9% et 6,5% des situations. Il devance pour ses deux situations *M.catarrhalis*, qui se place en troisième position, retrouvé dans respectivement 4,1% et 5,7% des cas (8). Chez l'adulte, *S.pneumoniae* semble se positionner en deuxième position des étiologies bactériennes derrière *H.influenzae*, bien qu'il manque d'études sur le sujet (162).

Il est à noter que les OMA trouvent également des origines virales tels que les virus VRS, *Coronavirus*, *Adenovirus*, *Rhinovirus*, *Influenzavirus*, *Enterovirus* et *Parainfluenza*. D'après une étude australienne de 2009, une co-infection bactérienne et virale serait retrouvée jusque dans 70% des situations (163).

L'utilisation successive des vaccins polysides conjugués a modifié la composition sérotypes des OMA à pneumocoque, mais de manière peut être moins prévisible que dans les IIP. Avant 2002, les sérotypes 19F, 14, 6B, 19 et 23F étaient nettement majoritaires. En 2009, les sérotypes contenus dans le Prevenar7®, hormis le sérotype 19F, ont quasiment disparu. Le sérotype 19A est retrouvé dans plus de 50% des cas et le sérotype 3 émerge. En 2015, le sérotype 19A diminue énormément et tombe à 7%, le sérotype 3 continue d'augmenter pour atteindre 21% des situations et le sérotype 19F ré-augmente. Certains sérotypes vaccinaux émergent, sans tendance nette. Les sérotypes 11A, 15B/C et 15A sont retrouvés dans respectivement 8%, 6% et 5% des situations. La couverture sérotypique du Prevenar13® est de 43% en 2015 (7).

#### d. Sinusites

*S. pneumoniae* est également un pathogène retrouvé dans les étiologies des sinusites.

Pour les sinusites aiguës, il est le pathogène le plus fréquemment retrouvé devant *H.influenzae* et *M.catarrhalis* (9) bien que la tendance soit plus à une diminution du pneumocoque et une augmentation d'*H.influenzae* due à l'introduction des vaccins polysides conjugués. Les facteurs de risques de sinusites aiguës sont les infections respiratoires virales hautes et l'allergie (164).

Pour les sinusites chroniques, le pneumocoque en est également une étiologie fréquente (12-17%) tout comme *Staphylococcus aureus* (9-36%), les champignons filamenteux (11%), les germes anaérobies (8-13%), *M.catarrhalis* (6,6%) et *H.influenzae* (5,8%) (165–168).

Les facteurs de risque des sinusites chroniques sont ceux des sinusites aiguës auxquels il faut rajouter les rhinites, les troubles ciliaires, l'immunodépression et les troubles anatomiques (169).

e. Infections oculaires

*S.pneumoniae* est un agent de conjonctivite bactérienne, tout comme *Staphylococcus aureus*, qui en est l'agent étiologique majeur au niveau mondial, *H.influenzae* et *M.catarrhalis* qui sont prépondérants chez l'enfant, les entérobactéries telles qu'*E.coli* et *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* et le gonocoque, responsable quant à lui de conjonctivite du nouveau-né.

Les staphylocoques à coagulase négative, comme dans une moindre mesure les Streptocoques alpha-hémolytiques, sont souvent isolés dans les prélèvements oculaires, mais leur réelles pathogénicités restent à démontrer (170,171).

Chez l'enfant, *S.pneumoniae* est la deuxième étiologie bactérienne de conjonctivites, retrouvé dans 7 à 44% des cas, derrière *H.influenzae* (44-68%) et devant *M.catarrhalis* (1-19%). Une co-infection par deux voire trois de ces germes n'est pas rare. Dans une étude de 2014, Sugita *et al.* la retrouvent dans 19% des situations (Figure 21).

Le pneumocoque est également responsable de 12 à 20% des syndromes otites-conjonctivites de l'enfant, derrière *H. influenzae* (20-73%) (172).

Pathogens	No. of isolates (%)		
	Conjunctiva exudates	Middle ear fluids	Nasopharyngeal swabs
<i>H. influenzae</i> alone	55 (50.5%)	47 (42.7%)	27 (24.5%)
<i>S. pneumoniae</i> alone	18 (16.4%)	18 (16.4%)	10 (9.1%)
<i>M. catarrhalis</i> alone	9 (8.2%)	6 (5.5%)	6 (5.5%)
<i>H. influenzae</i> + <i>S. pneumoniae</i>	6 (5.5%)	0 (0%)	10 (9.1%)
<i>H. influenzae</i> + <i>M. catarrhalis</i>	5 (4.5%)	2 (1.8%)	17 (15.5%)
<i>S. pneumoniae</i> + <i>M. catarrhalis</i>	5 (4.5%)	1 (0.9%)	9 (8.2%)
<i>H. influenzae</i> + <i>S. pneumoniae</i> + <i>M. catarrhalis</i>	2 (1.8%)	0 (0%)	31 (28.2%)
Others	1 (0.9%)	6 (5.5%)	0 (0%)
Negative	9 (8.2%)	30 (27.3%)	0 (0%)
Total	110 (100%)	110 (100%)	110 (100%)

Figure 21 : Etiologies du syndrome otite-conjonctivite chez l'enfant (172)

Par ailleurs, la pathogénicité oculaire du pneumocoque ne s'arrête pas à la conjonctivite. Selon une méta-analyse effectuée en 2017 et portant sur les infections bactérienne de la sphère oculaire, il est retrouvé dans 3,6 à 9% des blépharites, 6,5% des dacryocystite, 1,3 à 24,7% des kératites et 21 à 31,3% des endophtalmies (171). De plus, une revue de la littérature des cas d'endophtalmies bactériennes endogènes (endophtalmie dont le point de départ est une bactériémie), publiée en

2003, place le pneumocoque en 6ème étiologie de cette infection, retrouvé dans 6,5% des cas (173). Enfin, il est intéressant de noter que les infections oculaires, et plus particulièrement les conjonctivites, sont les infections pour lesquelles on retrouve le taux le plus élevé de pneumocoque non capsulés (174–176). Selon une étude publiée en 2013 évaluant l'évolution des sérotypes retrouvés dans des prélèvements de conjonctivites entre 1999 et 2010, le taux de pneumocoque non sérotypables et confirmés comme non capsulés par PCR est de 34,8%. Ce taux est stable tout au long de l'étude (174).

#### f. Autres infections non invasives

Dans leur article de 1999, Taylor *et al.* recensent les différentes infections inhabituelles à pneumocoque. Parmi les nombreuses infections non invasives recensées, on peut citer les infections urinaires, les laryngites, les trachéites... (144)

## V- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

### A- Méthodes d'étude de la sensibilité aux antibiotiques (177)

#### 1- Concentration minimale inhibitrice (CMI)

C'est la méthode de référence pour déterminer la sensibilité d'une espèce bactérienne à un antibiotique. Elle se définit comme la plus faible concentration d'antibiotique nécessaire à l'inhibition de toute croissance bactérienne visible in vitro. C'est une valeur quantitative, exprimée en mg/L, qui peut être interprétée de manière qualitative, définissant ainsi trois catégories cliniques :

- Sensible (S) : la CMI est inférieure ou égale à la concentration critique basse  $c$  qui correspond aux concentrations sériques attendues avec des posologies usuelles. La probabilité de succès thérapeutique est forte.
- Résistant (R) : la CMI est strictement supérieure à la concentration critique haute  $C$ . La probabilité d'échec thérapeutique est forte.
- Intermédiaire (I) : la CMI est strictement supérieure à la concentration critique basse  $c$  mais inférieure ou égale à la concentration critique haute  $C$ . La probabilité de succès thérapeutique n'est forte qu'en cas de traitement systémique, d'utilisation de forte dose ou lorsque l'antibiotique se concentre au site d'infection.

La technique de référence pour la détermination des CMI de *S. pneumoniae* est la méthode de dilution en milieu gélosé. D'autres techniques sont également disponibles comme la méthode des E-tests ou encore la méthode de dilution en milieu liquide sur des microplaques de 96 puits. Les milieux utilisés sont des géloses ou des bouillons Mueller-Hinton additionnés de 5% de sang de cheval défibriné et de 20 mg/L de  $\beta$  NAD.

#### 2- Antibiogramme

C'est la méthode la plus largement utilisée pour déterminer la sensibilité d'une espèce bactérienne à un panel d'antibiotiques. L'antibiogramme de référence se fait en milieu gélosé Mueller-Hinton additionnés de 5% de sang de cheval défibriné et de 20 mg/L de  $\beta$  NAD. La lecture des diamètres d'inhibition permet de définir 3 catégories cliniques :

- Sensible (S) : Le diamètre d'inhibition mesuré est supérieur ou égale au diamètre critique supérieur  $D$ .

- Résistant (R): Le diamètre d'inhibition mesuré est inférieur strict au diamètre critique inférieur d
- Intermédiaire (I) : Le diamètre critique mesuré est inférieur au diamètre critique supérieur D et supérieur ou égal au diamètre critique inférieur d

Le CASFM publie chaque année, en collaboration avec l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), des recommandations pour l'interprétation des profils de sensibilités des principales espèces bactériennes rencontrées en bactériologie clinique. Les diamètres et concentrations critiques d'une majorité de ces espèces figurent dans ces recommandations. Lorsqu'il n'existe pas de diamètres ou concentrations critiques pour une espèce, il faut alors se référer aux concentrations critiques PK/PD (178).

Le CASFM définit les listes standard et complémentaire des antibiotiques à tester pour l'étude de *S.pneumoniae* dans ses recommandations annuelles (Figure 22) (179).

Liste standard	Liste complémentaire
Pénicilline G Ampicilline ou amoxicilline Céfotaxime ou ceftriaxone Oxacilline <sup>1</sup> Erythromycine Clindamycine ou lincomycine Pristinamycine Tétracycline Tétracycline Norfloxacine <sup>1</sup> Fluoroquinolone Vancomycine ou teicoplanine ( <sup>1</sup> lecture interprétative)	Autres bêta-lactamines Doxycycline Chloramphénicol Rifampicine Cotrimoxazole Gentamicine

**Figure 22 : Listes standard et complémentaire des antibiotiques à tester pour *S.pneumoniae* (179)**

#### B- Résistances naturelles (180)

Comme toutes les bactéries à Gram positif, *S.pneumoniae* est naturellement résistant au mécillinam, à l'aztréonam, à la ceftazidime, à l'acide nalidixique et à la colistine. En tant que streptocoque, il résiste également à l'acide fusidique, à la pefloxacine et à bas niveau aux aminosides.

## C- Résistances acquises

### 1- Bêta-lactamines

Les bêta-lactamines sont composées des pénicillines, des céphalosporines, des monobactams et des carbapénèmes. Leur structure chimique s'apparente au D-Alanyl-D-alanine du peptidoglycane de la paroi bactérienne. Leur mécanisme d'action résulte en une liaison covalente avec les Protéines Liant les Pénicillines (PLP), qui sont des transpeptidases permettant la synthèse de la paroi bactérienne. Sans cette activité enzymatique, la bactérie active une hydrolase qui provoque la lyse bactérienne (181). Elles ont donc une activité bactéricide. Chaque bêta-lactamine agit sur des PLP bien définies (182).

*S.pneumoniae* est un germe naturellement sensible à l'ensemble des bêta-lactamines avec des CMI très basses comprises entre 0,004 et 0,06 mg/L pour la pénicilline G, l'amoxicilline et le céfotaxime. Cependant, il a su développer des résistances au cours de l'utilisation de ces antibiotiques. Les premières souches de sensibilité diminuée à la pénicilline sont mises en évidence en laboratoire en 1943 puis sont constatées chez l'homme en 1967 en Australie. Les CMI mesurées sont alors 50 fois supérieures à celles des souches sensibles. En 1977, des souches beaucoup plus résistantes avec des CMI 1000 fois supérieures à celles des souches sensibles sont mises en évidence. Les premiers Pneumocoque de sensibilité Diminuée à la Pénicilline (PSDP) en France sont isolés en 1979 (182).

Le pneumocoque possède six PLP : 1A, 1B, 2A, 2B, 2X, 3. Plusieurs mécanismes de résistance ont été utilisés par ce germe. Tout d'abord, il peut s'opérer des mutations ponctuelles, comme des substitutions, au niveau des gènes codant pour les PLP, 2B (183) ou 2X (184) par exemple. Par ailleurs, le pneumocoque est capable d'effectuer des recombinaisons génétiques en intégrant dans son génome des fragments d'ADN issus d'espèces génétiquement proches, tels que les gènes ou fragments de gènes codant pour les PLP des espèces *S.mitis* et *S.oralis*. Par ce phénomène, il se constitue des PLP dites mosaïques car issus de gènes de plusieurs espèces bactériennes. Il est intéressant de noter que cette diminution de sensibilité aux bêta-lactamines peut se faire à l'aide de fragments intégrés d'espèces sensibles à ces antibiotiques (185). Ainsi, en fonction du nombre et de la nature des PLP modifiées, chaque bêta lactamine sera touchée à un degré différent (182).

Selon les recommandations du CASFM, le dépistage de la résistance du pneumocoque aux bêta-lactamines se fait à l'aide d'un disque d'oxaciline 1µg. Si le diamètre d'inhibition autour du disque après 24h d'incubation est supérieur ou égal à 20mm, la souche est catégorisée comme sensible pour l'ensemble des bêta-lactamines pour lesquelles une catégorisation clinique est indiquée. En

revanche, si le diamètre est strictement inférieur à 20mm, la sensibilité de chaque bêta-lactamine sera évaluée par la mesure de sa CMI, sauf s'il s'agit d'un LCR, la souche sera alors d'emblée catégorisée résistante à la pénicilline G (179).

En France, depuis le lancement du plan antibiotique en 2001 et l'introduction des vaccins polysides conjugués à partir de 2003, le taux de PSDP ne cesse de diminuer. Après avoir atteint un taux record de 55% en 2001, ce taux a constamment diminué pour atteindre 26% en 2013 et semble stable depuis. (Figure 23 et 24) (7,186–189).

Avec la même dynamique, les proportions des souches de sensibilité diminuée à l'amoxicilline et au céfotaxime ont progressivement diminué pour atteindre respectivement 9,8% et 3,2% en 2015 (Figure 24) (7,186–189).

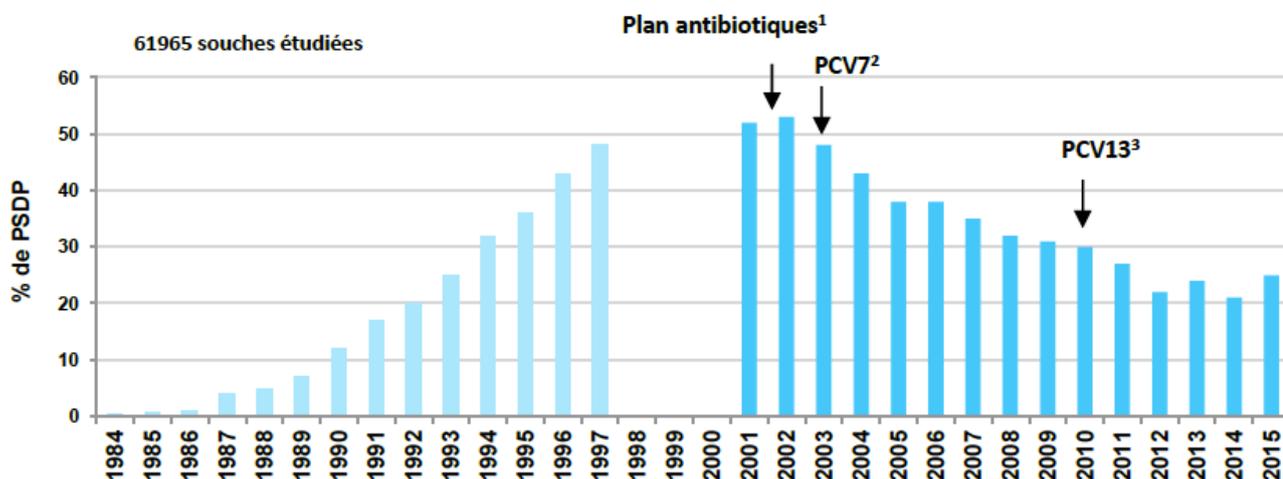
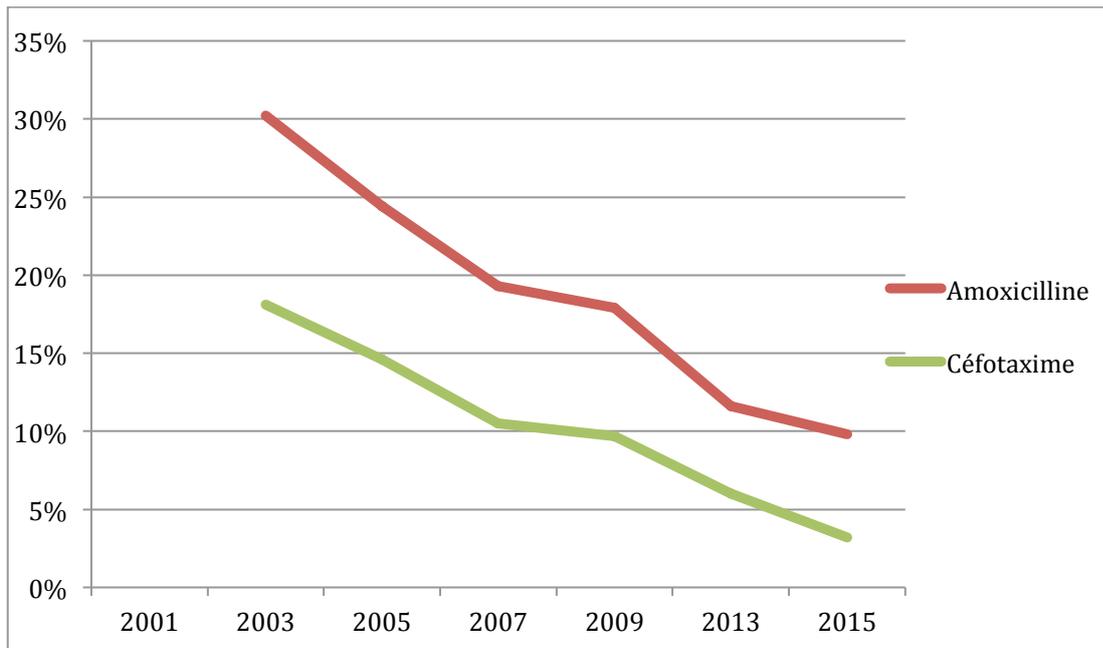
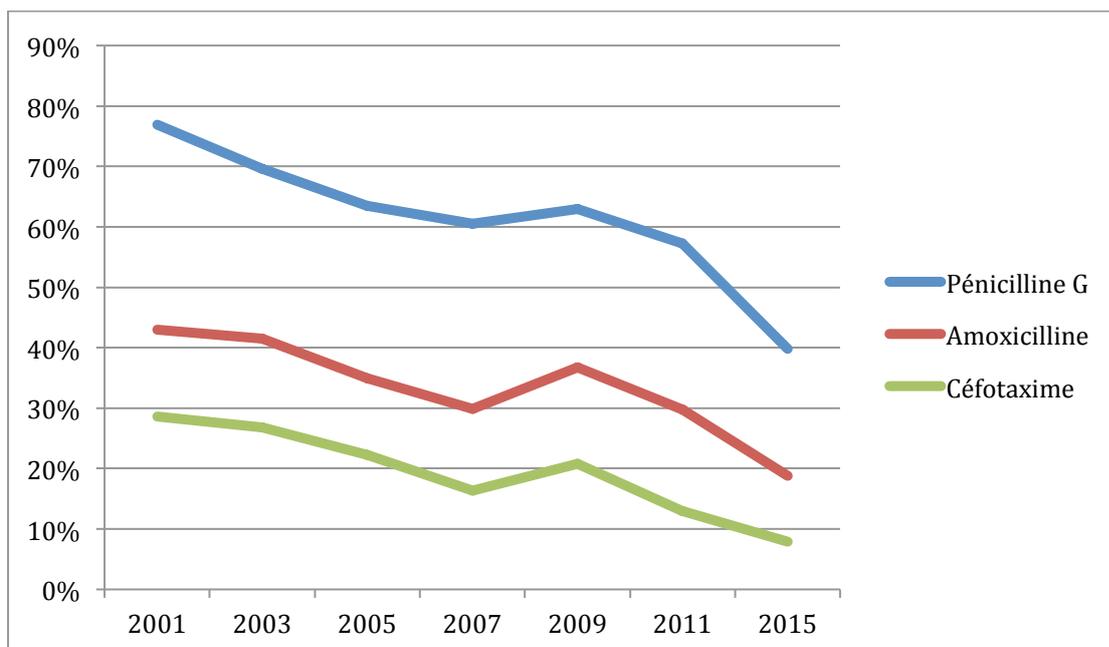


Figure 23 : Evolution du taux de PSDP en France entre 1984 et 2015 (7)



**Figure 24 : Evolution de la résistance de *S.pneumoniae* à l'amoxicilline et au céfotaxime en France (7,186–189)**

Dans les prélèvements respiratoires et de la sphère ORL, le taux de pneumocoque de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines est nettement plus élevé, bien que cela se soit également amélioré ces dernières années. Les taux respectifs de pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline, à l'amoxicilline et au céfotaxime dans les prélèvements d'OMA chez l'enfant étaient de 76,9%, 43%, 28,6% en 2001. Malgré une nette et constante diminution, ils restaient élevés à 39,8%, 18,8% et 7,9% en 2015 (Figure 25) (7,190).



**Figure 25 : Evolution de la résistance aux bêta-lactamines de *S.pneumoniae* dans les prélèvements respiratoires en France (7,190)**

En 2015, la résistance du pneumocoques aux bêta-lactamines est portée essentiellement par quelques sérotypes vaccinaux comme le 19A (20,6% des PSDP) ou le 19F (12,3%), mais aussi par des sérotypes non vaccinaux émergents comme les sérotypes 15A (18,4%), 24F (12,3%), ou encore 35B (6,1%) (7,88,191). Sur une étude dirigée en France entre 2008 et 2012 par Janoir *et al.*, plus de 89% et 83% des souches de sérotypes 35B et 15A étaient de sensibilité diminuée à la pénicilline. L'émergence de ces sérotypes résistants explique ainsi pourquoi la forte diminution du sérotype 19A à partir de 2011 n'a été associée qu'à une légère diminution du taux de PSDP (191).

## 2- Macrolides et apparentés

Les macrolides sont des macrocycles lactoniques composés de :

- 14 atomes : Erythromycine, Roxithromycine, Clarithromycine
- 15 atomes : Azithromycine
- 16 atomes : Spiramycine, Josamycine, Midécamycine

Les apparentés aux macrolides renferment quant à eux :

- les Kétolides (Télithromycine)
- les Lincosamides (Lincomycine, Clindamycine)
- les Synergistines qui sont toujours composées d'une streptogramine a (Pristinamycine II ou Quinupristine) et d'une streptogramine b (Pristinamycine I ou Dalfopristine) pour former les associations Pristinamycine I+II et Quinupristine + Dalfopristine.

Ces molécules agissent par liaison réversible au niveau du site P de la sous unité 50S du ribosome bactérien. Cela entraîne un blocage du transfert du complexe peptidyl/ARNt du site P vers le site A, provoquant un arrêt de l'élongation de la chaîne peptidique et donc de la synthèse protéique. Ces sont donc des antibiotiques à activité bactériostatique, à l'exception des synergistines qui sont bactéricides (182,192).

*S.pneumoniae* a développé des mécanismes de résistance vis à vis de cette classe d'antibiotiques. Le plus fréquent d'entre eux est une modification de la cible par méthylation d'une adénine de l'ARN 23S de la sous unité 50S du ribosome bactérien. Ce mécanisme est sous la dépendance du gène ermB ou plus rarement du gène ermA. Il est très souvent inductible par les lincosamides et parfois constitutif. L'autre mécanisme majeur est un efflux dicté par le gène mefE. Il existe enfin des mécanismes plus anecdotiques comme des mutations ribosomales (182).

Afin de déterminer le profil de résistance d'une souche de pneumocoque aux macrolides, le CASFM préconise de tester l'érythromycine 15 µg, la clindamycine 2 µg ou la lincomycine 15 µg, la pristinamycine 15 µg et la télithromycine 15 µg (179).

Tout d'abord, si la souche est isolément résistante à l'érythromycine sans image d'antagonisme avec le lincosamide testé sur l'antibiogramme en gélose, il s'agit du mécanisme d'efflux. On parle alors de phénotype M. La souche doit être catégorisée comme résistante à tous les macrolides à 14 et 15 atomes. En revanche, la souche est sensible aux macrolides à 16C, aux lincosamides, à la télithromycine et aux synergistines (Figure 26).

Par ailleurs, si la résistance isolée à l'érythromycine est associée à une image d'antagonisme entre l'érythromycine et le lincosamide testé, il s'agit de méthylation de la cible. On parle de phénotype MLSb inductible. La souche est alors catégorisée résistante à tous les macrolides et aux lincosamides. La télithromycine et l'association des synergistines, bien que la synergistine b soit touchée, restent efficaces (Figure 26).

Enfin, si la résistance à l'érythromycine est associée à une résistance aux lincosamides et à la télithromycine, il s'agit également d'un phénomène de méthylation. On parle de phénotype MLSb constitutif. La souche est rendue résistante à tous les macrolides, aux lincosamides et à la télithromycine. L'association des synergistines reste sensible. La résistance à la télithromycine doit être confirmée en atmosphère aérobie car cette molécule est sensible et donc moins efficace en milieu acide (182).



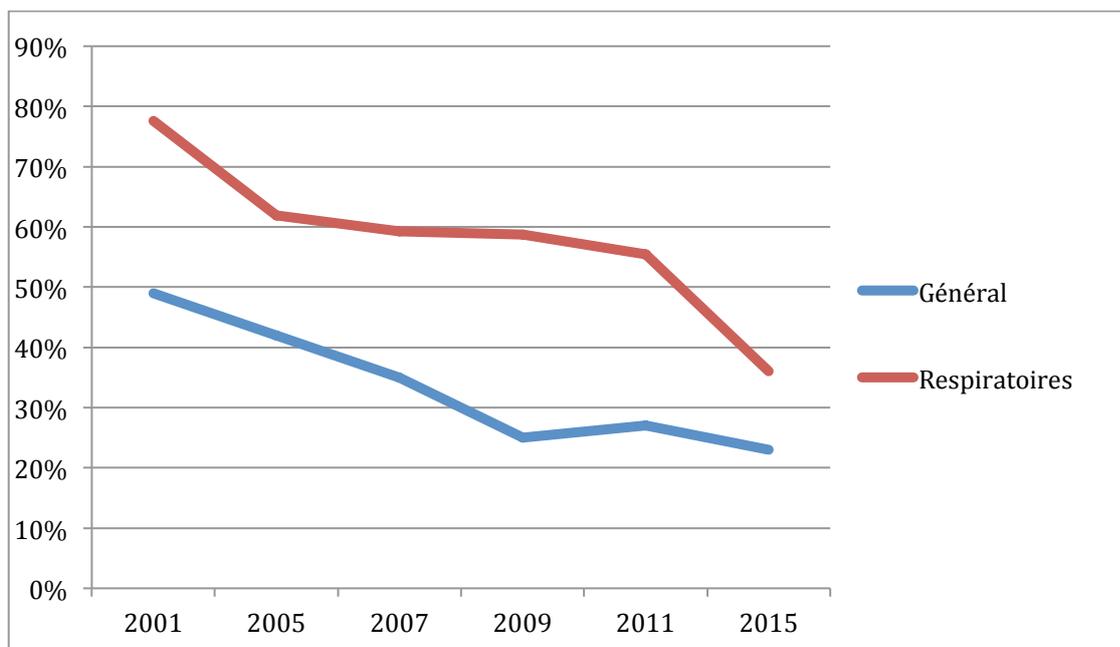
**Figure 26 : Phénotype MLSb inducible (à gauche) et phénotype M (à droite) de deux souches de *S.pneumoniae* (182)**

Le taux de pneumocoque de sensibilité diminuée à l'érythromycine a diminué entre 2001 et 2009 suite à l'introduction du vaccin heptavalent, passant de 49% en 2001 à 25% en 2009. Il a ensuite augmenté jusqu'à 30% en 2013 avant de redescendre à 23% en 2015 (Figure 27) (7).

Dans les prélèvements d'OMA, ce taux est plus élevé mais a constamment diminué, passant de 77,6% en 2001 à 36% en 2015 (Figure 27) (7,190).

Selon le rapport du CNRP de 2016, le mécanisme de résistance à l'érythromycine très largement majoritaire à plus de 95% est de type MLSb. La résistance aux macrolides est très fortement associée à celle aux bêta-lactamines car 78,5% des PSDP sont résistants à l'érythromycine. La résistance à la télithromycine est de 1,1%, par phénotype MLSb constitutif, et aucune souche résistante à la pristinamycine n'a été isolée (7).

La sensibilité diminuée du pneumocoque aux macrolides est très importante chez certains sérotypes vaccinaux, tels que les sérotypes 14, 19A et 19F mais aussi certaines sérotypes non vaccinaux tels que les sérotypes 6C, 15A, 24F et 33F (7).



**Figure 27 : Evolution du taux de souches de *S.pneumoniae* de sensibilité diminuée à l'érythromycine en général et dans les prélèvements respiratoires en France (7,190)**

### 3- Quinolones

Les quinolones sont une classe d'antibiotiques divisés en 3 groupes:

- Quinolones de 1ère génération : Acide Nalidixique
- Quinolones de 2ème génération ou Fluoroquinolones : Norfloxacin, Ofloxacin, Ciprofloxacin, Loméfloxacin
- Quinolones de 3ème génération ou Fluoroquinolones anti-pneumococciques : Lévofoxacin et Moxifloxacin

Les cibles des fluoroquinolones (FQ) sont les topoisomérase de classe II : l'ADN gyrase, codée par les gènes GyrA et GyrB, et la topoisomérase IV, codée par les gènes ParC et ParE. Elles sont responsables respectivement de l'enroulement et du dénouement de la molécule d'ADN.

Les quinolones viennent former un complexe tertiaire avec l'ADN et l'une des deux topoisomérase de classe II rendant leur action impossible. Cela provoque l'arrêt de la réplication de l'ADN bactérien et la libération de fragments d'ADN double brin qui va déclencher un phénomène d'apoptose. Ce sont donc des antibiotiques à activité bactéricide (193).

*S.pneumoniae* peut développer des mécanismes de résistance aux FQ. Tout d'abord, le pneumocoque peut utiliser de l'efflux actif afin d'empêcher l'accumulation cytoplasmique

d'antibiotique. Cet efflux peut notamment s'opérer par la surexpression des transporteurs PatA et PatB du système ABC (182,194). Par ailleurs, le pneumocoque peut provoquer des mutations dans une région des gènes des topoisomérases appelée QRDR (Quinolone Resistance Determining Region). Ces mutations sont généralement retrouvées au niveau de GyrA et de Par C (182,194–196). Enfin, il a été mis en évidence, à l'instar de la résistance aux bêta-lactamines, un transfert horizontal de fragments de gènes issus des régions QRDR de Streptocoques oraux, tels que *S.mitis* et *S.oralis*, vers le pneumocoque. Cela aboutit à la création de régions QRDR mosaïques. Dans un article de 2003, Balsalobre *et al.* démontrent que ce phénomène confère aux 46 souches de pneumocoque étudiées une résistance à la ciprofloxacine (197).

Etant donné que, chez les bactéries à gram positif, l'affinité des FQ est plus importante pour la topoisomérase IV que pour l'ADN gyrase, les mutations dans les régions QRDR s'effectuent généralement d'abord sur ParC puis sur GyrA (195,196).

En fonction du nombre et de la nature des mécanismes de résistance mis en place, le niveau de résistance aux FQ sera plus ou moins élevé. S'il n'y a présence que d'efflux ou d'une seule mutation dans la région QRDR, la souche sera à bas niveau de résistance pour les FQ. Les CMI de la lévofloxacine et de la moxifloxacine ne différeront pas de celles des souches sauvages. En revanche, s'il y a association de deux mutations au niveau GyrA et ParC, alors la souche sera à haut niveau de résistance pour les FQ. Les CMI de la lévofloxacine et de la moxifloxacine seront élevées par rapport à celle des souches sauvages (182,195,196).

Le CASFM recommande le dépistage de la résistance aux FQ à l'aide d'un disque de norfloxacine 10 µg. Si le diamètre d'inhibition autour de ce disque est supérieur ou égal à 12mm, la souche est catégorisée sensible aux FQ. Si le diamètre est strictement inférieur à 12mm, les CMI de la lévofloxacine et de la moxifloxacine doivent être mesurées. Si les CMI de ces deux molécules rendent la souche sensible, celle-ci doit être catégorisée comme de sensibilité diminuée. Il s'agit d'une résistance de bas niveau aux FQ et le risque d'échec thérapeutique par sélection de mutants résistants est élevé. Si les CMI de ces deux molécules sont élevées, il s'agit alors d'une résistance de haut niveau aux FQ (179).

En France, depuis 2001, il a été constaté une augmentation de la résistance à bas niveau au FQ, passant de 0,9% en 2002, 1,4% en 2008 et enfin 6,9% en 2015. Cette résistance à bas niveau est très largement due à de l'efflux (81% des cas). La résistance de haut niveau aux FQ est stable depuis 2001, autour de 0,3% (7,49,198).

#### 4- Cotrimoxazole (Sulfaméthoxazole-Triméthoprimine)

Le sulfaméthoxazole est une molécule antibiotique qui appartient à la famille des sulfamides antibactériens. Son mécanisme d'action résulte dans le blocage de la dihydroptéroate synthétase. Le triméthoprimine agit quant à lui en bloquant la dihydrofolate réductase. Ces deux enzymes participent à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques à partir de l'acide paraaminobenzoïque. Ils ont une activité bactériostatique. Leur association, quant à elle, possède une activité bactéricide (Figure 28) (199).

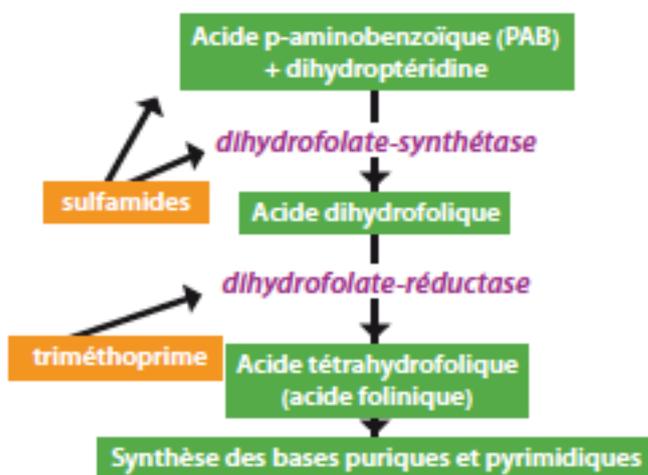


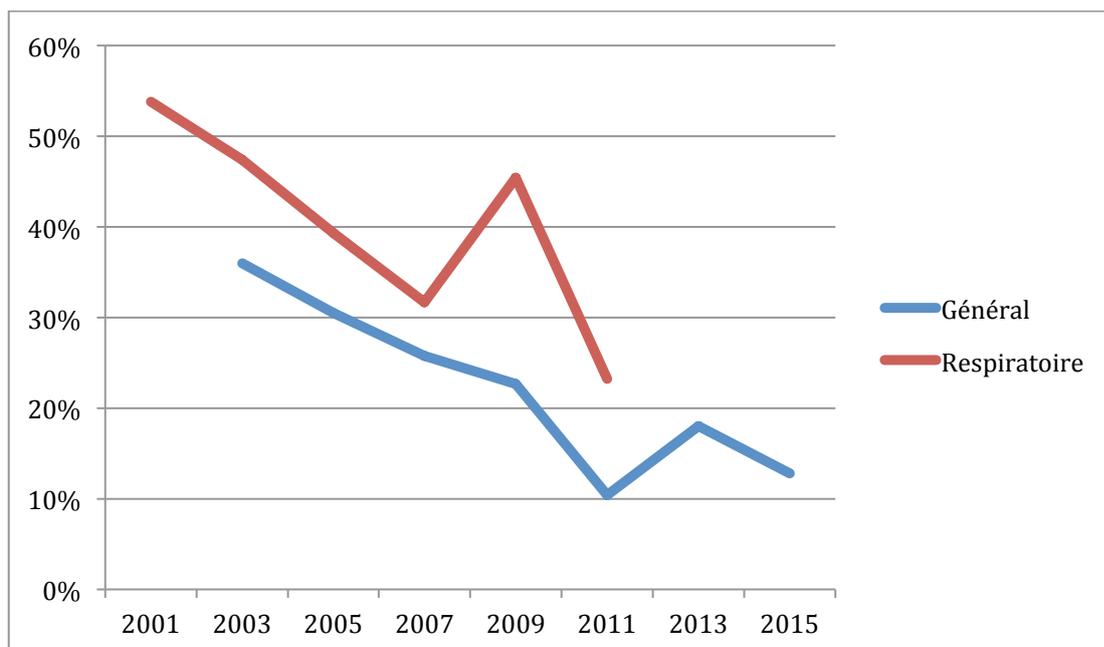
Figure 28 : Mécanismes d'action des sulfamides et du triméthoprimine (199)

*Streptococcus pneumoniae* a développé des résistances contre ces deux antibiotiques et leur association en provoquant des mutations au sein des gènes codant pour la dihydroptéroate synthétase et la dihydrofolate réductase (182).

Le dépistage de la résistance au cotrimoxazole se fait à l'aide d'un disque de triméthoprimine 1,25µg -sulfaméthoxazole 23,75 µg (rapport 1 :19) (179).

Le taux de souches de pneumocoque de sensibilité diminuée au cotrimoxazole a régressé entre 2003 et 2011, passant de 36% à 10,4%. Elle était de 12,8% en 2015. Dans les prélèvements respiratoires, ce taux est plus élevé mais a suivi la même cinétique (Figure 29) (7,187–189,191).

Certains sérotypes présentent un taux élevé de résistance au cotrimoxazole comme les sérotypes 12F et 24F (7)



**Figure 29 : Evolution du taux des souches de *S.pneumoniae* de sensibilité diminuée au Cotrimoxazole en général et dans les prélèvements respiratoires en France (7,190)**

#### 5- Tétracyclines

Les tétracyclines sont une famille d'antibiotiques bactériostatiques divisée en 3 groupes :

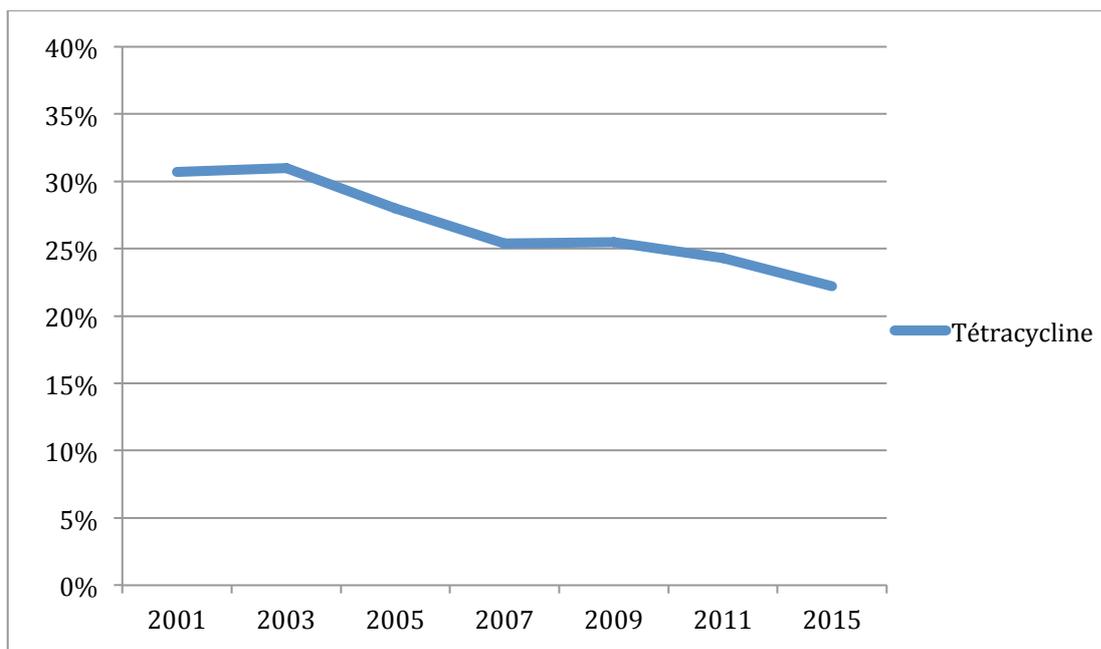
- Tétracyclines de 1ère génération : Tétracycline
- Tétracyclines de 2ème génération : Doxycycline, Minocycline
- Glycylcycline : Tigécycline

Elles agissent par fixation sur la sous unité 30S du ribosome bactérien, empêchant la fixation du complexe peptidyl/ARNt sur le site A. Cela provoque un arrêt de l'élongation peptidique et donc de la synthèse protéique (200).

*S.pneumoniae* a su développer des mécanismes de résistance à cette classe d'antibiotique par l'acquisition de mutation au niveau du gène TetM (182).

Le dépistage de la résistance aux tétracyclines se fait à l'aide d'un disque de tétracycline 30 µg. Si la souche est sensible à la tétracycline, alors elle l'est à la doxycycline et à la minocycline. En revanche, si la souche apparaît résistante à la tétracycline, alors la mesure de la CMI de la doxycycline s'avère nécessaire (179)

Entre 2001 et 2015, le taux de souches de pneumocoque de sensibilité diminuée aux tétracyclines a légèrement mais constamment diminué, passant de 30,7% à 22,2% (Figure 30) (7,49,188,189,191,198).



**Figure 30 : Evolution du taux des souches de *S.pneumoniae* de sensibilité diminuée à la tétracycline en France (7,49,188,189,191,198)**

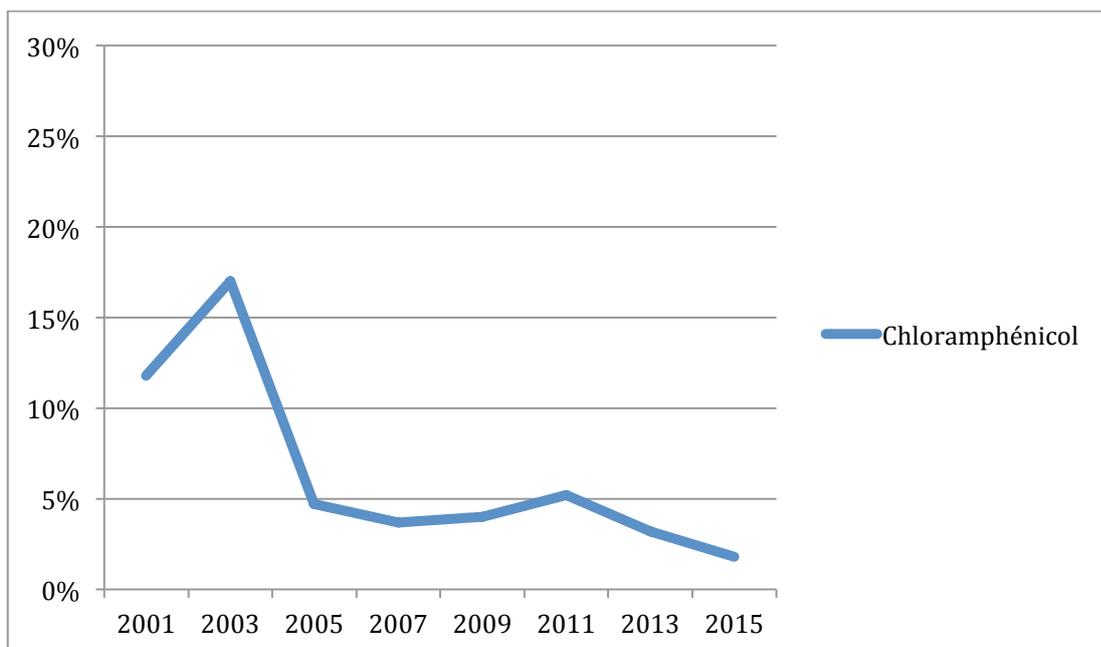
#### 6- Chloramphénicol

Le chloramphénicol appartient à la famille des phénicolés. Il exerce une action bactériostatique en se fixant à la sous unité 50S du ribosome bactérien. Cela entraîne un arrêt de l'élongation de la chaîne peptidique et donc de la synthèse protéique (201).

*S.pneumoniae* a développé un mécanisme de résistance au chloramphénicol par inactivation enzymatique. En effet, le pneumocoque peut acquérir un transposon qui porte un gène, dénommé *catP*, qui code pour une chloramphénicol-acétyltransférase. Celle-ci transforme l'antibiotique en un dérivé inactif (182,201).

La détection de cette résistance se fait par l'utilisation d'un disque de chloramphénicol 30 µg (179). En France, la résistance au chloramphénicol du pneumocoque a diminué depuis 2003, passant de 17% à 1,8% en 2015 (Figure 31) (7,49,198).

Certains sérotypes, comme le sérotype 12F, sont associés à un taux élevé de résistance au chloramphénicol (7).



**Figure 31 : Evolution de la résistance de *S.pneumoniae* au chloramphénicol en France (7,49,198)**

#### 7- Rifampicine

La rifampicine est un antibiotique appartenant à la famille des rifamycines. Elle agit en inhibant l'ARN polymérase ADN dépendante de la bactérie ce qui aboutit à un arrêt de la transcription et donc de la synthèse protéique (202). Le pneumocoque est capable de développer des résistances à cet antibiotique grâce à l'acquisition de mutations au sein du gène *rpoB* codant pour l'ARN polymérase ADN dépendante (182)

La détection de la résistance se fait à l'aide d'un disque de rifampicine 5 µg (179).

Le taux de souches de pneumocoque résistante à la rifampicine est stable en France entre 2001 et 2015, n'excédant pas 0,4% (7,49,198).

