

CNR des Méningocoques et de *Haemophilus Influenzae*

BILAN DES ACTIVITÉS SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES 2017-2021

Plan

<i>1. Activités de surveillance des infections invasive à méningocoque</i>	2
<i>1.1. Caractéristiques des cas d'IIM</i>	2
<i>1.2. Surveillance de la résistance du méningocoque aux anti-infectieux : Sensibilité aux antibiotiques</i>	4
<i>1.3. Alerte</i>	6
<i>2. Activités de surveillance des infections invasive à H. influenzae</i>	9
<i>2.1. Caractéristiques des cas d'IIHi</i>	9
<i>2.2. Surveillance de la résistance de H. influenzae aux anti-infectieux : Sensibilité aux antibiotiques</i>	12
<i>2.3. Alerte</i>	15

1. Activités de surveillance des infections invasive à méningocoque

1.1. Caractéristiques des cas d'IIM

Sur les 1595 cas d'IIM sur la période 2017-2021, la distribution en groupe était : 791 cas d'IIMB (49,6%), 286 cas d'IIMC (17,9%), 221 IIMY (13,9%), 271 IIMW (17,0%) et 26 cas (1,6%) d'IIM d'autres sérogroupe ou non-groupeables.

L'évolution de la distribution des groupes d'infections invasives à méningocoque pour cette période 2017-2021 est montrée également dans la **Figure 1**. Le nombre de souches du méningocoque B était stable entre 2017 et 2019 puis a baissé significativement en 2020 et 2021. Cette baisse est observée depuis l'introduction des mesures de distanciation physique et sociale pour le contrôle de la pandémie de COVID-19. L'impact des mesures de distanciation sociale et physique est plus clairement observé lorsque les nombres des cas d'IIM reçus au CNRMHi sont exprimés par les moyennes mobiles à 3 mois (**Figure 2**).

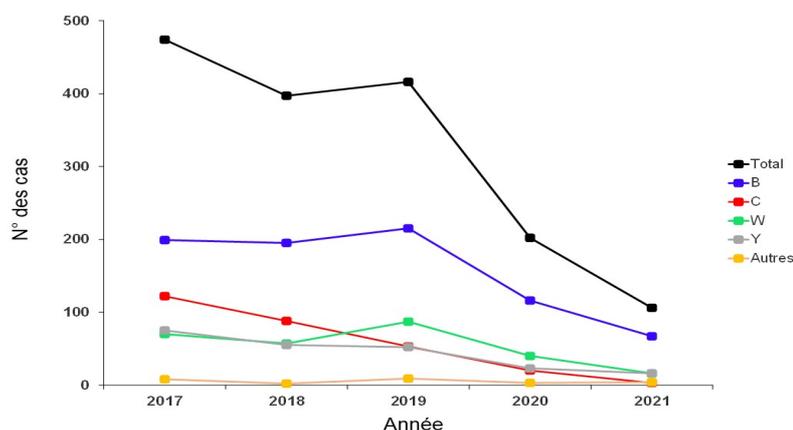


Figure 1. Évolution de la distribution des groupes (B, C, W, Y et autres) des cas d'IIM en France pour la période 2017-2021 (nombre de cas confirmés par culture et/ou PCR).

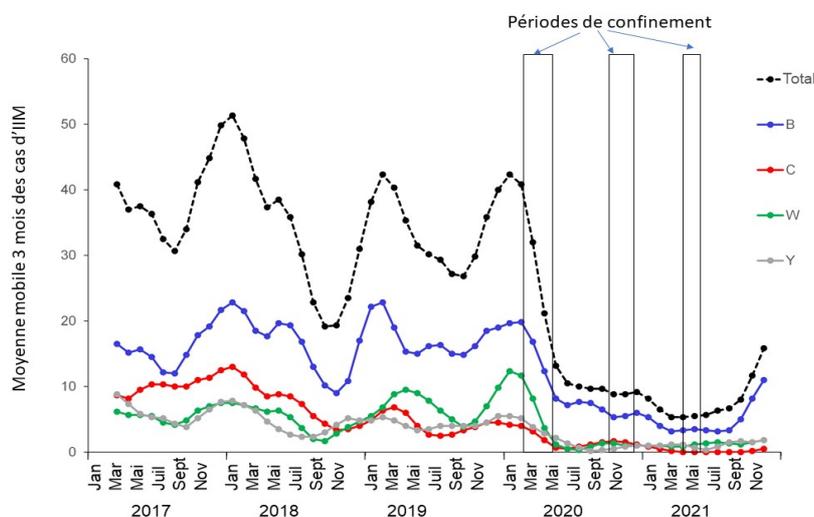


Figure 2. Évolution de la distribution des groupes (B, C, W et Y) des cas d'IIM en France pour la période 2017-2021 (exprimée en moyenne mobile 3 mois).

Le génotypage par MLST a été réalisé sur l'ensemble des souches/prélèvements et les données en complexes clonaux sont obtenues pour 1466 cas d'IIM ce qui représente 92% de l'ensemble des cas reçus au CNRMHi pour la période 2017-2021. Ce pourcentage était plus important pour les cas confirmés par culture (98%) que les cas confirmés seulement par PCR (62%).

La distribution en complexes clonaux pour la période 2017-2021 (cc) est présentée dans les **Figure 3** avec une baisse constatée en 2020 et 2021 pour l'ensemble des génotypes. Le pourcentage des cc hyperinvasifs (cc11, cc32, cc41/44 et cc269) était de 63% mais a baissé à 57% en 2021. En effet, c'est le complexe clonal cc11 qui a baissé le plus et qui ne représente plus le premier génotype observé en France en 2021. Ce complexe clonal est composé essentiellement des souches du sérogroupes C et sérogruppe W (**Figure 4**). Cette baisse reflète la diminution de la circulation de ce génotype à la suite des mesures sanitaires prises pour le contrôle de la pandémie COVID-19 et aussi grâce à la vaccination contre le sérogruppe C (obligatoire pour les <2 ans depuis 2018). Les complexe clonaux (cc32, cc41/44 et cc269) qui sont composés en majorité des souches du sérogruppe B sont aussi en diminution. Mais cette baisse est moins importante en 2021 pour les cas du cc32.

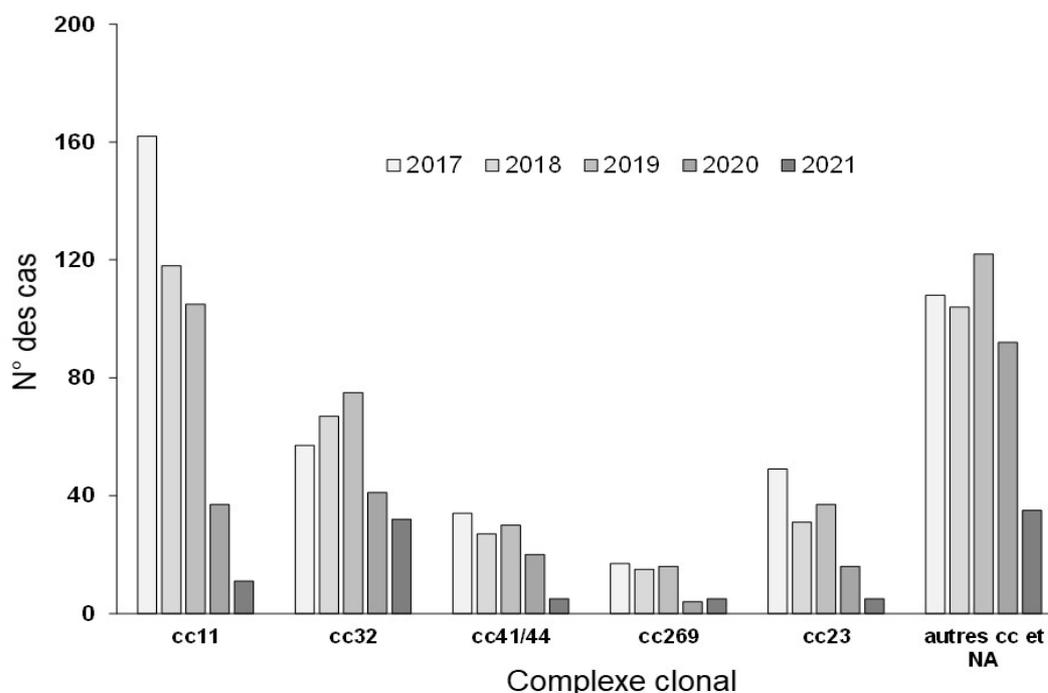


Figure 3. Évolution de la distribution des complexes clonaux des méningocoques responsables d'infections invasives en France (Période 2017-2019 ; nombre des cas confirmés par culture et/ou par PCR reçus au CNR).