#### 8- Aminosides

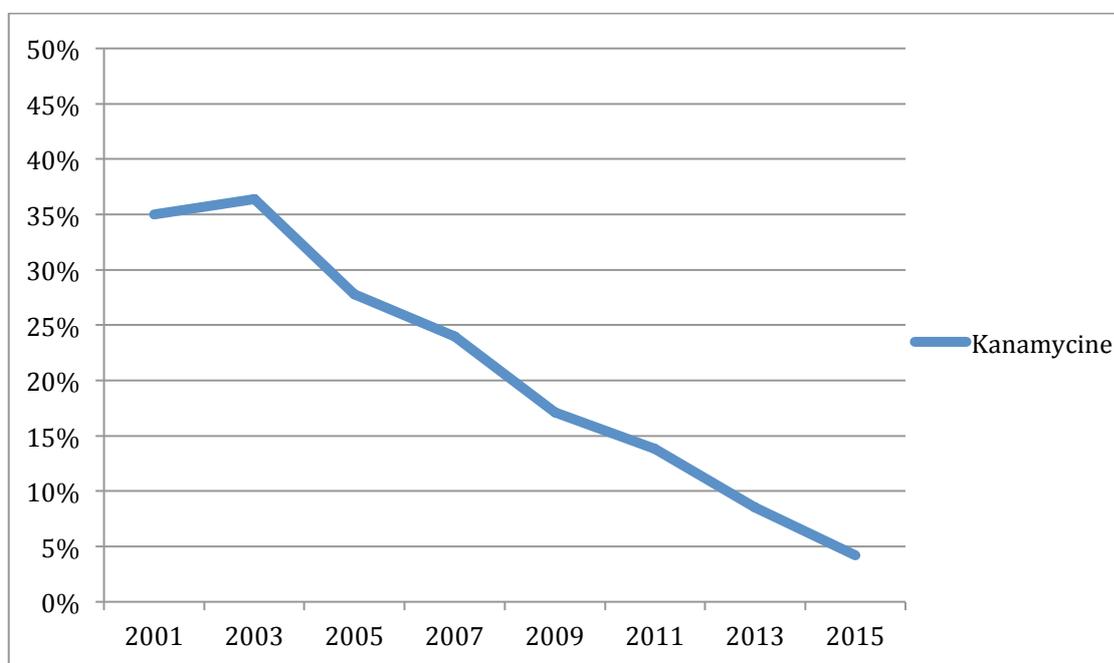
Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides. Ils agissent par fixation au niveau du site A sur la sous unité 30S du ribosome bactérien. Celle-ci empêche le transfert du complexe peptidyl/ARNt du site A vers le site P et provoque donc l'arrêt de la synthèse protéique. Ils provoquent par ailleurs des erreurs de lecture des codons d'ARNm aboutissant à des protéines aberrantes. L'accumulation de ces molécules au sein de la bactérie engendre un phénomène d'apoptose (203).

Le pneumocoque possède une résistance de bas niveau aux aminosides, étant dépourvu de chaîne respiratoire et donc des transporteurs nécessaires aux aminosides pour pénétrer dans le cytoplasme.

Par ailleurs, il est capable de développer une résistance de haut niveau à ces antibiotiques, essentiellement par inactivation enzymatique (182,203).

La détection de la résistance de haut niveau aux aminosides se fait à l'aide d'un disque de gentamicine fortement chargé (500 µg). Si le diamètre d'inhibition autour du disque est supérieur ou égal à 17mm, alors la souche est catégorisée « à bas niveau de résistance » à la gentamicine. Les autres aminosides peuvent avoir des sensibilités différentes. Si le diamètre d'inhibition autour du disque est strictement inférieur à 17mm, alors la souche est catégorisée « à haut niveau de résistance à l'ensemble des aminosides" (179).

En France, entre 2001 et 2015, la résistance de haut niveau à la Kanamycine a fortement diminué, passant de 35% à 4,2%. Aucune souche de résistance à haut niveau à la gentamicine n'a été envoyée au CNRP depuis 2001 (Figure 32) (7,49,198).



**Figure 32 : Evolution de la résistance de *S.pneumoniae* à la kanamycine en France (7,49,198)**

### 9- Glycopeptides

Les glycopeptides sont une famille d'antibiotiques bactéricides. Ils agissent par inhibition de la synthèse du peptidoglycane et donc de la paroi bactérienne, ce qui provoque une lyse bactérienne (204).

Aucune souche de pneumocoque résistant à la vancomycine n'a été identifiée mais certaines souches tolérantes ont été signalées. Cette tolérance résulte d'un mécanisme complexe impliquant

une mutation sur le gène d'une phosphatase, dénommée VncS et chargée de transmettre le signal d'autolyse (205,206).

La détection de la résistance aux glycopeptides se fait par l'utilisation de disque de vancomycine 5 µg et de téicoplanine 30 µg (179).

#### 10- Linézolide

Le linézolide est un antibiotique de la famille des oxazolidinones. Il agit en bloquant la formation du complexe d'initiation 70S de la traduction, empêchant ainsi la synthèse protéique.

D'exceptionnelles souches de pneumocoque résistantes au linézolide ont été isolées. La résistance ferait intervenir une mutation dans un gène impliqué dans la synthèse d'une protéine ribosomale (182).

La détection de la résistance se fait à l'aide d'un disque de linézolide 10 µg (179).

## 11- Multi-résistance

La multi-résistance est définie comme la résistance simultanée à 3 familles d'antibiotiques. En 2015, elle concernait 17% des souches de pneumocoques étudiées par le CNRP. Elle a constamment diminué depuis 2003 et l'introduction des vaccins polysaccharidiques conjugués (Figure 33). Elle est permise par l'existence de transposons, comme par exemple Tn1545 et Tn916, qui peuvent porter plusieurs gènes de résistance aux bêta-lactamines, aux macrolides, aux tétracyclines, aux aminosides et au cotrimoxazole. Le chloramphénicol ou encore les quinolones sont des marqueurs plus indépendants de résistance (7).

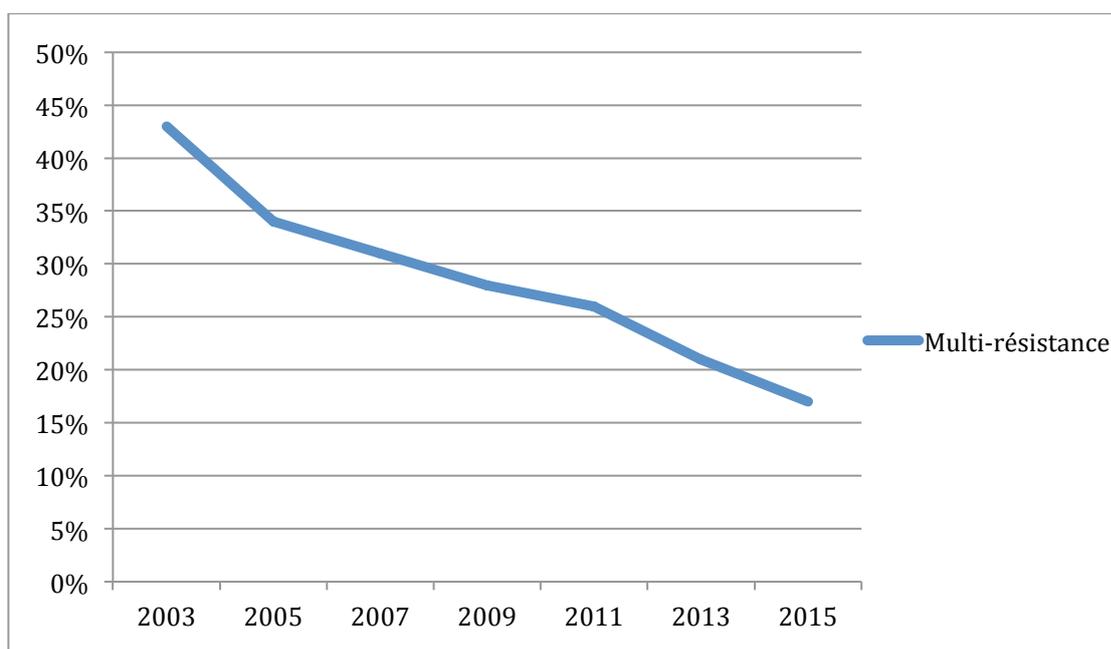


Figure 33 : Evolution de la multi-résistance de *S.pneumoniae* en France (7,49,198)

# PARTIE II : MANIPULATIONS

## I- MATÉRIELS ET MÉTHODES

### A- Souches étudiées

Nous avons étudié pour ce travail 83 souches de *S.pneumoniae* auxquelles nous avons associé les 3 souches de *S. pneumoniae* contrôles : ATCC 49619, 32 475 et R6WT. Les souches ont été isolées entre le 01 janvier et le 31 décembre 2017 par les hôpitaux partenaires de l'ORP Provence.

Les souches ont été conservées au congélateur à -80°C, puis remises en culture sur gélose au sang et incubées entre 18h et 20h à 37°C sous CO<sub>2</sub> avant manipulation.

Tout d'abord, nous avons identifié l'ensemble des souches grâce à un spectromètre de masse MALDI-TOF de la société Bruker®.

Ensuite, nous avons réalisé un antibiogramme sur chacune des souches selon la méthode de diffusion en milieu gélosé sur milieu Mueller Hinton additionné de 5% de sang de cheval et de  $\beta$ -Nicotinamide Adénine Dinucléotide ( $\beta$ -NAD) selon les recommandations du CASFM 2018 v1. L'antibiogramme en dilution a été complété par la mesure de la CMI pour les bêta-lactamines et ce par différentes techniques: bandelettes E-test (Biomérieux®) et microdilution en milieu liquide par la méthode Sensititre® commercialisée par la société Thermo Fisher Scientific®. En cas de discordance, c'est à dire un écart de CMI supérieur ou égal à deux dilutions, une mesure de la CMI en milieu liquide par la méthode de référence a été effectuée pour les souches de PSDP.

Par ailleurs, nous avons effectué le sérogroupage de ces souches par méthode d'agglutination.

### B- Tests statistiques utilisés

Dans ce travail, nous avons utilisé deux tests statistiques différents en fonction de la taille de nos effectifs théoriques. Lorsque ceux-ci étaient suffisamment élevés ( $\geq 5$ ), nous avons utilisé une loi du Khi Deux tandis que nous avons opté pour un test exact de Fisher lorsqu'ils étaient trop faibles ( $< 5$ ). Nous avons utilisé un risque de première espèce  $\alpha=5\%$  pour l'ensemble de nos tests statistiques.

## C- Identification et antibiogramme

### 1- Identification

L'identification de toutes les souches a été faite par spectrométrie de masse MALDI TOF à l'aide d'un spectromètre de la société Bruker®. Cette manipulation a été validée grâce à deux témoins : le BTS (contrôle fourni par Bruker®) et une souche d'*Escherichia coli* CIP 7624. L'identification est considérée comme correcte lorsque les 2 premiers scores donnent *S. pneumoniae* avec une valeur  $\geq 2$ .

Cependant, le spectromètre de masse différencie mal les espèces *S.pneumoniae*, *S.pseudopneumoniae*, *S.mitis*, *S.oralis* et *S.peroris*. Dans ce contexte, il est donc nécessaire de conforter l'identification obtenue par un deuxième test d'identification.

Nous avons choisi dans ce travail d'utiliser la sensibilité à l'optochine pour discriminer *S.pneumoniae* des autres Streptocoques du groupe mitis. Un disque d'optochine a donc été intégré aux antibiogrammes.

### 2- Antibiogramme

Pour la réalisation de ces antibiogrammes, nous avons suivi les recommandations du CASFM 2018 v1 (207) . A partir des colonies remises en culture sur gélose au sang, nous avons réalisé une suspension bactérienne de 0,5 McFarland. Nous avons ensuite disposé cette solution bactérienne sur une boîte carrée de milieu MHF. Pour ce faire, nous avons trempé un écouvillon dans la suspension bactérienne, l'avons essoré contre les bords du tube à hémolyse contenant la suspension, avant de l'ensemencer sur une gélose MHF carrée selon trois directions. Nous avons ensuite disposé les antibiotiques sur cette boîte selon le plan décrit en Figure 36. Les boîtes MHF ont été incubées pendant 24h à 37°C sous atmosphère enrichie de 5% de CO<sub>2</sub>. La lecture des diamètres d'inhibition a été faite par le lecteur Sirscan I2A®.

Oxacilline 1	Erythromycine 15	Cotrimoxazole 25	Tétracycline 30
Rifampicine 5	Pyostacine 15	Chloramphénicol 30	Fosfomycine 200
Vancomycine 5	Norfloxacin 10	Lévofloxacin 5	Moxifloxacin 5
Optochine			

**Figure 36 : Plan de boîte pour l'antibiogramme du Pneumocoque**

#### D- Sérogroupages

Nous avons réalisé le sérogroupage de l'ensemble des souches de pneumocoque. Pour cela, nous avons fait réagir chaque souche avec différents sérums polyvalents fournis par le CNRP dans le cadre des ORP: B, H, D, A, E et P, Q, R, S. En fonction de la réactivité de la souche avec les différents antisérums et en respectant la grille de lecture fournie dans la Figure 37 (données CNRP), nous étions en mesure de donner les principaux sérogroupes rencontrés en pathologie humaine.

Par ailleurs, 24 des souches récoltées dans le cadre de l'ORP ont été envoyées au CNRP pour sérotypage complet. Pour les autres, il a été rendu seulement le séroroupe retrouvé ou la mention « non sérogroupable » (NS) si la grille de lecture ne nous permettait pas de conclure.

Pool	P	Q	R	S
B	19	6	3	8
H	14	23	-	15
D	-	-	9	-
A	1	18	4	5
E	-	-	12	10

**Figure 37 : Grille de lecture du sérogroupage du pneumocoque**

## E- Détermination des CMI

### 1- Méthode E-test®

Nous avons utilisé des bandelettes E-test® pénicilline G, amoxicilline, céfotaxime, ceftriaxone de la société Biomérieux®. Nous avons au préalable réalisé, à partir des souches de pneumocoque remises en culture sur gélose au sang, une suspension bactérienne à 0,5 McFarland. Nous avons ensemencé cette suspension sur gélose MHF carrée selon trois directions. Nous avons ensuite disposé sur les géloses MHF les 4 bandelettes imprégnées d'un gradient d'antibiotique et nous les avons incubées pendant 24h à 37°C dans une atmosphère enrichie de 5% de CO<sub>2</sub>. Les résultats ont été lus manuellement aux 100% d'inhibition.

### 2- Méthode Sensititre®

Nous avons utilisé des plaques Sensititre® de 96 puits contenant des concentrations croissantes de pénicilline G, d'amoxicilline, de céfotaxime et de ceftriaxone sous forme lyophilisée. Une plaque permettait de réaliser les CMI de 2 souches de pneumocoque. Le plan de ces plaques est détaillé dans la Figure 38.

PG 0,008	PG 0,015	PG 0,03	PG 0,06	PG 0,12	PG 0,25	PG 0,5	PG 1	PG 2	PG 4	PG 8	PG 16
AMX 0,008	AMX 0,015	AMX 0,03	AMX 0,06	AMX 0,12	AMX 0,25	AMX 0,5	AMX 1	AMX 2	AMX 4	AMX 8	AMX 16
CTX 0,008	CTX 0,015	CTX 0,03	CTX 0,06	CTX 0,12	CTX 0,25	CTX 0,5	CTX 1	CTX 2	CTX 4	CTX 8	CTX 16
CRO 0,008	CRO 0,015	CRO 0,03	CRO 0,06	CRO 0,12	CRO 0,25	CRO 0,5	CRO 1	CRO 2	CRO 4	CRO 8	CTRL POS
PG 0,008	PG 0,015	PG 0,03	PG 0,06	PG 0,12	PG 0,25	PG 0,5	PG 1	PG 2	PG 4	PG 8	PG 16
AMX 0,008	AMX 0,015	AMX 0,03	AMX 0,06	AMX 0,12	AMX 0,25	AMX 0,5	AMX 1	AMX 2	AMX 4	AMX 8	AMX 16
CTX 0,008	CTX 0,015	CTX 0,03	CTX 0,06	CTX 0,12	CTX 0,25	CTX 0,5	CTX 1	CTX 2	CTX 4	CTX 8	CTX 16
CRO 0,008	CRO 0,015	CRO 0,03	CRO 0,06	CRO 0,12	CRO 0,25	CRO 0,5	CRO 1	CRO 2	CRO 4	CRO 8	CTRL POS

PG : Pénicilline G AMX : Amoxicilline CTX : Céfotaxime CRO : Ceftriaxone CTRL POS : Témoin positif

**Figure 38 : Disposition des dilutions d'antibiotiques au sein des plaques Sensititre®**

Cette méthode nécessite plusieurs étapes successives :

- Sortir de l'étuve les souches de pneumocoque de telle sorte à obtenir des cultures de moins de 18h afin d'éviter tout phénomène d'autolyse
- Sortir de la chambre froide les bouillons Sensititre® MH additionnés de sang de cheval lysé 20 minutes avant utilisation
- Préparer à partir des colonies de pneumocoque un inoculum à 0,5 McFarland dans du bouillon MH
- Transférer 100µl de cet inoculum dans un bouillon Sensititre®
- Verser dans un rack stérile prévu à cet effet le bouillon Sensititre®
- A l'aide d'une pipette multi-canaux et d'embouts stériles, transférer 100µl du bouillon Sensititre® dans chaque puits de la plaque correspondant aux dilutions des 4 antibiotiques ainsi que le puits contrôle. Les plaques doivent être inoculées dans les 30 minutes suivant la préparation de l'inoculum
- Sceller la plaque avec un film adhésif et incubé 18 à 20h à 37°C dans une étuve à atmosphère aérobie
- Ne pas empiler plus de 3 plaques l'une sur l'autre
- Lire le résultat des CMI grâce à l'automate Vision® connecté au logiciel de lecture SWIN®. La CMI correspond au premier puits pour lequel aucune pousse bactérienne n'est visible.

### 3- Méthode de référence par microdilution en milieu liquide

#### a. Généralités

La microdilution en milieu liquide est la nouvelle méthode de référence pour la détermination des CMI des bêta-lactamines du pneumocoque. C'est une technique non automatisée et qui nécessite la préparation au préalable des gammes d'antibiotiques, du milieu MHF et des inocula.

#### b. Préparation des gammes de concentrations d'antibiotiques

Nous sommes partis de poudre d'antibiotiques Amoxicilline 1g, Céfotaxime 1g, Ceftriaxone 1g et Pénicilline G 1MUI (soit 0,6g).

Concernant l'amoxicilline, le céfotaxime et la ceftriaxone, nous avons procédé de la manière suivante :

- Reprise de la poudre par 10 ml d'eau pour préparation injectable (Cd=100 000µg/ml)

- Dilution de cette solution (176µl dans qsp 1ml d'eau distillée) afin d'obtenir une solution de concentration  $Cd'=17\ 600\mu\text{g/ml}$
- Dilution de cette nouvelle solution au 1/100ème (40µl dans qsp 4ml d'eau distillée) afin d'obtenir une solution de concentration  $C1=176\mu\text{g/ml}$
- Réalisation d'une gamme de 10 concentrations d'antibiotiques par dilutions au 1/2 (Figure 39)

Concernant la pénicilline G, nous avons procédé de la manière suivante :

- Reprise de la poudre par 10 ml d'eau pour préparation injectable ( $Cd=60\ 000\mu\text{g/ml}$ )
- Dilution de cette solution (293µl dans qsp 1ml d'eau distillée) afin d'obtenir une solution de concentration  $Cd'=17\ 600\mu\text{g/ml}$
- Dilution de cette nouvelle solution au 1/100ème (40µl dans qsp 4ml d'eau distillée) afin d'obtenir une solution de concentration  $C1=176\mu\text{g/ml}$
- Réalisation d'une gamme de 10 concentrations d'antibiotiques par dilutions au 1/2 (Figure 39)

C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
176	88	44	22	11	5,5	2,75	1,38	0,69	0,35

**Figure 39 : Gamme de concentrations d'antibiotiques pour la réalisation des CMI par microdilution en milieu liquide ( $\mu\text{g/ml}$ )**

#### c. Préparation du milieu MHF

En respectant les proportions indiquées dans le CASFM 2018 v1 (207), nous avons utilisé pour préparer ce milieu MHF :

- 200 ml de bouillon MH
- 10 ml de sang de cheval lysé
- 200 µl d'une solution de  $\beta$ -NAD à 20mg/L obtenue en pesant 20mg de  $\beta$ -NAD repris par 1ml d'eau distillée

Après homogénéisation de cette préparation par retournements, le milieu MHF est prêt à l'emploi.

#### d. Préparation des inocula bactériens

Selon le CASFM, une solution bactérienne à 0,5 McFarland correspond à une concentration bactérienne de  $1,5 \cdot 10^8$  UFC/ml (207). La technique devant être réalisée sur un inoculum final de  $5 \cdot 10^5$  UFC/ml (179), il a fallu réaliser une dilution selon les étapes suivantes :

- A partir des colonies de pneumocoque présentes sur les géloses au sang, réalisation d'une suspension bactérienne 0,5 McFarland dans 1 ml de bouillon MH
- Dilution au 1/3 de cette suspension à l'aide de 2ml de bouillon MH
- Dilution au 1/100ème de cette suspension : 50µl de la suspension dans qsp 5ml de bouillon MHF

#### e. Déroulé de la manipulation

La détermination des CMI par microdilution en milieu liquide s'est déroulée selon les étapes suivantes :

- Préparation des plans de plaque (Annexe 2) et annotations des plaques
- Préparation du bouillon MHF
- Préparation des suspensions bactériennes dans le bouillon MH
- Dilution des suspensions bactériennes dans le bouillon MHF afin d'obtenir les inocula finaux
- Préparation des gammes de concentrations de pénicilline G, d'amoxicilline, de céfotaxime et de ceftriaxone
- Disposition de 10µl d'antibiotique dans chaque puits selon le plan de plaque préétabli
- Disposition de 100µl des inocula finaux dans chaque puits selon le plan de plaque. Cette étape permet de diluer au 1/11ème les antibiotiques et ainsi d'obtenir la gamme de concentration finale désirée (Figure 40)
- Disposition des plaques dans une étuve à 37°C avec atmosphère enrichie de 5% de CO<sub>2</sub> dans un bac contenant des éponges imbibées d'eau pour éviter tout phénomène de dessiccation
- Incubation des plaques durant une période de 18h à 20h
- Lecture manuelle des résultats. La CMI correspond au premier puits pour lequel aucune pousse bactérienne n'est visible.

C1'	C2'	C3'	C4'	C5'	C6'	C7'	C8'	C9'	C10'
16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03

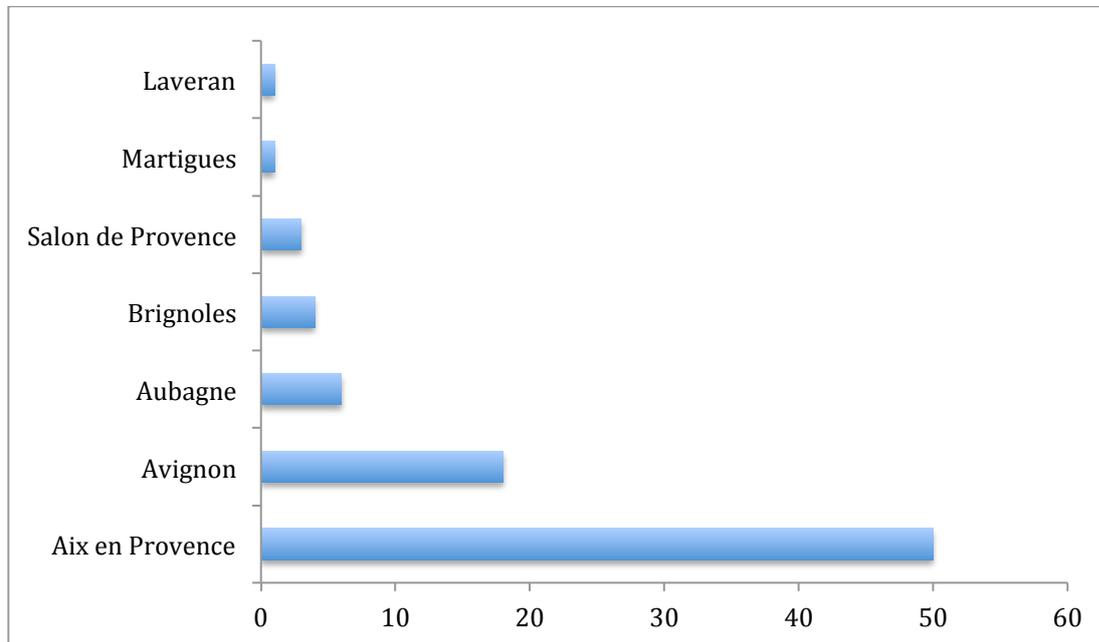
**Figure 40 : Gamme de concentrations finales d'antibiotiques pour la réalisation des CMI par microdilution en milieu liquide ( $\mu\text{g/ml}$ )**

## II- RÉSULTATS

### A- Souches étudiées

#### 1- Origines géographiques

72 des 83 souches de pneumocoque proviennent des centres hospitaliers partenaires de l'ORP Provence dont le laboratoire du centre hospitalier d'Aix en Provence est le coordinateur. A ces souches ont été rajoutées 11 souches résistantes de pneumocoque issues de prélèvements respiratoires réalisés au centre hospitalier d'Aix en Provence. Cela nous a permis de réaliser une comparaison de méthode des CMI sur une large gamme de concentration. La figure 34 résume le nombre de souches envoyées par chaque centre hospitalier.



**Figure 41 : Origines géographiques des souches étudiées**

## 2- Types de prélèvements

Sur les 83 souches étudiées, 47 concernaient des infections invasives (42 hémocultures et 5 LCR, soit 56,6%) et 36 concernaient des infections non invasives (32 prélèvements respiratoires et 4 prélèvements de paracentèse auriculaire, soit 43,4%).

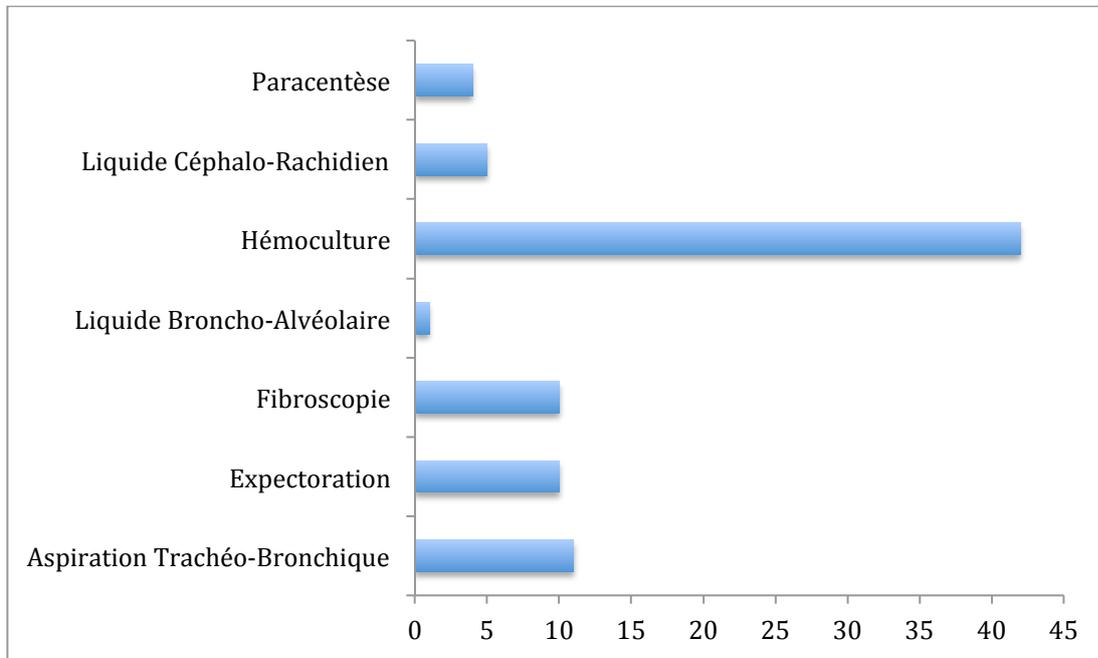


Figure 42 : Natures des prélèvements des souches étudiées

## 3- Saisonnalité

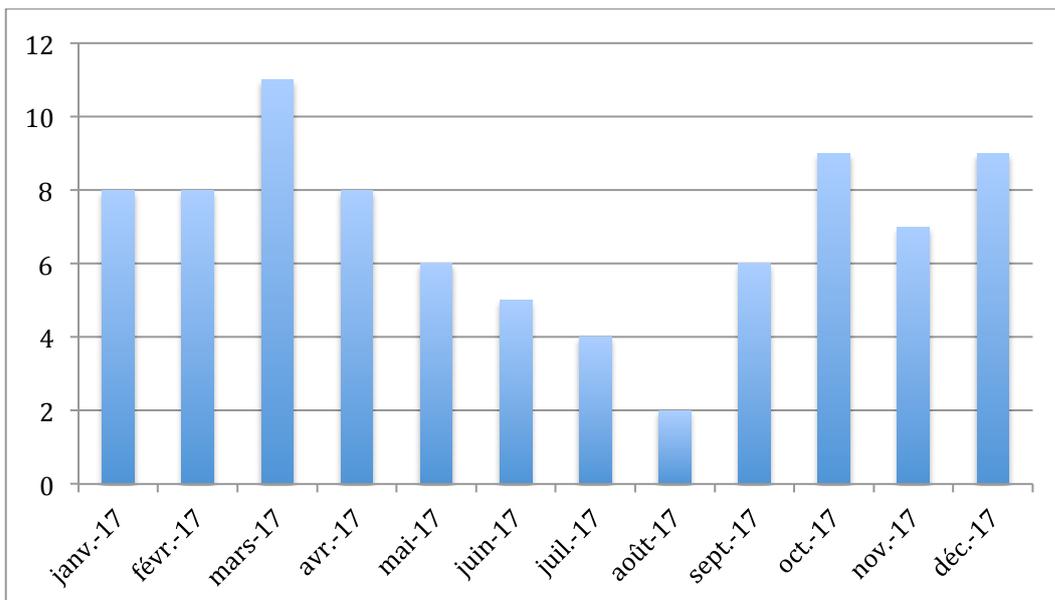
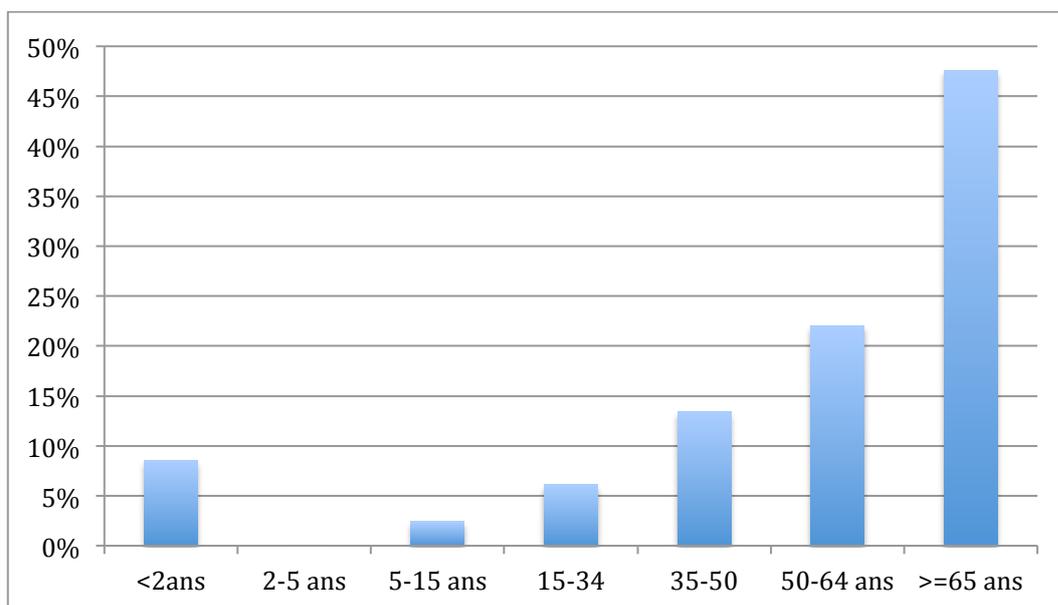


Figure 43 : Saisonnalité des souches étudiées

On remarque 3 périodes distinctes quant à la répartition des souches de pneumocoque récoltées durant l'année 2017. Tout d'abord, les mois hivernaux de janvier à mars et d'octobre à décembre sont les mois lors desquels un grand nombre de souches ont été isolées, avec un maximum de 11 en mars. A l'inverse, peu de souches ont été isolées entre mai et septembre, avec un minimum de 2 souches en août. Ceci correspond à la période estivale.

#### 4- Démographie

##### a. Age

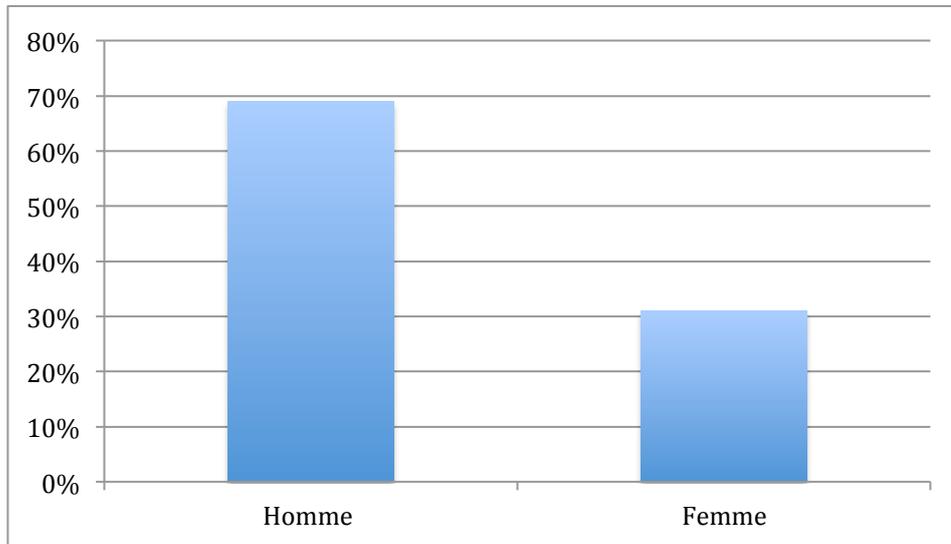


**Figure 44 : Patients dont sont issues les souches répartis par classe d'âge**

Tout d'abord, on remarque qu'à partir de la classe des 5-15 ans, il y a une augmentation continue du nombre de souches de pneumocoque isolées pour atteindre son maximum chez les plus de 65 ans. Ceux-ci représentent 47,5% des cas d'infections à pneumocoque isolés.

Par ailleurs, les enfants de moins de 2 ans ne représentent que 8,5% de l'ensemble des cas isolés.

### b. Sexe



**Figure 45 : Patients dont sont issues les souches répartis selon leur sexe**

On remarque que la population d'étude est essentiellement composée de personnes de sexe masculin (69%) plutôt que de sexe féminin (31%).

### B- Identification

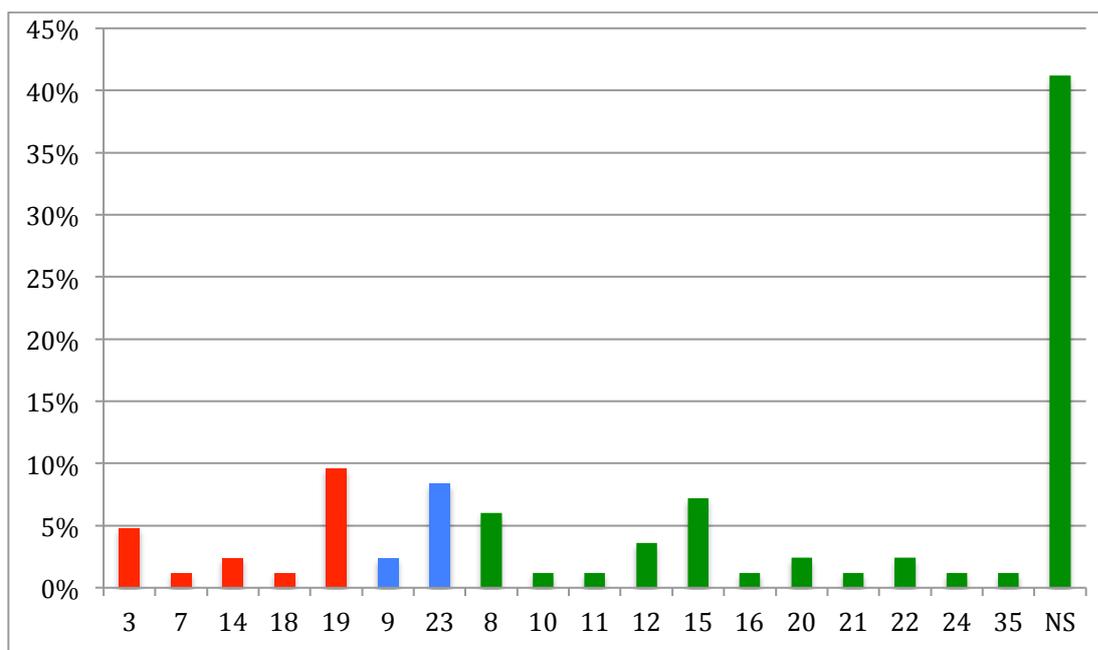
L'identification de nos souches a été faite par la combinaison de deux techniques. Tout d'abord, nous avons effectué une identification par spectrométrie de masse qui nous a donné 83 identifications satisfaisantes. Comme préconisé par l'algorithme de Brucker®, les 2 premiers scores de chaque spot étaient supérieurs ou égaux à 2 pour l'espèce *S.pneumoniae*. Par ailleurs, une sensibilité à l'optochine a été réalisée en même temps que les antibiogrammes et nos 83 souches se sont révélées sensibles à cet antibiotique. Ainsi, nous avons pu conclure que nos 83 souches recueillies étaient bien des souches de *S. pneumoniae*.

### C- Sérogroupage

Dans les 3 histogrammes suivants sont présentés les résultats du sérogroupage de l'ensemble des souches. Les sérogroupes renfermant exclusivement des sérotypes contenus dans les vaccins à 7 ou 13 valences apparaissent en rouge alors que les sérogroupes ne renfermant que des sérotypes non vaccinaux ou contenus seulement dans le vaccin non conjugué à 23 valences sont représentés en vert. Les sérogroupes 9 et 23, pouvant renfermer des sérotypes vaccinaux (9V et 23F) mais aussi non vaccinaux (9N, 23A, 23B) figurent en bleu.

La technique de sérogroupage utilisée dans ce travail ne permet pas d'identifier l'ensemble des sérogroupes vaccinaux car elle ne cible pas le séro groupe 7. Cependant, le sérotype 7F, seul sérotype vaccinal du séro groupe 7, représente moins de 2% des sérotypes isolés en France en 2015 (7). Il a donc été décidé de représenter en vert les souches « non sérogroupables » (NS).

### 1- Général



**Figure 46 : Répartition des sérogroupes de l'ensemble des souches étudiées**

Un sérogroupage a été effectué sur l'ensemble des 83 souches. Un résultat a pu être obtenu pour 49 d'entre elles (58,8%), les 34 autres ont été rendues comme non sérogroupable (NS). 18 sérogroupes ont été mis en évidence. Parmi eux, 4 se démarquent et sont retrouvés dans plus de 5% des situations. Il s'agit du séro groupe vaccinal 19 (9,6%), du séro groupe 23 (8,4%) et des sérogroupes non vaccinaux 15 (7,2%) et 8 (6%).

La technique utilisée pour le sérogroupage des souches permet d'identifier tous les sérogroupes renfermant des sérotypes vaccinaux à l'exception du séro groupe 7. Elle ne nous permet donc pas de définir exactement le taux de sérotypes vaccinaux et non vaccinaux. Cependant, une estimation est possible en se basant sur trois éléments :

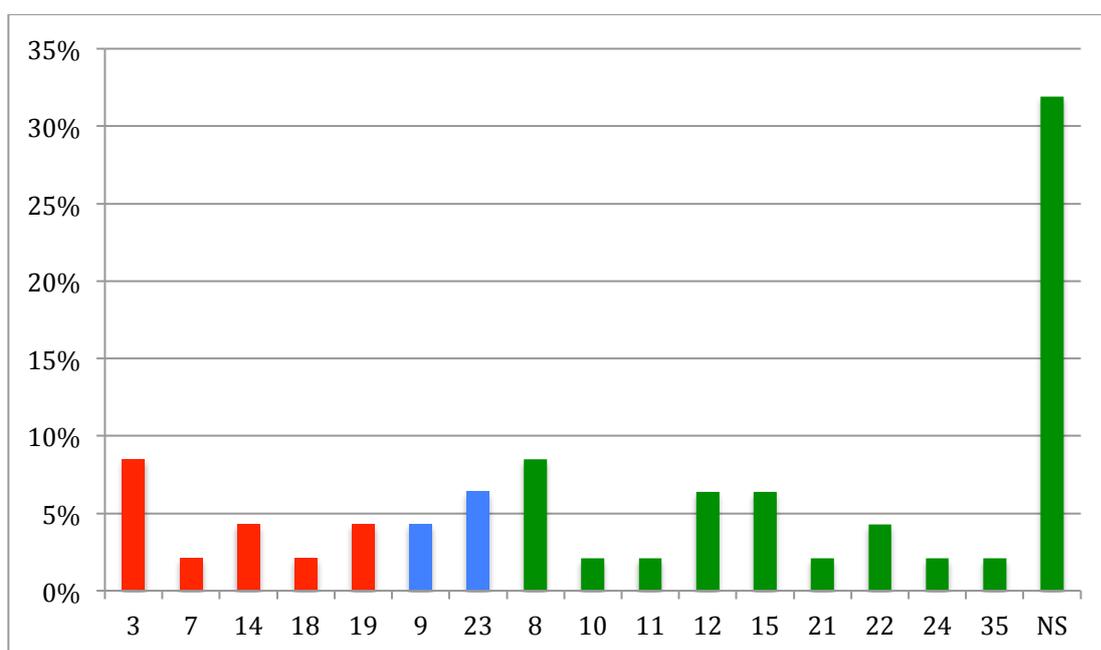
- les souches non sérogroupables ne peuvent renfermer comme sérotype vaccinal que le 7F. Or, d'après le dernier rapport du CNRP, la fréquence de ce sérotype est inférieure à 2%. Sur l'ensemble des 34 souches non sérogroupables, il est donc possible d'estimer qu'une seule souche, tout au plus, sera de sérotype 7F.

- 2 souches ont été identifiées comme appartenant au séro groupe 9. Celui-ci renferme le sérotype non vaccinal 9N, retrouvé dans 5,6% des souches étudiées dans le rapport du CNRP de 2017, et le sérotype vaccinal 9V, non répertorié dans la liste des sérotypes ayant une fréquence supérieure à 2%. Dans ce contexte, il est possible d'estimer que les 2 souches de séro groupe 9 sont de sérotype non vaccinal.
- 6 souches ont été identifiées comme appartenant au séro groupe 23, qui renferme les sérotypes non vaccinaux 23A et 23B et le sérotype vaccinal 23F. Ce dernier ne figure pas dans la liste des sérotypes dont la fréquence est supérieure à 2% tandis que les sérotypes 23A et 23B sont retrouvés dans respectivement 3,3% et 3,6% des cas dans le rapport du CNRP de 2017. Il est donc possible d'estimer que les 6 souches de séro groupe 23 n'appartiennent qu'à des sérotypes non vaccinaux.

Ainsi, en s'appuyant sur ces projections, le pourcentage de souches vaccinales, ou couverture sérotypique du PCV13, est de 20,5%. Le pourcentage de souches non vaccinales est quant à lui de 79,5%.

Enfin, il est à noter que les fréquences des sérogroupe 7, 11, 16, 20, 21, 22, 24 et 35 sont sous estimées. En effet, ces sérogroupe ne font pas partie de ceux qu'ils nous étaient possible d'identifier au laboratoire. Ils ont été obtenus après envoi de la souche au CNRP. Or seul un échantillon de 24 souches a été envoyé. Cela implique probablement une sous estimation de la fréquence de ces sérotypes car ils n'ont pas été recherchés sur les 34 souches rendues non sérogroupables.

## 2- Infections invasives



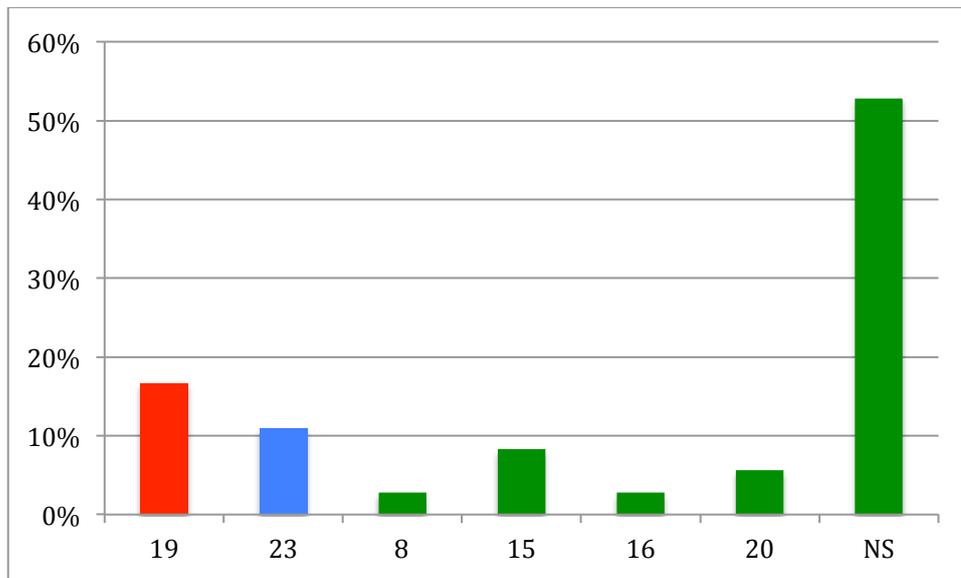
**Figure 47 : Répartition des sérogroupes des souches issues de prélèvements invasifs**

Un résultat de sérogroupage a été obtenu pour 32 souches (68,1%), les 15 autres souches (31,9%) ont été rendues comme non sérogroupable. 16 des 18 sérogroupes ont été retrouvés, les sérogroupes 16 et 20 n'apparaissant que dans les prélèvements respiratoires. 5 sérogroupes ont une fréquence d'apparition supérieure à 5%. Tout d'abord, on retrouve le séro-groupe vaccinal 3 et le séro-groupe non vaccinal 8 dans 8,5% des situations. Ensuite, les sérogroupes non vaccinaux 12 et 15 et le séro-groupe 23 ont une fréquence d'apparition de 6,4%.