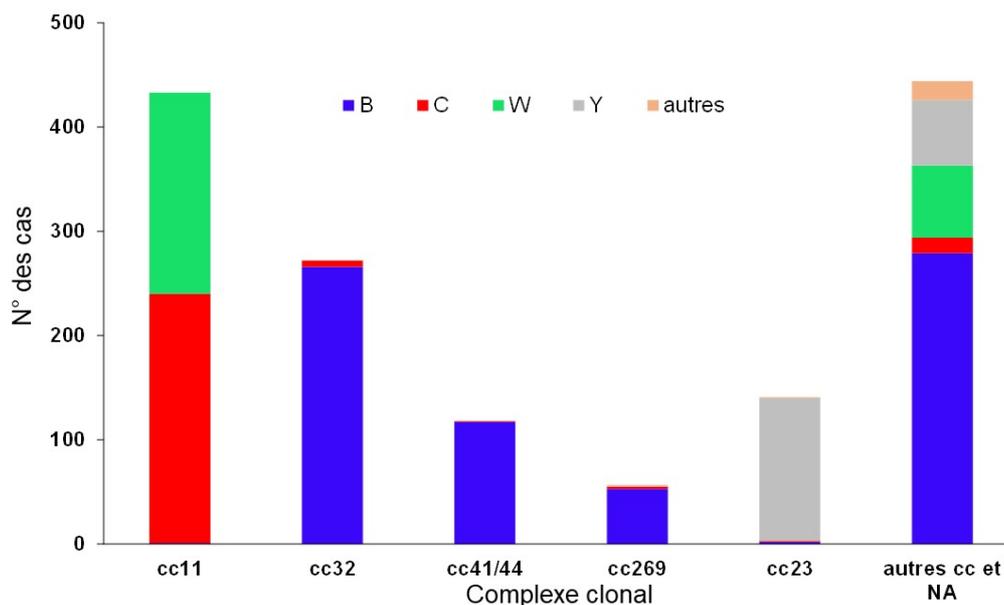


Figure 4 : Nombre des cas d'IIM (confirmés par culture et/ou PCR) en fonction du génotype et du groupe (les complexes clonaux hyperinvasives + le cc23) (Période 2017-2021 ; nombre des cas confirmés par culture et/ou par PCR reçus au CNR).

1.2. Surveillance de la résistance du méningocoque aux anti-infectieux : Sensibilité aux antibiotiques

Les profils de sensibilité des souches de *N. meningitidis*, isolées d'infections invasives, à la pénicilline G, aux céphalosporines de troisième génération, à la rifampicine et la ciprofloxacine qui sont actuellement les antibiotiques d'intérêt thérapeutique ou prophylactique, ainsi qu'au chloramphénicol (parfois le seul antibiotique disponible en Afrique), sont systématiquement déterminés (**Tableau 1**). Toutes les souches sont systématiquement éprouvées par E-test contre les antibiotiques d'intérêt thérapeutique (bêta-lactamines, chloramphénicol) et prophylactique (rifampicine et ciprofloxacine). Des analyses complémentaires par séquençage des gènes impliqués dans la résistance aux antibiotiques sont également réalisées (*penA*, *rpoB* et *gyrA*)

La standardisation des conditions techniques de réalisation de ces déterminations est primordiale car des discordances apparaissent parfois entre laboratoires selon le milieu de culture, la densité de l'inoculum bactérien et les conditions d'incubation. C'est dans le but d'établir et de valider un consensus sur la standardisation de ces paramètres qu'une étude multicentrique a été réalisée au sein de l'EMGM. Elle a conduit à retenir la méthode de détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par E-test, en ensemençant un

inoculum standardisé à 0,5 sur l'échelle de Mc Farland sur milieu de Mueller Hinton au sang de mouton (Vazquez *et al.* Antimicrob. Agents Chemother. 2003 ; 47 :3430-4).

Les déterminations des CMI de la pénicilline G montrent que la CMI de 0,125 mg/L, retenue comme valeur-seuil de sensibilité diminuée sur la base des altérations de séquence du gène *penA* codant la protéine de liaison PBP2, est atteinte ou dépassée par 46% des souches reçues au CNR pour la période 2017-2021. Cette proportion est en progression sur cette période 2017-2021 (36% en 2017 et 56% en 2021). Cette progression est essentiellement due à l'augmentation de la proportion des souches du groupe B ayant une sensibilité réduite à la pénicilline G (68% pour les souches du méningocoque B et 28% pour les souches du méningocoque C, 22% pour les souches du séro groupe Y et 28% pour les souches du séro groupe W). Les souches de sensibilité réduite à la pénicilline G étaient également de sensibilité réduite à l'amoxicilline.