Cependant, il n'y a pas de vraie tendance qui se dégage puisque le nombre de souches isolées pour chaque séro-groupe oscille entre 1 et 4.

La couverture sérotypique du PCV13 pour les souches issues de prélèvements invasifs est de 21,3%. Cette proportion est donc la même que pour l'ensemble des souches.

### 3- Infections non invasives



**Figure 48 : Répartition des sérogroupes des souches issues de prélèvements non invasifs**

Un résultat de sérogroupage a été obtenu pour 17 souches (47,2%), les 19 autres souches (52,8%) ont été rendues comme non sérogroupable. Seuls 6 sérogroupes sur 18 sont retrouvés. Il s'agit tout d'abord du sérotype vaccinal 19 et du sérotype 23, respectivement retrouvés dans 16,7% et 11% des cas. Viennent ensuite les sérogroupes non vaccinaux 15, 20, 16 et 8.

La couverture sérotypique du PCV13 pour les souches issues de prélèvements non invasifs est de 19,4%. Cette proportion est donc la même que pour l'ensemble des souches et que pour celles issues de prélèvements invasifs.

#### D- Résistances aux antibiotiques

Toutes les valeurs des diamètres d'inhibition pour chaque molécule testée de chacune des 83 souches de pneumocoque sont présentées en annexe 3. Les histogrammes suivants résument la résistance des souches pour chaque molécule selon 3 points de vue : l'ensemble des souches, les souches issues d'infections invasives (hémocultures et LCR) et les souches issues d'infections non invasives (pulmonaires et auriculaires). Les souches sensibles, intermédiaires et résistantes sont respectivement représentées en vert, jaune et rouge. Les diamètres critiques supérieurs D et inférieurs d sont matérialisés par des traits noirs verticaux.

1- Oxacilline 1 $\mu$ g

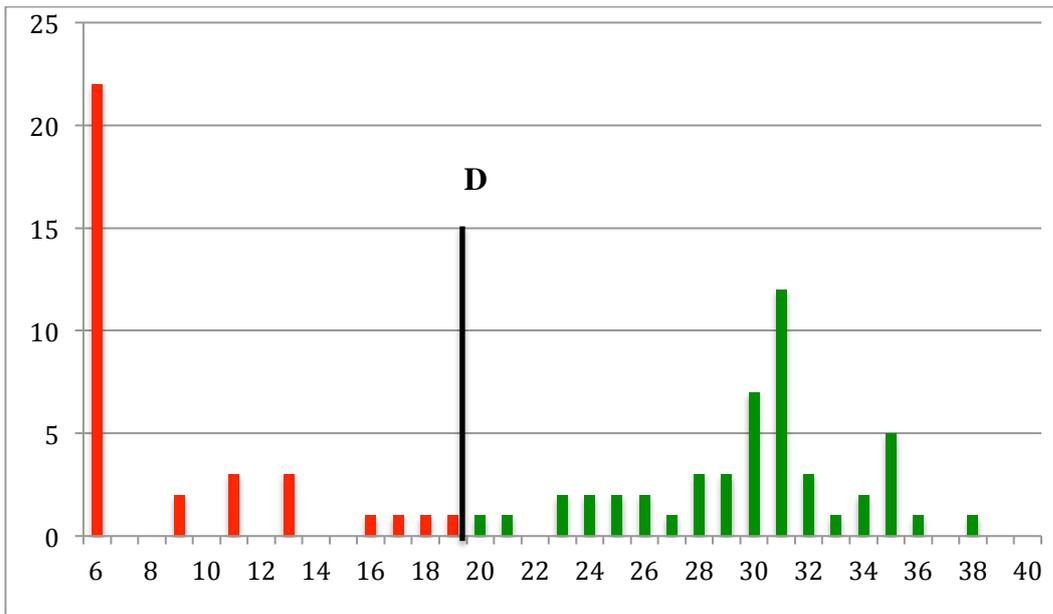


Figure 49 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues de l'ensemble des prélèvements en fonction du diamètre d'inhibition de l'Oxacilline 1 $\mu$ g

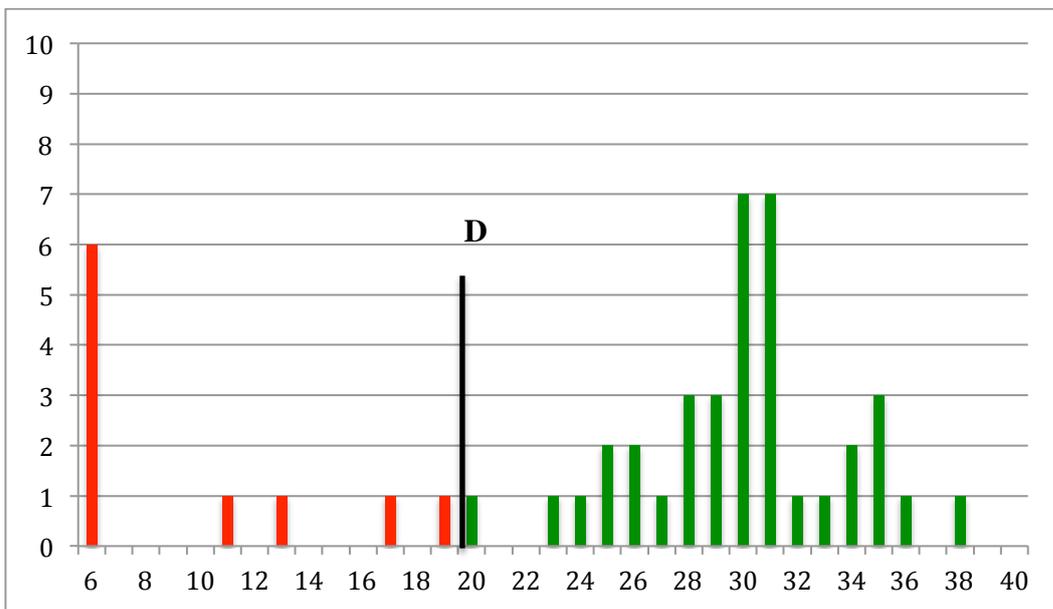
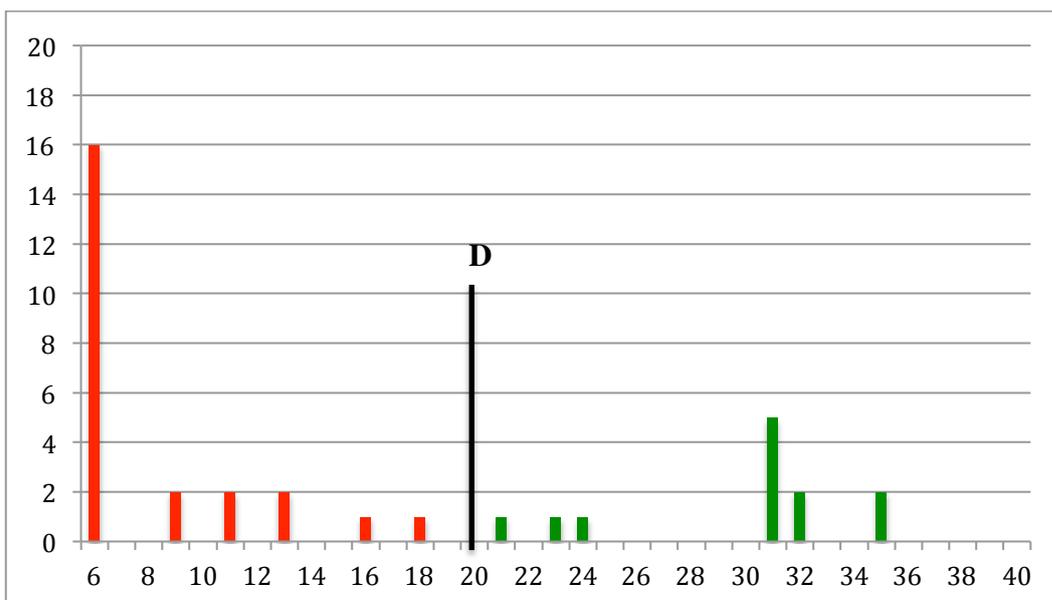


Figure 50 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction du diamètre d'inhibition de l'Oxacilline 1 $\mu$ g



**Figure 51: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction du diamètre d'inhibition de l'Oxacilline 1µg**

Le disque d'oxacilline 1µg sert de dépistage aux souches de pneumocoque de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines. Le diamètre d'inhibition critique est de 20mm.

Sur l'ensemble des souches, 22 poussent au contact du disque d'oxacilline 1µg (diamètre de 6mm). Le diamètre d'inhibition le plus grand est de 38mm. Le taux de pneumocoque catégorisé comme résistant à cet antibiotique et donc potentiellement de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines est de 41%.

Pour les souches issues de prélèvements invasifs, les diamètres d'inhibition varient entre 6mm et 38mm et le taux de pneumocoque résistant à l'oxacilline est de 21,3%.

Pour les souches issues de prélèvements non invasifs, les diamètres d'inhibition varient entre 6mm et 35mm et le taux de pneumocoque résistant à l'oxacilline est de 66,7%.

Il existe une différence significative entre les pourcentages de PSDP des souches issues de prélèvements invasifs et non invasifs déterminés par cette méthode (p=0,00003).

Type de prélèvement	Pourcentage de souches résistantes
Tous	41
Invasifs	21,3
Non invasifs	66,7

**Tableau 1 : Pourcentage de souches résistantes à l'Oxacilline 1µg en fonction du type de prélèvements**

2- Erythromycine 15 $\mu$ g

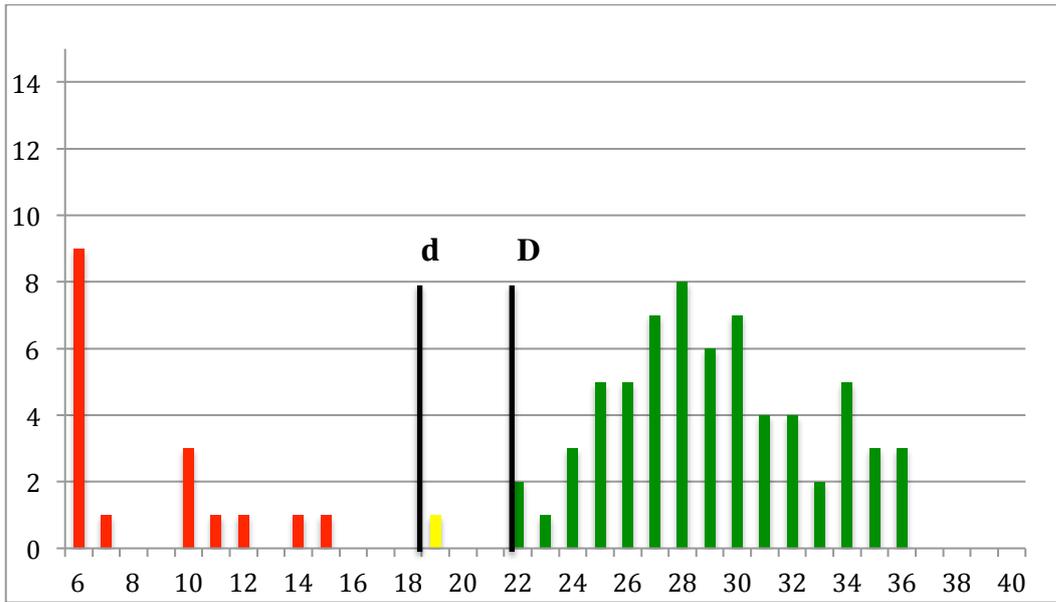


Figure 52 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues de l'ensemble des prélèvements en fonction du diamètre d'inhibition de l'Erythromycine 15 $\mu$ g

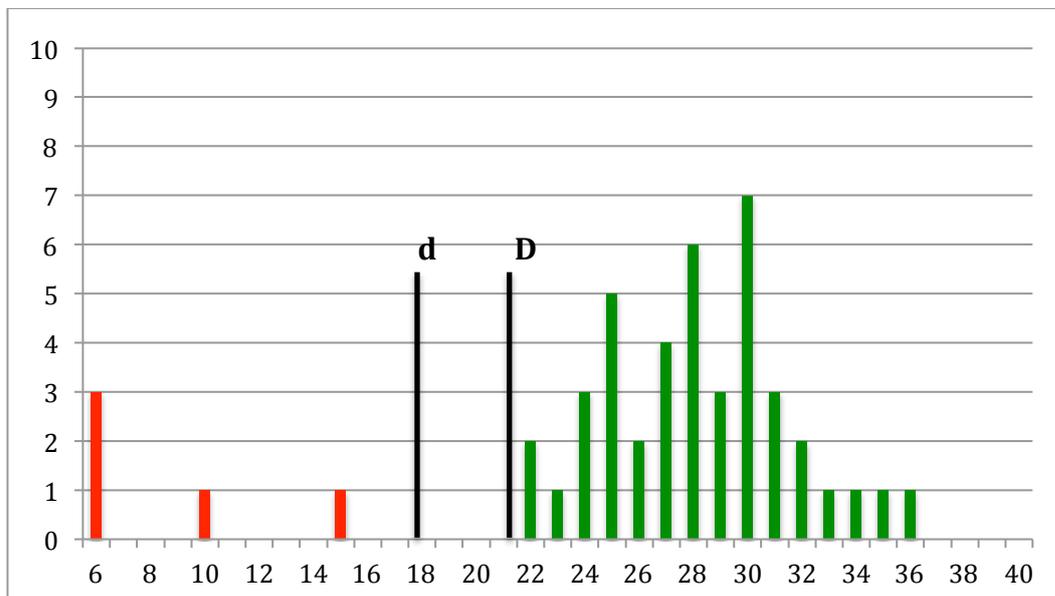
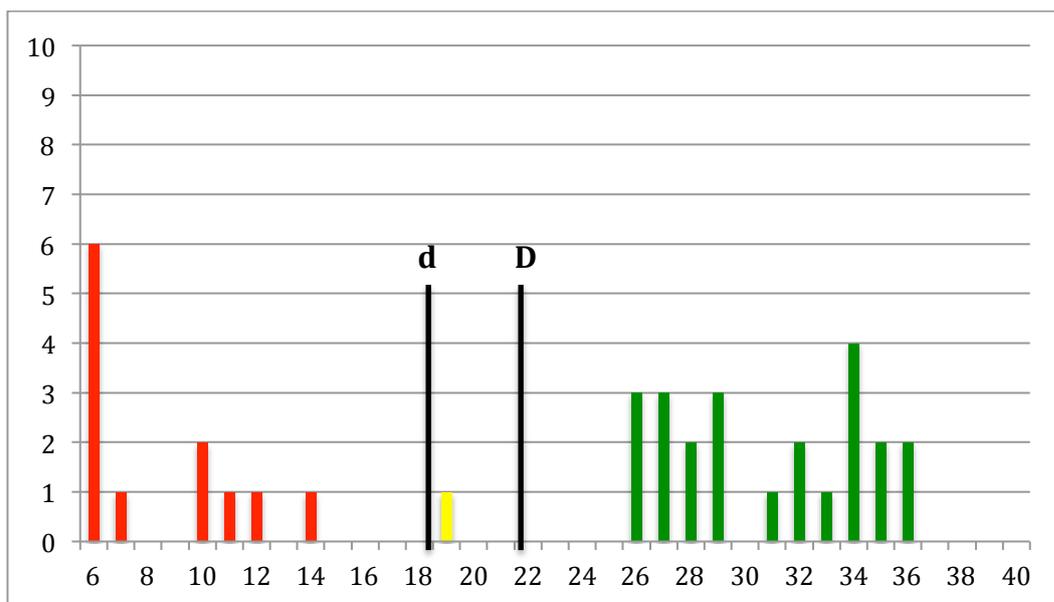


Figure 53 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction du diamètre d'inhibition de l'Erythromycine 15 $\mu$ g



**Figure 54: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction du diamètre d'inhibition de l'Erythromycine 15µg**

Les diamètres critiques supérieur D et inférieur d pour l'érythromycine sont de 19mm et 22mm.

Sur l'ensemble des souches, 9 ont un diamètre d'inhibition de 6mm. Le plus grand diamètre d'inhibition est de 36mm. Les taux de souches résistantes et de sensibilité intermédiaire à l'érythromycine sont respectivement de 20,5% et 1,2%.

Pour les souches issues de prélèvements invasifs, les diamètres d'inhibition oscillent entre 6mm et 36mm et le taux de souches résistantes à l'érythromycine est de 10,6%.

Pour les souches issues de prélèvements non invasifs, les diamètres d'inhibition oscillent entre 6mm et 36mm et les taux respectifs de souches résistantes et de sensibilité intermédiaire à l'érythromycine sont de 33,3% et 2,8%.

Les souches issues de prélèvements non invasifs présentent une résistance à l'érythromycine significativement supérieure à celle retrouvée chez les souches issues de prélèvements invasifs (p=0,01).

Type de prélèvement	Pourcentage de souches résistantes	Pourcentage de souches intermédiaire
Tous	20,5	1,2
Invasif	10,6	0
Non invasif	33,3	2,8

**Tableau 2 : Pourcentage de souches résistantes à l'Erythromycine 15µg en fonction du type de prélèvements**

### 3- Cotrimoxazole 25 $\mu$ g

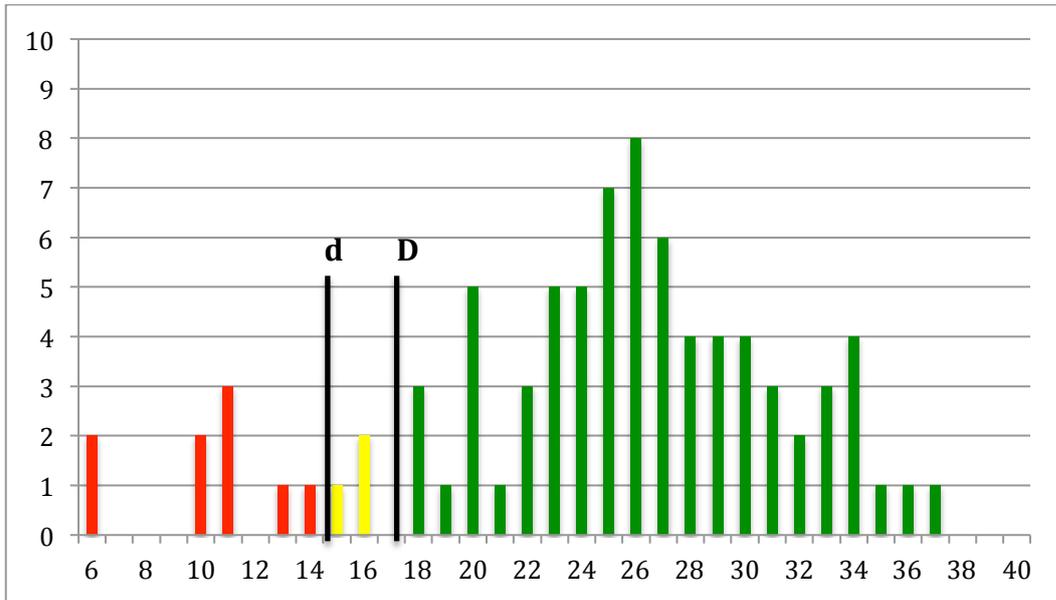


Figure 55 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues de l'ensemble des prélèvements en fonction du diamètre d'inhibition du Cotrimoxazole 25 $\mu$ g

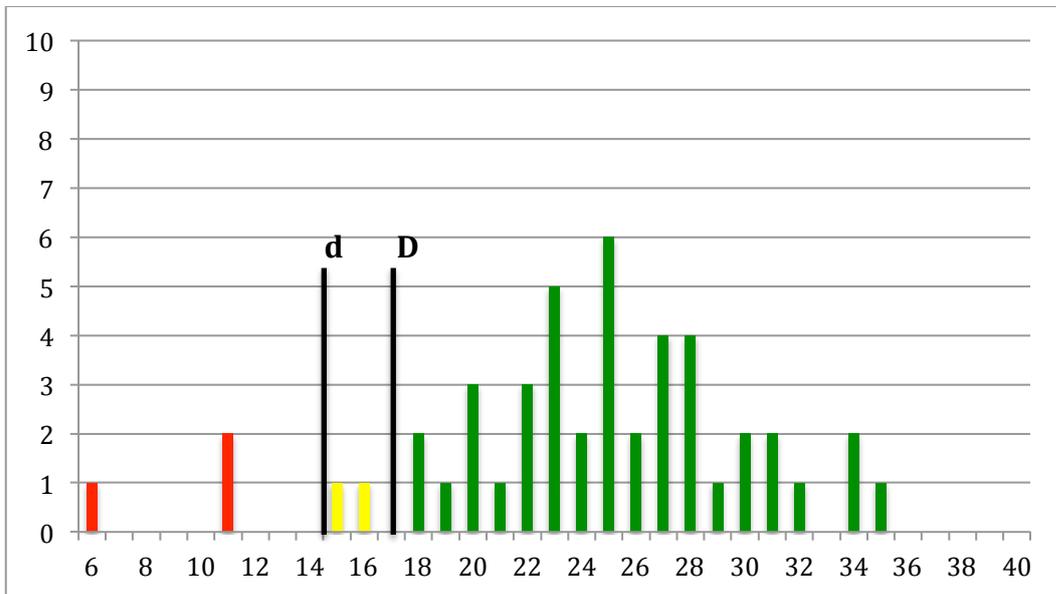
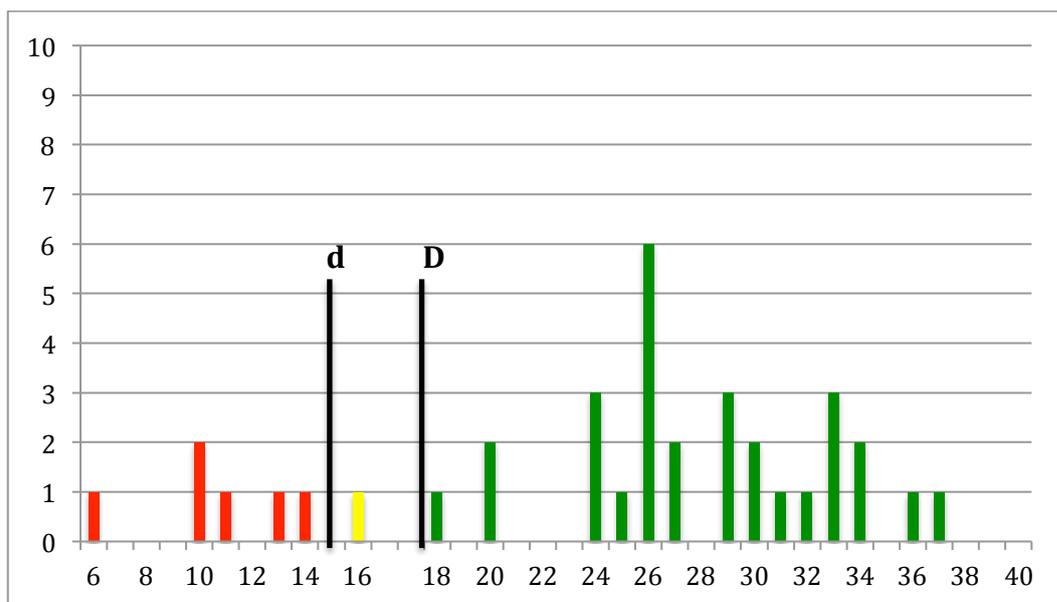


Figure 56 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction du diamètre d'inhibition du Cotrimoxazole 25 $\mu$ g



**Figure 57: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction du diamètre d'inhibition du Cotrimoxazole 25µg**

Les diamètres critiques supérieur D et inférieur d sont de 18 et 15mm. Sur l'ensemble des souches, 2 ont un diamètre d'inhibition de 6mm. Le plus grand diamètre est de 37mm. Les taux de souches résistantes et de sensibilité intermédiaire au cotrimoxazole sont respectivement de 10,8% et 3,6%.

Pour les souches issues de prélèvements invasifs, les diamètres d'inhibition oscillent entre 6mm et 35mm et les taux respectifs de souches résistantes et de sensibilité intermédiaire au cotrimoxazole sont de 6,4% et 4,3%.

Pour les souches issues de prélèvements non invasifs, les diamètres d'inhibition oscillent entre 6mm et 37mm et les taux respectifs de souches résistantes et de sensibilité intermédiaire au cotrimoxazole sont de 16,7% et 2,8%.

Il n'existe pas de différence significative concernant le taux de résistance au cotrimoxazole entre les souches issues de prélèvements invasifs et non invasifs ( $p=0,17$ ).

Type de prélèvement	Pourcentage de souches résistantes	Pourcentage de souches intermédiaire
Tous	10,8	3,6
Invasif	6,4	4,3
Non invasif	16,7	2,8

**Tableau 3 : Pourcentage de souches résistantes au Cotrimoxazole 25µg en fonction du type de prélèvements**

4- Tétracycline 30 $\mu$ g

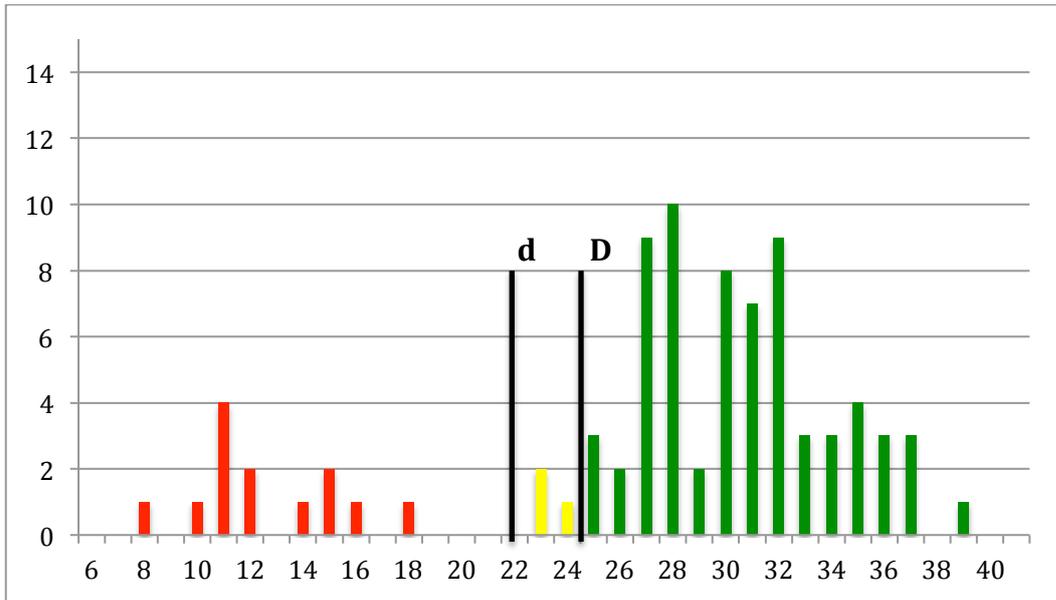


Figure 58 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues de l'ensemble des prélèvements en fonction du diamètre d'inhibition de la Tétracycline 30 $\mu$ g

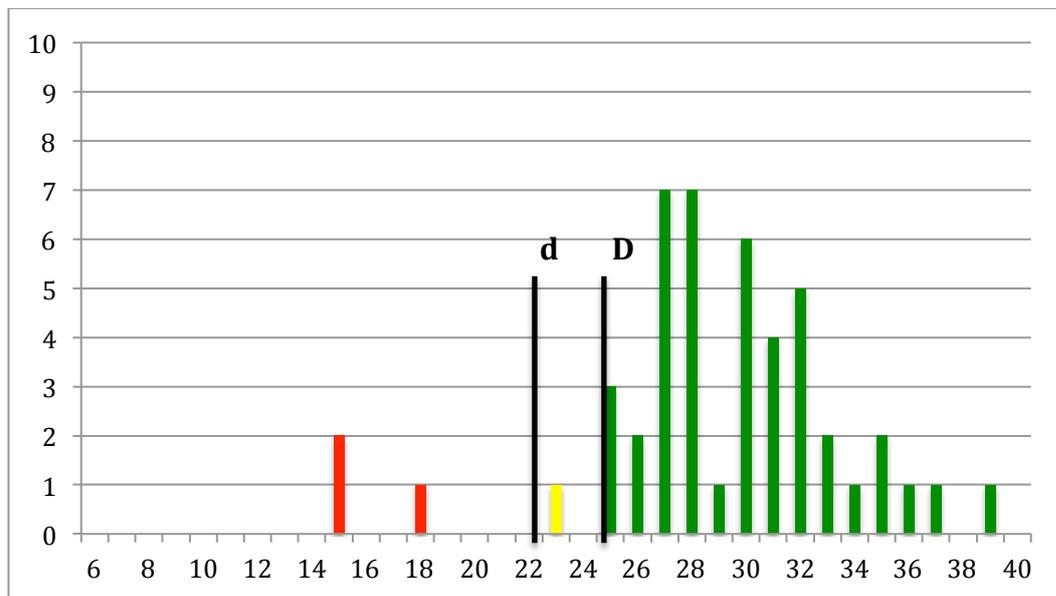
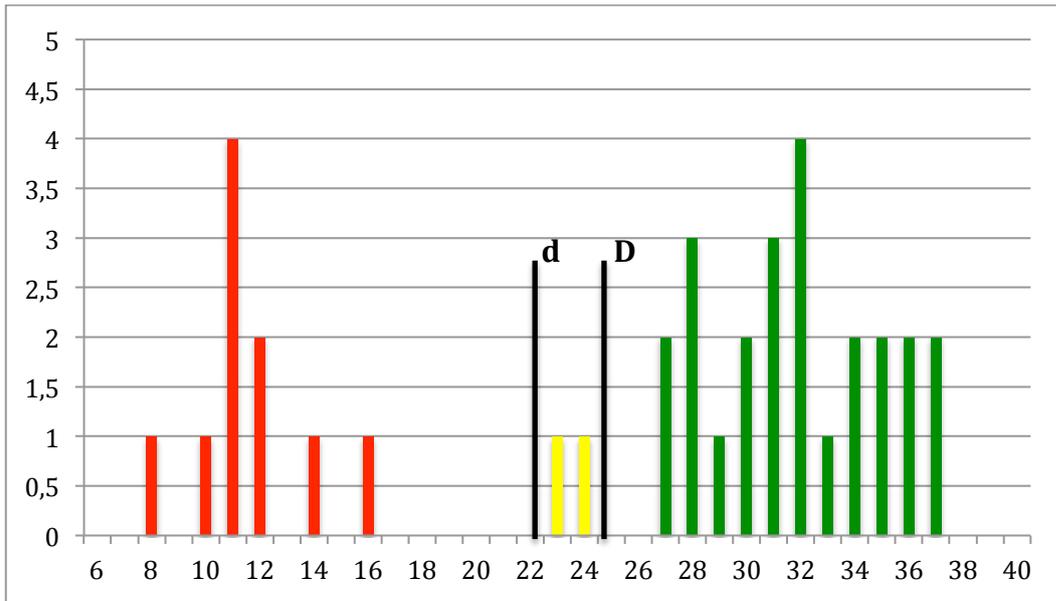


Figure 59 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Tétracycline 30 $\mu$ g



**Figure 60: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Tétracycline 30µg**

Les diamètres critiques supérieur et inférieur sont de 25mm et 22mm.

Sur l'ensemble des souches, les diamètres d'inhibition sont répartis entre 8mm et 39mm. Les taux respectifs de souches résistantes et de sensibilité intermédiaire à la tétracycline sont de 15,7% et 3,6%.

Pour les souches issues de prélèvements invasifs, les diamètres d'inhibition oscillent entre 15mm et 39mm et les taux respectifs de souches résistantes et de sensibilité intermédiaire à la tétracycline sont de 6,4% et 2,1%.

Pour les souches issues de prélèvements non invasifs, les diamètres d'inhibition oscillent entre 8mm et 37mm et les taux respectifs de souches résistantes et de sensibilité intermédiaire à la tétracycline sont de 27,8% et 5,6%.

Il existe une différence significative concernant le taux de résistance à la tétracycline entre les souches issues de prélèvements invasifs et non invasifs ( $p=0,01$ ).

Type de prélèvement	Pourcentage de souches résistantes	Pourcentage de souches intermédiaire
Tous	15,7	3,6
Invasif	6,4	2,1
Non invasif	27,8	5,6

**Tableau 4 : Pourcentage de souches résistantes au Tétracycline 30µg en fonction du type de prélèvements**

5- Rifampicine 5 $\mu$ g

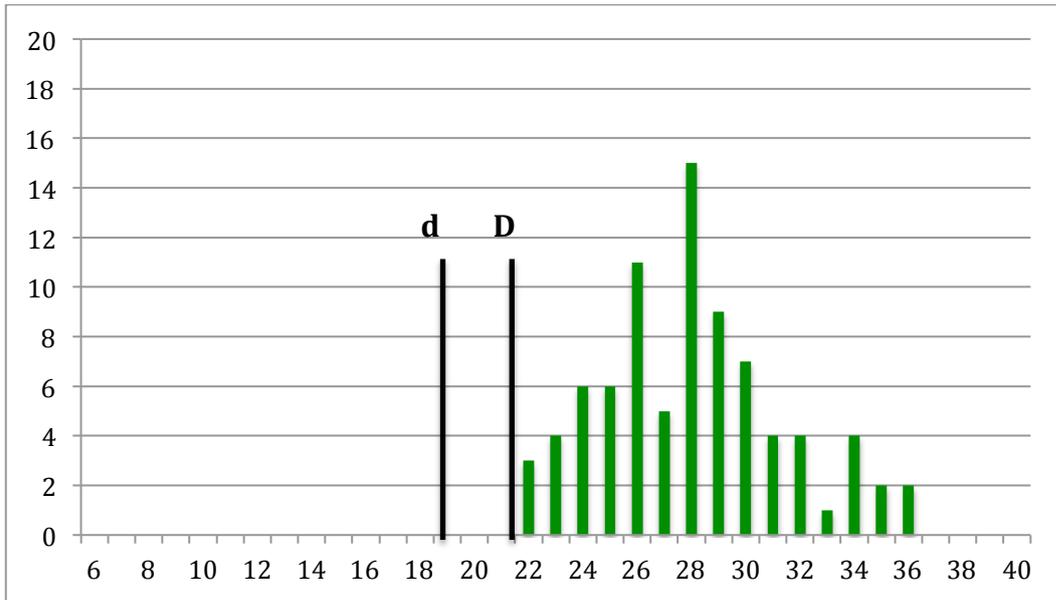


Figure 61 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues de l'ensemble des prélèvements en fonction du diamètre d'inhibition de la Rifampicine 5 $\mu$ g

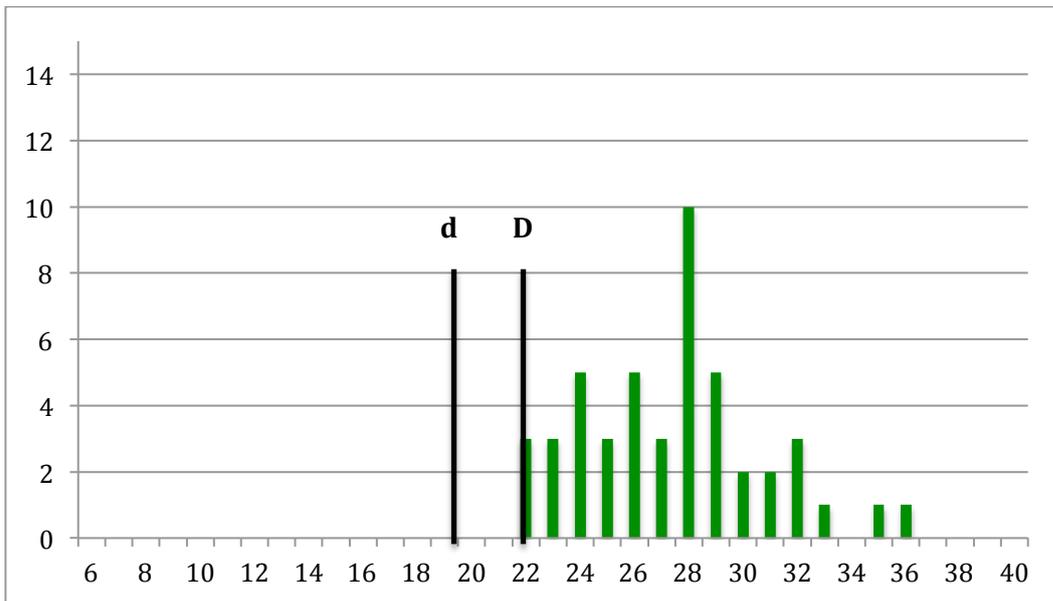
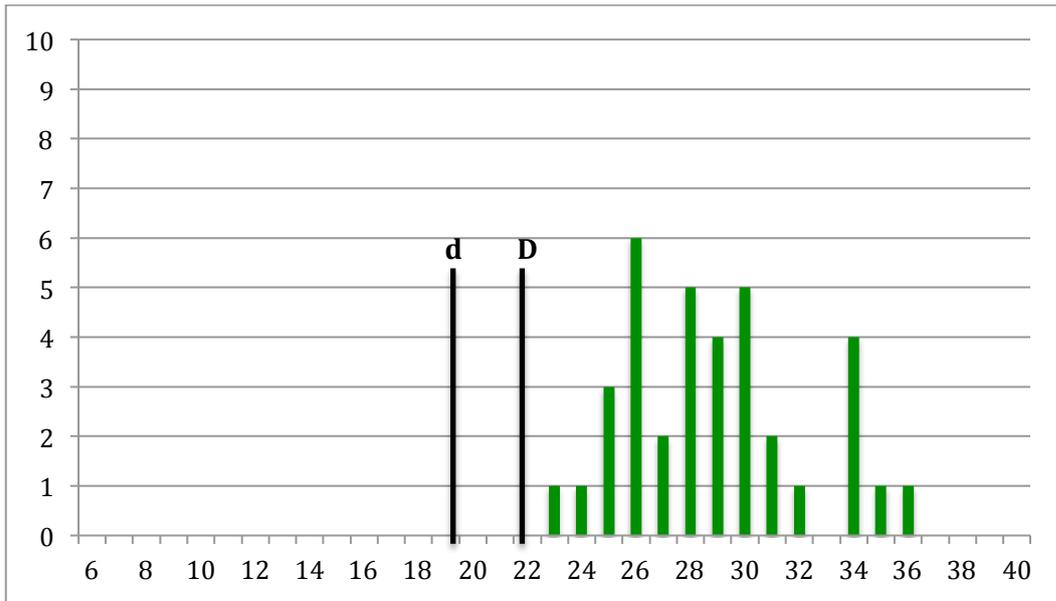


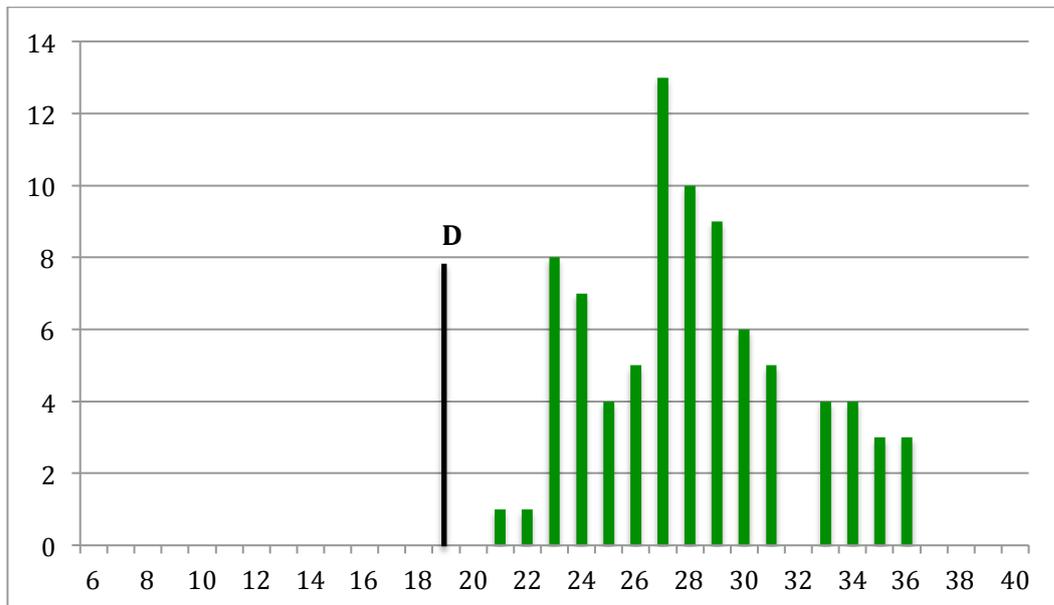
Figure 62 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Rifampicine 5 $\mu$ g



**Figure 63: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Rifampicine 5µg**

Les diamètres critiques supérieur et inférieur sont de 22mm et 17mm. Les diamètres d'inhibition sont répartis entre 22mm et 36mm. Toutes les souches testées, quel que soit le prélèvement d'origine, sont sensibles à la rifampicine.

6- Pristinamycine 15µg



**Figure 64 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues de l'ensemble des prélèvements en fonction du diamètre d'inhibition de la Pristinamycine 15µg**

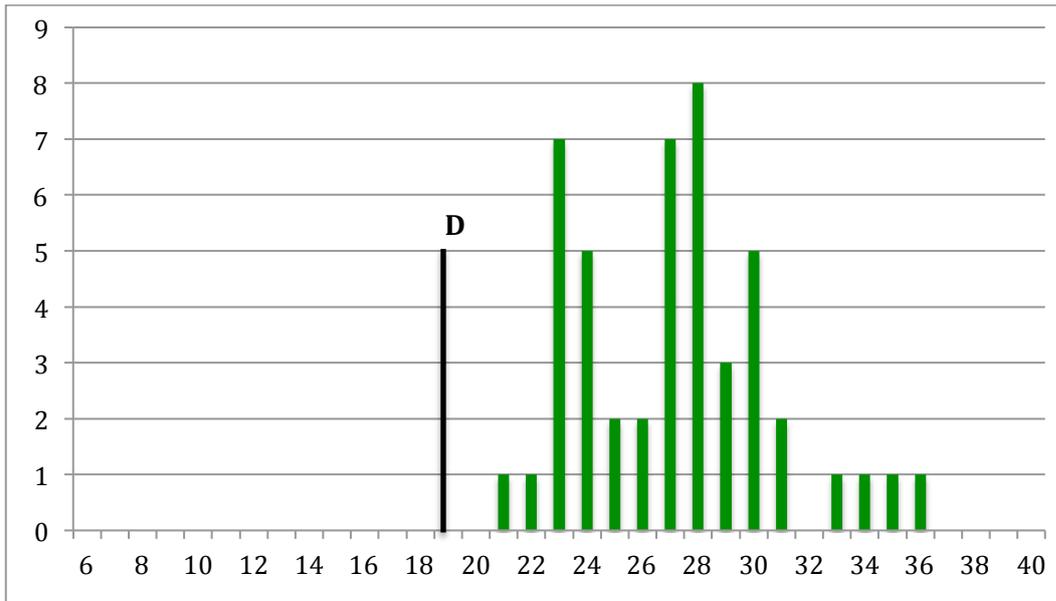


Figure 65 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Pristinamycine 15µg

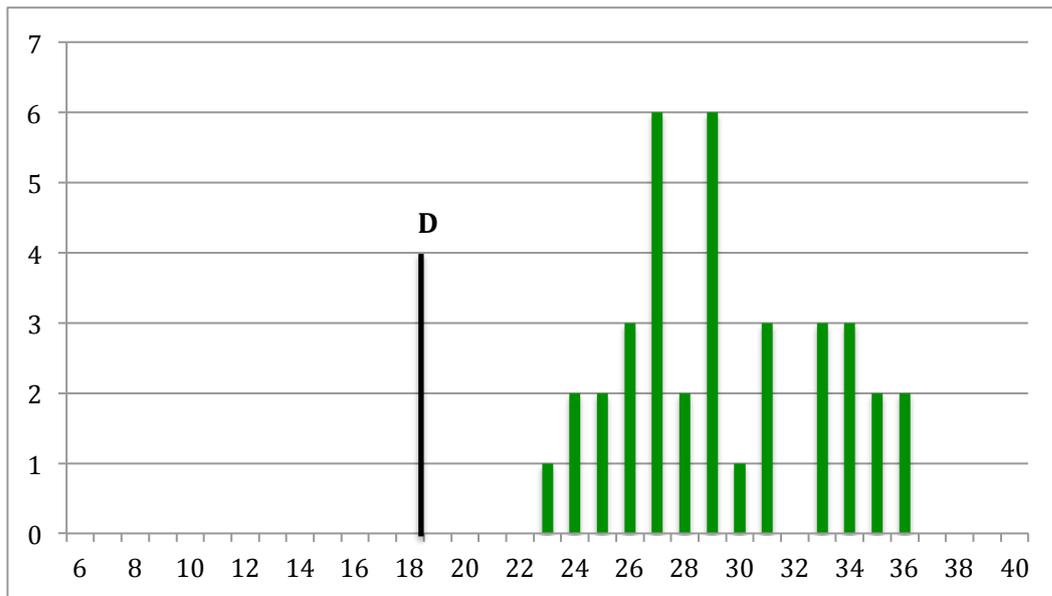


Figure 66: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Pristinamycine 15µg

Il n'existe qu'un seul diamètre critique pour la pristinamycine égal à 19mm. Les diamètres d'inhibition s'étendent entre 21mm et 36mm. Toutes les souches testées, quel que soit le type de prélèvement, sont sensibles à la pristinamycine.