La distribution des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la pénicilline G est présentée dans la **Figure 5** pour la période 2017-2021. L'étendue des valeurs des CMI est 0,012-0,75 mg/L comme pour les années précédentes. De plus, les valeurs de CMI₅₀ et CMI₉₀ pour l'ensemble des souches étaient de 0,064 et 0,190. La diminution de la sensibilité à la pénicilline G reste donc modeste selon les CMI et ne semble pas s'étendre. Des observations similaires sont également faites pour l'amoxicilline. Cela justifie l'indication de l'utilisation de la pénicilline G et de l'amoxicilline dans le traitement des infections invasives à méningocoque, bien que les céphalosporines de 3^e génération (céfotaxime et ceftriaxone) soient le plus souvent utilisées en première intention, selon les recommandations de la Société Française de Pathologie Infectieuse.

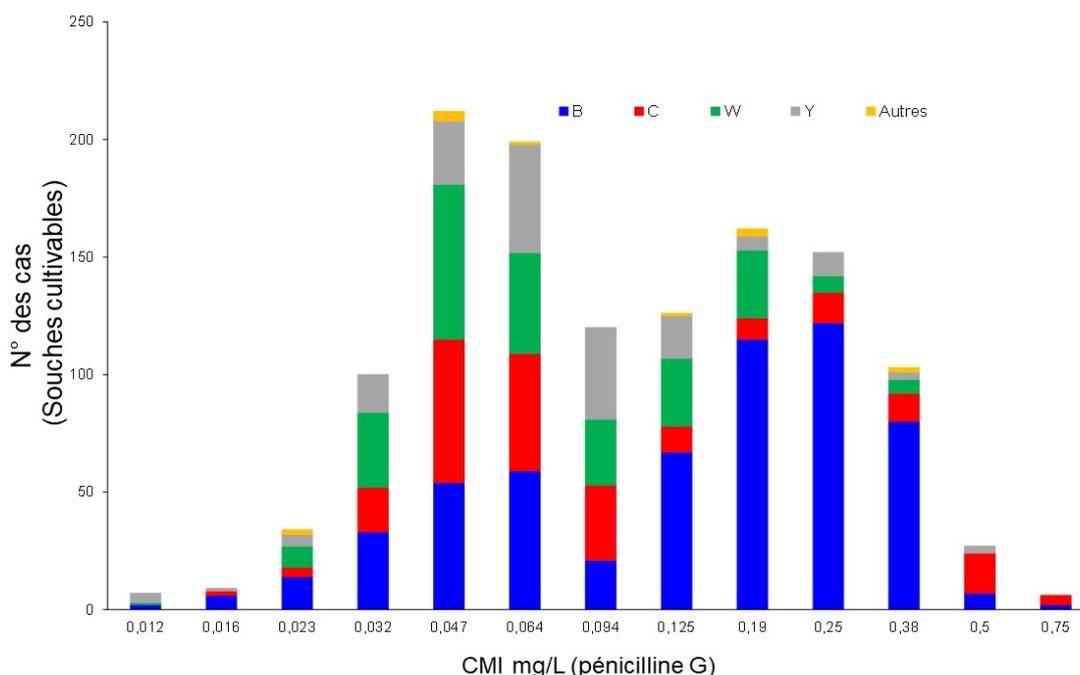


Figure 5 : Distribution des CMI de la pénicilline G parmi les souches invasives de *N. meningitidis*

Pour la période 2017-2021.

Toutes les souches étaient sensibles aux céphalosporines de troisième génération (céfotaxime et ceftriaxone). Les souches ayant une sensibilité réduite aux C3G et détectées depuis 2012-2013 et ayant l'allèle *penA327* sont toujours en circulation mais leur pourcentage est en baisse (2,6% sur toute la période mais aucune souche en 2020 et 2021). Des rares souches résistantes à la ciprofloxacine (n=4) et une seule souche résistante à la rifampicine ont été détectées entre 2017 et 2021. Ces résistances ont été confirmées par le séquençage des gènes *gyrA* et *rpoB*, respectivement.

Tableau 1. Profils d'antibio-sensibilité des souches d'infections invasives (cultivables) étudiées pour la période 2017-2021.