7- Chloramphénicol 30 $\mu$ g

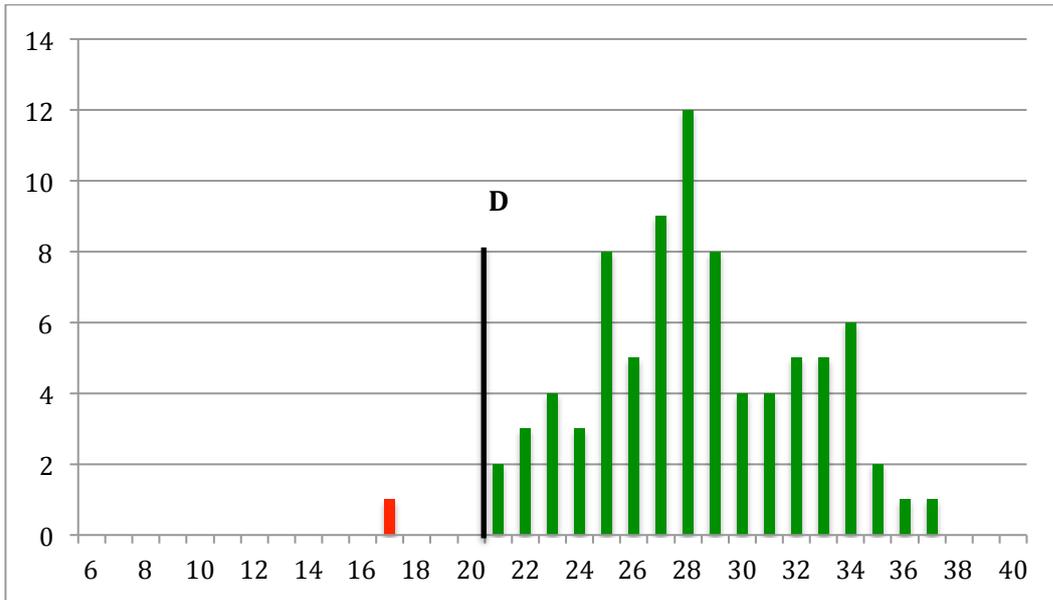


Figure 67: Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction du diamètre d'inhibition du Chloramphénicol 30 $\mu$ g

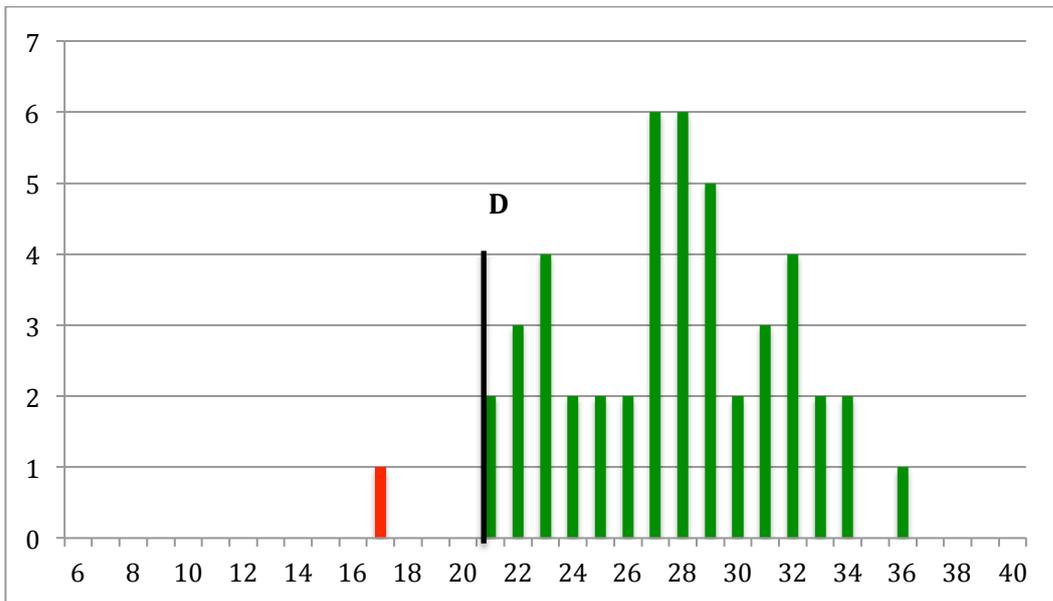
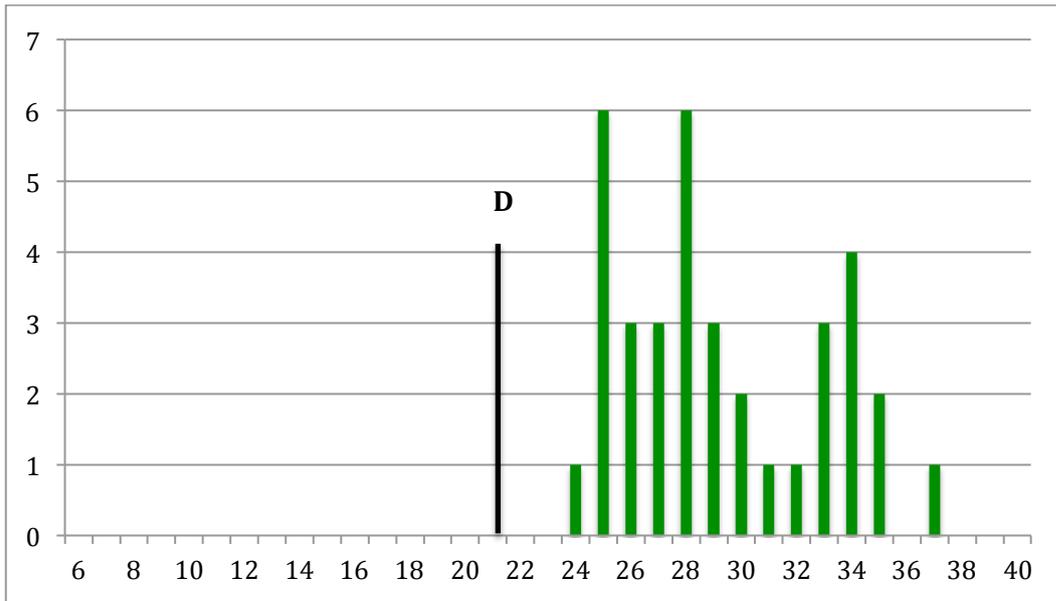


Figure 68 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction du diamètre d'inhibition du Chloramphénicol 30 $\mu$ g



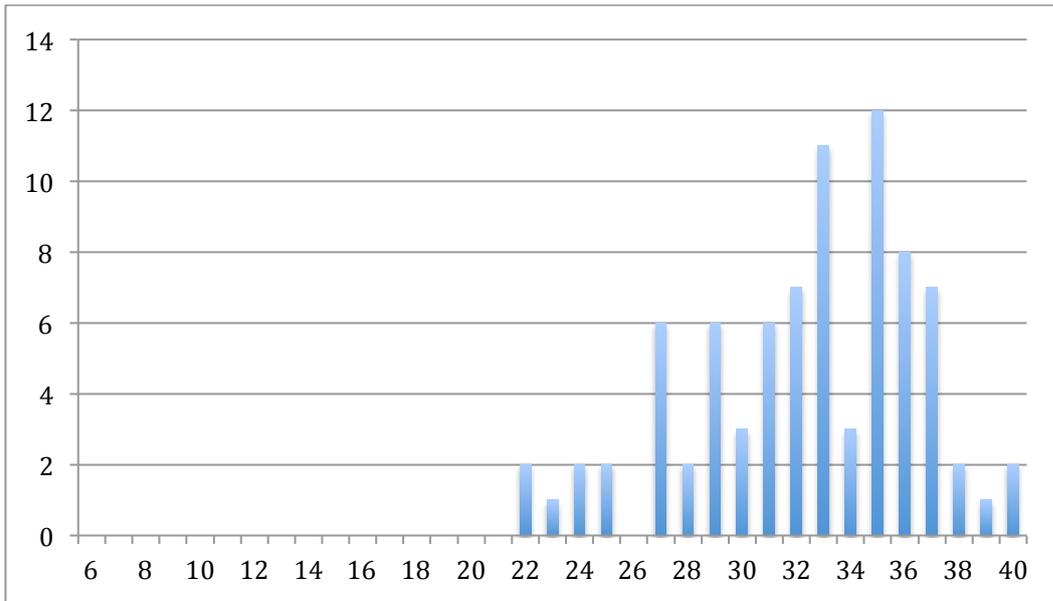
**Figure 69: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction du diamètre d'inhibition du Chloramphénicol 30µg**

Il n'existe qu'un seul diamètre critique pour le chloramphénicol égal à 21mm. Les diamètres d'inhibition s'étendent entre 17mm et 37mm. Une seule souche, issue d'une hémoculture, est résistante avec un diamètre de 17mm. Le taux de résistance au chloramphénicol est donc de 1,2% en général et de 2,1% pour les souches issues de prélèvements invasifs.

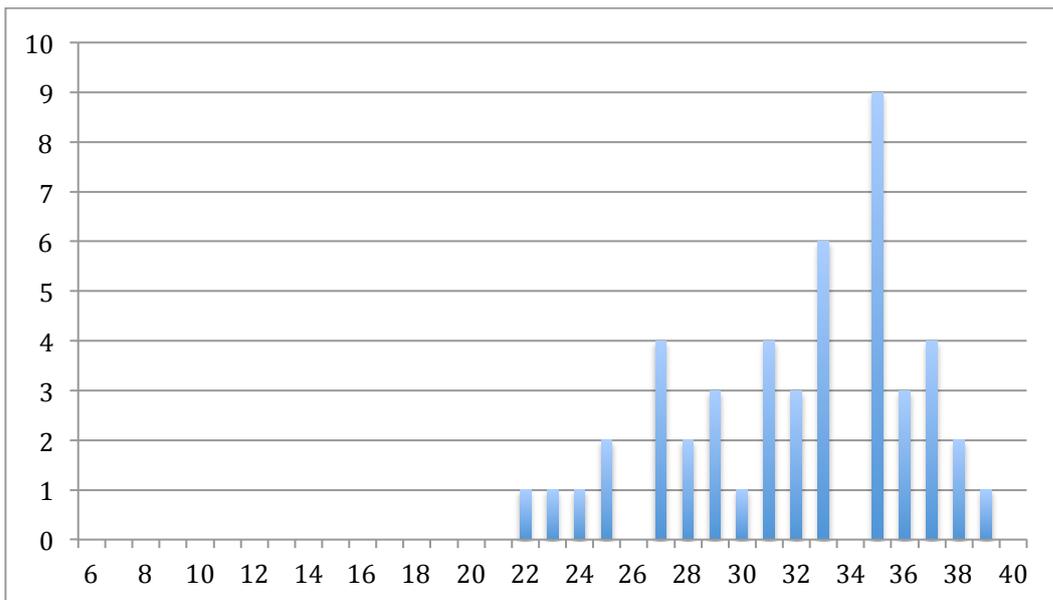
Il n'existe pas de différence significative concernant le taux de résistance au chloramphénicol entre les souches issues de prélèvements invasifs et non invasifs ( $p=1$ ).

#### 8- Fosfomycine 200µg

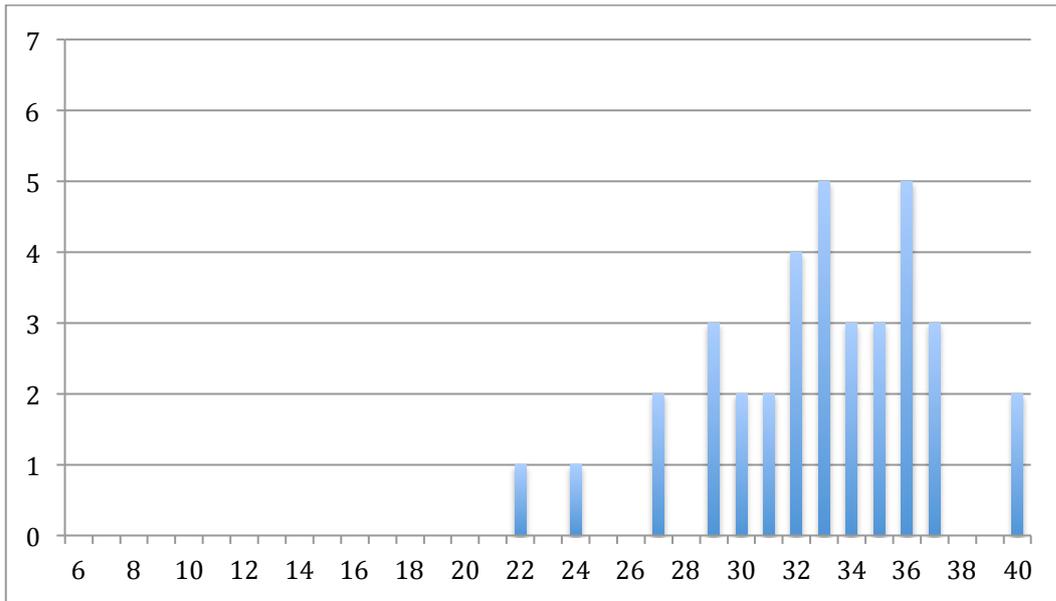
Pour la Fosfomycine, il existe ni diamètres critiques supérieur et inférieur, ni diamètres reliés à aucune espèce (PK/PD). Dans le CASFM 2013, des diamètres sont donnés mais pour une charge de disque et un inoculum bactérien différent.



**Figure 70 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction du diamètre d'inhibition de la Fosfomycine 200µg**



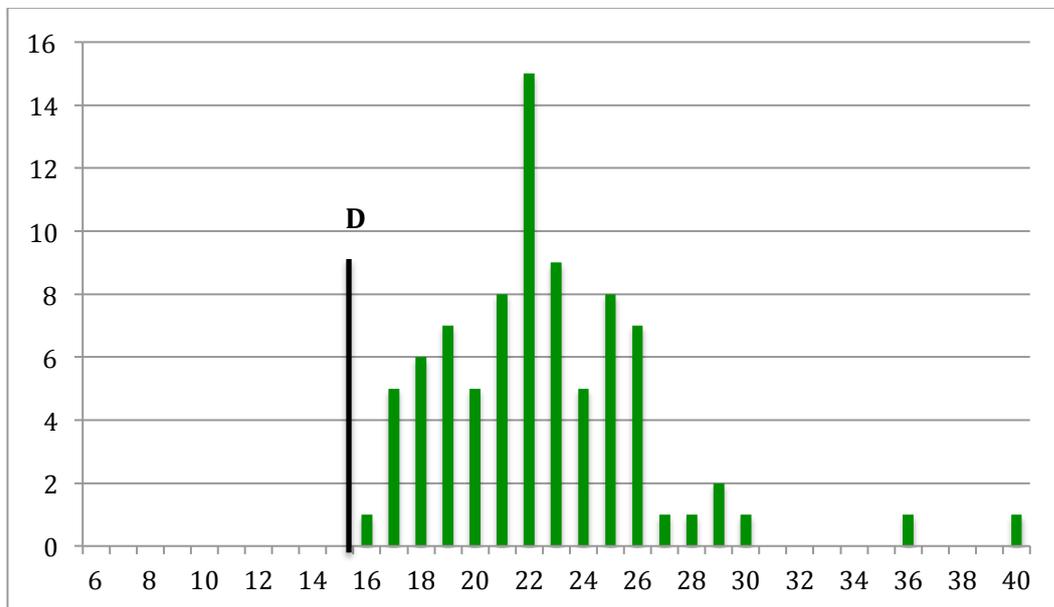
**Figure 71 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Fosfomycine 200µg**



**Figure 72: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Fosfomycine 200µg**

Les diamètres d'inhibition oscillent entre 22mm et 40mm pour les souches issues de prélèvements invasifs et non invasifs.

9- Vancomycine 5µg



**Figure 73 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction du diamètre d'inhibition de la Vancomycine 5µg**

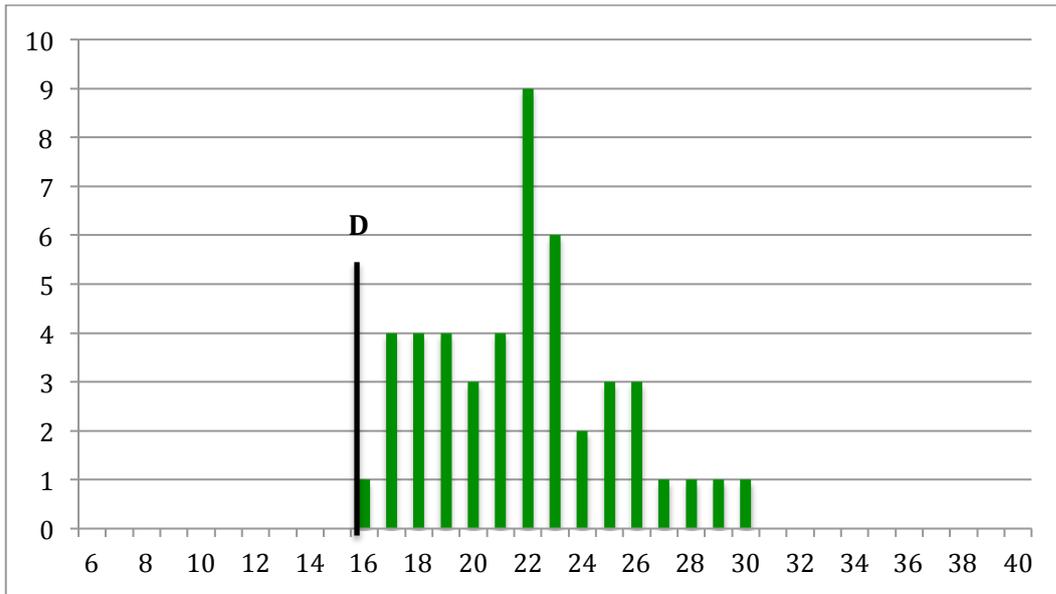


Figure 74 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Vancomycine 5µg

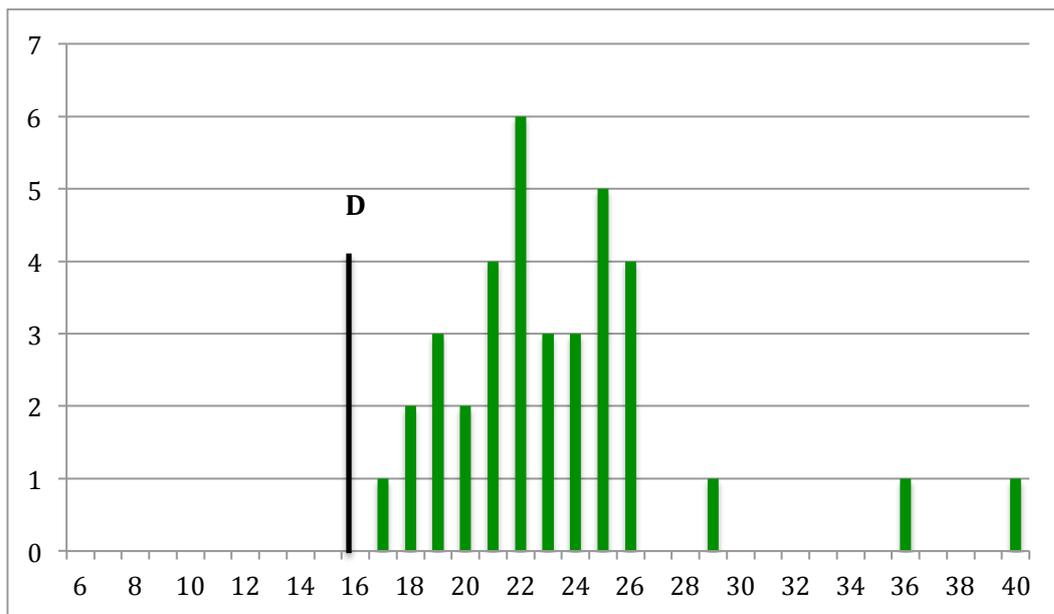


Figure 75 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Vancomycine 5µg

Il n'existe qu'un seul diamètre critique pour la vancomycine, égal à 16mm. Les diamètres d'inhibition oscillent entre 16mm et 40mm. Aucune souche testée, quel que soit le type de prélèvement, ne présente de résistance à la vancomycine.

10- Norfloxacine 10 $\mu$ g

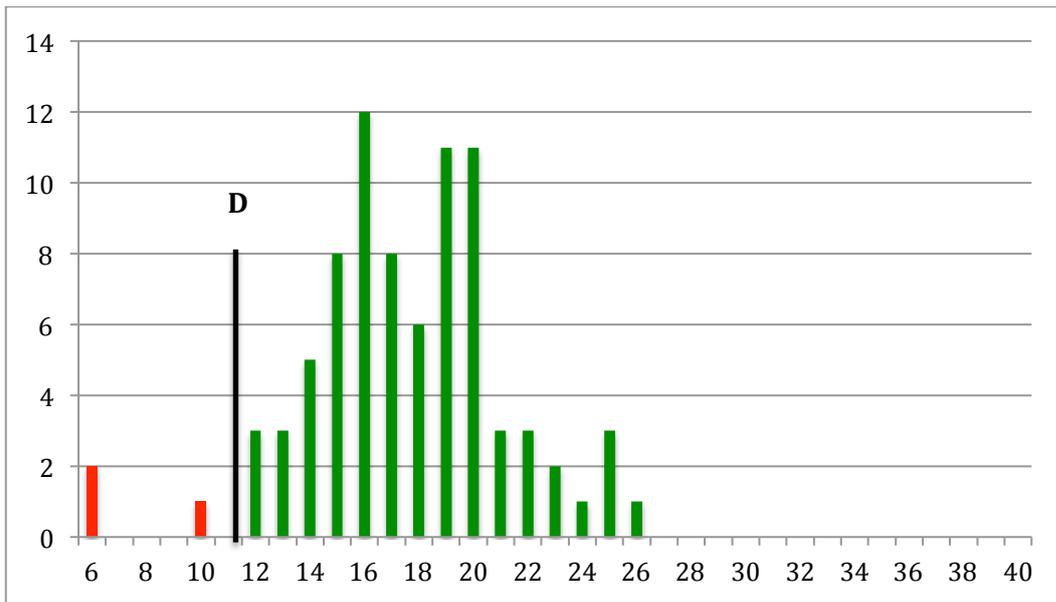


Figure 76 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction du diamètre d'inhibition de la Norfloxacine 10 $\mu$ g

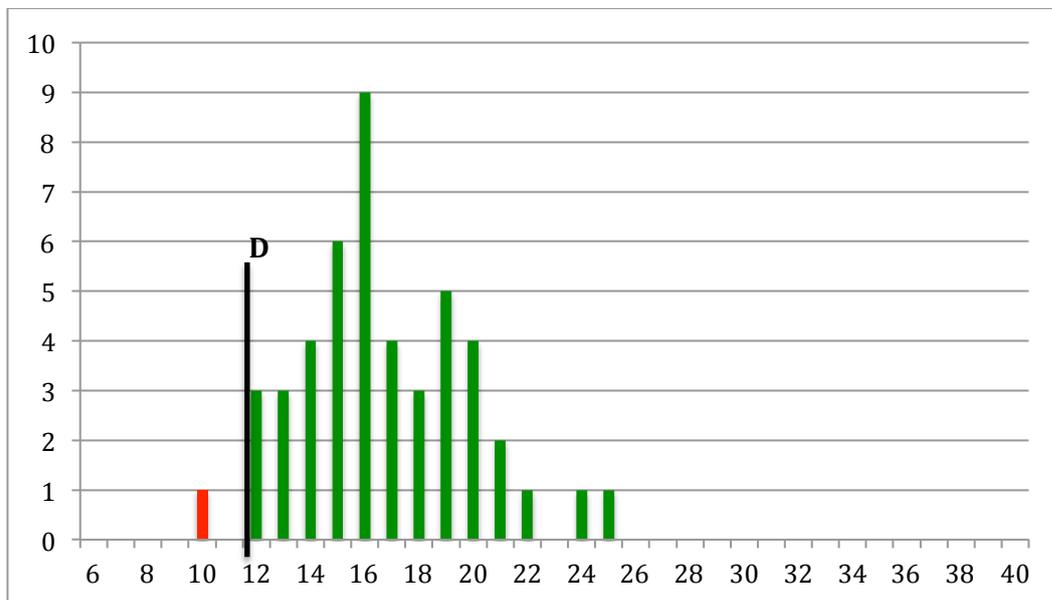
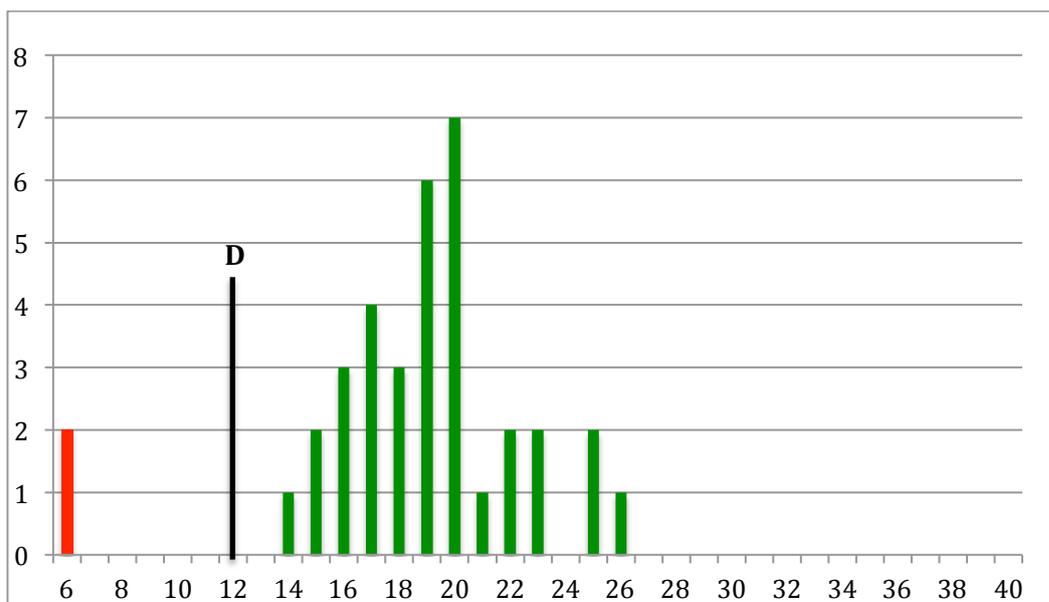


Figure 77 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Norfloxacine 10 $\mu$ g



**Figure 78: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Norfloxacin 10µg**

Le disque de norfloxacin 10µg sert de diagnostic à la résistance, même de bas niveau, aux FQ. Il n'existe donc qu'un seul diamètre critique, égal à 12mm.

Sur l'ensemble des souches, les diamètres d'inhibition se répartissent entre 6mm et 26mm. Trois souches présentent un diamètre inférieur à 12mm : deux souches issues d'expectorations avec un diamètre d'inhibition de 6mm et une souche issue d'une hémoculture avec un diamètre d'inhibition de 10mm. Le taux global de souches résistantes à la norfloxacin est de 3,6%.

Pour les souches issues de prélèvements invasifs, les diamètres d'inhibition se répartissent entre 10mm et 25mm et le taux de souches résistantes à la norfloxacin est de 2,1%.

Pour les souches issues de prélèvements non invasifs, les diamètres d'inhibition se répartissent entre 6mm et 26mm et le taux de souches résistantes à la norfloxacin est de 5,6 %.

Il n'existe pas de différence significative concernant le taux de résistance à la norfloxacin entre les souches issues de prélèvements invasifs et non invasifs ( $p=0,58$ ). Ceci peut s'expliquer par le trop faible nombre de souches résistantes à cet antibiotique dans notre travail.

Type de prélèvement	Pourcentage de souches résistantes
Tous	3,6
Invasifs	2,1
Non invasifs	5,6

**Figure 83 : Pourcentage de souches résistantes à la Norfloxacin 10µg en fonction du type de prélèvements**

### 11- Lévoﬂoxacine 5µg

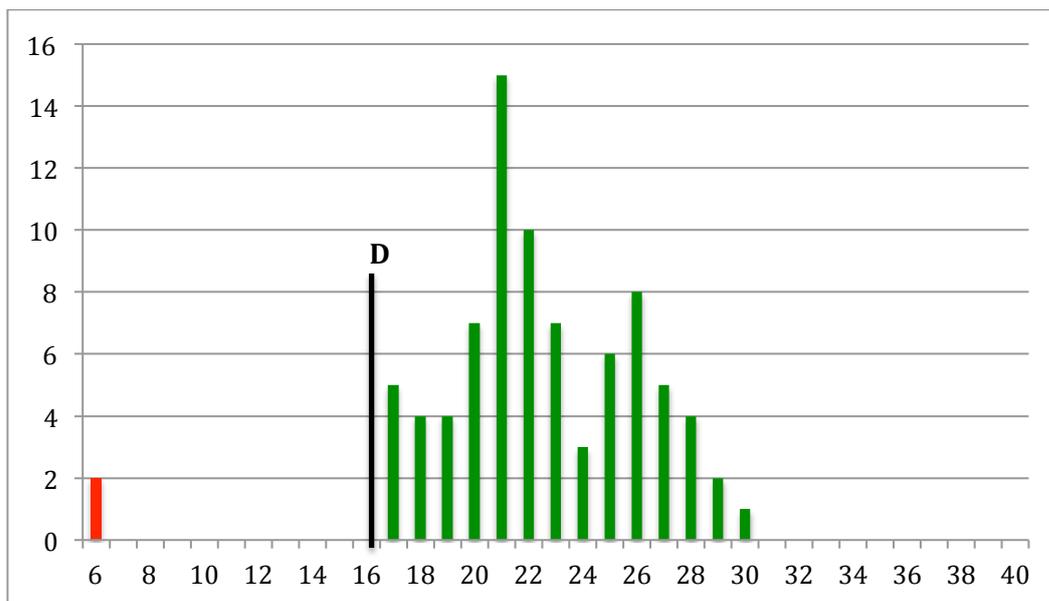


Figure 79 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction du diamètre d'inhibition de la Lévoﬂoxacine 5µg

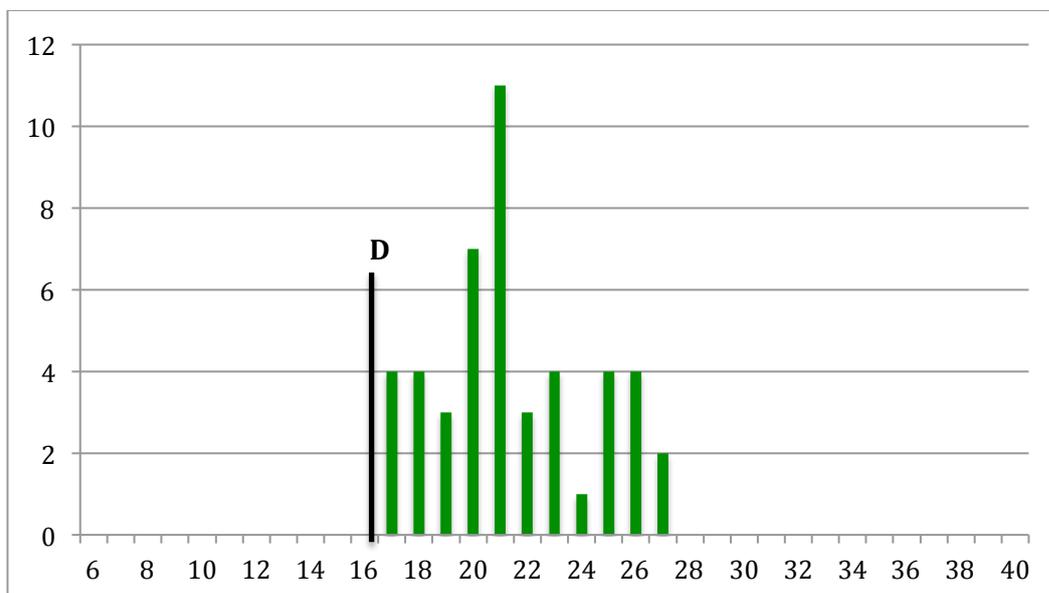
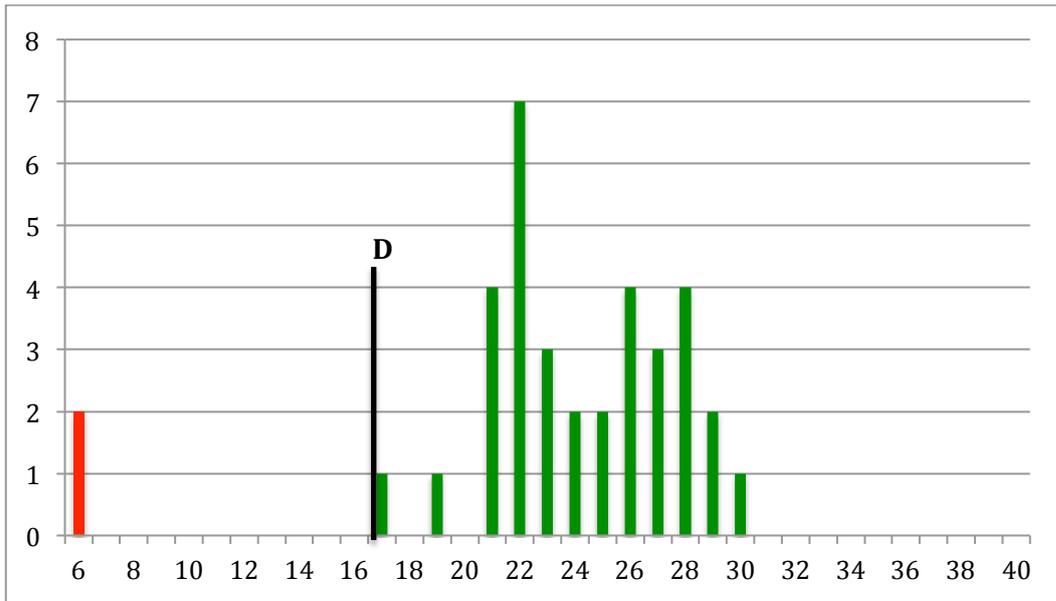


Figure 80 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Lévoﬂoxacine 5µg



**Figure 81: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Lévofloxacine 5µg**

Il n'existe qu'un seul diamètre critique concernant la lévofloxacine, égal à 17mm.

Les diamètres d'inhibition oscillent entre 6mm et 30mm. Les deux souches ayant un diamètre d'inhibition de 6mm sont celles issues d'expectorations qui poussent contre le disque de norfloxacine.

Le taux de souches résistantes à haut niveau à la lévofloxacine est de 2,4% pour l'ensemble des souches et de 5,6% pour les souches issues de prélèvements non invasifs.

Aucune résistance à haut niveau n'est constatée dans les souches issues de prélèvements invasifs. Cependant, la souche issue d'une hémoculture et présentant une résistance à la norfloxacine devra être catégorisée de « sensibilité diminuée » à la lévofloxacine. Le mécanisme responsable de cette résistance à bas niveau est probablement de l'efflux ou bien une mutation sur le gène ParC ou le gène ParE.

Tout comme pour la norfloxacine, il n'existe pas de différence significative concernant le taux de résistance à la lévofloxacine entre les souches issues de prélèvements invasifs et non invasifs (p=0,185).

12- Moxifloxacin 5µg

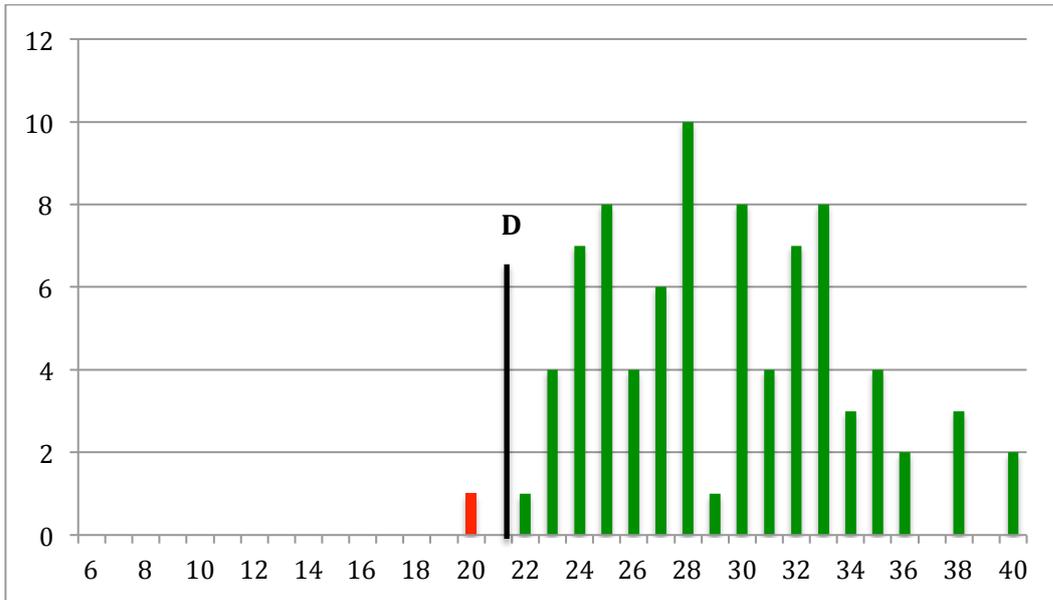


Figure 82 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction du diamètre d'inhibition de la Moxifloxacin 5µg

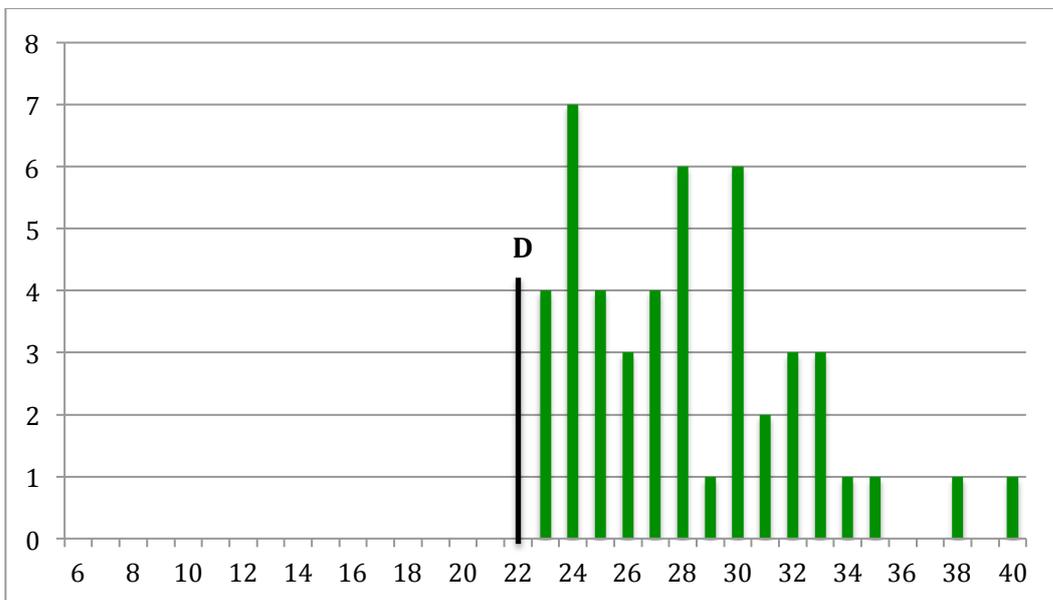
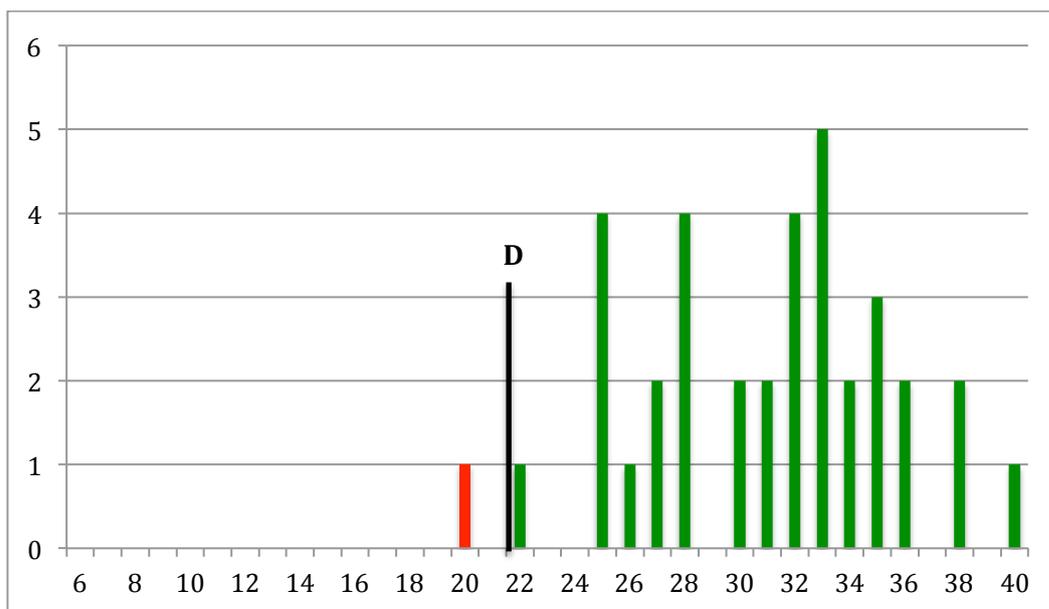


Figure 83 : Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Moxifloxacin 5µg



**Figure 84: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction du diamètre d'inhibition de la Moxifloxacine 5µg**

Il n'existe qu'un seul diamètre critique concernant la Moxifloxacine, égal à 22mm.

Les diamètres d'inhibition oscillent entre 20mm et 40mm. La seule souche résistante à la moxifloxacine est l'une des deux souches issues d'expectorations et déjà résistante à la norfloxacine et à la lévofloxacine. Le taux de souches résistantes à haut niveau à la moxifloxacine est de 1,2% pour l'ensemble des souches et de 2,8% pour les souches issues de prélèvements non invasifs.

A noter que les deux souches résistantes à la norfloxacine et apparaissant comme sensible à la moxifloxacine au niveau du diamètre d'inhibition devront être catégorisées de « sensibilité diminuée » à cet antibiotique.

Tout comme pour la norfloxacine, il n'existe pas de différence significative concernant le taux de résistance à la moxifloxacine entre les souches issues de prélèvements invasifs et non invasifs (p=0,43).

#### E- Résultats des CMI

Tous les résultats des CMI sont présentés en µg/ml. Les résultats de chaque CMI, pour chaque espèce, et selon les différentes méthodes utilisées, sont présentés en annexe 4.

1- Méthode E-test®

a. Pénicilline G

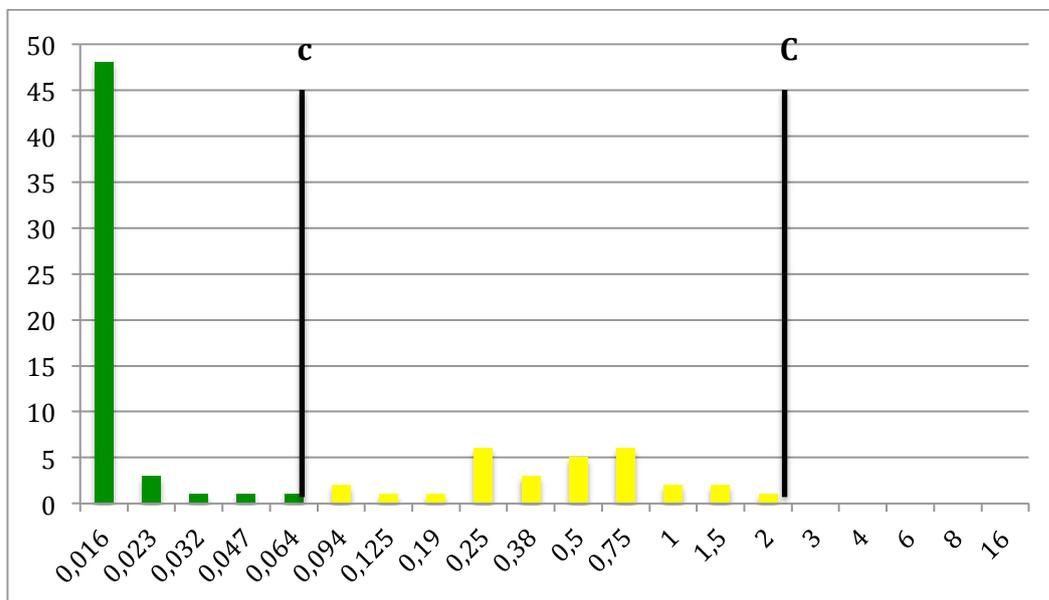


Figure 85: Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction de la CMI de la Pénicilline G obtenue par méthode E-test®

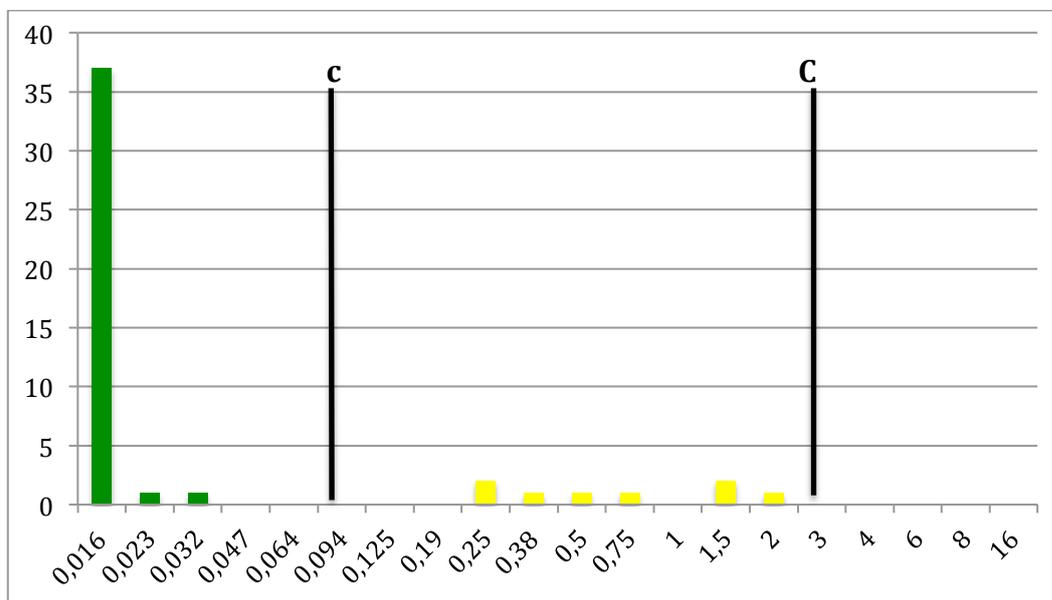
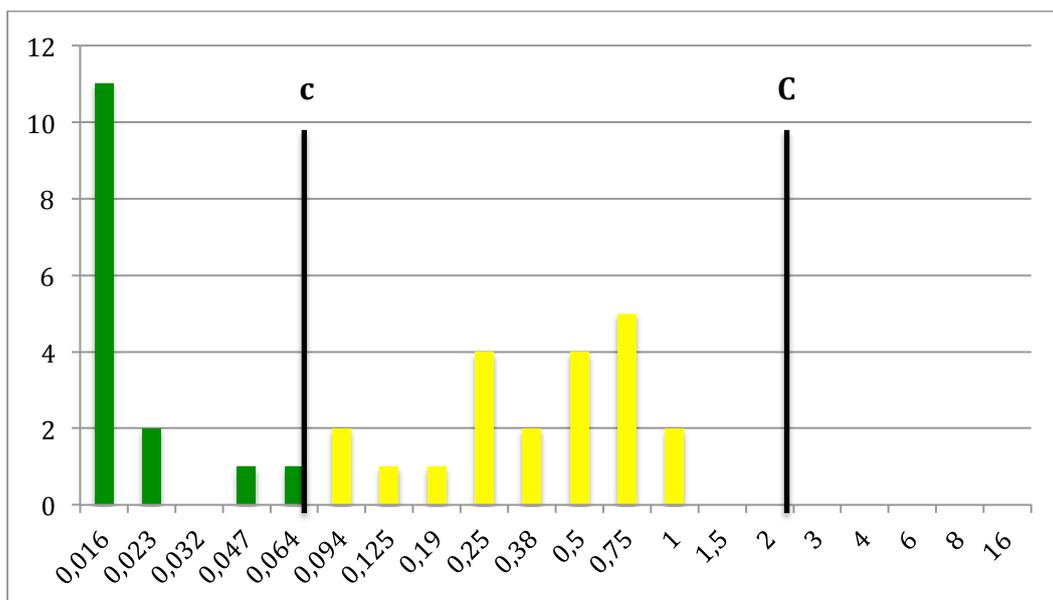


Figure 86: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction de la CMI de la Pénicilline G obtenue par méthode E-test®



**Figure 87: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction de la CMI de la Pénicilline G obtenue par méthode E-test®**

Les concentrations critiques supérieure et inférieure pour la pénicilline G sont 0,064 µg/ml et 2µg/ml.

Pour l'ensemble des prélèvements, les résultats varient entre 0,016 µg/ml et 2 µg/ml. Le taux global de PSDP est de 34,9%. Aucune souche n'est catégorisée résistante.

Pour les prélèvements invasifs, les résultats varient entre 0,016 µg/ml et 2 µg/ml et le taux de PSDP est de 17% alors que pour les prélèvements non invasifs, les résultats varient entre 0,016 µg/ml et 1 µg/ml et le taux de PSDP est de 58,3%.

Il existe une différence statistiquement significative entre les pourcentages de PSDP des souches issues de prélèvements invasifs et non invasifs déterminés par cette méthode (p=0,00009).

Type de prélèvement	Pourcentage de souches intermédiaires
Tous	34,9
Invasifs	17
Non invasifs	58,3

**Tableau 5: Pourcentages de souches de sensibilité intermédiaire à la Pénicilline G déterminés par méthode E-test®**

b. Amoxicilline

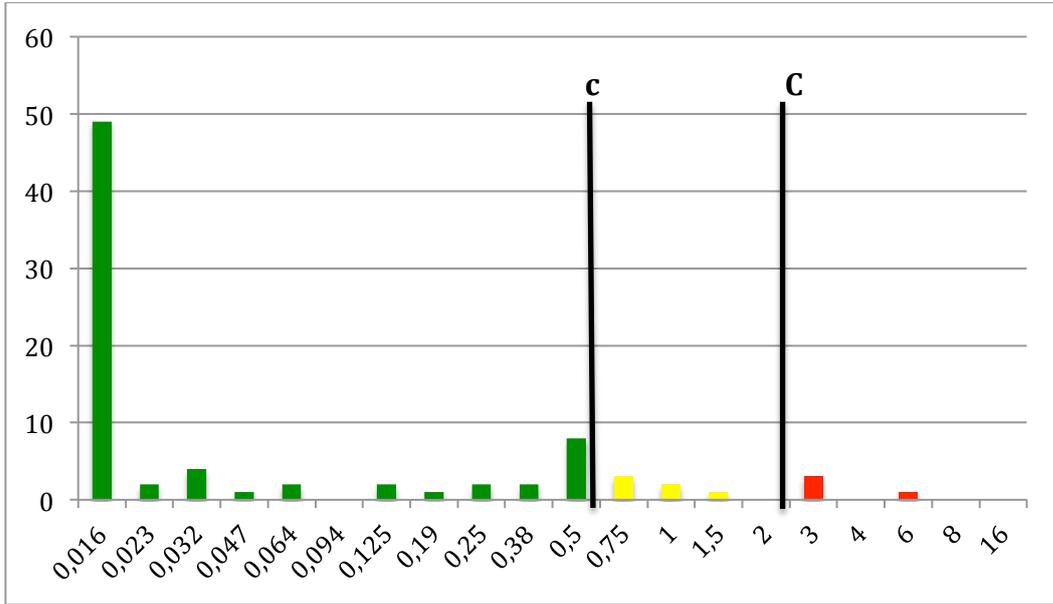


Figure 88: Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction de la CMI de l'Amoxicilline obtenue par méthode E-test®

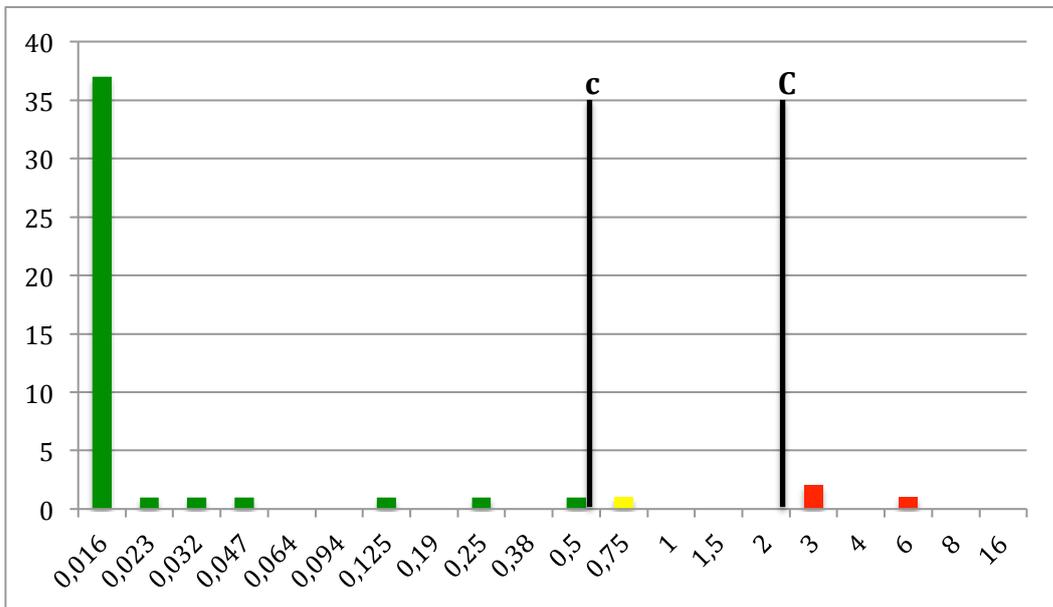
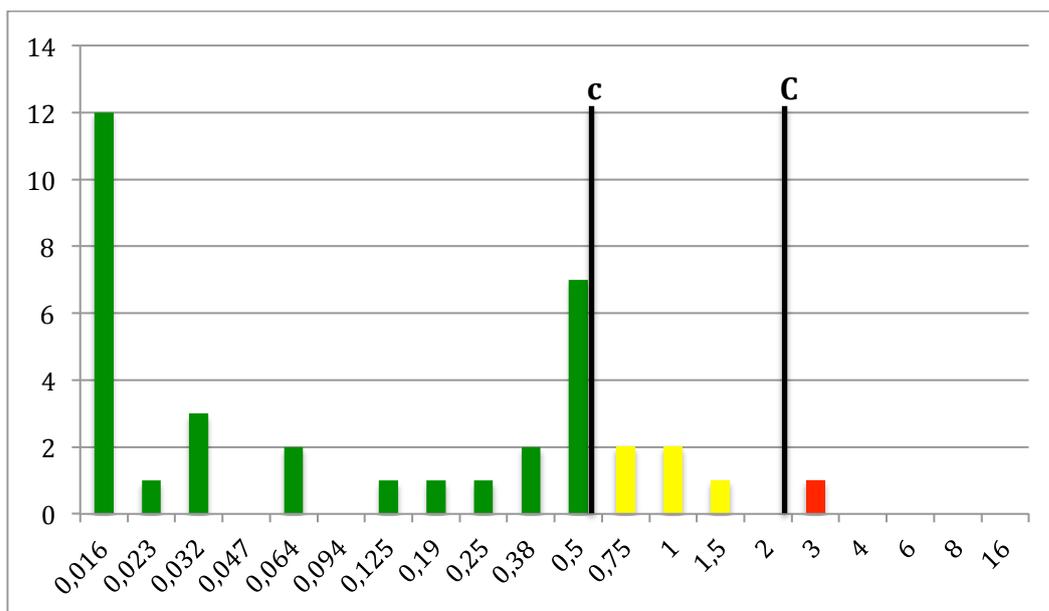


Figure 89: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction de la CMI de l'Amoxicilline obtenue par méthode E-test®



**Figure 90: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction de la CMI de l'Amoxicilline obtenue par méthode E-test®**

Les concentrations critiques supérieure et inférieure pour l'amoxicilline sont 0,5 µg/ml et 2 µg/ml. Pour l'ensemble des souches, les résultats varient entre 0,016 µg/ml et 6 µg/ml. Les taux de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à l'amoxicilline sont respectivement de 8,4% et 4,8%.

Pour les souches issues de prélèvements invasifs, les résultats varient entre 0,016 µg/ml et 6 µg/ml. Les taux respectifs de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à l'amoxicilline sont de 2,1% et 6,4%.

Pour les souches issues de prélèvements non invasifs, les résultats varient entre 0,016 µg/ml et 3 µg/ml. Les taux respectifs de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à l'amoxicilline sont de 13,9% et 2,8%.

Il n'existe pas de différence significative concernant le taux de souches de sensibilité diminuée à l'amoxicilline entre celles issues de prélèvements invasifs et non invasifs par cette méthode (p=0,32).

Type de prélèvement	Pourcentage de souches intermédiaires	Pourcentage de souches résistantes
Tous	8,4	4,8
Invasifs	2,1	6,4
Non invasifs	13,9	2,8

**Tableau 6: Pourcentages de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à l'Amoxicilline déterminés par méthode E-test®**

c. Céfotaxime

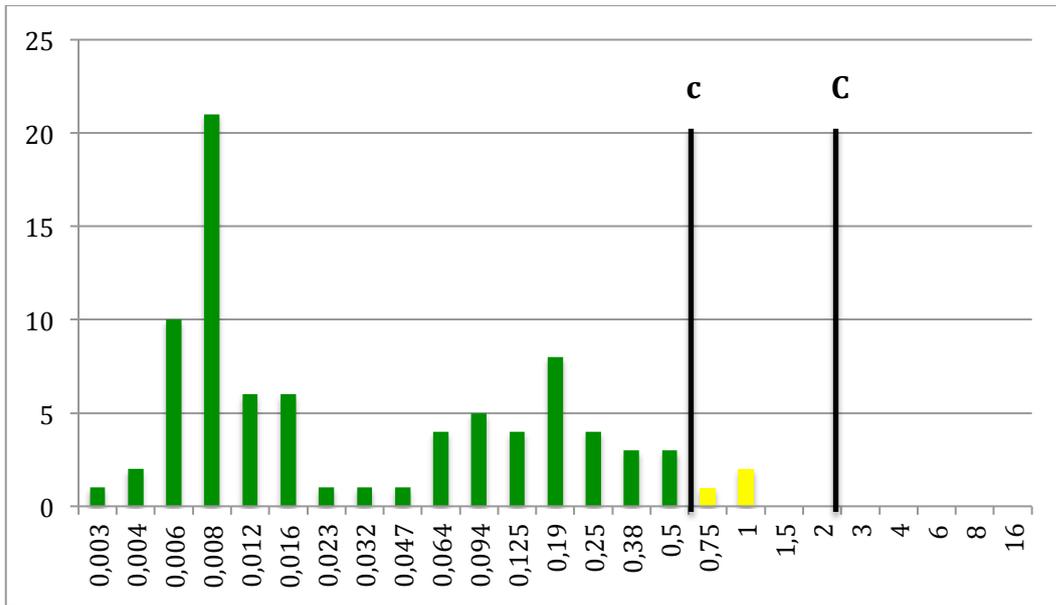


Figure 91: Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction de la CMI du Céfotaxime obtenue par méthode E-test®

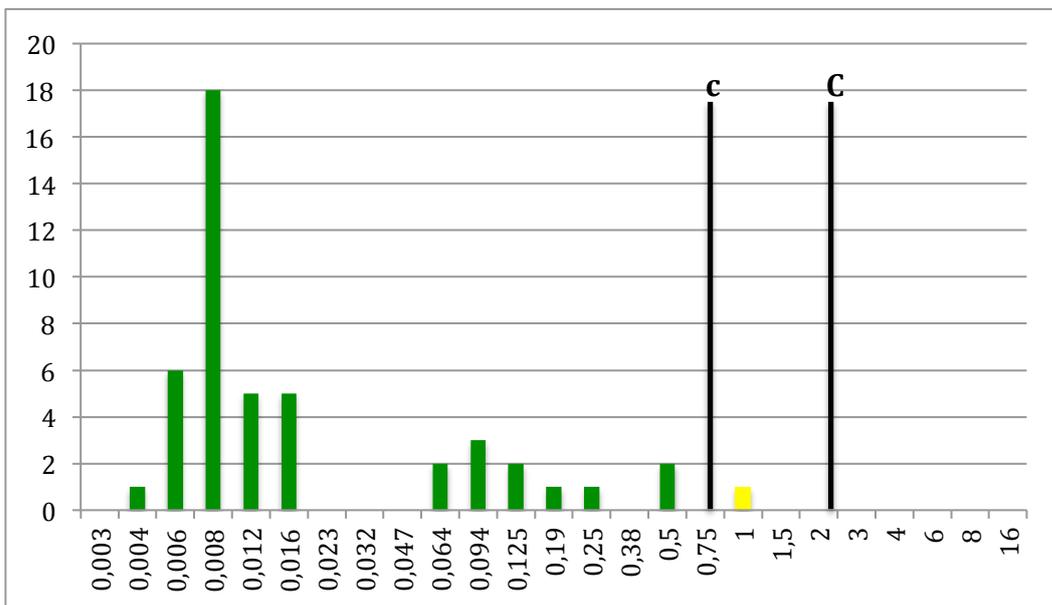
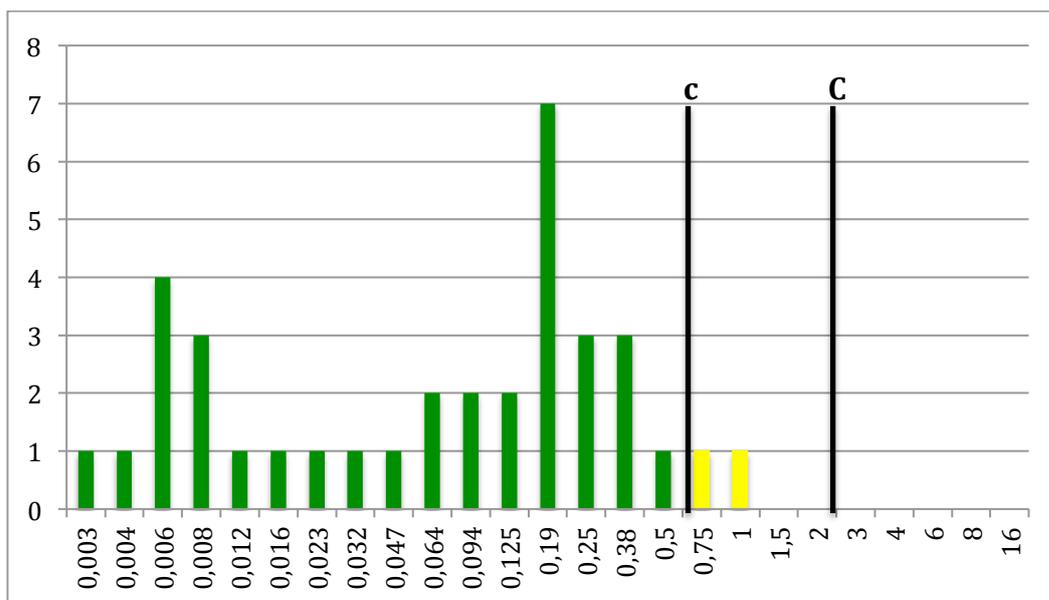


Figure 92: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction de la CMI du Céfotaxime obtenue par méthode E-test®



**Figure 93: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction de la CMI du Céfotaxime obtenue par méthode E-test®**

Les concentrations critiques supérieure et inférieure pour le céfotaxime sont 0,5 µg/ml et 2 µg/ml. Pour l'ensemble des souches, les résultats varient entre 0,003 µg/ml et 1 µg/ml et le taux de souche de sensibilité intermédiaire au céfotaxime est de 3,6%.

Pour les souches issues de prélèvements invasifs, les résultats varient entre 0,004 µg/ml et 1 µg/ml et le taux de souches de sensibilité intermédiaire au céfotaxime est de 2,1%.

Pour les souches issues de prélèvements non invasifs, les résultats varient entre 0,003 µg/ml et 1 µg/ml. Le taux de souches de sensibilité intermédiaire au céfotaxime est de 5,6%.

Il n'existe pas de différence significative concernant le taux de souches de sensibilité diminuée au céfotaxime entre celles issues de prélèvements invasifs et non invasifs par cette méthode (p=0,58).

Type de prélèvement	Pourcentage de souches intermédiaires
Tous	3,6
Invasifs	2,1
Non invasifs	5,6

**Tableau 7: Pourcentages de souches de sensibilité intermédiaire au Céfotaxime déterminés par méthode E-test®**

d. Ceftriaxone

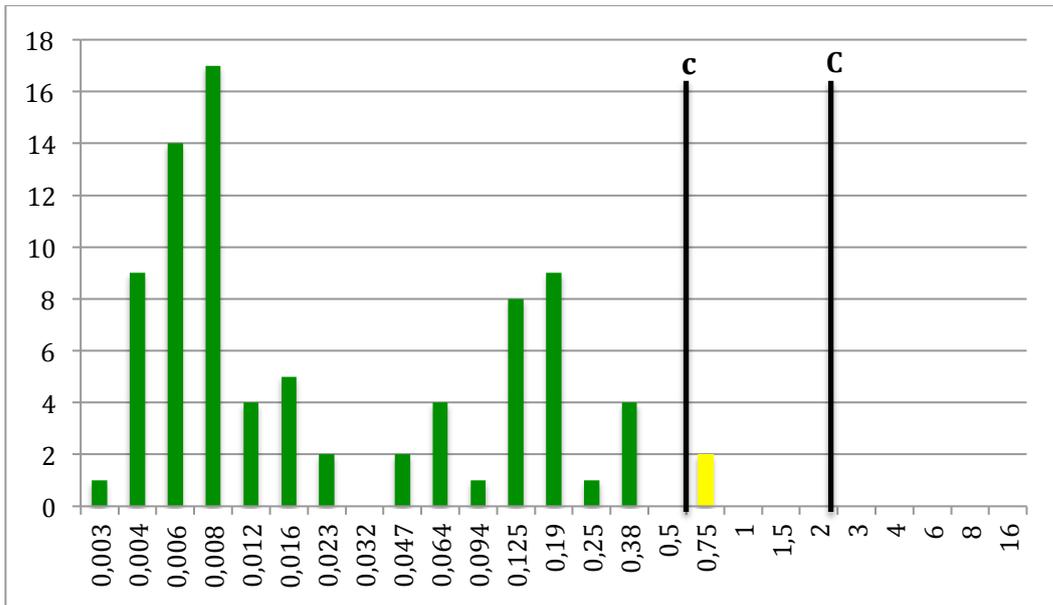


Figure 94: Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction de la CMI de la Ceftriaxone obtenue par méthode E-test®

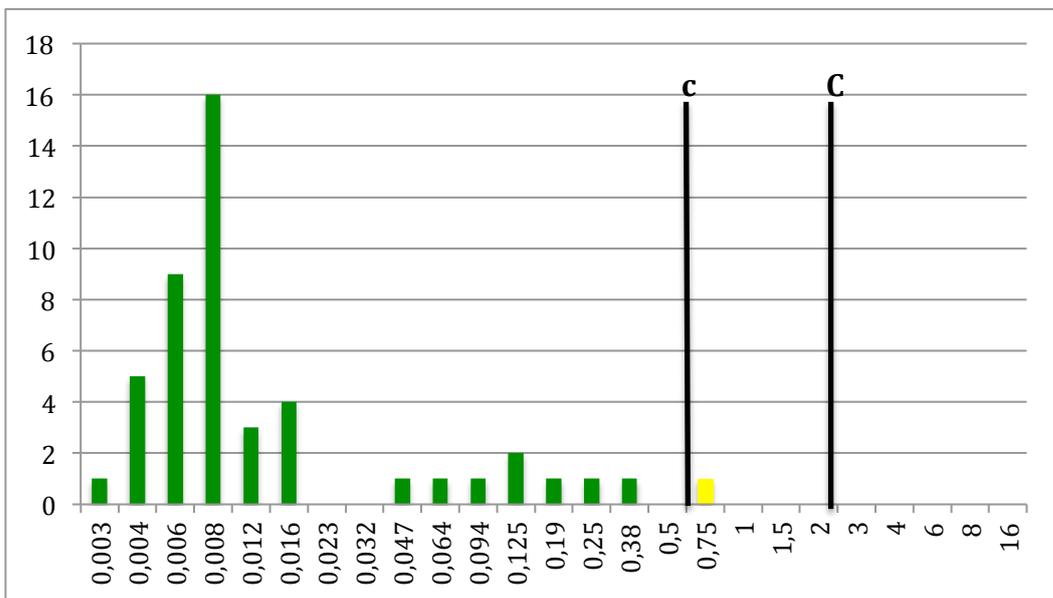
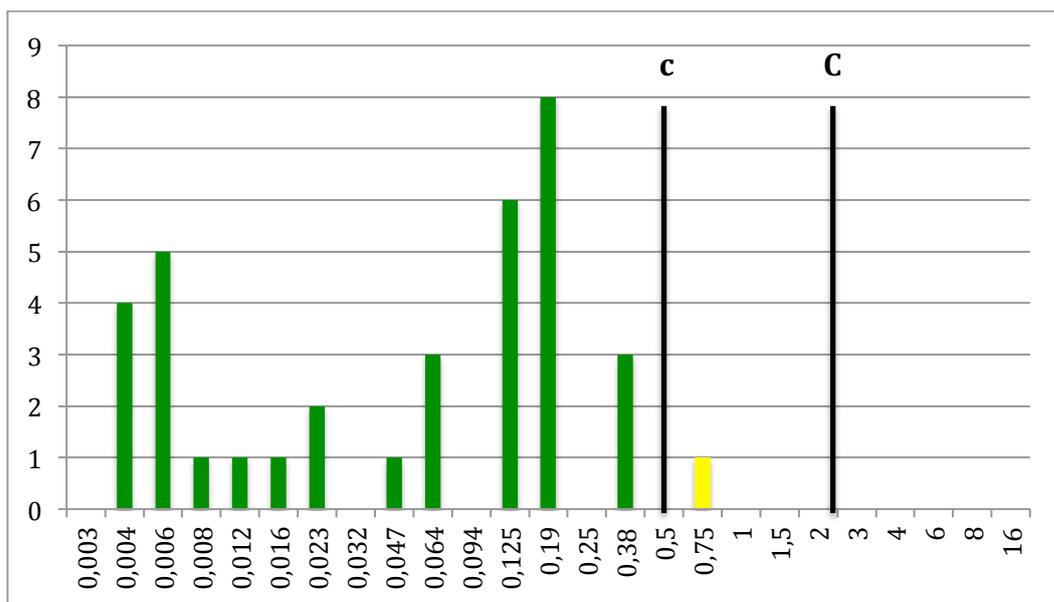


Figure 95: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction de la CMI de la Ceftriaxone obtenue par méthode E-test®



**Figure 96: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction de la CMI de la Ceftriaxone obtenue par méthode E-test®**

Les concentrations critiques supérieure et inférieure pour la ceftriaxone sont 0,5 µg/ml et 2 µg/ml pour les souches non issues de LCR.

Pour l'ensemble des souches, les résultats varient entre 0,003 µg/ml et 0,75 µg/ml et le taux de souches de sensibilité intermédiaire à la ceftriaxone est de 2,4%.

Pour les souches issues de prélèvements invasifs, les résultats varient entre 0,003 µg/ml et 0,75 µg/ml et le taux de souches de sensibilité intermédiaire à la ceftriaxone est de 2,1%.

Pour les souches issues de prélèvements non invasifs, les résultats varient entre 0,004 µg/ml et 0,75 µg/ml et le taux de souches de sensibilité intermédiaire à la ceftriaxone est de 2,8%.

Il n'existe pas de différence significative concernant le taux de souches de sensibilité diminuée au ceftriaxone entre celles issues de prélèvements invasifs et non invasifs par cette méthode (p=1).

Type de prélèvement	Pourcentage de souches intermédiaires
Tous	2,4
Invasifs	2,1
Non invasifs	2,8

**Tableau 8: Pourcentages de souches de sensibilité intermédiaire à la Ceftriaxone déterminés par méthode E-test®**

## 2- Méthode Sensititre®

### a. Pénicilline G

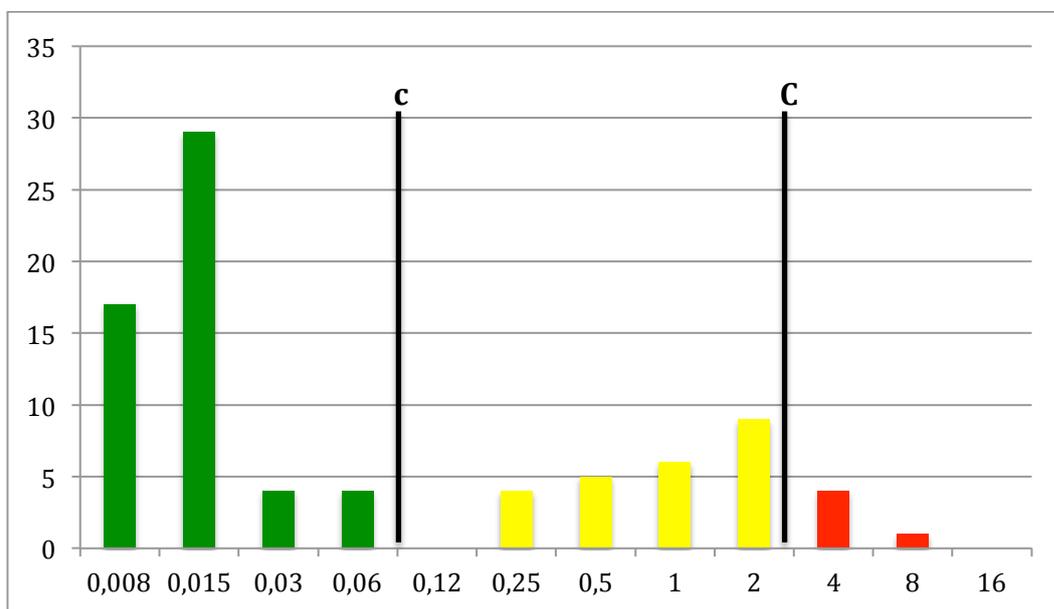


Figure 97: Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction de la CMI de la Pénicilline G obtenue par méthode Sensititre®

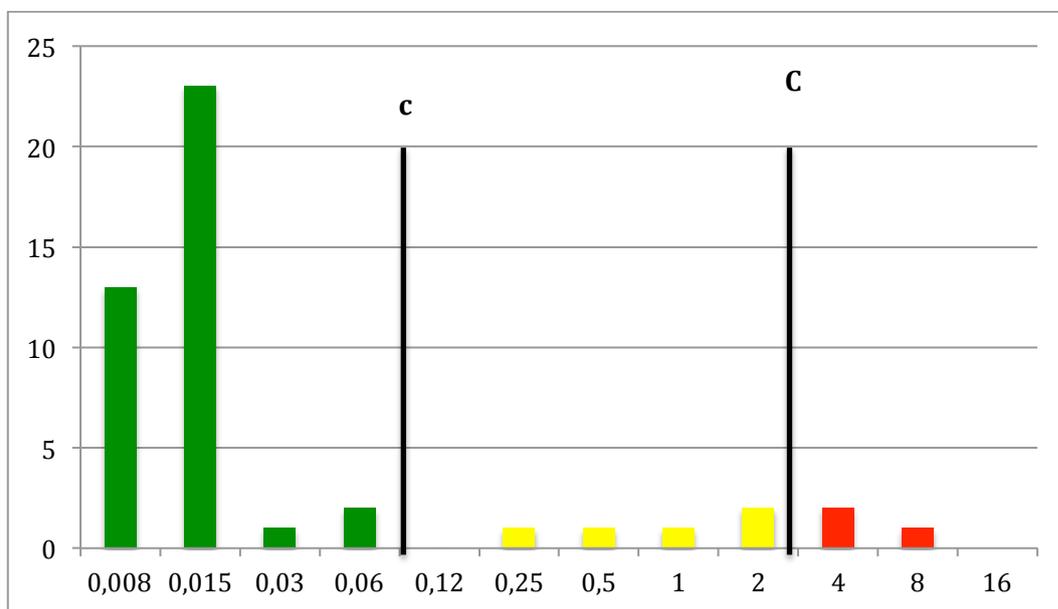
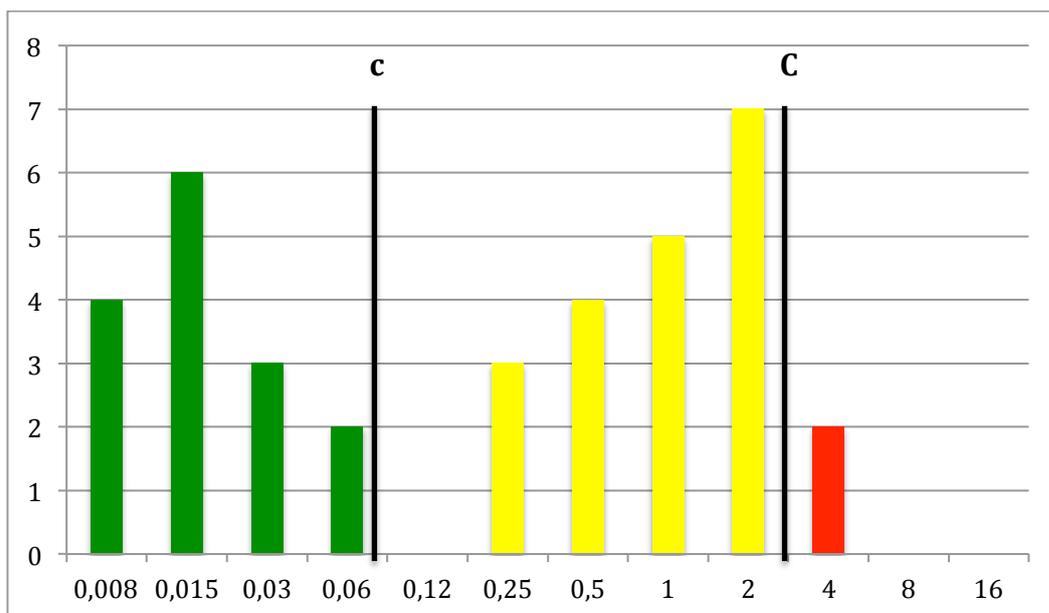


Figure 98: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction de la CMI de la Pénicilline G obtenue par méthode Sensititre®



**Figure 99: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction de la CMI de la Pénicilline G obtenue par méthode Sensititre®**

Les concentrations critiques supérieure et inférieure pour la pénicilline G sont 0,06 µg/ml et 2 µg/ml.

Pour l'ensemble des souches, les résultats varient entre 0,008 µg/ml et 8 µg/ml. Les taux respectifs de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à la pénicilline G sont de 28,9% et 6%. Le taux global de PSDP est donc de 34,9%.

Pour les souches issues de prélèvements invasifs, les résultats varient entre 0,008 µg/ml et 8 µg/ml. Les taux respectifs de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à la pénicilline G sont de 10,6% et 6,4%.

Pour les souches issues de prélèvements non invasifs, les résultats varient entre 0,008 µg/ml et 4 µg/ml. Les taux respectifs de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à la pénicilline G sont de 52,8% et 5,5%.

Il existe une différence statistiquement significative entre les pourcentages de PSDP des souches issues de prélèvements invasifs et non invasifs déterminés par cette méthode (p=0,0002).

Type de prélèvement	Pourcentage de souches intermédiaires	Pourcentage de souches résistantes
Tous	28,9	6
Invasifs	10,6	6,4
Non invasifs	52,8	5,5

Tableau 9: Pourcentage de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à la Pénicilline G déterminé par méthode Sensititre®

b. Amoxicilline

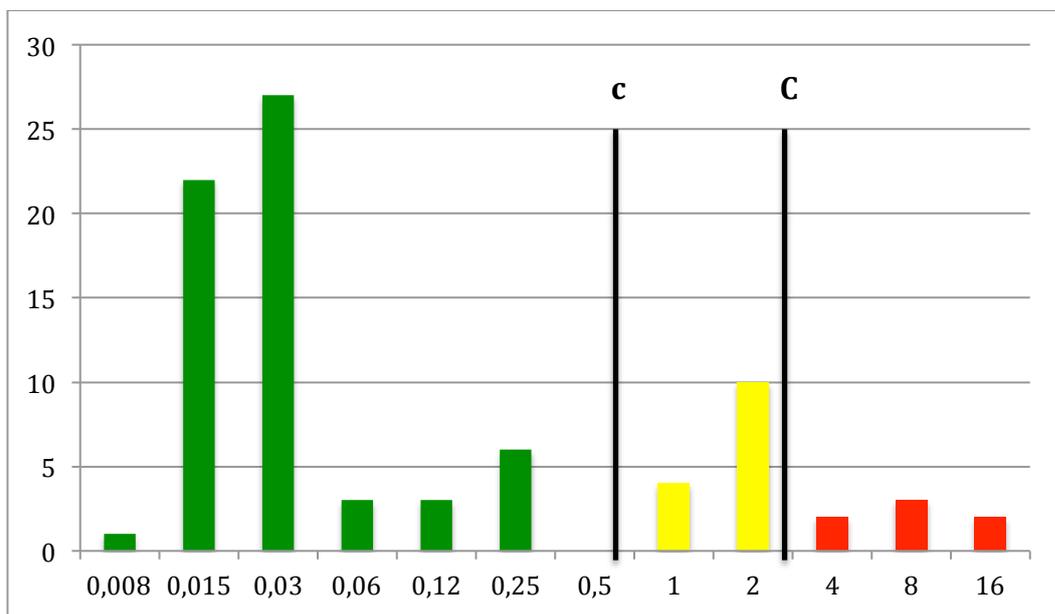


Figure 100: Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction de la CMI de l'Amoxicilline obtenue par méthode Sensititre®

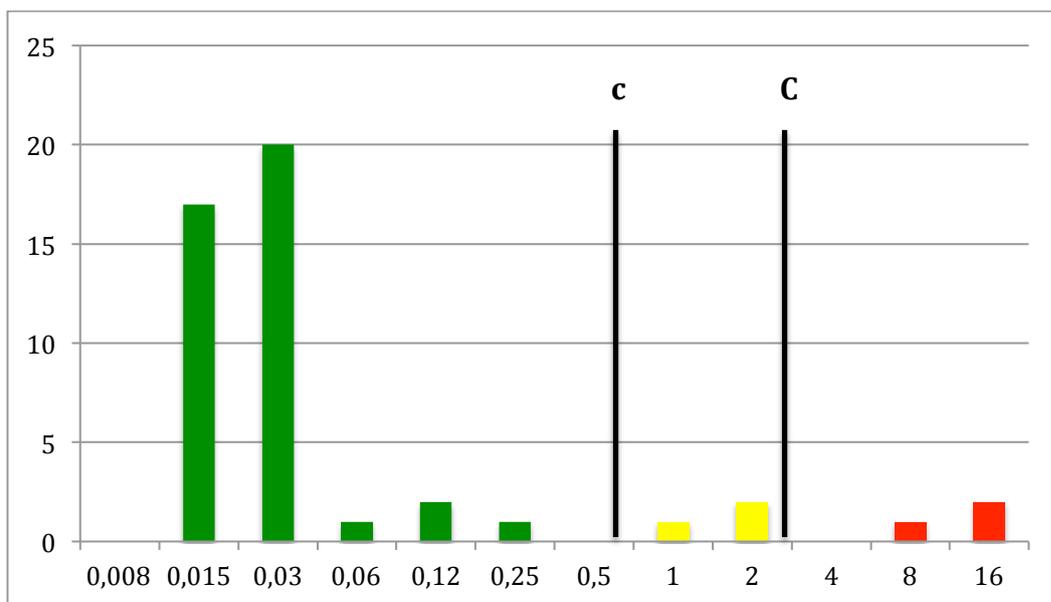


Figure 101: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction de la CMI de l'Amoxicilline obtenue par méthode Sensititre®

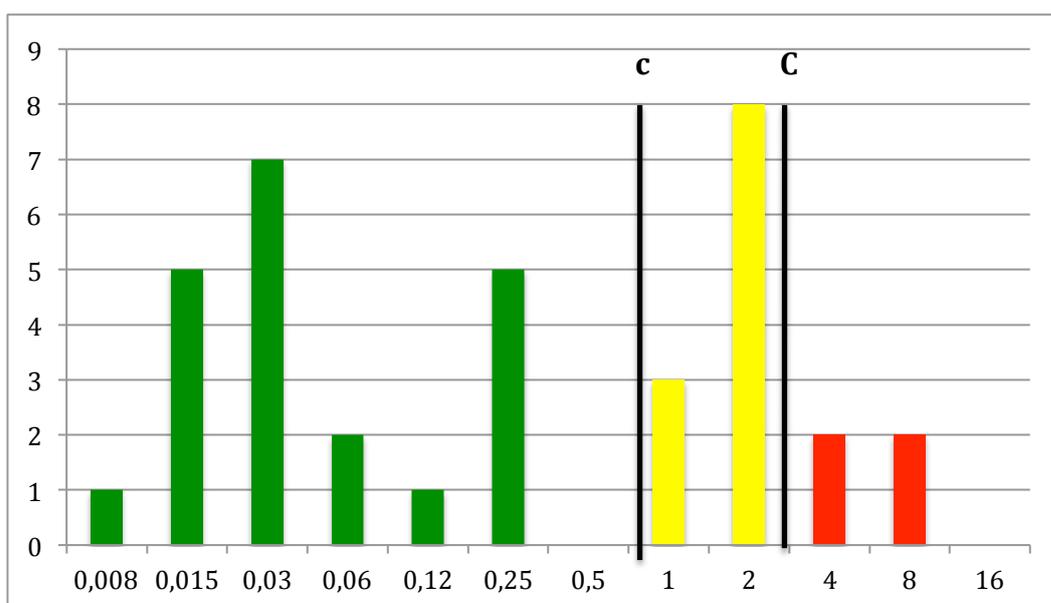


Figure 102: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction de la CMI de l'Amoxicilline obtenue par méthode Sensititre®

Les concentrations critiques supérieure et inférieure pour l'amoxicilline sont 0,5 µg/ml et 2 µg/ml. Pour l'ensemble des souches, les résultats varient entre 0,008 µg/ml et 16 µg/ml. Les taux respectifs de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à l'amoxicilline sont de 16,9% et 8,4%.

Pour les souches issues de prélèvements invasifs, les résultats varient entre 0,015 µg/ml et 16 µg/ml. Les taux de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à l'amoxicilline sont tous les deux de 6,4%.

Pour les souches issues de prélèvements non invasifs, les résultats varient entre 0,008  $\mu\text{g/ml}$  et 8  $\mu\text{g/ml}$ . Les taux respectifs de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à l'amoxicilline sont de 30,6% et 11,1%.

Il existe une différence significative concernant le taux de souches de sensibilité diminuée à l'amoxicilline entre celles issues de prélèvements invasifs et non invasifs par cette méthode ( $p=0,0027$ ).

Type de prélèvement	Pourcentage de souches intermédiaires	Pourcentage de souches résistantes
Tous	16,9	8,4
Invasifs	6,4	6,4
Non invasifs	30,6	11,1

Tableau 10: Pourcentage de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à l'Amoxicilline déterminé par méthode Sensititre®

c. Céfotaxime

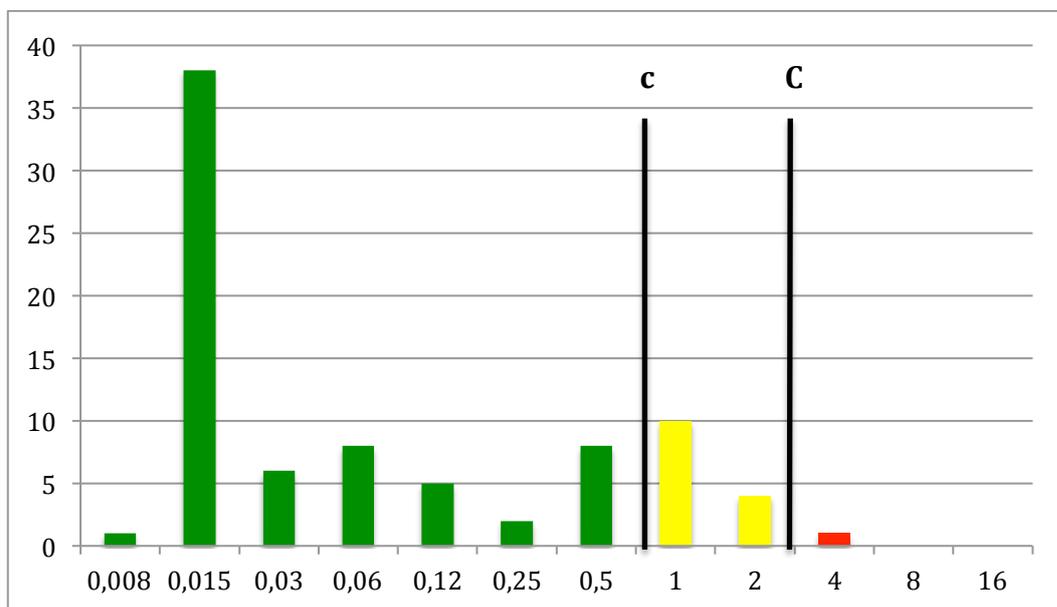


Figure 103: Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction de la CMI du Céfotaxime obtenue par méthode Sensititre®

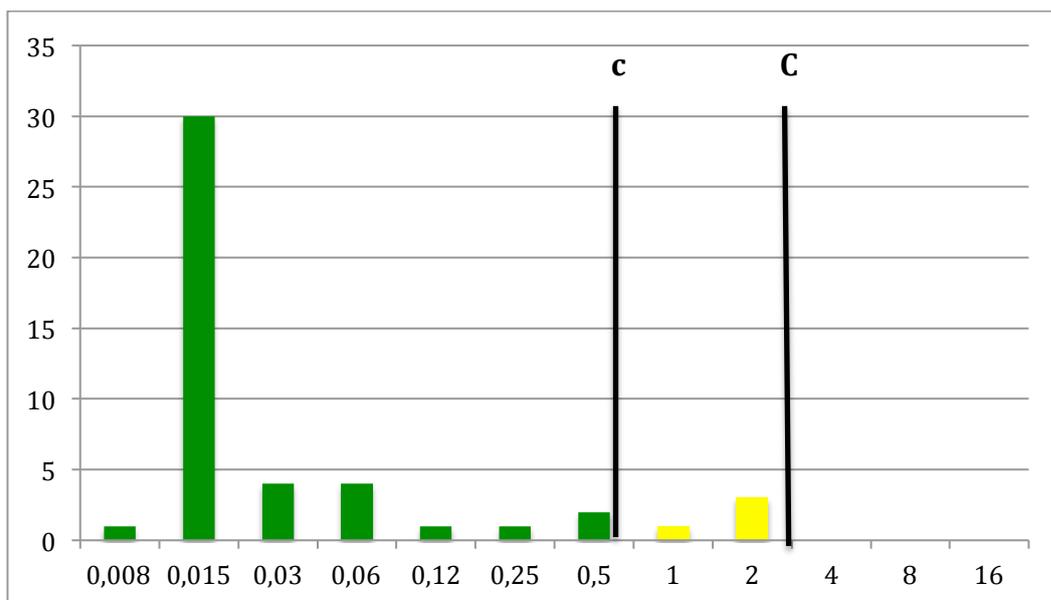


Figure 104: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction de la CMI du Céfotaxime obtenue par méthode Sensititre®

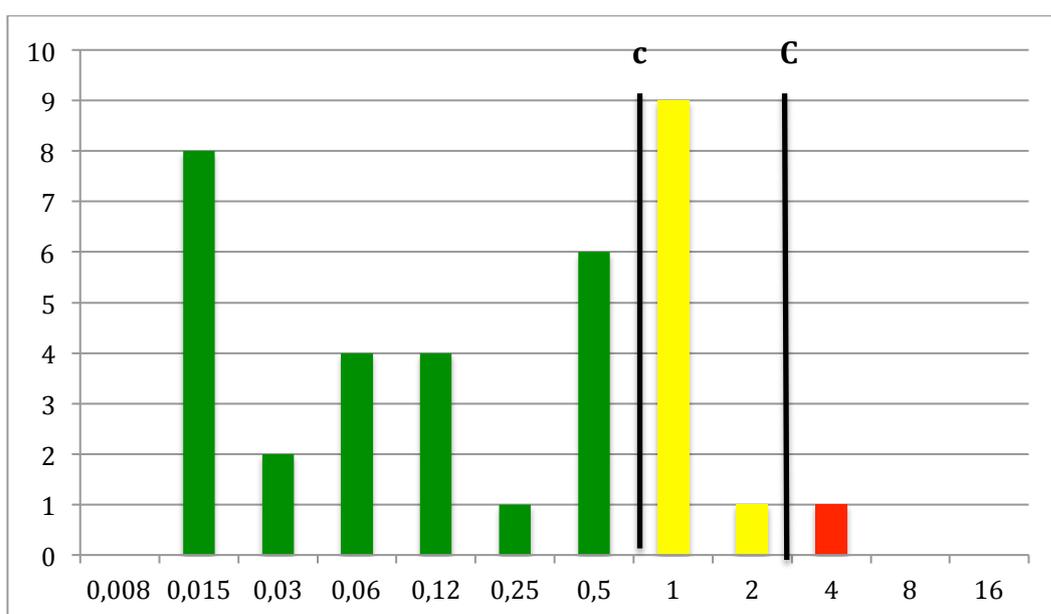


Figure 105: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction de la CMI du Céfotaxime obtenue par méthode Sensititre®

Les concentrations critiques supérieure et inférieure pour le céfotaxime sont 0,5 µg/ml et 2 µg/ml. Pour l'ensemble des souches, les résultats varient entre 0,008 µg/ml et 4 µg/ml. Les taux respectifs de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes au céfotaxime sont de 16,9% et 1,2%.

Pour les souches issues de prélèvements invasifs, les résultats varient entre 0,008 µg/ml et 2 µg/ml et le taux de souches de sensibilité intermédiaire au céfotaxime est de 8,5%.

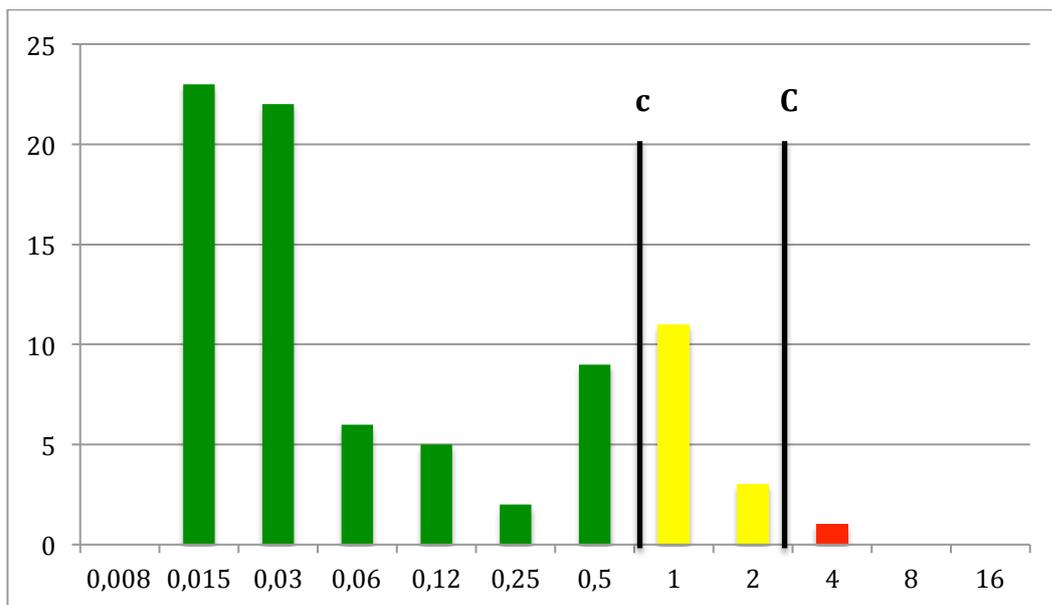
Pour les souches issues de prélèvements non invasifs, les résultats varient entre 0,015  $\mu\text{g/ml}$  et 4  $\mu\text{g/ml}$ . Les taux respectifs de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes au céfotaxime sont de 27,8% et 2,8%.

Il existe une différence significative concernant le taux de souches de sensibilité diminuée au céfotaxime entre celles issues de prélèvements invasifs et non invasifs par cette méthode ( $p=0,019$ ).

Type de prélèvement	Pourcentage de souches intermédiaires	Pourcentage de souches résistantes
Tous	16,9	1,2
Invasifs	8,5	0
Non invasifs	27,8	2,8

**Tableau 11: Pourcentage de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes au Céfotaxime déterminé par méthode Sensititre®**

d. Ceftriaxone



**Figure 106: Nombre de souches de *S.pneumoniae* de l'ensemble des prélèvements en fonction de la CMI de la Ceftriaxone obtenue par méthode Sensititre®**

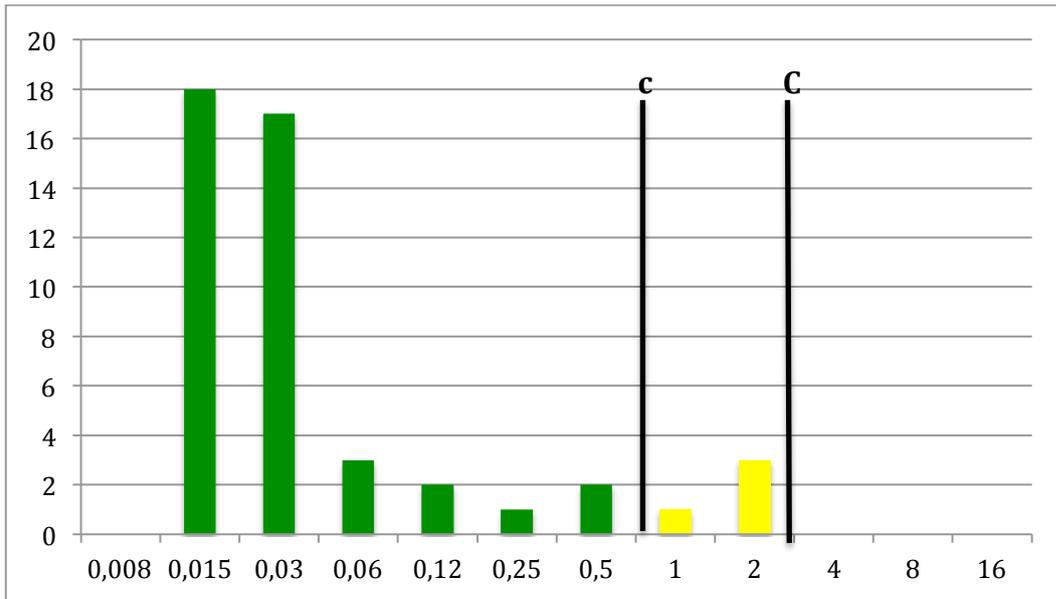


Figure 107: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections invasives en fonction de la CMI de la Ceftriaxone obtenue par méthode Sensititre®

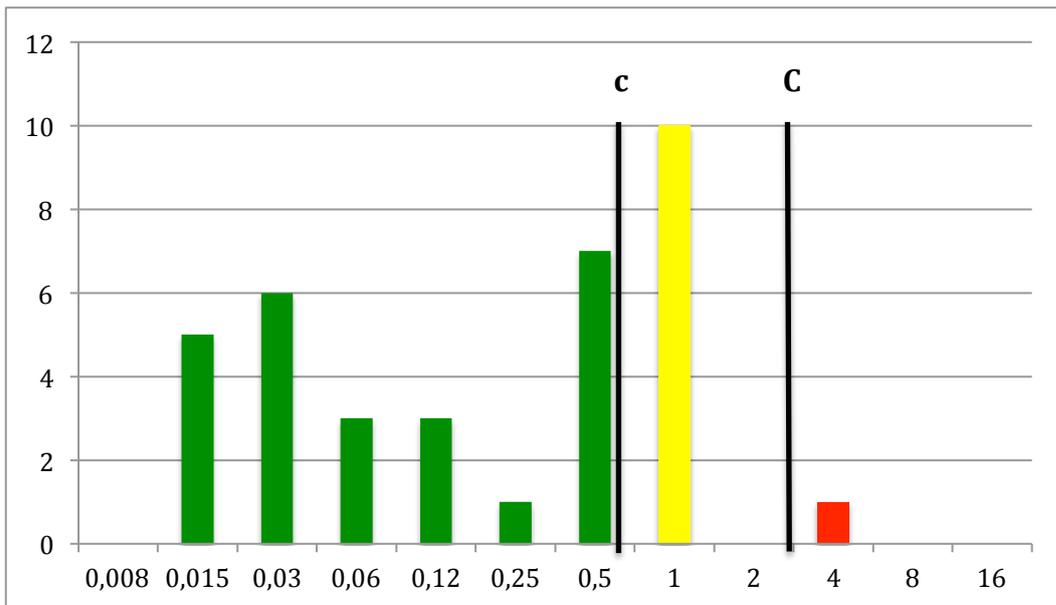


Figure 108: Nombre de souches de *S.pneumoniae* issues d'infections non invasives en fonction de la CMI de la Ceftriaxone obtenue par méthode Sensititre®

Les concentrations critiques supérieure et inférieure pour la ceftriaxone sont 0,5 µg/ml et 2 µg/ml. Pour l'ensemble des souches, les résultats varient entre 0,015 µg/ml et 4 µg/ml. Les taux respectifs de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à la ceftriaxone sont de 16,9% et 1,2%. Pour les souches issues de prélèvements invasifs, les résultats varient entre 0,015 µg/ml et 2 µg/ml. Le taux de souches de sensibilité intermédiaire à la ceftriaxone est de 8,5%.

Pour les souches issues de prélèvements non invasifs, les résultats varient entre 0,015  $\mu\text{g/ml}$  et 4  $\mu\text{g/ml}$ . Les taux respectifs de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à la ceftriaxone, sont de 27,8% et 2,8%.

Il existe une différence significative concernant le taux de souches de sensibilité diminuée à la ceftriaxone entre celles issues de prélèvements invasifs et non invasifs par cette méthode ( $p=0,019$ ).

Type de prélèvement	Pourcentage de souches intermédiaires	Pourcentage de souches résistantes
Tous	16,9	1,2
Invasifs	8,5	0
Non invasifs	27,8	2,8

**Tableau 12: Pourcentage de souches de sensibilité intermédiaire et résistantes à la Ceftriaxone déterminé par méthode Sensititre®**

### 3- Corrélation disque d'oxacilline et CMI

Sur les 83 souches testées, 34 souches ont été catégorisées résistantes à l'oxacilline 1 $\mu\text{g}$  alors que seulement 29 souches ont une CMI pour la pénicilline G supérieure à 0,064  $\mu\text{g/ml}$ , et/ou une CMI supérieure à 0,5 $\mu\text{g/ml}$  pour l'amoxicilline, le céfotaxime ou la ceftriaxone. Les 5 souches sensibles en CMI mais résistantes à l'oxacilline sont issues de 2 hémocultures, 2 aspirations trachéo-bronchiques et 1 fibroscopie alvéolaire.

Sur ce panel de souches, le dépistage des PSDP par le disque d'oxacilline 1 $\mu\text{g}$  a donc une sensibilité de 100% et une spécificité de 90,7%.

### F- Comparaison de méthodes

Les CMI de la pénicilline G, de l'amoxicilline, du céfotaxime et de la ceftriaxone ont été testées selon deux méthodes, E-test® et Sensititre®, pour l'ensemble des 83 souches. Lorsqu'un écart supérieur ou égal à deux dilutions a été constaté, un contrôle a été effectué pour les deux méthodes. En cas de persistance de la discordance, une CMI par la méthode de référence a été réalisée pour les souches de PSDP. Dans les paragraphes suivants sont présentées pour chaque molécule différentes approches de la discordance : droites de corrélation des deux méthodes, pourcentage de discordance sur la valeur de la CMI ou sur la catégorisation clinique et enfin comparaison avec la méthode de référence.

## 1- Droites de corrélation

Dans les graphiques de ce paragraphe sont représentées les droites de régression des méthodes E-test® et Sensititre®. En abscisses figurent les valeurs obtenues par E-test® alors que les valeurs obtenues par la méthode Sensititre® sont représentées en ordonnées.

### a. Général

- Pénicilline G

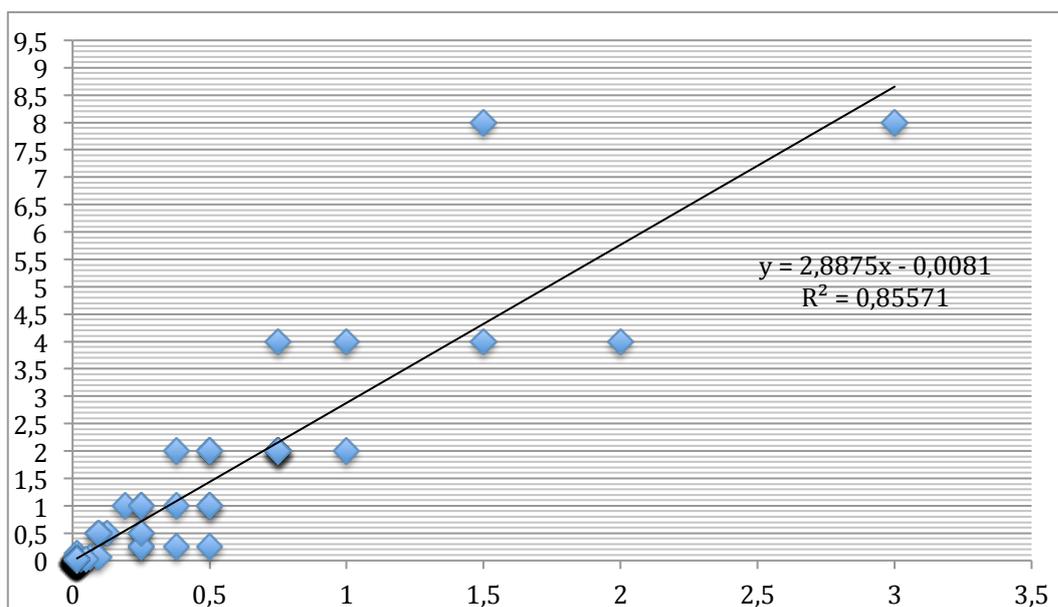


Figure 109 : Comparaison des valeurs de la CMI de la Pénicilline G mesurées par méthodes E-test® et Sensititre® sur l'ensemble des prélèvements

- Amoxicilline

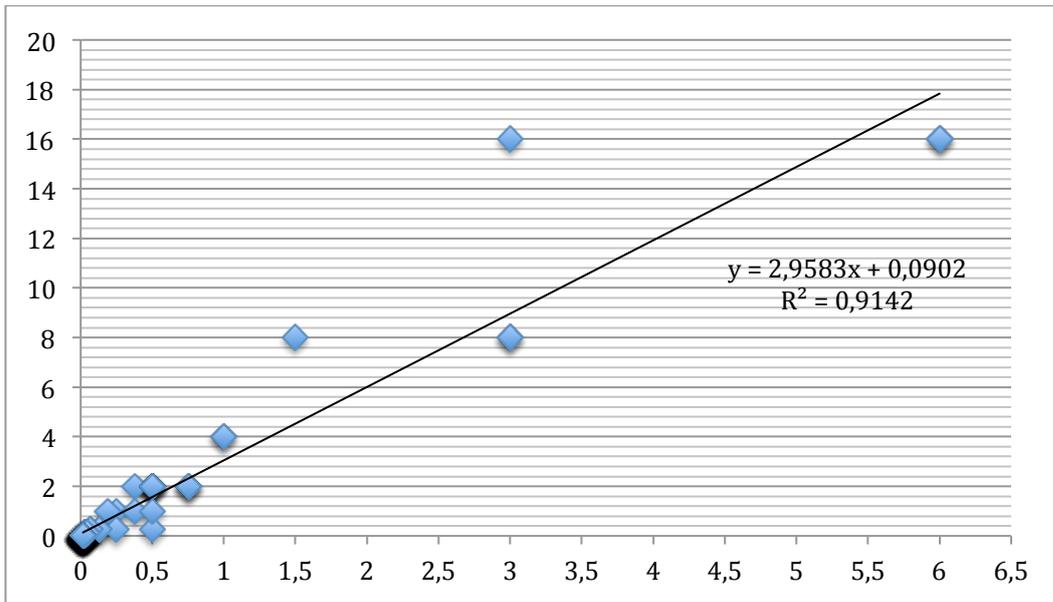


Figure 110 : Comparaison des valeurs de la CMI de l'Amoxicilline mesurées par méthodes E-test® et Sensititre® sur l'ensemble des prélèvements

- Céfotaxime

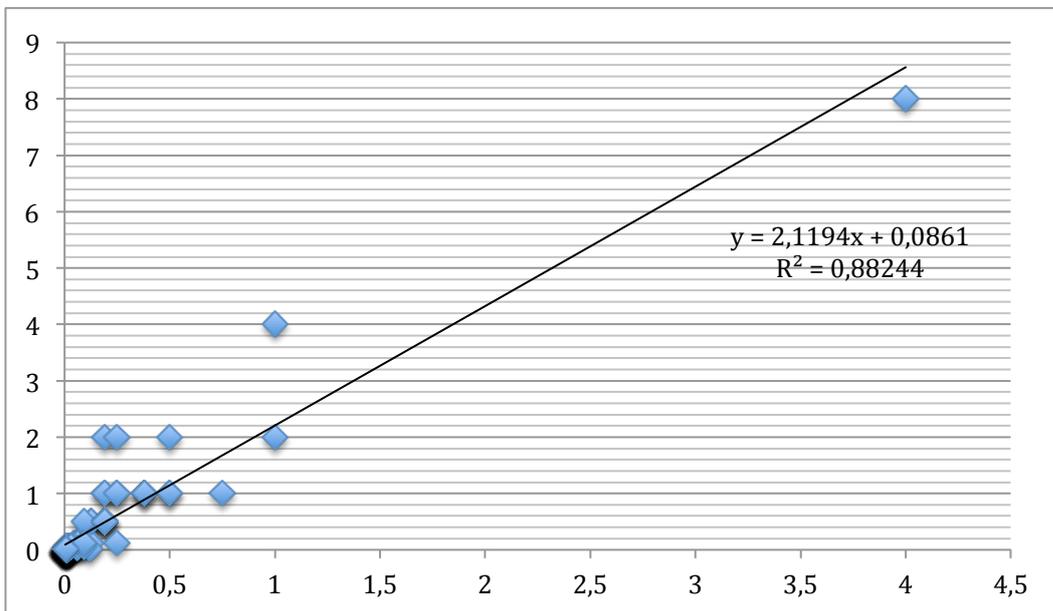


Figure 111 : Comparaison des valeurs de la CMI du Céfotaxime mesurées par méthodes E-test® et Sensititre® sur l'ensemble des prélèvements

- Ceftriaxone

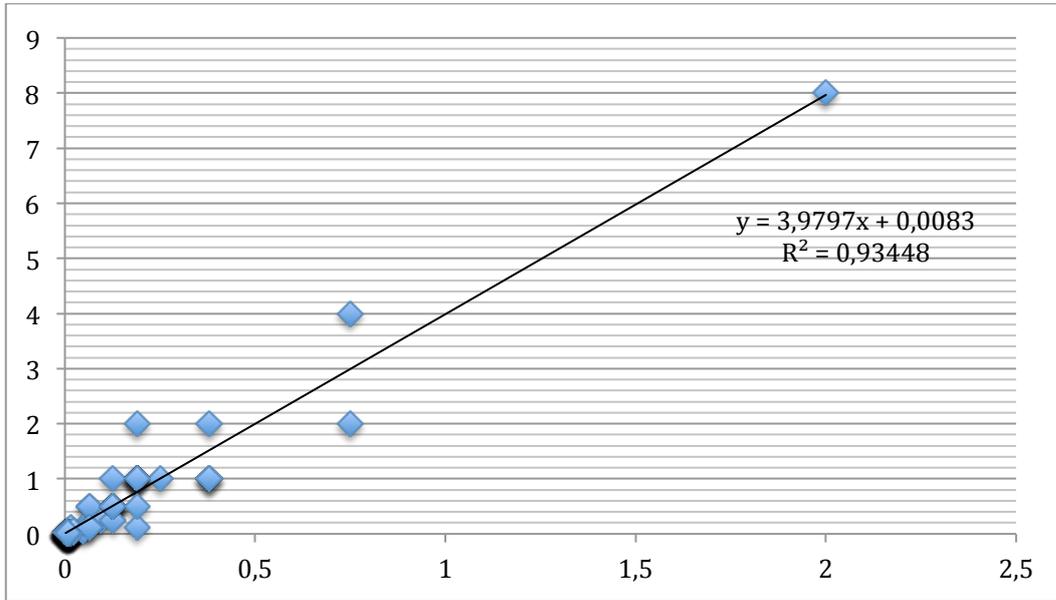


Figure 112 : Comparaison des valeurs de la CMI de la Ceftriaxone mesurées par méthodes E-test® et Sensititre® sur l'ensemble des prélèvements

b. Infections invasives

- Pénicilline G

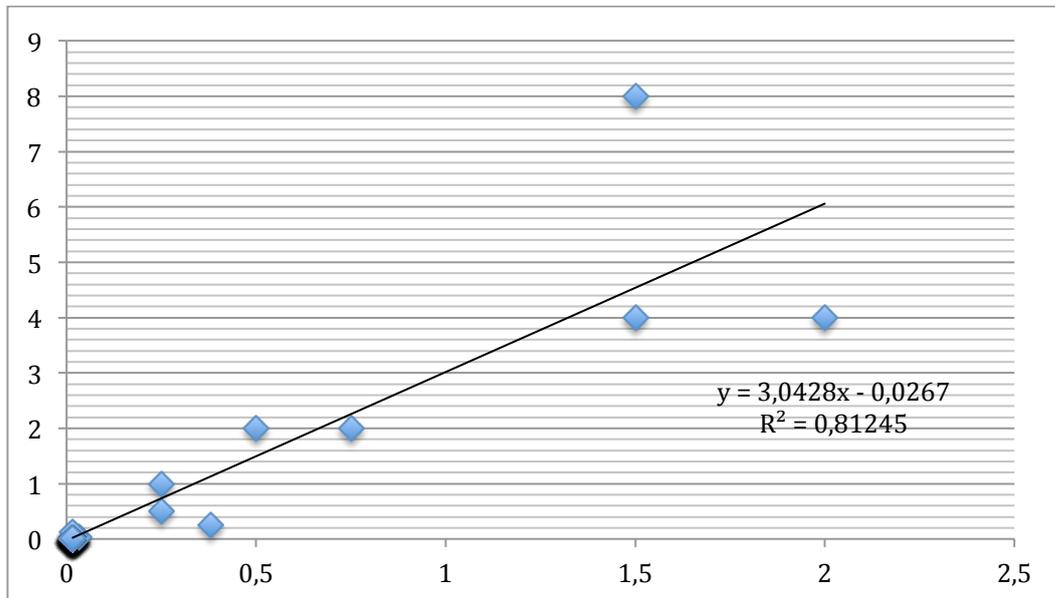


Figure 113 : Comparaison des valeurs de la CMI de la Pénicilline G mesurées par méthodes E-test® et Sensititre® sur les souches issues d'infections invasives

- Amoxicilline

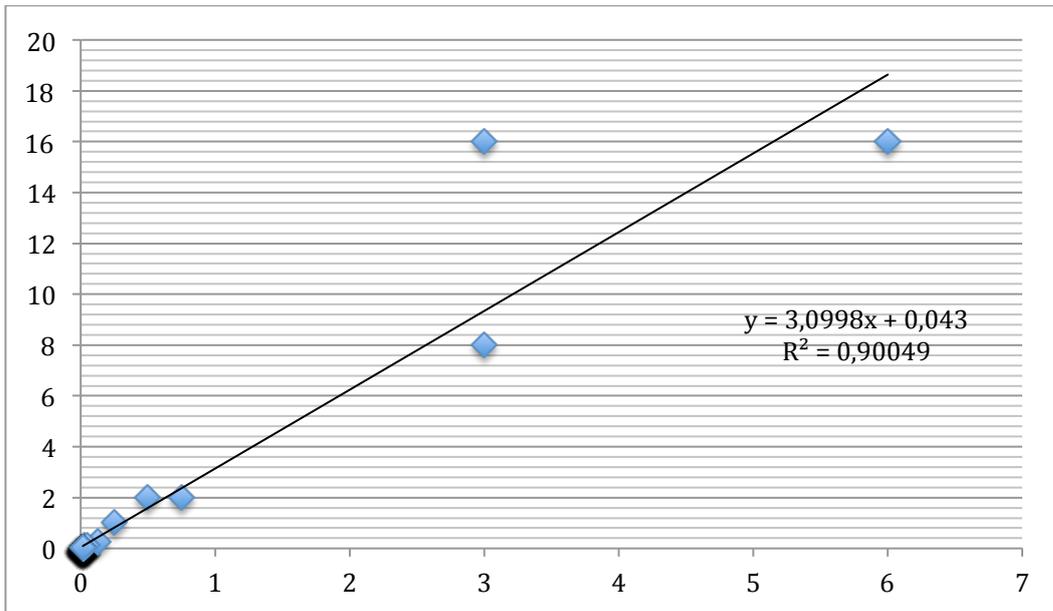


Figure 114 : Comparaison des valeurs de la CMI de l'Amoxicilline mesurées par méthodes E-test® et Sensititre® sur les souches issues d'infections invasives

- Céfotaxime

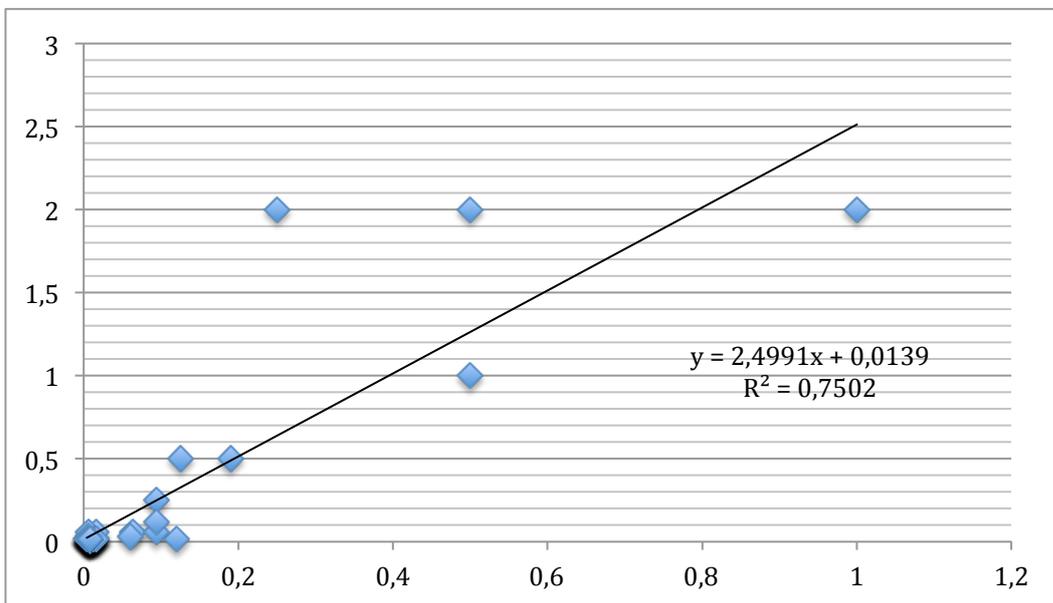


Figure 115 : Comparaison des valeurs de la CMI du Céfotaxime mesurées par méthodes E-test® et Sensititre® sur les souches issues de d'infections invasives

- Ceftriaxone

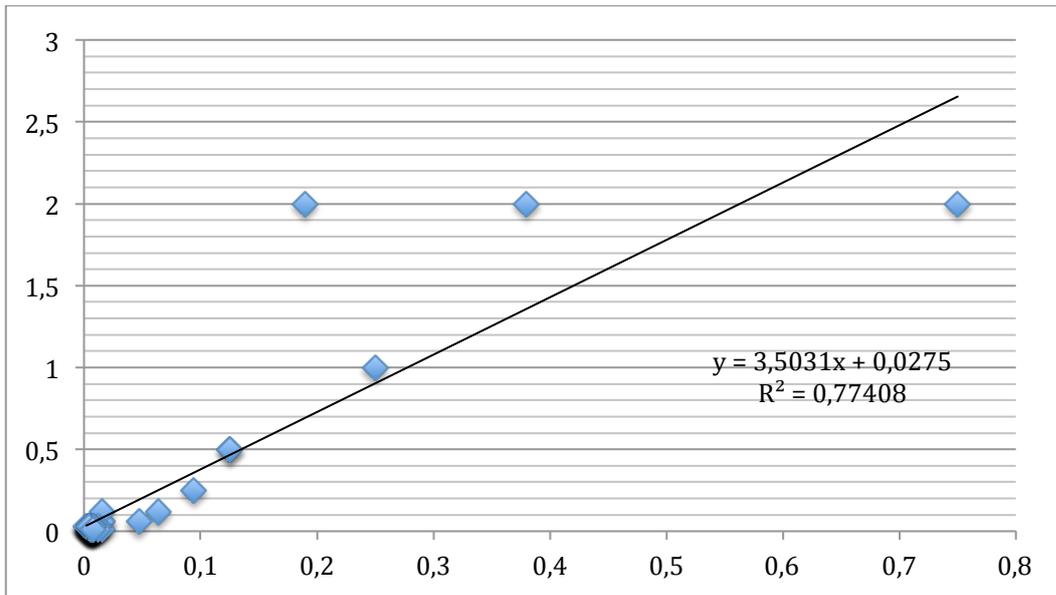


Figure 116 : Comparaison des valeurs de la CMI de la Ceftriaxone mesurées par méthodes E-test® et Sensititre® sur les souches issues de d'infections invasives

c. Infections non invasives

- Pénicilline G

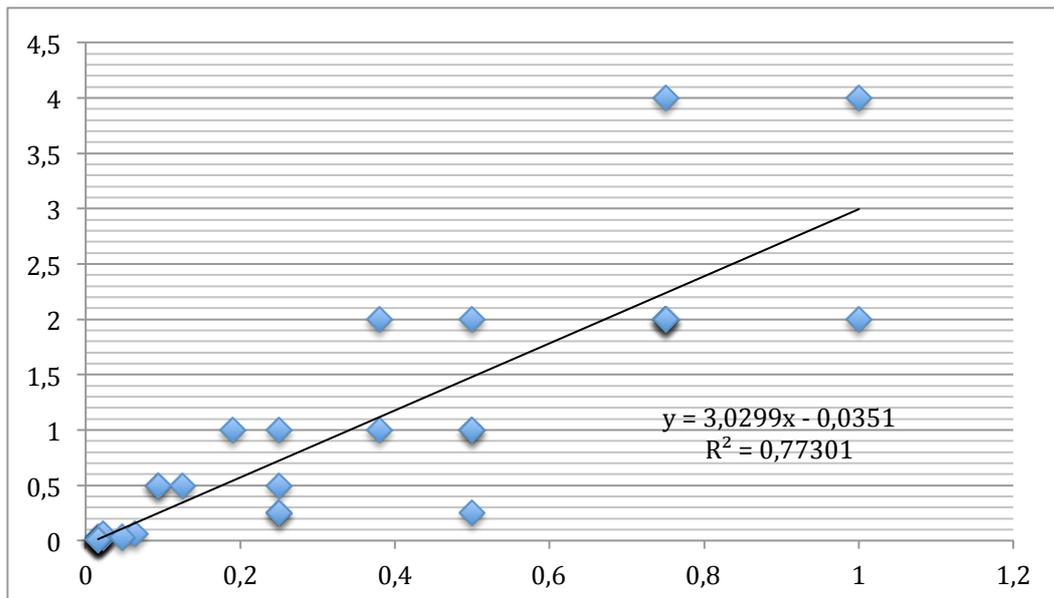


Figure 117 : Comparaison des valeurs de la CMI de la Pénicilline G mesurées par méthodes E-test® et Sensititre® sur les souches issues d'infections non invasives

- Amoxicilline

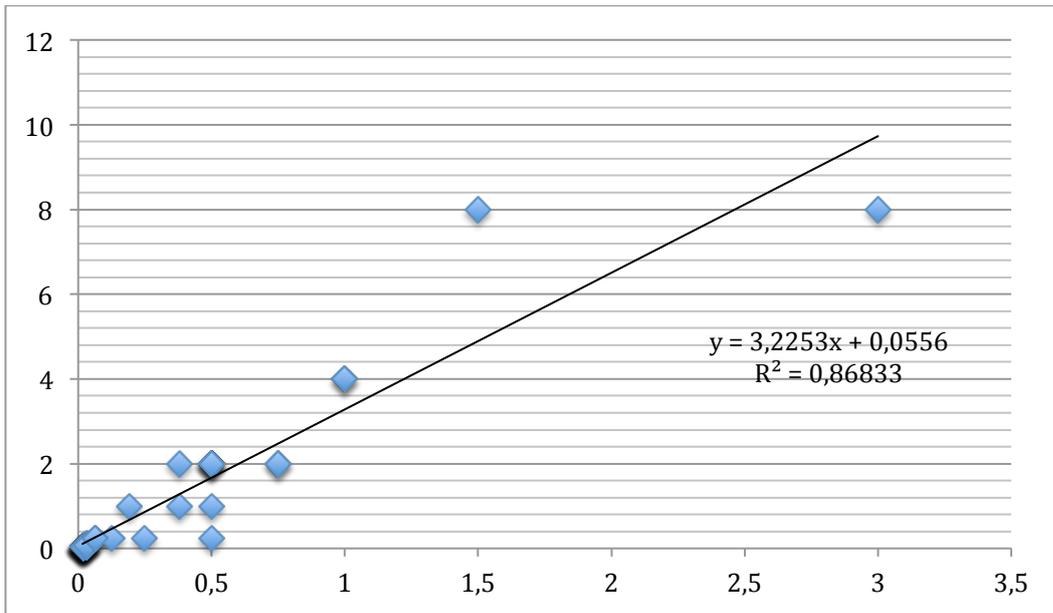


Figure 118 : Comparaison des valeurs de la CMI de l'Amoxicilline mesurées par méthodes E-test® et Sensititre® sur les souches issues d'infections non invasives

- Céfotaxime

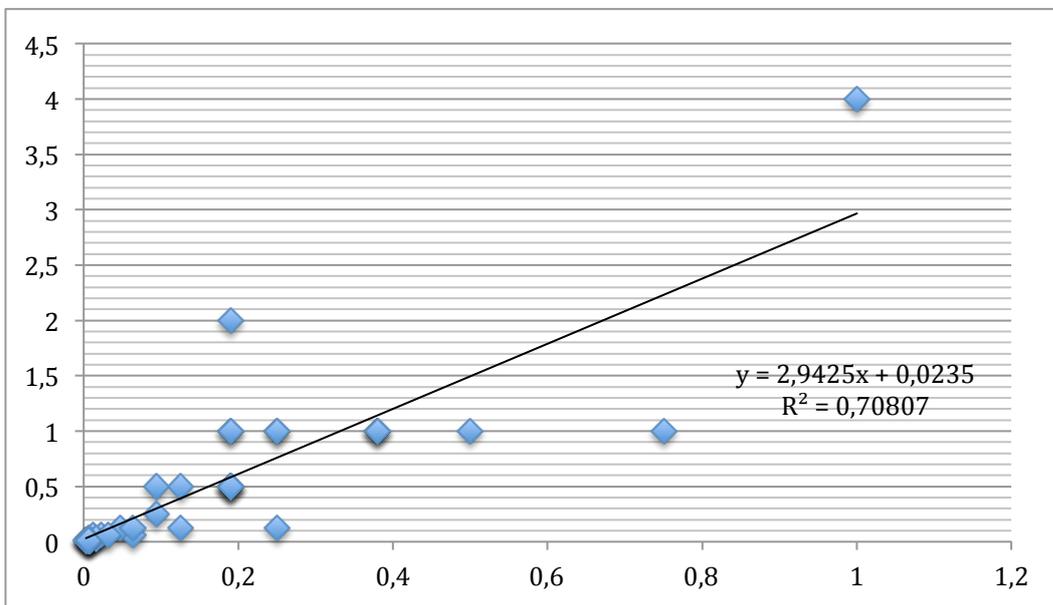
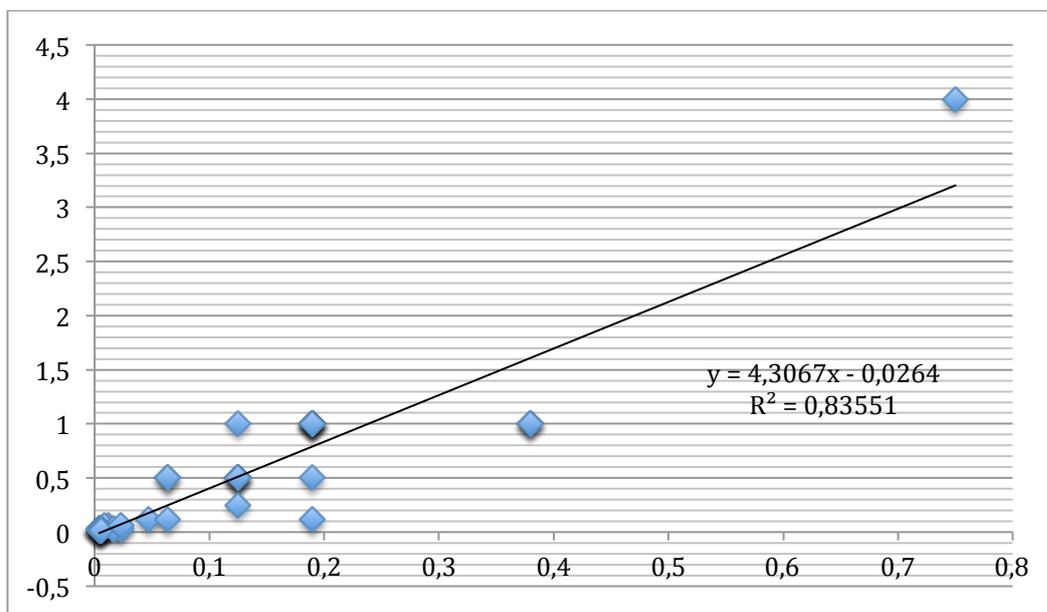


Figure 119 : Comparaison des valeurs de la CMI du Céfotaxime mesurées par méthodes E-test® et Sensititre® sur les souches issues d'infections non invasives

- Ceftriaxone



**Figure 120 : Comparaison des valeurs de la CMI de la Ceftriaxone mesurées par méthodes E-test® et Sensititre® sur les souches issues d'infections non invasives**

Aucun des 12 graphiques précédents ne montre de corrélation satisfaisante entre les méthodes E-test® et Sensititre®. Ceci se retrouve pour chaque antibiotique et concerne l'ensemble des souches, qu'elles soient issues de prélèvements invasifs ou non. Aucun coefficient de corrélation n'est acceptable et aucun coefficient directeur n'est proche de 1.

Il semblerait, au vu des résultats, que la discordance entre les deux méthodes est d'autant plus forte que la CMI est élevée. Pour la quasi-totalité des discordances, notamment lorsque la CMI est élevée, la valeur de la CMI obtenue par méthode E-test® est inférieure à celle obtenue par méthode Sensititre®.

2- Corrélation sur le nombre de dilutions d'écart (discordance si  $\geq 2$  dilutions)

Antibiotique testé	Pourcentage de souche discordante
Pénicilline G	15,7
Amoxicilline	21,7
Céfotaxime	21,7
Ceftriaxone	42,2

**Tableau 13 : Pourcentage de discordance des méthodes E-test® et Sensititre® quant au nombre de dilutions d'écart**

Il n'existe pas de différence significative entre les deux méthodes pour la pénicilline G, l'amoxicilline et le céfotaxime ( $p=0,319$ ). En revanche, la discordance est plus importante sur la ceftriaxone que sur les autres antibiotiques ( $p=0,004$ ). Cependant, quasiment la moitié des souches discordantes pour la ceftriaxone (16/35, 45,7%) l'est pour des CMI basses ( $<0,12\mu\text{g/ml}$ ). Cela n'impacte donc pas la catégorisation clinique, pour laquelle les taux de souches discordances sont identiques entre l'amoxicilline, le céfotaxime et la ceftriaxone.

3- Corrélation sur la catégorisation clinique

Antibiotique testé	Pourcentage de souche discordante
Pénicilline G	6
Amoxicilline	16,9
Céfotaxime	16,9
Ceftriaxone	16,9

**Tableau 14 : Pourcentage de discordance des méthodes E-test et Sensititre® quant à la catégorisation clinique**

Pour la catégorisation clinique, la pénicilline G présente un taux de souches discordantes plus faible que les 3 autres antibiotiques, sans que cela soit statistiquement significatif ( $p=0,06$ ). Cela peut s'expliquer par le fait que la concentration critique inférieure est nettement plus basse que pour les 3 autres antibiotiques. L'intervalle de concentrations permettant de catégoriser la souche comme de sensibilité intermédiaire est donc plus grand. Toutes les souches se trouvant dans ce large intervalle de concentrations, en nombre non négligeable, sont ainsi toutes catégorisées de la même manière.

#### 4- Comparaison avec la méthode de référence

23 souches de PSDP ont été identifiées comme discordantes quant au nombre de dilutions d'écart. Les CMI ont été refaites et la discordance a été confirmée dans la totalité des cas. Les souches ont ensuite été testées par la méthode de référence, exceptées 2 d'entre elles qui n'ont plus poussé. Il s'agit des souches 20172407 et 20172628.

Ensuite, les résultats des deux méthodes ont été comparés à ceux de la méthode de référence. Les pourcentages de discordance de chaque méthode vis à vis de la méthode de référence sont présentés dans les tableaux suivants.

S'agissant de la catégorisation clinique, on définit trois types d'erreur :

- erreur minime : résultat rendu I au lieu de S ou R et ou bien S ou R au lieu de I
- erreur majeure : résultat rendu R au lieu de S
- erreur très majeure : résultat rendu S au lieu de R

Pour l'ensemble des discordances vis à vis de la méthode de référence, seules des erreurs minimales ont été constatées.

Par ailleurs, deux résultats de CMI obtenus par deux méthodes de mesure sont considérés comme différents si il existe un écart supérieur ou égal à deux dilutions entre eux.

De plus, il n'existe pas de corrélation entre la concordance de résultat sur la catégorisation clinique et l'écart de dilution. Ainsi, deux résultats de CMI peuvent différer d'une seule dilution et présenter deux catégorisations cliniques différentes.

##### a. Pénicilline G

	Méthode utilisé	Pourcentage de souche discordante
≥2 dilutions d'écart	E-test®	28,6
	Sensititre®	4,8
Catégorisation clinique	E-test®	19
	Sensititre®	4,8

**Tableau 15: Discordance des méthodes E-test® et Sensititre® avec la méthode de référence pour la Pénicilline G**

La technique qui présente le moins de discordance avec la méthode de référence est la technique Sensititre®, sans que cela soit statistiquement significatif, tant au niveau des écarts de dilutions ( $p=0,09$ ) qu'au niveau de la catégorisation clinique ( $p=0,34$ ).

b. Amoxicilline

	Méthode utilisé	Pourcentage de souche discordante
≥2 dilutions d'écart	E-test®	28,6
	Sensititre®	0
Catégorisation clinique	E-test®	52,4
	Sensititre®	9,5

**Tableau 16 : Discordance des méthodes E-test® et Sensititre® avec la méthode de référence pour l'Amoxicilline**

La technique de référence présente nettement moins de discordance avec la méthode la méthode Sensititre® qu'avec la méthode E-test®, tant au niveau des écarts de dilutions ( $p=0,02$ ) qu'au niveau de la catégorisation clinique ( $p=0,006$ ).

c. Céfotaxime

	Méthode utilisé	Pourcentage de souche discordante
≥2 dilutions d'écart	E-test®	38
	Sensititre®	0
Catégorisation clinique	E-test®	33,3
	Sensititre®	23,8

**Tableau 17 : Discordance des méthodes E-test® et Sensititre® avec la méthode de référence pour le Céfotaxime**

La technique de référence présente nettement moins de discordance avec la méthode la méthode Sensititre® qu'avec la méthode E-test®, surtout au niveau des écarts de dilutions ( $p=0,003$ ). Concernant la catégorisation clinique, la différence n'est cependant pas statistiquement significatif ( $p=1$ ).

d. Ceftriaxone

	Méthode utilisé	Pourcentage de souche discordante
≥2 diutions d'écart	E-test®	57,1
	Sensititre®	0
Catégorisation clinique	E-test®	38,1
	Sensititre®	23,8

**Tableau 18 : Discordance des méthodes E-test® et Sensititre® avec la méthode de référence pour la Ceftriaxone**

La technique de référence présente nettement moins de discordance avec la méthode Sensititre® qu'avec la méthode E-test®, surtout au niveau des écarts de dilutions ( $p=0,00005$ ). Concernant la catégorisation clinique, la différence n'est cependant pas significatif ( $p=0,5$ ).

### III- DISCUSSION

En 2017, le laboratoire d'Aix en Provence a déclaré 72 souches au CNRP dans le cadre de la surveillance des infections à pneumocoque en France, dont 47 étaient issues de prélèvements invasifs. Ces chiffres sont semblables à ceux de l'année 2015, lors de laquelle 76 souches avaient été déclarés dont 48 invasives (7). En revanche, si on analyse ces chiffres depuis 2003, on constate plusieurs évolutions. Tout d'abord, on note une augmentation du nombre de souches invasives récoltées entre 2003 et 2009 passant de 41 à 59. Ensuite, une diminution s'opère à partir de 2011 jusqu'en 2013 puisque 37 et 30 souches seulement sont envoyées ces deux années-là. Enfin, une légère augmentation est constatée en 2015 et semble se stabiliser en 2017. Le nombre de souches invasives récoltées chaque année par le CNRP suit la même tendance. Celles-ci augmentent de 1390 en 2003 à 1828 en 2009, diminuent jusqu'à 1008 en 2013 avant de légèrement remonter à 1210 en 2015 (7,208–211).

Ces valeurs sont en adéquation avec celles de l'incidence globale des infections invasives à pneumocoque en France, publiée par le réseau EPIBAC. En effet, cette incidence passe de 9,1 à 11,7 cas pour 100 000 entre 2001 et 2009. Elle diminue ensuite à 6,6 cas pour 100 000 en 2014 avant de légèrement remonter à 7,6 cas pour 100 000 en 2016 (89). Après 2010, la diminution de l'incidence des infections invasives dans les différentes classes d'âge est constatée en Europe, comme en France (94), en Espagne (212), au Royaume-Uni (213), en Allemagne (214) mais aussi aux Etats-Unis (215), la diminution étant toujours plus marquée pour les bactériémies que pour les méningites (89,212). Ces études montrent que cette cinétique est due à l'introduction dans le plan vaccinal du Prevenar13® à la place du Prevenar7®. En effet, elles montrent une diminution de l'incidence des IIP dues à des sérotypes contenus dans le PCV13. Ceci entraîne une baisse de l'incidence globale des IIP, autant pour la population infantile vaccinée que pour la population adulte non vaccinée. Elles démontrent ainsi un net effet indirect de la vaccination (94,212–215). Néanmoins, certaines études constatent ultérieurement un rebond de l'incidence globale des IIP avec une augmentation continue de l'incidence des IIP à sérotypes émergents non contenus dans le PCV13 (213).

La couverture sérotypique du PCV13 pour nos souches invasives est estimée à 21,3%. Les sérogroupes prédominants sont les sérogroupes 3 et 8 (8,3%) puis les sérogroupes 12,15 et 23 (chacun à 6,4%) et 19 (4,3%). Ces résultats sont proches de ceux recueillis par le CNRP lors de l'année 2015. Pour le CNRP, la couverture sérotypique du PCV13 était de 29%, les sérogroupes

majoritaires étaient le 3 (9,8%), le 19 (9,6%), le 12 (8,6%), le 15 (8,3%), le 23 (6,9%) et le 8 (6,4%). On peut constater dans notre travail une diminution de la couverture sérotypique du PCV13, illustrée par la diminution du sérotype vaccinal 19 au profit de l'ascension du sérotype non vaccinal 8. Ceci est à rattacher au profond changement sérotypique de 2010 suivant l'introduction du Prevenar13® : forte baisse de sérotypes vaccinaux (1, 7F, 19A) et émergence de sérotypes non vaccinaux (12F, 8, 22F, 15A) (7).

De nombreuses études ont étudié l'impact de la vaccination sur la composition sérotypique des infections à pneumocoque. Elles constatent une diminution des sérotypes contenus dans le PCV13 suite à son introduction. Une étude allemande montre une couverture sérotypique du PCV13 qui chute de 59% en 2010 à 35% en 2014 (216) tandis qu'une autre réalisée aux Etats-Unis retrouve une chute des sérotypes du PCV13 de 42,9% en 2008 à 30% en 2012 (217). Enfin, une étude canadienne démontre une chute de la couverture sérotypique du PCV13 de 48,6% en 2010 à 25% en 2016 (218). Cette évolution sérotypique est donc continue depuis 2010. Ainsi, la couverture sérotypique du PCV13 trouvée dans notre travail est comparable à celle de l'étude la plus récente.

Nous mettons en évidence la présence non négligeable de sérogroupes contenant des sérotypes non inclus dans le PCV13. Il s'agit surtout des sérogroupes 8, 9, 12, 15, 22 et 23. Ils sont considérés comme émergents dans plusieurs études. Les sérogroupes 22, 24 et 7 n'ont pas pu être recherchés en systématique dans notre travail. Cela explique leur sous-représentation dans notre travail (5,90,214,217-219).

Nos résultats montrent également une disparité d'évolution des sérogroupes contenus dans le PCV13. Alors que le sérotype 1 n'est plus présent et que le sérotype 19 (4,3%) diminue, le sérotype 3 est le plus fréquent (8,5%). Ces résultats sont en accord avec ceux de plusieurs études qui montrent un fort impact du PCV13 sur les sérotypes 1,7F et 19A mais pas sur le sérotype 3 (214,217,220). Plusieurs éléments sont avancés afin d'expliquer ce phénomène. Tout d'abord, deux articles danois mentionnent que le sérotype 3 est surtout porté par l'adulte et que les IIP de ce sérotype sont exceptionnelles chez l'enfant. Ces deux éléments tendraient à expliquer pourquoi ils n'ont constaté aucun effet indirect de la vaccination de l'enfant sur les IIP de sérotype 3 chez l'adulte (220,221). Cependant, le sérotype 3 est prépondérant dans de nombreux pays et cette seule explication paraît insuffisante. Ainsi, un autre argument serait que la vaccination par le PCV13 génère une immunité différente vis à vis des 13 sérotypes qu'il contient. Une étude britannique parue en 2014 affirme même qu'il n'existe pas de protection significative du PCV13 contre les

souches de sérotype 3 (222). Un article paru en septembre 2018 reprend différentes études d'immunogénicité sur le sérotype 3, faites sur des patients vaccinés par le Prevenar13®. Elles démontrent que l'efficacité de la vaccination contre le sérotype 3 est variable mais toujours inférieure à celle contre les autres sérotypes. Les taux d'anticorps dirigés contre ce sérotype sont inférieurs aux autres alors que le taux nécessaire pour être protecteur contre ce sérotype doit être plus important. De plus, la réponse immunitaire pour le sérotype 3 est labile dans le temps et plus faible lorsque la vaccination est faite par l'administration de plusieurs injections dans la première année de vie plutôt qu'une seule injection après l'âge de 1 an. Cela s'expliquerait par un phénomène d'immunomodulation induit par la capsule du sérotype 3 (223).

Nos résultats retrouvent une nette différence entre le taux de PSDP des souches invasives (21,3%) et celui des souches non invasives (66,7%). Le rapport du CNRP de 2015 retrouve un taux de PSDP pour les souches invasives comparable au notre (23%), mais un taux plus faible pour les souches non invasives (43,4%) (7). Il serait intéressant d'observer si cette recrudescence de PSDP au niveau non invasif est simplement constatée dans l'ORP Provence ou si elle est globale. Notre travail, comme le rapport du CNRP de 2015 et de nombreuses études, retrouve une différence de taux de PSDP entre les souches invasives et non invasives (186,217,224). Cela semble s'expliquer par la composition sérotypique de ces infections. Les sérotypes majoritaires dans les infections invasives (3, 12F, 8, 19A, 22F) sont pour l'essentiel différents de ceux de sensibilité diminuée à la pénicilline (19A, 15A, 19F, 24F) (7,225,226). Seul le 19A déroge à la règle. Il est toujours le sérotype présentant le taux de PSDP le plus élevé alors que sa fréquence dans les IIP ne cesse de décroître (7). Par ailleurs, une étude suisse réalisée en 2016 a comparé le taux de PSDP de souches invasives et non invasives sur une période de 10 ans. Elle a constaté un taux de PSDP significativement supérieur pour les souches non invasives. Cependant, une fois ajusté au sérotype, le taux de PSDP entre les souches invasives et non invasives n'était pas significativement différent. Cela démontre que la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques n'est pas lié à la localisation de l'infection mais à son sérotype (224).

Seules 3 souches de notre travail ont présenté une résistance à bas niveau aux FQ, soit un taux de 3,6%. Ce taux est comparable aux 6,9% de l'ORP en 2015 (7). Par ailleurs, deux souches ont présenté une résistance à haut niveau à la lévofloxacine, soit un taux de 2,4%. Celui-ci semble en augmentation par rapport à ceux obtenus chaque année par le CNRP, stables autour de 0,3% depuis 2001 (7). Il faudra comparer cette résistance à celle des autres années, une fois collectées

l'ensemble des données des ORP. Les données de la littérature confirment cette stabilité de la résistance aux FQ. Par exemple, une étude allemande s'est attachée à recenser sur une période de 10 ans (2004-2014) la résistance du pneumocoque à la lévofloxacine. Le taux global de souches résistantes était de 0,28% (227), comparable à celui du CNRP (7). Globalement, on ne constate pas d'augmentation de la résistance aux FQ pour le pneumocoque. Cela s'expliquerait par son mode d'acquisition. Le mécanisme principal serait l'obtention de mutations spontanées, notamment dans la région QRDR, et non la circulation de clones résistants (227,228). Par ailleurs, contrairement aux bêta-lactamines, le transfert inter ou intra espèces de mutations provoquant l'acquisition d'une résistance aux FQ est possible mais très rare (228). Enfin, la consommation de quinolones en France est en baisse, à l'hôpital comme en ville, et n'excède jamais 8% des Doses Définies Journalières depuis 2000 en ville. Elle était même en baisse à 5% en 2016 (229). Cela ne favorise donc pas l'acquisition de mutations spontanées sous la pression antibiotique. La résistance aux FQ reste donc stable.

Notre travail consistait également en une comparaison de méthode entre les techniques E-test® et Sensititre® pour la détermination des CMI des bêta-lactamines du pneumocoque. Les deux méthodes présentent des résultats assez discordants. En effet, il existe une importante différence de résultats tant sur la valeur de la CMI, jusqu'à 42% des souches pour la ceftriaxone, que sur la catégorisation clinique : 6% des souches sont discordantes pour la pénicilline G et 16,9% pour les 3 autres antibiotiques. La divergence est surtout constatée pour des valeurs élevées de CMI, sauf pour la ceftriaxone, où des discordances ont même été observées sur des valeurs basses. Cependant, le taux de PSDP obtenu par l'une ou l'autre technique reste le même (34,9%).

Une fois comparée à la méthode de référence qui est, selon la norme ISO20776-1:2006 la microdilution en milieu liquide (10), la technique Sensititre® obtient des résultats plus en accord avec cette méthode que la technique E-test®. Cette dernière a tendance à sous-estimer la valeur de la CMI. En effet, les valeurs de CMI discordantes entre la méthode E-test® et la microdilution en milieu liquide vont de 28,6% pour la pénicilline G et l'amoxicilline, à 38% pour le céfotaxime, atteignant même 57,1% pour la ceftriaxone. La technique Sensititre® sur estime parfois la valeur de la CMI. Plusieurs articles retrouvaient déjà une discordance plus ou moins importante entre la méthode E-test® et la méthode de référence. En effet, ils pointaient une tendance de la technique E-test® à sous-estimer la valeur de la CMI, avec un nombre non négligeable de résultats inférieurs, d'une ou même de deux dilutions avec la méthode de référence. De plus, ils révélaient des erreurs minimales sur la catégorisation clinique (230–233). L'un de ces articles alertait sur le fort taux de

résultats à plus d'une CMI d'écart pour la ceftriaxone, ce qui est conforme à nos résultats (234). A noter que ces travaux se sont basés sur les valeurs des CMI critiques publiées par le CLSI. Une étude récente confirme cette tendance de la méthode E-test® à légèrement sous-estimer la valeur des CMI ce qui provoque un nombre non négligeable d'erreurs minimales de catégorisation clinique. Elle s'est basée sur les CMI critiques publiées par l'EUCAST, qui ne sont pas strictement identiques à celles du CLSI (235–237). Enfin, une étude canadienne publiée en 2016 a comparé plusieurs techniques de détermination des CMI des bêta-lactamines pour le pneumocoque, notamment E-test® et Sensititre®, vis à vis de la microdilution en milieu liquide. Elle a utilisé les CMI critiques publiées par le CLSI de 2008, distinguant les souches issues d'infections méningées des autres infections (236). Cette révision semble faire apparaître des discordances entre la méthode de référence et les autres techniques, révélant des erreurs très majeures et majeures, à des degrés divers selon la technique. Cependant, la méthode Sensititre® reste celle qui possède la meilleure corrélation clinique avec la méthode de référence, en particulier pour la ceftriaxone. Pour cet antibiotique, elle est la seule à présenter des résultats acceptables, selon les critères de la Food and Drug Administration (FDA), publiés en 2009 (238). A l'instar des études précédemment citées, cette étude retrouve aussi des CMI plus basses en E-test® que par la méthode de référence. La force de cette étude est d'avoir été la première à comparer ces techniques à la méthode de référence depuis le changement des CMI critiques du CLSI et de s'être concentrée sur des souches de PSDP (239).

La méthode Sensititre® semble donc être celle qui donne les résultats les plus proches de la méthode de référence. Dans notre travail, elle avait tendance à légèrement surestimer la valeur des CMI mais dans une moindre mesure que la méthode E-test® les sous estimait. De plus, il y avait moins d'erreurs sur la catégorisation clinique avec la méthode Sensititre® qu'avec la méthode E-test®. Ces éléments sont corrélés à ceux de la littérature, qui retrouve également de meilleurs résultats avec la méthode Sensititre®, que les CMI critiques utilisées soient celles de l'EUCAST ou celles du CLSI (235,239). Néanmoins, les résultats obtenus par la méthode E-test® dans notre travail ne semblent pas catastrophiques. En effet, aucune erreur ni majeure ni très majeure n'est constatée. Le taux de souches avec une discordance de plus d'une CMI avec la méthode de référence est certes élevé, mais seules les souches discordantes ont été testées. Il faudrait réaliser cette comparaison avec la méthode de référence sur un plus grand nombre de souches. On peut penser que les résultats seraient acceptables, sauf peut-être pour la ceftriaxone, puisque le taux de discordance avec la méthode de référence était tout de même de 57,1% et portait à la fois sur des valeurs hautes mais également basses. De plus, une alerte ANSM avait déjà alerté il y a deux ans

sur une sous estimation des CMI de la ceftriaxone mesurées par méthode E-test®, notamment sur les valeurs basses. Parmi les deux méthodes comparées, la méthode Sensititre® présente de meilleurs résultats, notamment sur la catégorisation clinique et semble donc à conseiller pour refléter au mieux la résistance du pneumocoque aux bêta-lactamines.

Par ailleurs, les CMI critiques sont déterminées à l'aide de la valeur limite supérieure des CMI des souches sauvages par une méthode de référence, essentiellement la microdilution en milieu liquide (240). La méthode Sensititre® ayant un principe proche de celui de la méthode de référence et les deux techniques semblant être corrélées, les valeurs des CMI critiques pourraient être conservées.

Néanmoins, le passage de la méthode E-test®, très démocratisée, à la méthode Sensititre®, mieux corrélée à la méthode de référence, ne serait pas sans conséquence. En effet, les CMI obtenues par la méthode Sensititre® sont plus élevées et cela provoque une forte augmentation des souches résistantes à la pénicilline G et à l'amoxicilline ainsi que l'apparition de souches résistantes au céfotaxime et à la ceftriaxone. Ceci a été constaté dans le dernier rapport du CNRP de 2017 où respectivement 0,52%, 0,56%, 4,93% et 6,32% des souches ont été rendues résistantes à la ceftriaxone, au céfotaxime, à l'amoxicilline et à la pénicilline G (241). Cela engendre plusieurs questions. Tout d'abord, le traitement probabiliste des infections à pneumocoque, notamment lors de tableaux clinico-biologiques de méningites bactériennes, doit il réintégrer la vancomycine ? Par ailleurs, les infections dûes aux souches rendues résistantes au céfotaxime et à la ceftriaxone dans le rapport du CNRP de 2017 ont elles été traitées avec succès ou ont elles fait l'objet d'un échec thérapeutique ? Il serait intéressant de reprendre ces cas afin de déterminer le pourcentage d'échecs thérapeutiques, ce qui permettrait éventuellement un réajustement du traitement probabiliste des méningites bactériennes, si ce taux s'avère être élevé.

## PARTIE III : BIBLIOGRAPHIE

1. Janoir C. Infections à pneumocoques. EMC - Mal Infect. 2014; **11**(3):1-17.
2. Cohen R, Levy C, Bingen E, Bechet S, Derkx V, Werner A, et al. Portage rhinopharyngé d'enfants âgés de six à 60 mois durant l'implémentation du vaccin pneumococcique conjugué 13-valent. Arch Pédiatrie. 2012; **19**(10): 1132-9.
3. Orihuela CJ, Tuomanen EI. Models of pneumococcal disease. Drug Discov Today Dis Models. 2006; **3**(1):69-75.
4. Varon E, Batah J. Rapport d'activité 2017 (Epidémiologie 2016). Centre National de Référence des Pneumocoques; 2017.
5. Varon E, Cohen R, Béchet S, Doit C, Levy C. Invasive disease potential of pneumococci before and after the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine implementation in children. Vaccine. 2015; **33**(46): 6178-85.
6. Doit C, Mariani-Kurkdjian P, Mahjoub-Messai F, Bidet P, Bonacorsi S, Carol A, et al. Epidemiology of pediatric community-acquired bloodstream infections in a children hospital in Paris, France, 2001 to 2008. Diagn Microbiol Infect Dis. 2010; **66**(3):332-5.
7. Varon E, Janoir C. Rapport d'activité 2016 (Epidémiologie 2015). Centre National de Référence des Pneumocoques; 2016.
8. Ngo CC, Massa HM, Thornton RB, Cripps AW. Predominant Bacteria Detected from the Middle Ear Fluid of Children Experiencing Otitis Media: A Systematic Review. PloS One. 2016; **11**(3): e0150949.
9. Wald ER, Milmo GJ, Bowen A, Ledesma-Medina J, Salamon N, Bluestone CD. Acute maxillary sinusitis in children. N Engl J Med. 1981; **304**(13): 749-54.
10. International Organization for standardization. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems — Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices — Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases. 2006.
11. Pasteur L. Note sur la maladie nouvelle provoquée par la salive d'un enfant mort de la rage. Bull Acad Médecine Paris Ser 2. 1881; **10:94**-103.

12. Sternberg GM. A Fatal Form of Septicaemia in the Rabbit Produced by the Subcutaneous Injection of Human Saliva: An Experimental Research [Internet]. John Murphy & Company; 1881. Disponible sur: <https://books.google.fr/books?id=8j3mngEACAAJ>
13. Watson DA, Musher DM, Jacobson JW, Verhoef J. A brief history of the pneumococcus in biomedical research: a panoply of scientific discovery. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1993; **17**(5):913-24.
14. Brisou P, Chamouilli J-M, Gaillard T, Muzellec Y. Infections à pneumocoque. *EMC - Pédiatrie.* 2004; **1**(4): 410-31.
15. Sternberg G. The pneumonia-coccus of Friedlander (*Micrococcus Pasteuri*. Sternberg). *Am J Med Sci.* 1885; **90**:106-23.
16. Fraenkel A. Weitere Beitrage zur Lehre von den Mikroccoccn der genuinen fibrinosen Pneumonie. *Z Ftir Klin Med.* 1886; **11**:437-58.
17. Freney J. Précis de bactériologie clinique. Paris: Éd. Eska; 2007.
18. Winslow CE, Broadhurst J, Buchanan RE, Krumwiede C, Rogers LA, Smith GH. The Families and Genera of the Bacteria: Final Report of the Committee of the Society of American Bacteriologists on Characterization and Classification of Bacterial Types. *J Bacteriol.* 1920; **5**(3): 191-229.
19. Bergey DH, Buchanan RE, Gibbons NE, American Society for Microbiology, éditeurs. *Bergey's manual of determinative bacteriology.* 8th ed. Baltimore: Williams & Wilkins Co; 1974. 1246 p.
20. Friedlander C. Die Mikrokokken der Pneumonie. *Fortschr Med.* 1883; **1**:715-33.
21. Talamon C. Coccus de la pneumonie. *Bull Soc Anat Paris.* 1883; **58**:475-81.
22. Fraenkel A. Die genuine Pneumonie. *Verh Cong Inn Med.* 1884; **3**:17-31.
23. Fraenkel A. Bakteriologische Mittheilungen. *Z Klin Med.* 1885; **10**:401-61.
24. Netter. De la méningite due au pneumocoque (avec ou sans pneumonie). *Arch Gen Med Ser* 7. 1887; **19**:257-77, 434-55.
25. Zaufal E. Mikroorganismen im Secrete der Otitis media acuta. *Prag Med Wochenschr.* 1887; **12**:225-7.
26. Neufeld F. Ueber die Agglutination der Pneumokokken und Ober die Theorien der Agglutination. *Z Hyg Infektionskr.* 1902; **40**(1): 54-72.
27. Griffith F. The Significance of Pneumococcal Types. *J Hyg (Lond).* 1928; **27**(2): 113-59.

28. Avery OT, Macleod CM, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *J Exp Med.* 1944; **79**(2): 137-58.
29. Schmidt LH, Sesler CL. Development of Resistance to Penicillin by Pneumococci. *Exp Biol Med.* 1943; **52**(4): 353-7.
30. Hansman D, Bullen MM. A Resistant Pneumococcus. *The Lancet.* 1967; 290(7509): 264-5.
31. Jacobs MR, Koornhof HJ, Robins-Browne RM, Stevenson CM, Vermaak ZA, Freiman I, et al. Emergence of Multiply Resistant Pneumococci. *N Engl J Med.* 1978; **299**(14):735-40.
32. Organisation Mondiale de la Santé. Vaccins antipneumococciques. *Wkly Epidemiol Rec.* 2012;**14**: 129-44.
33. Gupta RS. The phylogeny of proteobacteria: relationships to other eubacterial phyla and eukaryotes. *FEMS Microbiol Rev.* 2000; **24**(4): 367-402.
34. Arbique JC, Poyart C, Trieu-Cuot P, Quesne G, Carvalho M d. GS, Steigerwalt AG, et al. Accuracy of Phenotypic and Genotypic Testing for Identification of *Streptococcus pneumoniae* and Description of *Streptococcus pseudopneumoniae* sp. nov. *J Clin Microbiol.* 2004; **42**(10): 4686-96.
35. Kawamura Y, Hou XG, Sultana F, Miura H, Ezaki T. Determination of 16S rRNA sequences of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus gordonii* and phylogenetic relationships among members of the genus *Streptococcus*. *Int J Syst Bacteriol.* 1995; **45**(2): 406-8.
36. Facklam R. What Happened to the Streptococci: Overview of Taxonomic and Nomenclature Changes. *Clin Microbiol Rev.* 2002; **15**(4): 613-30.
37. Kilian M, Riley DR, Jensen A, Brüggemann H, Tettelin H. Parallel evolution of *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus mitis* to pathogenic and mutualistic lifestyles. *mBio.* 2014; **5**(4): e01490-01414.
38. Wood JLN, Newton JR, Chanter N, Mumford JA. Association between Respiratory Disease and Bacterial and Viral Infections in British Racehorses. *J Clin Microbiol.* 2005; **43**(1):120-6.
39. Raymond J, Cohen R, Moulin F, Gendrel D, Berche P. Facteurs influençant le portage de *Streptococcus pneumoniae*. *Médecine Mal Infect.* 2002; **32**:13-20.
40. Meats E, Brüeggemann AB, Enright MC, Sleeman K, Griffiths DT, Crook DW, et al. Stability of Serotypes during Nasopharyngeal Carriage of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol.* 2003; **41**(1): 386-92.
41. Leung MHY, Oriyo NM, Gillespie SH, Charalambous BM. The adaptive potential during nasopharyngeal colonisation of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Genet Evol.* 2011; **11**(8): 1989-95.

42. Cardozo DM, Nascimento-Carvalho CM, Andrade A-LSS, Silvany-Neto AM, Daltro CHC, Brandao M-AS, et al. Prevalence and risk factors for nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* among adolescents. J Med Microbiol. 2008; **57**(2): 185-9.
43. Mehr S, Wood N. *Streptococcus pneumoniae* – a review of carriage, infection, serotype replacement and vaccination. Paediatr Respir Rev. 2012; **13**(4): 258-64.
44. Kadioglu A, Weiser JN, Paton JC, Andrew PW. The role of *Streptococcus pneumoniae* virulence factors in host respiratory colonization and disease. Nat Rev Microbiol. 2008; **6**(4): 288-301.
45. Rodriguez-Barradas M, Tharapel R, Groover J, Giron K, Lacke C, Houston E, et al. Colonization by *Streptococcus pneumoniae* among Human Immunodeficiency Virus-infected adults: prevalence of antibiotic resistance, impact of immunization, and characterization by polymerase chain reaction with BOX primers of isolates from persistent *S.pneumoniae* carriers. J Infect Dis. 1997; **175**:590-7.
46. Chavanet P, Atale A, Mahy S, Neuwirth C, Varon E, Dabernat H, et al. Portage nasopharyngé, sensibilités et sérotypes de *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* chez les enfants de crèches. Médecine Mal Infect. 2011; **41**(6): 307-17.
47. Devine VT, Cleary DW, Jefferies JMC, Anderson R, Morris DE, Tuck AC, et al. The rise and fall of pneumococcal serotypes carried in the PCV era. Vaccine. 2017; **35**(9): 1293-8.
48. Cohen R, Bingen E, Levy C, Thollot F, Boucherat M, Derkx V, et al. Nasopharyngeal flora in children with acute otitis media before and after implementation of 7 valent pneumococcal conjugate vaccine in France. BMC Infect Dis. 2012; **12**(52).
49. Varon E, Janoir C, Gutmann L. Rapport d'activité 2008 (Epidémiologie 2007). Centre National de Référence des Pneumocoques; 2008.
50. Lund E. Laboratory diagnosis of Pneumococcus infections. Bull World Health Organ. 1960; **23**(1): 5-13.
51. Kellogg JA, Bankert DA, Elder CJ, Gibbs JL, Smith MC. Identification of *Streptococcus pneumoniae* Revisited. J Clin Microbiol. 2001; **39**(9): 3373-5.
52. Saukkoriipi A, Pascal T, Palmu AA. Evaluation of the BinaxNOW® *Streptococcus pneumoniae* antigen test on fresh, frozen and concentrated urine samples in elderly patients with and without community-acquired pneumonia. J Microbiol Methods. 2016; **121**:24-6.
53. Loïez C, Duployez C, Wallet F. A promising new test to detect *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen. Médecine Mal Infect. 2017; **47**(7): 494-7.

54. Vicente D, López-Olaizola M, de la Caba I, Cilla G. Evaluation of Sofia Fluorescent immunoassay analyzer for pneumococcal urinary antigen detection in hospitalized patients with community-acquired pneumonia. *J Microbiol Methods*. 2017; **141**:25-7.
55. Andreo F, Prat C, Ruiz-Manzano J, Lores L, Blanco S, Cuesta MA, et al. Persistence of *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen excretion after pneumococcal pneumonia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009; **28**(2): 197-201.
56. Maury E, Tankovic J, Pichereau C, Varon E, Guidet B. Immunochromatographic test of pneumococcal antigen performed on cerebrospinal fluid for pneumococcal pneumoniae. *Médecine Mal Infect*. 2015; **45**(6):237-8.
57. Gravet A, Camdessouens-Miehé G. Application de la spectrométrie de masse à la microbiologie. *Rev Francoph Lab*. 2011;**437**:55-64.
58. Ikryannikova LN, Filimonova AV, Malakhova MV, Savinova T, Filimonova O, Ilina EN, et al. Discrimination between *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus mitis* based on sorting of their MALDI mass spectra. *Clin Microbiol Infect*. 2013; **19**(11): 1066-71.
59. Van Prehn J, van Veen SQ, Schelfaut JJG, Wessels E. MALDI-TOF mass spectrometry for differentiation between *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pseudopneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016; **85**(1): 9-11.
60. Carbonnelle E, Mesquita C, Bille E, Day N, Dauphin B, Beretti J-L, et al. MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory. *Clin Biochem*. 2011; **44**(1): 104-9.
61. Toikka P, Nikkari S, Ruuskanen O, Leinonen M, Mertsola J. Pneumolysin PCR-Based Diagnosis of Invasive Pneumococcal Infection in Children. *J Clin Microbiol*. 1999; **37**(3): 633-7.
62. McAvin JC, Reilly PA, Roudabush RM, Barnes WJ, Salmen A, Jackson GW, et al. Sensitive and Specific Method for Rapid Identification of *Streptococcus pneumoniae* Using Real-Time Fluorescence PCR. *J Clin Microbiol*. 2001; **39**(10): 3446-51.
63. Morrison K, Derrick L, Crook J, Carlone GM, Ades E, Facklam R, et al. Confirmation of *psaA* in All 90 Serotypes of *Streptococcus pneumoniae* by PCR and Potential of This Assay for Identification and Diagnosis. *J Clin Microbiol*. **38**(1): 434-7.
64. Suzuki N. Genotypic identification of presumptive *Streptococcus pneumoniae* by PCR using four genes highly specific for *S.pneumoniae*. *J Med Microbiol*. 2006; **55**(6): 709-14.
65. Abdeldaim GMK, Strålin K, Olcén P, Blomberg J, Herrmann B. Toward a quantitative DNA-based definition of pneumococcal pneumonia: a comparison of *Streptococcus pneumoniae* target genes, with special reference to the Spn9802 fragment. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008; **60**(2): 143-50.

66. Bishop CJ, Aanensen DM, Jordan GE, Kilian M, Hanage WP, Spratt BG. Assigning strains to bacterial species via the internet. *BMC Biol.* 2009; **7**(3). Disponible sur: <http://bmcbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1741-7007-7-3>
67. Slotved H-C, Facklam RR, Fuursted K. Assessment of a novel bile solubility test and MALDI-TOF for the differentiation of *Streptococcus pneumoniae* from other mitis group streptococci. *Sci Rep.* 2017; **7**(1). Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/s41598-017-07772-x>
68. Geno KA, Gilbert GL, Song JY, Skovsted IC, Klugman KP, Jones C, et al. Pneumococcal Capsules and Their Types: Past, Present, and Future. *Clin Microbiol Rev.* 2015; **28**(3): 871-99.
69. Porter BD, Ortika BD, Satzke C. Capsular Serotyping of *Streptococcus pneumoniae* by Latex Agglutination. *J Vis Exp.* 2014; (91). Disponible sur : <http://www.jove.com/video/51747/capsular-serotyping-of-streptococcus-pneumoniae-by-latex-agglutination>
70. Jauneikaite E, Tocheva AS, Jefferies JMC, Gladstone RA, Faust SN, Christodoulides M, et al. Current methods for capsular typing of *Streptococcus pneumoniae*. *J Microbiol Methods.* 2015; **113**:41-9.
71. Habib M, Porter BD, Satzke C. Capsular Serotyping of *Streptococcus pneumoniae* using the Quellung Reaction. *J Vis Exp.* 2014 ;(84).  
Disponible sur: <http://www.jove.com/video/51208/capsular-serotyping-streptococcus-pneumoniae-using-quellung>
72. Brito DA, Ramirez M, de Lencastre H. Serotyping *Streptococcus pneumoniae* by Multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2003; **41**(6):2378-84.
73. van der Poll T, Opal SM. Pathogenesis, treatment, and prevention of pneumococcal pneumonia. *Lancet Lond Engl.* 2009; **374**(9700): 1543-56.
74. Backhaus E, Berg S, Andersson R, Ockborn G, Malmström P, Dahl M, et al. Epidemiology of invasive pneumococcal infections: manifestations, incidence and case fatality rate correlated to age, gender and risk factors. *BMC Infect Dis.* 2016; **16**(1). Disponible sur: <http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-016-1648-2>
75. Grau I, Ardanuy C, Calatayud L, Schulze MH, Liñares J, Pallares R. Smoking and alcohol abuse are the most preventable risk factors for invasive pneumonia and other pneumococcal infections. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis.* 2014; **25**:59-64.
76. Gilks CF, Ojoo SA, Ojoo JC, Brindle RJ, Paul J, Batchelor BI, et al. Invasive pneumococcal disease in a cohort of predominantly HIV-1 infected female sex-workers in Nairobi, Kenya. *Lancet Lond Engl.* 1996; **347**(9003): 718-23.

77. Feikin DR, Jagero G, Aura B, Bigogo GM, Oundo J, Beall BW, et al. High rate of pneumococcal bacteremia in a prospective cohort of older children and adults in an area of high HIV prevalence in rural western Kenya. *BMC Infect Dis*. 2010; **10**(1). Disponible sur: <http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-10-186>
78. Meiring S, Cohen C, Quan V, de Gouveia L, Feldman C, Karstaedt A, et al. HIV Infection and the Epidemiology of Invasive Pneumococcal Disease (IPD) in South African Adults and Older Children Prior to the Introduction of a Pneumococcal Conjugate Vaccine (PCV). Melo-Cristino J, éditeur. *PLOS ONE*. 2016; **11**(2): e0149104.
79. Talbot TR, Hartert TV, Mitchel E, Halasa NB, Arbogast PG, Poehling KA, et al. Asthma as a risk factor for invasive pneumococcal disease. *N Engl J Med*. 2005; **352**(20): 2082-90.
80. Weiser JN. The pneumococcus: why a commensal misbehaves. *J Mol Med*. 2010; **88**(2): 97-102.
81. Nelson AL, Roche AM, Gould JM, Chim K, Ratner AJ, Weiser JN. Capsule Enhances Pneumococcal Colonization by Limiting Mucus-Mediated Clearance. *Infect Immun*. 2007; **75**(1): 83-90.
82. Rieux V. Les facteurs de virulence de *Streptococcus pneumoniae*. *Médecine Mal Infect*. 2002; **32**(1): 1-12.
83. Mitchell AM, Mitchell TJ. *Streptococcus pneumoniae*: virulence factors and variation. *Clin Microbiol Infect*. 2010; **16**(5): 411-8.
84. Hoge CW, Reichler MR, Dominguez EA, Bremer JC, Mastro TD, Hendricks KA, et al. An Epidemic of Pneumococcal Disease in an Overcrowded, Inadequately Ventilated Jail. *N Engl J Med*. 1994; **331**(10): 643-8.
85. Papalia R, Galotto C, Giacomazzi C, Verardo M, Montanera P, Bongiorno S, et al. An outbreak of *Streptococcus pneumoniae* in an Italian nursing home. *Epidemiol Biostat Public Health*. 2015; **12**(3): e11343-1-e11343-5.
86. Crum NF, Wallace MR, Lamb CR, Conlin AMS, Amundson DE, Olson PE, et al. Halting a pneumococcal pneumonia outbreak among United States Marine Corps trainees. *Am J Prev Med*. 2003; **25**(2): 107-11.
87. Dagan R, Gradstein S, Belmaker I, Porat N, Siton Y, Weber G, et al. An outbreak of *Streptococcus pneumoniae* serotype 1 in a closed community in southern Israel. *Clin Infect Dis*. 2000; **30**(2): 319-21.
88. Grall N, Hurmic O, Al Nakib M, Longo M, Poyart C, Ploy M-C, et al. Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* in France before introduction of the PCV-13 vaccine. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2011; **30**(12):1511-9.

89. Réseau EPIBAC. Bulletin du réseau de surveillance des infections invasives bactériennes à *Streptococcus pneumoniae*, *Nesseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae* et *Listeria monocytogenes*. 2016.
90. Lepoutre A, Varon E, Georges S, Dorléans F, Janoir C, Gutmann L, et al. Impact of the pneumococcal conjugate vaccines on invasive pneumococcal disease in France, 2001–2012. *Vaccine*. 2015; **33**(2): 359-66.
91. Torné AN, Dias JG, Quinten C, Hrubá F, Busana MC, Lopalco PL, et al. European enhanced surveillance of invasive pneumococcal disease in 2010: Data from 26 European countries in the post-heptavalent conjugate vaccine era. *Vaccine*. 2014; **32**(29): 3644-50.
92. Navarro-Torné A, Dias JG, Hrubá F, Lopalco PL, Pastore-Celentano L, Gauci AJA, et al. Risk Factors for Death from Invasive Pneumococcal Disease, Europe, 2010. *Emerg Infect Dis*. 2015; **21**(3): 417-25.
93. Grabenstein JD, Musey LK. Differences in serious clinical outcomes of infection caused by specific pneumococcal serotypes among adults. *Vaccine*. 2014; **32**(21): 2399-405.
94. and the ORP Ile de France Ouest, Hays C, Vermeé Q, Agathine A, Dupuis A, Varon E, et al. Demonstration of the herd effect in adults after the implementation of pneumococcal vaccination with PCV13 in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017; **36**(5): 831-8.
95. Nygård ST, Langeland N, Flaatten HK, Fanebust R, Haugen O, Skrede S. Aetiology, antimicrobial therapy and outcome of patients with community acquired severe sepsis: a prospective study in a Norwegian university hospital. *BMC Infect Dis*. 2014; **14**(1). Disponible sur: <http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-14-121>
96. Christensen JS, Jensen TG, Kolmos HJ, Pedersen C, Lassen A. Bacteremia with *Streptococcus pneumoniae*: sepsis and other risk factors for 30-day mortality—a hospital-based cohort study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012; **31**(10): 2719-25.
97. Laupland KB, Gregson DB, Flemons WW, Hawkins D, Ross T, Church DL. Burden of community-onset bloodstream infection: a population-based assessment. *Epidemiol Infect*. 2007; **135**(06): 1037-42.
98. Laupland KB. Incidence of bloodstream infection: a review of population-based studies. *Clin Microbiol Infect*. 2013; **19**(6): 492-500.
99. Skogberg K, Lyytikäinen O, Ollgren J, Nuorti JP, Ruutu P. Population-based burden of bloodstream infections in Finland. *Clin Microbiol Infect*. 2012; **18**(6): E170-6.
100. Laupland KB, Church DL. Population-Based Epidemiology and Microbiology of Community-Onset Bloodstream Infections. *Clin Microbiol Rev*. 2014; **27**(4): 647-64.

101. Malhotra A, Hunt RW, Doherty RR. *Streptococcus pneumoniae* sepsis in the newborn: Neonatal pneumococcus sepsis. J Paediatr Child Health. 2012; **48**(2): E79-83.
102. Joffe MD, Alpern ER. Occult pneumococcal bacteremia: a review. Pediatr Emerg Care. 2010; **26**(6): 448-54.
103. Askim Å, Mehl A, Paulsen J, DeWan AT, Vestrheim DF, Åsvold BO, et al. Epidemiology and outcome of sepsis in adult patients with *Streptococcus pneumoniae* infection in a Norwegian county 1993–2011: an observational study. BMC Infect Dis. 2016; **16**(1). Disponible sur: <http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-016-1553-8>
104. de Egea V, Muñoz P, Valerio M, de Alarcón A, Lepe JA, Miró JM, et al. Characteristics and Outcome of *Streptococcus pneumoniae* Endocarditis in the XXI Century: A Systematic Review of 111 Cases (2000–2013). Medicine (Baltimore). 2015; **94**(39). Disponible sur: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00005792-201509050-00028>
105. Kan B, Ries J, Normark BH, Chang F-Y, Feldman C, Ko WC, et al. Endocarditis and pericarditis complicating pneumococcal bacteraemia, with special reference to the adhesive abilities of pneumococci: results from a prospective study. Clin Microbiol Infect. 2006; **12**(4):338-44.
106. Martínez E, Miró JM, Almirante B, Aguado JM, Fernandez-Viladrich P, Fernandez-Guerrero ML, et al. Effect of penicillin resistance of *Streptococcus pneumoniae* on the presentation, prognosis, and treatment of pneumococcal endocarditis in adults. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2002; **35**(2): 130-9.
107. Aronin SI, Mukherjee SK, West JC, Cooney EL. Review of pneumococcal endocarditis in adults in the penicillin era. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 1998; **26**(1): 165-71.
108. Givner LB, Mason EO, Tan TQ, Barson WJ, Schutze GE, Wald ER, et al. Pneumococcal Endocarditis in Children. Clin Infect Dis. 2004; **38**(9): 1273-8.
109. Madsen RG, Ladefoged K, Kjærgaard JJ, Andersen PS, Clemmesen C. Endocarditis in Greenland with special reference to Endocarditis caused by *Streptococcus Pneumoniae*. Int J Circumpolar Health. 2009; **68**(4): 347-53.
110. Natsheh A, Vidberg M, Friedmann R, Ben-Chetrit E, Yinnon AM, Zevin S. Prosthetic valve endocarditis due to *Streptococcus pneumoniae*. SpringerPlus. 2014; **3**(375). Disponible sur: <http://springerplus.springeropen.com/articles/10.1186/2193-1801-3-375>
111. Vandebos F, Roth S, Montagne N. Endocardite, méningite, pneumopathie et abcès cérébral à pneumocoque chez un alcoololo-tabagique. Rev Mal Respir. 2001; **18**(5):545-7.
112. Filali A, Barrailler S, Boulo M, Aissi E, Wallet F, Leroy O, et al. Infections cardiaques à *Streptococcus pneumoniae*: une série de 21 cas. Médecine Mal Infect. 2016; **46**(4): 47.

113. Austrian R. The syndrome of pneumococcal endocarditis, meningitis and rupture of the aortic valve. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 1957; **68**:40-50.
114. Kanakadandi V, Annapureddy N, Agarwal SK, Sabharwal MS, Ammakkanavar N, Simoes P, et al. The Austrian syndrome: a case report and review of the literature. *Infection.* 2013; **41**(3):695-700.
115. Feinstein Y, Falup-Pecurariu O, Mitrică M, Berezin EN, Sini R, Krimko H, et al. Acute pericarditis caused by *Streptococcus pneumoniae* in young infants and children: Three case reports and a literature review. *Int J Infect Dis.* 2010; **14**(2):e175-8.
116. Geri G, Dupeux S, Pouchot J. Péricardite purulente à pneumocoque. *Rev Médecine Interne.* 2008; **29**(7): 568-72.
117. Patel H, Patel C, Soni M, Patel A, Banda V. Acute Primary Pneumococcal Purulent Pericarditis With Cardiac Tamponade: A Case Report and Literature Review. *Medicine (Baltimore).* 2015; **94**(41). Disponible sur: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00005792-201510020-00022>
118. Heath PT, Okike IO. Neonatal bacterial meningitis: an update. *Paediatr Child Health.* 2010; **20**(11): 526-30.
119. Ben Hamouda H, Ben Haj khalifa A, Hamza MA, Ayadi A, Soua H, Khedher M, et al. Aspects cliniques et évolutifs des méningites bactériennes néonatales. *Arch Pédiatrie.* 2013; **20**(9):938-44.
120. Levy C, Varon E, Bingen E, Picard C, de La Rocque F, Aujard Y, et al. Méningites à pneumocoque de l'enfant en France : 832 cas de 2001 à 2007. *Arch Pédiatrie.* 2008; **15**:S111-8.
121. Levy C, Varon E, Bingen E, Aujard Y, Boucherat M, Cohen R. Épidémiologie nouvelle des méningites bactériennes sous l'effet des vaccinations. *Arch Pédiatrie.* 2011; **18**(5):91-3.
122. Alari A, Chaussade H, Domenech De Cellès M, Le Fouler L, Varon E, Opatowski L, et al. Impact of pneumococcal conjugate vaccines on pneumococcal meningitis cases in France between 2001 and 2014: a time series analysis. *BMC Med.* déc 2016; **14**(211): 1-11.
123. Levy C, Varon E, Picard C, Béchet S, Martinot A, Bonacorsi S, et al. Trends of pneumococcal meningitis in children after introduction of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in France. *Pediatr Infect Dis J.* 2014; **33**(12):1216-21.
124. Bingen E, Lévy C, De La Rocque F, Boucherat M, Aujard Y, Cohen R. Méningites à pneumocoque de l'enfant en France - âge de survenue et facteurs de risques médicaux. *Arch Pédiatrie.* 2005; **12**(7):1187-9.
125. Revest M, Michelet C. Recherche de facteurs favorisant la survenue de méningites bactériennes communautaires (nouveau-né exclu). *Médecine Mal Infect.* 2009;**39**(7-8):562-71.

126. Levy C, Bingen E, Aujard Y, Boucherat M, Floret D, Gendrel D, et al. Observatoire national des méningites bactériennes de l'enfant en France : résultats de 7 années d'étude. Arch Pédiatrie. 2008; **15**:S99-104.
127. Levy C, Varon E, Taha M-K, Béchet S, Bonacorsi S, Cohen R, et al. Évolution des méningites bactériennes de l'enfant en France sous l'effet des vaccinations. Arch Pédiatrie. 2014; **21**(7):736-44.
128. Le Monnier A, Carbonnelle E, Zahar J-R, Le Bourgeois M, Abachin E, Quesne G, et al. Microbiological diagnosis of empyema in children: comparative evaluations by culture, polymerase chain reaction, and pneumococcal antigen detection in pleural fluids. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2006; **42**(8): 1135-40.
129. Lisboa T, Waterer GW, Lee YCG. Pleural infection: Changing bacteriology and its implications: Pleural infection: changing bacteriology. Respirology. 2011; **16**(4): 598-603.
130. Krenke K, Sadowy E, Podsiadły E, Hryniewicz W, Demkow U, Kulus M. Etiology of parapneumonic effusion and pleural empyema in children. The role of conventional and molecular microbiological tests. Respir Med. 2016; **116**(1): 28-33.
131. Krenke K, Urbankowska E, Urbankowski T, Lange J, Kulus M. Clinical characteristics of 323 children with parapneumonic pleural effusion and pleural empyema due to community acquired pneumonia. J Infect Chemother. 2016; **22**(5): 292-7.
132. Maskell NA, Batt S, Hedley EL, Davies CWH, Gillespie SH, Davies RJO. The bacteriology of pleural infection by genetic and standard methods and its mortality significance. Am J Respir Crit Care Med. 2006; **174**(7): 817-23.
133. Lefebvre CW, Babich JP, Grendell JH, Grendell JH, Heffner JE, Thibault R, et al. Peritonitis: Definitions of Primary, Secondary, and Tertiary. In: Vincent J-L, Hall JB, éditeurs. Encyclopedia of Intensive Care Medicine. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012. p. 1723-9. Disponible sur: [http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-3-642-00418-6\\_84](http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-3-642-00418-6_84)
134. Kim T, Hong SI, Park SY, Jung J, Chong YP, Kim S-H, et al. Clinical Features and Outcomes of Spontaneous Bacterial Peritonitis Caused by *Streptococcus pneumoniae*: A Matched Case-Control Study. Medicine (Baltimore). 2016; **95**(22): e3796.
135. El Samad Y, Fuks D, Lepage L, Hamdad F, Dumont F, Belmekki M, et al. Prise en charge thérapeutique de la péritonite primitive à *Streptococcus pneumoniae* de l'adulte : étude d'un cas et revue de la littérature. Rev Médecine Interne. 2006; **27**(12): 966-9.
136. Dever JB, Sheikh MY. Review article: spontaneous bacterial peritonitis - bacteriology, diagnosis, treatment, risk factors and prevention. Aliment Pharmacol Ther. 2015; **41**(11): 1116-31.

137. Kourounis G, Panayiotou Y, Tabet PP, Richards BDW, Petrou A, Loizou M. A Case of Pneumococcal Peritonitis after Caesarean Section in a Healthy Woman. *Case Rep Surg*. 2015; 1-3.
138. Nielsen KR, Ejlersen T, El-Batran S, Prag J. A five-year survey of pneumococcal peritonitis in two Danish counties--incidence, diagnosis and clinical entities. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2003; **9**(7): 738-40.
139. Rudensky B, Abramowitz H, Yinnon AM, Alberton J. Intrauterine device as source of pneumococcal intra-abdominal infection and small-bowel obstruction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004; **23**(7): 576-7.
140. Hemsley C, Eykyn SJ. Pneumococcal peritonitis in previously healthy adults: case report and review. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1998; **27**(2): 376-9.
141. Kahlke V, Fischer A, Schröder J. *Streptococcus pneumoniae* peritonitis postpartum. *Infection*. 2000; **28**(2): 114-5.
142. A. B, F. M. Spectrum of Abdominal and Pelvic Infections Caused by Pneumococci in Previously Healthy Adult Women. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002; **21**(6): 474-7.
143. Ross JJ, Saltzman CL, Carling P, Shapiro DS. Pneumococcal septic arthritis: review of 190 cases. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2003; **36**(3): 319-27.
144. Taylor SN, Sanders CV. Unusual manifestations of invasive pneumococcal infection. *Am J Med*. 26 juill 1999; **107**(1A): 12S-27S.
145. Welte T, Torres A, Nathwani D. Clinical and economic burden of community-acquired pneumonia among adults in Europe. *Thorax*. 2012; **67**(1): 71-9.
146. Holm A, Nexoe J, Bistrup LA, Pedersen SS, Obel N, Nielsen LP, et al. Aetiology and prediction of pneumonia in lower respiratory tract infection in primary care. *Br J Gen Pract J R Coll Gen Pract*. 2007; **57**(540): 547-54.
147. Woodhead MA, Macfarlane JT, McCracken JS, Rose DH, Finch RG. Prospective study of the aetiology and outcome of pneumonia in the community. *Lancet Lond Engl*. 1987;1(8534):671-4.
148. Woodhead M. Community-acquired pneumonia in Europe: causative pathogens and resistance patterns. *Eur Respir J*. 2002; **20**(S36): 20-7.
149. Drijkoningen JJC, Rohde GGU. Pneumococcal infection in adults: burden of disease. *Clin Microbiol Infect*. 2014; **20**:45-51.

150. Said MA, Johnson HL, Nonyane BAS, Deloria-Knoll M, O' Brien KL, for the AGEDD Adult Pneumococcal Burden Study Team. Estimating the Burden of Pneumococcal Pneumonia among Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Techniques. Hill PC, éditeur. PLoS ONE. 2013;8(4): e60273.
151. Rozenbaum MH, Pechlivanoglou P, Werf TS, Lo-Ten-Foe JR, Postma MJ, Hak E. The role of *Streptococcus pneumoniae* in community-acquired pneumonia among adults in Europe: a meta-analysis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2013; 32(3): 305-16.
152. Elemraid MA, Sails AD, Eltringham GJA, Perry JD, Rushton SP, Spencer DA, et al. Aetiology of paediatric pneumonia after the introduction of pneumococcal conjugate vaccine. Eur Respir J. 2013; 42(6):1595-603.
153. De Schutter I, Vergison A, Tuerlinckx D, Raes M, Smet J, Smeesters PR, et al. Pneumococcal aetiology and serotype distribution in paediatric community-acquired pneumonia. PloS One. 2014; 9(2): e89013.
154. Janssens J-P, Krause K-H. Pneumonia in the very old. Lancet Infect Dis. 2004; 4(2): 112-24.
155. Nguyen TKP, Tran TH, Roberts CL, Graham SM, Marais BJ. Child pneumonia – focus on the Western Pacific Region. Paediatr Respir Rev. 2017; 21:102-10.
156. Klein EY, Monteforte B, Gupta A, Jiang W, May L, Hsieh Y-H, et al. The frequency of influenza and bacterial coinfection: a systematic review and meta-analysis. Influenza Other Respir Viruses. 2016; 10(5): 394-403.
157. Angoulvant F, Levy C, Grimprel E, Varon E, Lorrot M, Biscardi S, et al. Early Impact of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine on Community-Acquired Pneumonia in Children. Clin Infect Dis. 2014; 58(7): 918-24.
158. Groenewegen KH, Wouters EFM. Bacterial infections in patients requiring admission for an acute exacerbation of COPD; a 1-year prospective study. Respir Med. 2003; 97(7): 770-7.
159. Monsó E, Garcia-Aymerich J, Soler N, Farrero E, Felez MA, Antó JM, et al. Bacterial infection in exacerbated COPD with changes in sputum characteristics. Epidemiol Infect. 2003; 131(1): 799-804.
160. Miravittles M, Espinosa C, Fernández-Laso E, Martos JA, Maldonado JA, Gallego M. Relationship Between Bacterial Flora in Sputum and Functional Impairment in Patients With Acute Exacerbations of COPD. Chest. 1999; 116(1):40-6.

161. Domenech A, Ardanuy C, Pallares R, Grau I, Santos S, De la Campa AG, et al. Some Pneumococcal Serotypes Are More Frequently Associated with Relapses of Acute Exacerbations in COPD Patients. Aguilar L, éditeur. PLoS ONE. 2013;8(3): e59027.
162. Celin SE. Bacteriology of Acute Otitis Media in Adults. JAMA J Am Med Assoc. 1991; 266(16): 2249-52.
163. Massa HM, Cripps AW, Lehmann D. Otitis media: viruses, bacteria, biofilms and vaccines. Med J Aust. 2009; 191(9): S44-9.
164. DeMuri GP, Wald ER. Acute Bacterial Sinusitis in Children. N Engl J Med. 2012; 367(12): 1128-34.
165. Araujo E, Palombini BC, Cantarelli V, Pereira A, Mariante A. Microbiology of middle meatus in chronic rhinosinusitis. Am J Rhinol. 2003; 17(1): 9-15.
166. Brook I. Bacteriology of acute and chronic frontal sinusitis. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2002; 128(5): 583-5.
167. Orobello PW, Park RI, Belcher LJ, Eggleston P, Lederman HM, Banks JR, et al. Microbiology of chronic sinusitis in children. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. sept 1991; 117(9): 980-3.
168. Merino LA, Ronconi MC, Hreňuk GE, de Pepe MG. Bacteriologic findings in patients with chronic sinusitis. Ear Nose Throat J. 2003; 82(10): 798-806.
169. Steele RW. Chronic sinusitis in children. Clin Pediatr (Phila). 2005; 44(6): 465-71.
170. Høvdning G. Acute bacterial conjunctivitis. Acta Ophthalmol (Copenh). 2008; 86(1): 5-17.
171. Teweldemedhin M, Gebreyesus H, Atsbaha AH, Asgedom SW, Saravanan M. Bacterial profile of ocular infections: a systematic review. BMC Ophthalmol. 2017; 17(212).
172. Sugita G, Hotomi M, Sugita R, Kono M, Togawa A, Yamauchi K, et al. Genetic characteristics of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* isolated from children with conjunctivitis-otitis media syndrome. J Infect Chemother. 2014; 20(8): 493-7.
173. Jackson TL, Eykyn SJ, Graham EM, Stanford MR. Endogenous bacterial endophthalmitis: A 17-year prospective series and review of 267 reported cases. Surv Ophthalmol. 2003; 48(4): 403-23.
174. Marimon JM, Ercibengoa M, García-Arenzana JM, Alonso M, Pérez-Trallero E. *Streptococcus pneumoniae* ocular infections, prominent role of unencapsulated isolates in conjunctivitis. Clin Microbiol Infect. 2013; 19(7): E298-305.
175. Berron S, Fenoll A, Ortega M, Arellano N, Casal J. Analysis of the Genetic Structure of Nontypeable Pneumococcal Strains Isolated from Conjunctiva. J Clin Microbiol. 2005; 43(4):1694-8.

176. Keller LE, Robinson DA, McDaniel LS. Nonencapsulated *Streptococcus pneumoniae*: Emergence and Pathogenesis. mBio. 2016; 7(2):e01792-15.
177. Société Française de Microbiologie. Définition des catégories cliniques. In: CASFM/EUCAST: Société Française de Microbiologie Ed. 2018 p. 27.
178. Société Française de Microbiologie. Concentrations critiques PK/PD, non reliées à une espèce. In: CASFM/EUCAST: Société Française de Microbiologie Ed. 2018 p. 28.
179. Société Française de Microbiologie. Tableaux des concentrations critiques pour l'interprétation des CMI et des diamètres critiques des zones d'inhibition. In: CASFM/EUCAST: Société Française de Microbiologie Ed. 2018 p. 70-7.
180. Société Française de Microbiologie. Résistance naturelles aux antibiotiques des principales espèces bactériennes d'intérêt médical. In: CASFM/EUCAST: Société Française de Microbiologie Ed. 2018 p. 23.
181. Faure S. Les pénicillines. Actual Pharm. 2008; 47(476): 43-6.
182. Chardon H. L'antibiogramme du pneumocoque. Rev Francoph Lab. 2008; 407 :45-59.
183. Pagliero E, Chesnel L, Hopkins J, Croize J, Dideberg O, Vernet T, et al. Biochemical Characterization of *Streptococcus pneumoniae* Penicillin-Binding Protein 2b and Its Implication in -Lactam Resistance. Antimicrob Agents Chemother. 2004; 48(5): 1848-55.
184. Laible G, Hakenbeck R. Five independent combinations of mutations can result in low-affinity penicillin-binding protein 2x of *Streptococcus pneumoniae*. J Bacteriol. 1991; 173(21): 6986-90.
185. Jensen A, Valdórrsson O, Frimodt-Møller N, Hollingshead S, Kilian M. Commensal Streptococci Serve as a Reservoir for  $\beta$ -Lactam Resistance Genes in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2015; 59(6):3529-40.
186. Brieu N, Varon E, Baraduc R, Brun M, Chardon H, Cremniter J, et al. Observatoires régionaux du pneumocoque : évolution de la résistance aux antibiotiques et des sérotypes de *Streptococcus pneumoniae* isolés en France entre 2009 et 2013. J Anti-Infect. 2015; 17(4):145-50.
187. Kempf M, Baraduc R, Bonnabau H, Brun M, Chabanon G, Chardon H, et al. Observatoires régionaux du pneumocoque : épidémiologie et résistance aux antibiotiques des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées en France en 2007. Rev Francoph Lab. 2008; 407 :27-33.
188. Chardon H, Gravet A, Brun M, Baraduc R, Chabanon G, J. Croizé, et al. Observatoires régionaux du pneumocoque : surveillance de la résistance aux antibiotiques et des sérotypes de *Streptococcus pneumoniae* isolés en France en 2005. BEH. 2008;(51-52):508-12.

189. Maugein J, Croizé J, Ros A, Bourdon S, Brun M, Cattier B, et al. Observatoires régionaux du pneumocoque : surveillance des sérotypes et de la résistance aux antibiotiques des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées en France, 2003. BEH. 2006;(1).
190. Kempf M, Varon E, Lepoutre A, Gravet A, Baraduc R, Brun M, et al. Decline in antibiotic resistance and changes in the serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolates from children with acute otitis media; a 2001-2011 survey by the French Pneumococcal Network. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2015; **21**(1): 35-42.
191. Janoir C, Lepoutre A, Gutmann L, Varon E. Insight Into Resistance Phenotypes of Emergent Non 13-valent Pneumococcal Conjugate Vaccine Type Pneumococci Isolated From Invasive Disease After 13-valent Pneumococcal Conjugate Vaccine Implementation in France. Open Forum Infect Dis. 2016; **3**(1). Disponible sur: <https://academic.oup.com/ofid/article-lookup/doi/10.1093/ofid/ofw020>
192. Faure S. Les macrolides et apparentés. Actual Pharm. 2008; **47**(478):51-6.
193. Labetoulle M, Chiquet C. Les fluoroquinolones en ophtalmologie : modes d'actions et mécanismes de résistance. J Fr Ophtalmol. 2008; **31**(8):795-801.
194. Lupien A, Billal DS, Fani F, Soualhine H, Zhanel GG, Leprohon P, et al. Genomic Characterization of Ciprofloxacin Resistance in a Laboratory-Derived Mutant and a Clinical Isolate of *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2013; **57**(10): 4911-9.
195. Janoir C, Zeller V, Kitzis MD, Moreau NJ, Gutmann L. High-level fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* requires mutations in parC and gyrA. Antimicrob Agents Chemother. 1996; **40**(12): 2760-4.
196. Pan XS, Ambler J, Mehtar S, Fisher LM. Involvement of topoisomerase IV and DNA gyrase as ciprofloxacin targets in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 1996; **40**(10): 2321-6.
197. Balsalobre L, Ferrándiz MJ, Liñares J, Tubau F, de la Campa AG. Viridans group streptococci are donors in horizontal transfer of topoisomerase IV genes to *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2003; **47**(7):2072-81.
198. Varon E, Gutmann L. Rapport d'activité 2002 (Epidémiologie 2001). Centre National de Référence des Pneumocoques; 2002.
199. Buxeraud J, Faure S. Les quinolones et les sulfamides. Actual Pharm. sept 2016; **55**(558):17-22.
200. Faure S. Les tétracyclines. Actual Pharm. 2008; **47**(479): 41-4.

201. Epaulard O, Brion J-P. Phénicolés (chloramphénicol et thiamphénicol). EMC - Traité Médecine AKOS. 2009; 4(4):1-6.
202. Faure S. Antituberculeux. Actual Pharm. 2009; 48(484):45-8.
203. Faure S. Les aminosides. Actual Pharm. 2009; 48(482):51-5.
204. Léone M, Ayem ML, Martin C. Les glycopeptides. Ann Fr Anesth Réanimation. 2000; 19(3):177-87.
205. Novak R, Henriques B, Charpentier E, Normark S, Tuomanen E. Emergence of vancomycin tolerance in *Streptococcus pneumoniae*. Nature. 1999; 399(6736):590-3.
206. Labie D. David contre Goliath, ou l'ingéniosité du streptocoque. médecine/sciences. 1999; 15(10):1177.
207. Société Française de Microbiologie. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques. In: CASFM/EUCAST: Société Française de Microbiologie Ed. 2018.
208. Varon E, Gutmann L. Rapport d'activité 2004 (Epidémiologie 2003). Centre National de Référence des Pneumocoques; 2004.
209. Varon E, Janoir C, Gutmann L. Rapport d'activité 2010 (Epidémiologie 2009). Centre National de Référence des Pneumocoques; 2010.
210. Varon E, Janoir C, Gutmann L. Rapport d'activité 2012 (Epidémiologie 2011). Centre National de Référence des Pneumocoques; 2012.
211. Varon E, Janoir C, Gutmann L. Rapport d'activité 2014 (Epidémiologie 2013). Centre National de Référence des Pneumocoques; 2014.
212. Càmara J, Marimón JM, Cercenado E, Larrosa N, Quesada MD, Fontanals D, et al. Decrease of invasive pneumococcal disease (IPD) in adults after introduction of pneumococcal 13-valent conjugate vaccine in Spain. Ho PL, éditeur. PLOS ONE. 2017; 12(4): e0175224.
213. Waight PA, Andrews NJ, Ladhani SN, Sheppard CL, Slack MPE, Miller E. Effect of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on invasive pneumococcal disease in England and Wales 4 years after its introduction: an observational cohort study. Lancet Infect Dis. 2015; 15(5): 535-43.
214. Van der Linden M, Falkenhorst G, Perniciaro S, Imöhl M. Effects of Infant Pneumococcal Conjugate Vaccination on Serotype Distribution in Invasive Pneumococcal Disease among Children and Adults in Germany. Beall B, éditeur. PLOS ONE. 2015; 10(7): e0131494.
215. Harboe ZB, Dalby T, Weinberger DM, Benfield T, Mølbak K, Slotved HC, et al. Impact of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccination in Invasive Pneumococcal Disease Incidence and Mortality. Clin Infect Dis. 2014; 59(8): 1066-73.

216. Van der Linden M, Falkenhorst G, Perniciaro S, Imöhl M. Effects of Infant Pneumococcal Conjugate Vaccination on Serotype Distribution in Invasive Pneumococcal Disease among Children and Adults in Germany. Beall B, éditeur. PLOS ONE. 2015; **10**(7): e0131494.
217. Mendes RE, Costello AJ, Jacobs MR, Biek D, Critchley IA, Jones RN. Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of USA *Streptococcus pneumoniae* isolates collected prior to and post introduction of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014; **80**(1): 19-25.
218. Demczuk WHB, Martin I, Desai S, Griffith A, Caron-Poulin L, Lefebvre B, et al. Serotype distribution of invasive *Streptococcus pneumoniae* in adults 65 years of age and over after the introduction of childhood 13-valent pneumococcal conjugate vaccination programs in Canada, 2010–2016. Vaccine. 2018; **36**(31): 4701-7.
219. Duvvuri VR, Deng X, Teatero S, Memari N, Athey T, Fittipaldi N, et al. Population structure and drug resistance patterns of emerging non-PCV-13 *Streptococcus pneumoniae* serotypes 22F, 15A, and 8 isolated from adults in Ontario, Canada. Infect Genet Evol. 2016; **42**:1-8.
220. Slotved H-C, Dalby T, Hoffmann S. The effect of pneumococcal conjugate vaccines on the incidence of invasive pneumococcal disease caused by ten non-vaccine serotypes in Denmark. Vaccine. 2016; **34**(6):769-74.
221. Slotved H-C, Dalby T, Harboe ZB, Valentiner-Branth P, Casadevante VF de, Espenhain L, et al. The incidence of invasive pneumococcal serotype 3 disease in the Danish population is not reduced by PCV-13 vaccination. Heliyon. 2016; **2**(11): e00198.
222. Andrews NJ, Waight PA, Burbidge P, Pearce E, Roalfe L, Zancolli M, et al. Serotype-specific effectiveness and correlates of protection for the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine: a postlicensure indirect cohort study. Lancet Infect Dis. 2014; **14**(9): 839-46.
223. De Wals P. Commentary on paradoxical observations pertaining to the impact of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on serotype 3 *Streptococcus pneumoniae* infections in children. Vaccine. 2018; **36**(37): 5495-6.
224. Hauser C, Kronenberg A, Allemann A, Mühlemann K, Hilty M. Serotype/serogroup-specific antibiotic non-susceptibility of invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae*, Switzerland, 2004 to 2014. Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull. 2016; **21**(21).

225. Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, Chang B, Suga S, Noguchi T, et al. Serotypes, antimicrobial susceptibility, and molecular epidemiology of invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in paediatric patients after the introduction of 13-valent conjugate vaccine in a nationwide surveillance study conducted in Japan in 2012–2014. *Vaccine*. 2016; **34**(1): 67-76.
226. Song J-H, Dagan R, Klugman KP, Fritzell B. The relationship between pneumococcal serotypes and antibiotic resistance. *Vaccine*. 2012; **30**(17): 2728-37.
227. Schmitz J, van der Linden M, Al-Lahham A, Levina N, Pletz MW, Imöhl M. Fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolates in Germany from 2004–2005 to 2014–2015. *Int J Med Microbiol*. 2017; **307**(4-5): 216-22.
228. Cornick JE, Bentley SD. *Streptococcus pneumoniae*: the evolution of antimicrobial resistance to beta-lactams, fluoroquinolones and macrolides. *Microbes Infect*. 2012; **14**(7-8):573-83.
229. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. La consommation d'antibiotiques en France en 2016. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé; 2017.
230. Kiska DL, Kerr A, Jones MC, Chazotte NN, Eskridge B, Miller S, et al. Comparison of antimicrobial susceptibility methods for detection of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol*. 1995; **33**(1): 229-32.
231. Jorgensen JH, Ferraro MJ, McElmeel ML, Spargo J, Swenson JM, Tenover FC. Detection of penicillin and extended-spectrum cephalosporin resistance among *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates by use of the E test. *J Clin Microbiol*. 1994; **32**(1): 159-63.
232. Tandé D, Picard B, The Brittany Hospital Laboratories. Evaluation of the E-test for routine testing of the susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to benzylpenicillin, amoxicillin and cefotaxime. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 1997; **3**(4): 474-9.
233. Macias EA, Mason EO, Ocera HY, LaRocco MT. Comparison of E test with standard broth microdilution for determining antibiotic susceptibilities of penicillin-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol*. 1994; **32**(2): 430-2.
234. Krisher KK, Linscott A. Comparison of three commercial MIC systems, E test, fastidious antimicrobial susceptibility panel, and FOX fastidious panel, for confirmation of penicillin and cephalosporin resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol*. 1994; **32**(9): 2242-5.
235. Varga A, Karlsson C, Kahlmeter G, Matuschek E. Evaluation of beta-lactam gradient tests (Etest, M.I.C.E. and MIC Test Strip) for *Streptococcus pneumoniae*. In Vienne; 2017.
236. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 26th Edition. 2016.

237. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. version 8.1, valid from 2018-05-15. 2018.
238. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Centre For, Devices and Radiological Health. Guidance for industry and FDA class II special controls guidance document: antimicrobial susceptibility test (AST) systems. 2009 p. 1-42.
239. Charles MK, Berenger BM, Turnbull L, Rennie R, Fuller J. Variability of  $\beta$ -lactam susceptibility testing for *Streptococcus pneumoniae* using 4 commercial test methods and broth microdilution. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016; **84**(3): 240-5.
240. European Committee On Antimicrobial Susceptibility testing. MIC distributions and the setting of epidemiological cutoff (ECOFF) values. 2017.
241. Labrunie A. Rapport d'analyses statistiques ORP 2017. Centre d'Epidémiologie, de Biostatistique et de Méthodologie de la Recherche; 2017.

## PARTIE IV : ANNEXES

### Annexe 1: Liste détaillée des souches étudiées

Numéro	Date de naissance	Sexe	Date prélèvement	Origine géographique	Type de prélèvement
20170003	18/10/30	F	01/01/17	Aix en Provence	Aspiration Trachéo-Bronchique
20170041	08/05/35	M	07/01/17	Aix en Provence	Hémoculture
20170115	16/09/82	M	18/01/17	Aix en Provence	Hémoculture
20170146	23/03/51	F	15/01/17	Salon de Provence	Hémoculture
20170156	12/07/36	M	21/01/17	Aix en Provence	Hémoculture
20170178	27/06/16	M	21/01/17	Aix en Provence	Paracentèse
20170203	28/02/88	F	27/01/17	Aix en Provence	Hémoculture
20170234	22/07/08	M	02/02/17	Avignon	Hémoculture
20170293	01/03/31	F	09/02/17	Laveran	Liquide céphalorachidien
20170308	28/06/47	F	09/02/17	Aix en Provence	Fibroscopie
20170345	01/10/39	M	14/02/17	Aix en Provence	Hémoculture
20170368	09/06/38	M	14/02/17	Aix en Provence	Expectoration
20170409	21/10/74		23/02/17	Avignon	Hémoculture
20170423	19/12/64	F	22/02/17	Aix en Provence	Aspiration Trachéo-Bronchique
20170424	15/12/59	M	01/04/17	Aix en Provence	Fibroscopie
20170448	19/11/42		03/01/17	Brignoles	Hémoculture
20170461	09/03/70		01/03/17	Avignon	Hémoculture
20170462	25/05/28	F	01/03/17	Avignon	Hémoculture
20170498	09/06/38	M	03/03/17	Aix en Provence	Expectoration
20170499	25/05/49	M	03/03/17	Aix en Provence	Expectoration
20170503	01/01/50	M	04/03/17	Aix en Provence	Hémoculture
20170506	18/02/84	M	25/02/17	Martigues	Hémoculture
20170512	26/03/62		01/03/17	Aubagne	Hémoculture
20170572	23/06/85	M	03/03/17	Avignon	Liquide Broncho-Alvéolaire
20170573	09/04/30	F	01/03/17	Avignon	Hémoculture
20170589	02/10/82	M	10/03/17	Aix en Provence	Expectoration
20170606	26/07/41	M	16/03/17	Aix en Provence	Hémoculture
20170743	11/01/54	M	27/03/17	Aix en Provence	Fibroscopie
20170773	30/12/33	F	02/04/17	Aix en Provence	Hémoculture
20170791	17/06/16	M	03/04/17	Aix en Provence	Paracentèse
20170853	05/09/60	M	05/04/17	Avignon	Liquide CéphaloRachidien

20170863	12/11/37	M	12/04/17	Aix en Provence	Hémoculture
20171018	16/09/01	M	30/04/17	Aix en Provence	Aspiration Trachéo- Bronchique
20171029	09/03/73	M	26/04/17	Avignon	Hémoculture
20171030	09/03/73	M	26/04/17	Avignon	Liquide CéphaloRachidien
20171114	02/11/59	F	11/05/17	Aix en Provence	Aspiration Trachéo- Bronchique
20171158	12/01/42	M	15/05/17	Aix en Provence	Hémoculture
20171183	02/10/39	M	19/05/17	Salon de Provence	Hémoculture
20171228	24/06/48	F	22/05/17	Aix en Provence	Aspiration Trachéo- Bronchique
20171248	25/07/48	M	22/05/17	Aix en Provence	Expectoration
20171353	21/02/17	M	29/05/17	Salon de Provence	Liquide CéphaloRachidien
20171442	28/12/37	M	01/06/17	Aix en Provence	Aspiration Trachéo- Bronchique
20171454	26/08/56	M	08/06/17	Avignon	Hémoculture
20171455	16/11/34	F	09/06/17	Avignon	Hémoculture
20171529	10/01/60	F	11/06/17	Avignon	Hémoculture
20171610	22/04/41	M	26/06/17	Aix en Provence	Expectoration
20171670	04/08/66	M	03/07/17	Aix en Provence	Expectoration
20171697	17/12/47	F	06/07/17	Aix en Provence	Aspiration Trachéo- Bronchique
20171836	08/05/54	M	21/07/17	Aix en Provence	Fibroscopie
20171855	01/09/81	M	21/07/17	Avignon	Hémoculture
20171932	16/04/12	M	01/08/17	Aix en Provence	Expectoration
20172162	29/10/77	M	25/08/17	Aix en Provence	Fibroscopie
20172322	18/06/17	F	17/09/17	Aix en Provence	Paracentèse
20172376	06/05/45	M	21/09/17	Aix en Provence	Fibroscopie
20172384	20/03/60	M	24/09/17	Aix en Provence	Fibroscopie
20172406	01/01/56	M	14/09/17	Brignoles	Hémoculture
20172407	07/09/27		29/09/17	Aubagne	Hémoculture
20172423	05/12/34	F	27/09/17	Aix en Provence	Hémoculture
20172517	08/09/41	M	05/10/17	Aubagne	Hémoculture
20172518	07/08/48	M	03/10/17	Avignon	Hémoculture
20172545	24/10/76	M	13/10/17	Aix en Provence	Fibroscopie
20172564	09/03/78	M	18/10/17	Avignon	Hémoculture
20172588		M	16/11/17	Aubagne	Hémoculture
20172589	14/12/16	M	13/11/17	Aix en Provence	Paracentèse
20172627	08/05/50	M	25/10/17	Aix en Provence	Fibroscopie
20172628	12/01/66	M	25/10/17	Aix en Provence	Aspiration Trachéo-

					Bronchique
20172630	08/05/50	M	25/10/17	Aix en Provence	Hémoculture
20172652	22/12/56	M	23/10/17	Aubagne	Hémoculture
20172737	28/12/28	M	07/11/17	Aix en Provence	Hémoculture
20172743	10/06/45	F	29/10/17	Brignoles	Hémoculture
20172752	09/09/48	M	09/11/17	Aix en Provence	Expectoration
20172881	01/03/55	M	28/11/17	Aix en Provence	Hémoculture
20172882	20/07/46	F	20/11/17	Avignon	Hémoculture
20172899	23/08/46	F	30/11/17	Aix en Provence	Fibroscopie
20172900	28/01/91	M	01/12/17	Aix en Provence	Expectoration
20172917	15/04/17	M	05/12/17	Aix en Provence	Hémoculture
20172941	02/06/50	M	07/12/17	Aix en Provence	Aspiration Trachéo- Bronchique
20172989	19/06/16		14/12/17	Aubagne	Hémoculture
20173009	01/12/67	F	13/12/17	Aix en Provence	Aspiration Trachéo- Bronchique
20173060	08/04/63	M	26/12/17	Aix en Provence	Aspiration Trachéo- Bronchique
20180019	06/12/53	F	26/12/17	Avignon	Hémoculture
20180020	06/12/53	F	26/12/17	Avignon	Liquide CéphaloRachidien
20180037	30/10/39	F	31/12/17	Brignoles	Hémoculture

**Annexe 2 : Plans des plaques pour la réalisation des CMI de chacun des 4 antibiotiques par la méthode de référence**

		Concentrations d'antibiotique ( $\mu\text{g/ml}$ )										
		0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	T
Numéro de souche	20170041											
	20170178											
	20170308											
	20170448											
	20170499											
	20170572											
	20170598											
	20170743											

		Concentrations d'antibiotique (µg/ml)											
Numéro de souche		0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	T	
	20170791												
	20171442												
	20171529												
	20172162												
	20172376												
	20172423												
	20172589												
	20172545												

		Concentrations d'antibiotique (µg/ml)											
Numéro de souche		0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	T	
	20172652												
	20172866												
	20172867												
	20172868												
	20172882												
	20172900												
	20172941												
	20173060												

### Annexe 3 : Diamètre d'inhibition de l'ensemble des souches

Numéro de soucier	Oxacilline 1µg	Érythromycine 15µg	Cotrimoxazole 25µg	Tétracycline 30µg	Rifampicine 5µg	Pristinamycine 15µg	Chloramphénicol 30µg	Fosfomycine 200µg	Vancomycine 5µg	Norfloxacine 10µg	Lévofloxacine 5µg	Moxifloxacine 5µg
20170003	35	35	29	35	28	36	33	36	36	17	28	32
20170041	6	15	15	15	28	28	28	28	21	10	21	25
20170115	30	32	32	32	27	30	31	35	25	16	26	30
20170146	25	30	23	31	28	27	28	28	19	14	20	24
20170156	30	25	27	26	26	24	25	31	26	16	25	35
20170178	6	19	32	16	31	33	33	22	25	25	29	38
20170203	23	29	25	32	32	29	32	33	23	13	22	30
20170234	26	30	25	32	28	30	31	31	27	21	23	30
20170293	31	28	25	32	29	27	27	32	25	16	27	34
20170308	6	10	27	10	26	23	30	32	22	19	26	38
20170345	19	22	26	23	22	23	23	29	18	16	20	28
20170368	31	31	30	31	28	29	31	35	22	6	6	20
20170409	26	30	25	30	30	30	30	32	22	20	25	40
20170423	6	35	34	35	34	35	34	36	25	16	26	36
20170424	31	27	25	29	28	28	27	27	22	15	19	25
20170448	6	31	28	31	29	29	33	36	22	19	21	27
20170461	34	29	26	31	29	28	30	36	24	17	20	30
20170462	17	33	35	33	31	31	32	35	22	17	24	30
20170498	31	29	33	32	31	26	34	35	26	6	6	22
20170499	6	14	34	14	29	27	29	40	23	19	27	40
20170503	28	30	23	30	30	24	29	32	22	14	21	24
20170506	31	29	27	30	26	30	29	24	23	15	21	28
20170512	27	27	24	27	28	35	27	33	22	16	20	28
20170572	6	27	26	28	24	25	26	32	19	19	21	28
20170573	30	31	27	32	29	27	29	31	20	15	20	27
20170589	6	36	26	36	34	33	33	35	24	21	22	33
20170606	30	24	18	26	24	23	27	35	22	14	17	23
20170743	9	6	20	24	36	34	34	34	29	23	25	33
20170773	28	25	18	25	22	23	21	31	23	13	20	24

20170791	6	6	6	12	30	34	34	30	25	20	25	30
20170853	30	22	22	28	24	23	25	22	20	12	17	24
20170863	35	36	23	37	36	34	36	37	29	12	23	29
20171018	32	32	30	37	30	30	30	29	26	16	22	28
20171029	29	28	27	28	26	23	29	35	22	13	18	24
20171030	30	34	29	35	35	28	34	37	26	16	21	26
20171114	9	11	29	8	30	29	26	37	17	25	26	27
20171158	29	23	23	25	22	25	23	37	21	15	21	30
20171183	24	27	20	27	25	26	24	35	22	15	19	24
20171228	24	33	33	37	26	27	29	37	26	19	23	25
20171248	18	6	24	23	34	35	35	36	26	20	23	31
20171353	31	30	31	31	27	29	31	33	23	19	21	28
20171442	6	7	26	11	27	31	37	37	24	17	27	33
20171454	38	6	30	28	32	30	32	38	28	17	26	23
20171455	34	6	28	28	28	26	29	27	26	16	26	33
20171529	6	28	11	29	28	28	28	29	21	12	21	26
20171610	11	29	31	31	25	34	32	33	21	20	28	33
20171670	23	26	18	27	23	27	25	36	21	17	22	27
20171697	31	34	36	32	29	29	27	40	40	18	30	34
20171836	13	32	20	34	32	29	28	33	25	19	26	32
20171855	35	31	34	34	26	28	27	30	30	20	27	32
20171932	13	34	11	34	30	29	29	27	25	18	28	25
20172162	6	34	33	33	26	31	25	29	22	18	29	28
20172322	32	26	24	27	25	24	25	33	20	17	21	25
20172376	6	6	24	11	25	24	25	31	18	20	22	31
20172384	21	28	27	30	28	26	28	30	19	20	21	30
20172406	25	26	20	25	23	22	21	23	17	15	18	23
20172407	20	25	22	27	25	23	23	27	17	16	18	26
20172423	6	30	11	27	28	27	28	35	19	20	23	33
20172517	33	25	22	28	26	24	23	35	18	14	17	28
20172518	35	27	20	30	28	28	17	35	25	17	19	27
20172545	6	6	26	11	30	27	25	29	22	26	24	32
20172564	29	25	25	30	28	24	27	25	17	20	19	27
20172588	30	30	24	36	29	27	28	33	19	19	21	32
20172589	6	29	13	32	35	31	27	33	18	22	22	28
20172627	35	26	29	28	27	26	26	32	22	19	24	35
20172628	6	28	10	30	29	25	28	33	23	20	22	34
20172630	36	27	30	28	24	24	26	29	23	18	23	33
20172652	6	28	16	27	24	27	33	27	21	25	25	31
20172737	28	24	23	27	24	21	22	25	18	18	18	24
20172743	31	24	25	27	25	23	22	33	18	19	20	25
20172752	31	27	26	31	28	27	25	36	20	14	17	26

20172881	11	10	19	15	23	25	22	27	16	15	17	23
20172882	6	28	6	30	27	27	26	33	20	18	21	25
20172899	16	34	14	28	26	28	24	32	19	20	21	33
20172900	6	6	37	12	29	33	28	24	21	16	23	35
20172917	31	35	31	39	32	36	34	39	24	22	26	38
20172941	6	10	26	11	26	27	28	31	21	15	22	32
20172989	13	6	21	18	33	33	28	35	23	16	22	31
20173009	11	36	16	36	34	36	35	34	24	22	28	36
20173060	6	12	10	32	26	29	28	34	23	23	27	35
20180019	31	26	28	28	23	28	24	36	17	19	21	28
20180020	31	28	28	33	28	28	27	37	19	21	22	25
20180037	32	32	34	35	31	31	32	38	22	24	25	32

#### Annexe 4 : Résultats des CMI de l'ensemble des souches

Numéro de soucier	CMI E TEST PG	CMIL PG	CMI REF PG	CMI E TEST AMX	CMIL AMX	CMI REF AMX
20170003	<0,016	<0,008		<0,016	<0,008	
20170041	0,25	1	1	0,25	1	1
20170115	<0,016	0,015		<0,016	0,015	
20170146	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20170156	0,016	<0,008		0,016	0,03	
20170178	1	2	2	1	4	2
20170203	0,032	0,03		0,016	0,03	
20170234	<0,016	<0,008		<0,016	0,015	
20170293	<0,016	0,015		<0,016	0,015	
20170308	0,75	2	2	0,5	2	2
20170345	0,016	<0,008		0,016	0,015	
20170368	0,016	0,03		0,016	0,03	
20170409	<0,016	0,015		<0,016	0,015	
20170423	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20170424	<0,016	<0,008		<0,016	0,015	
20170448	0,5	2	0,5	0,5	2	1

20170461	<0,016	<0,008		<0,016	0,015	
20170462	0,023	0,06		0,032	0,06	
20170498	<0,016	0,015		<0,016	0,015	
20170499	0,5	2	1	0,38	2	1
20170503	<0,016	0,008		0,016	0,03	
20170506	<0,016	0,015		<0,016	0,015	
20170512	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20170572	0,5	1	1	0,5	2	1
20170573	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20170589	0,38	2	1	0,5	2	1
20170606	0,016	<0,008		0,016	0,015	
20170743	0,75	4	4	0,75	2	2
20170773	0,016	0,015		0,016	0,03	
20170791	0,75	2	2	0,75	2	1
20170853	<0,016	0,015		<0,016	0,015	
20170863	0,016	0,015		0,016	0,015	
20171018	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20171029	<0,016	0,015		<0,016	0,015	
20171030	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20171114	0,064	0,06		0,032	0,03	
20171158	0,016	0,015		0,016	0,03	
20171183	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20171228	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20171248	0,25	0,5		0,023	0,06	
20171353	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20171442	0,125	0,5	0,5	0,064	0,25	0,25
20171454	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20171455	<0,016	0,015		0,016	0,03	
20171529	0,75	2	1	0,75	2	2
20171610	0,5	0,25		0,5	0,25	
20171670	0,023	0,03		<0,016	0,015	
20171697	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20171836	0,25	0,25		0,125	0,25	
20171855	<0,016	<0,008		<0,016	0,015	
20171932	0,25	0,25		0,25	0,25	
20172162	0,38	1	1	0,5	2	1
20172322	<0,016	<0,008		<0,016	0,015	
20172376	0,19	1	0,5	0,5	2	1
20172384	0,023	0,06		0,032	0,12	
20172406	<0,016	<0,008		<0,016	0,015	
20172407	0,016	0,06		0,023	0,12	
20172423	1,5	8	4	3	16	8

20172517	<0,016	<0,008		<0,016	0,03	
20172518	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20172545	0,094	0,5	0,5	0,19	1	1
20172564	<0,016	<0,008		<0,016	0,015	
20172588	<0,016	<0,008		<0,016	0,03	
20172589	1	4	2	1,5	8	8
20172627	<0,016	0,015		<0,016	0,015	
20172628	0,75	2		3	8	
20172630	<0,016	0,015		<0,016	0,015	
20172652	2	4	4	6	16	8
20172737	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20172743	<0,016	<0,008		<0,016	0,015	
20172752	<0,016	<0,008		0,016	0,03	
20172866	<0,016	0,06		0,016	<0,008	
20172867	0,094	0,06		<0,016	0,008	
20172868	3	8	8	6	16	16
20172881	0,38	0,25		0,125	0,25	
20172882	1,5	4	4	3	8	8
20172899	0,047	0,03		0,032	0,06	
20172900	0,094	0,5	0,25	0,064	0,25	0,25
20172917	0,016	<0,008		0,016	0,015	
20172941	0,25	1	1	0,38	1	1
20172989	0,25	0,5		0,047	0,12	
20173009	0,5	1		0,5	1	
20173060	0,75	2	2	1	4	2
20180019	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20180020	<0,016	0,015		<0,016	0,03	
20180037	<0,016	0,015		<0,016	0,03	

Numéro de soucier	CMI E TEST CTX	CMIL CTX	CMI REF CTX	CMI E TEST CRO	CMIL CRO	CMI REF CRO
20170003	0,006	0,015		0,006	0,015	
20170041	0,125	0,5	0,5	0,125	0,5	0,5
20170115	0,008	0,015		0,008	0,03	
20170146	0,008	0,015		0,006	0,015	
20170156	0,008	0,015		0,006	0,015	
20170178	0,75	1	1	0,38	1	1
20170203	0,064	0,06		0,016	0,06	
20170234	0,008	<0,008		0,008	0,015	
20170293	0,008	0,015		0,008	0,015	
20170308	0,25	1	1	0,19	1	1
20170345	0,016	0,015		0,016	0,015	
20170368	0,023	0,06		0,012	0,06	
20170409	0,008	0,015		0,006	0,015	
20170423	0,008	0,015		0,006	0,03	
20170424	0,006	0,015		0,006	0,015	
20170448	0,19	0,5	0,25	0,125	0,5	0,5
20170461	0,006	0,015		0,006	0,015	
20170462	0,094	0,25		0,094	0,25	
20170498	0,012	0,06		0,008	0,06	
20170499	0,19	1	1	0,19	1	0,5
20170503	0,008	0,015		0,006	0,015	
20170506	0,008	0,015		0,006	0,03	
20170512	0,012	0,015		0,008	0,03	
20170572	0,38	1	0,5	0,19	1	0,5
20170573	0,012	0,03		0,008	0,03	
20170589	0,19	1	0,5	0,19	1	0,5
20170606	0,008	0,015		0,008	0,015	
20170743	1	4	2	0,75	4	2
20170773	0,016	0,015		0,008	0,015	
20170791	0,5	1	1	0,38	1	1
20170853	0,008	0,015		0,006	0,03	
20170863	0,012	0,015		0,008	0,015	

20171018	0,004	0,015		0,004	0,015	
20171029	0,008	0,015		0,008	0,015	
20171030	0,008	0,015		0,008	0,015	
20171114	0,064	0,06		0,023	0,03	
20171158	0,008	0,015		0,004	0,03	
20171183	0,016	0,06		0,016	0,06	
20171228	0,006	0,03		0,004	0,03	
20171248	0,047	0,12		0,047	0,12	
20171353	0,006	0,015		0,006	0,03	
20171442	0,19	0,5	0,5	0,125	0,5	0,5
20171454	0,006	0,03		0,004	0,03	
20171455	0,004	0,015		0,002	0,03	
20171529	0,5	1	0,5	0,25	1	0,5
20171610	0,25	0,12		0,19	0,12	
20171670	0,094	0,25		0,064	0,5	
20171697	0,003	0,015		0,004	0,03	
20171836	0,064	0,12		0,064	0,12	
20171855	0,012	0,015		0,012	0,03	
20171932	0,125	0,12		0,125	0,25	
20172162	0,125	0,5	0,5	0,125	0,5	0,5
20172322	0,008	0,015		0,004	0,015	
20172376	0,38	1	1	0,38	1	1
20172384	0,016	0,03		0,016	0,03	
20172406	0,12	0,015		0,008	0,015	
20172407	0,006	0,06		0,016	0,12	
20172423	0,5	2	2	0,38	2	2
20172517	0,008	0,015		0,008	0,03	
20172518	0,008	0,015		0,008	0,015	
20172545	0,094	0,5	0,5	0,064	0,5	0,5
20172564	0,016	0,015		0,012	0,03	
20172588	0,012	0,015		0,012	0,015	
20172589	0,19	2	1	0,125	1	1
20172627	0,008	0,015		0,006	0,03	
20172628	0,38	1		0,19	1	
20172630	0,016	0,015		0,008	0,03	
20172652	1	2	2	0,75	2	1
20172737	0,06	0,03		0,008	0,03	
20172743	0,008	0,015		0,004	0,03	
20172752	0,006	0,015		0,006	0,015	
20172866	0,012	<0,008		0,008	0,015	
20172867	0,012	0,008		0,012	0,03	
20172868	4	8	8	2	8	8

20172881	0,094	0,06		0,047	0,06	
20172882	0,25	2	1	0,19	2	1
20172899	0,032	0,06		0,023	0,06	
20172900	0,19	0,5	0,5	0,125	0,5	0,5
20172917	0,008	0,015		0,006	0,015	
20172941	0,19	0,5	0,5	0,125	0,5	0,5
20172989	0,094	0,12		0,064	0,12	
20173009	0,19	0,5		0,19	0,5	
20173060	0,25	1	0,5	0,19	1	1
20180019	0,006	0,03		0,004	0,03	
20180020	0,006	0,015		0,004	0,03	
20180037	0,008	0,015		0,008	0,015	

Annexe 5 : Tableau comparatif entre le diamètre d'inhibition de l'oxacilline 1 $\mu$ g et les valeurs des CMI des bêta-lactamines

Numéro de souche	Oxacilline 1 $\mu$ g	CMI E TEST PG	CMIL PG
20170003	35	<0,016	<0,008
20170041	6	0,25	1
20170115	30	<0,016	0,015
20170146	25	<0,016	0,015
20170156	30	0,016	<0,008
20170178	6	1	2
20170203	23	0,032	0,03
20170234	26	<0,016	<0,008
20170293	31	<0,016	0,015
20170308	6	0,75	2
20170345	19	0,016	<0,008
20170368	31	0,016	0,03
20170409	26	<0,016	0,015
20170423	6	<0,016	0,015
20170424	31	<0,016	<0,008

20170448	6	0,5	2
20170461	34	<0,016	<0,008
20170462	17	0,023	0,06
20170498	31	<0,016	0,015
20170499	6	0,5	2
20170503	28	<0,016	0,008
20170506	31	<0,016	0,015
20170512	27	<0,016	0,015
20170572	6	0,5	1
20170573	30	<0,016	0,015
20170589	6	0,38	2
20170606	30	0,016	<0,008
20170743	9	0,75	4
20170773	28	0,016	0,015
20170791	6	0,75	2
20170853	30	<0,016	0,015
20170863	35	0,016	0,015
20171018	32	<0,016	0,015
20171029	29	<0,016	0,015
20171030	30	<0,016	0,015
20171114	9	0,064	0,06
20171158	29	0,016	0,015
20171183	24	<0,016	0,015
20171228	24	<0,016	0,015
20171248	18	0,25	0,5
20171353	31	<0,016	0,015
20171442	6	0,125	0,5
20171454	38	<0,016	0,015
20171455	34	<0,016	0,015
20171529	6	0,75	2
20171610	11	0,5	0,25
20171670	23	0,023	0,03
20171697	31	<0,016	0,015
20171836	13	0,25	0,25
20171855	35	<0,016	<0,008
20171932	13	0,25	0,25
20172162	6	0,38	1
20172322	32	<0,016	<0,008
20172376	6	0,19	1
20172384	21	0,023	0,06
20172406	25	<0,016	<0,008
20172407	20	0,016	0,12

20172423	6	1,5	8
20172517	33	<0,016	<0,008
20172518	35	<0,016	0,015
20172545	6	0,094	0,5
20172564	29	<0,016	<0,008
20172588	30	<0,016	<0,008
20172589	6	1	4
20172627	35	<0,016	0,015
20172628	6	0,75	2
20172630	36	<0,016	0,015
20172652	6	2	4
20172737	28	<0,016	0,015
20172743	31	<0,016	<0,008
20172752	31	<0,016	<0,008
20172866		<0,016	0,06
20172867		0,094	0,06
20172868		3	8
20172881	11	0,38	0,25
20172882	6	1,5	4
20172899	16	0,047	0,03
20172900	6	0,094	0,5
20172917	31	0,016	<0,008
20172941	6	0,25	1
20172989	13	0,25	0,5
20173009	11	0,5	1
20173060	6	0,75	2
20180019	31	<0,016	0,015
20180020	31	<0,016	0,015
20180037	32	<0,016	0,015

## SERMENT DE GALIEN

*Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :*

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.*