Antibiotique	Catégorie*	B	C	Y	W	Autres	Total
PénicillineG**	S	189	168	138	179	7	680
	I	393	66	40	71	6	577
	R	0	0	0	0	0	0
% des souches penI		68%	28%	22%	28%	46%	46%
Céfotaxime	S	582	234¥	178	250	13	1257
	R	0	0	0	0	0	0
Rifampicine	S	581	234	178	250	13	1256
	R	1	0	0	0	0	1
%R		<0,1%					<0,1%
Ciprofloxacine	S	582	233	177	249	13	1253
	R	1	1	1	1	0	4
%R		<0,1%	<0,1%	<0,1%	<0,1%		
Chloramphénicol	S	582	234	178	250	13	1257
	I	0	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0

*S= sensible, I= intermédiaire, R= résistant

**Pen^s, susceptible à la pénicilline G (CMI E-test® < 0,125 mg/L) ; Pen^I, CMI de pénicilline G ≥ 0,125 mg/L et Pen^R ; CMI>1mg/L.

¥ 33 souches isolées entre 2017 et 2019 et présentait une réduction de sensibilité aux C3G (NmC/cc11 souvent apparentées aux souches épidémiques détectées en 2013 les HSH)

1.3. Alerte

Les signaux d'alerte peuvent être faits par les ARS et/ou le CNRMHi. La situation est alors analysée/validée pour l'émission de l'alerte par le Département des maladies infectieuses (DMI) de SPF et le CNRMHi contribue par son expertise bactériologique à cette analyse. Il existe deux étapes pour ce système d'alerte :

1. Reconnaissance du signal par la plate-forme de veille et de gestion sanitaire de l'ARS

2. Actions à mettre en place par l'ARS devant ces situations

L'investigation de l'épisode est mise en œuvre par la Cellule de Veille, d'Alerte et de Gestion Sanitaire (CVAGS), en partenariat avec la Cire, et bénéficie d'un appui du niveau national (SPF et CNRMHi). Il est donc crucial que les échantillons soient acheminés au CNRMHi le plus rapidement possible (cf. annexe 2).

Plusieurs situations d'alerte ont été traitées pendant la période 2017-2021. Nous en mentionnons quelques situations majeures (nationales et/ou internationales) qui ont entraîné des prises de décisions sur le plan vaccinal et d'antibioprophylaxie :

- l'émergence des souches du groupe W d'un nouveau génotype (ST-9316) en Haut de France

- La suite de la propagation des souches responsables d'IIMW du complexe clonal ST-11 (dérivée de la lignée génétique *South America UK strain*)

- Les cas d'IIMB (B:P1.7-2,4:F5-9:cc162) liés aux cas groupés en Côtes d'Armor avec une campagne de vaccination par le Bexsero®. En plus du génotypage, le CNRMHi a aussi réalisé l'étude de la couverture des souches d'IIMB par le Bexsero®.

- En 2018, l'ARS Occitanie a reçu 3 notifications d'IIMC chez des personnes de 20 à 23 ans résidant et/ou étudiant dans l'agglomération de Montpellier, dont deux sont décédées. Ce signal survient dans un contexte d'augmentation de l'incidence des IIM C en Occitanie depuis 2017. Le CNR a réalisé le typage des trois souches, ce qui a permis de montrer que deux cas présentaient le même génotype « C :P1.5,2 :F3-3 :cc11 » alors que le troisième cas présentait un génotype distinct « C :P1.5-2,10-1 :F5-8 :cc167 ». Cette situation peut être mise en relation avec les niveaux insuffisants de couverture vaccinale chez les adolescents et les jeunes adultes. Le typage des souches par le CNR a permis d'écarter le lien entre les deux premiers cas et le troisième cas. Pour les deux premiers cas, les résultats indiquent qu'il pourrait s'agir d'une même souche. Ainsi une vigilance doit être maintenue vis-à-vis des IIMC parmi la population montpelliéraine.

- Depuis 2019, le CNRMHi suit l'émergence des souches du groupe B d'un nouveau séquence type au sein du complexe clonal CC32 (ST-7460) en Vendée (typage et couverture vaccinale). La caractérisation et la couverture vaccinale de ces souches a fait l'objet de plusieurs réunions avec les autorités sanitaires (locales et nationales).

- En 2020, le CNRMHi a expertisé des cas groupés d'infections invasives à méningocoque B en Gironde. Cette grappe de cas correspond à trois cas d'IIMB en Nouvelle

Aquitaine survenus en novembre 2020. Le typage du CNRMHi a identifié le génotype B : P1.7-2, 4 : F5-9 :cc162. La présence de l'antigène P1.4 indique que la souche est couverte par le vaccin 4CMenB (Bexsero). Ce génotype a été responsable des cas groupés en 2016-2017 en côte d'Armor et a conduit à une campagne de vaccination.

2. Activités de surveillance des infections invasive à *H. influenzae*

2.1. Caractéristiques des cas d'IIHi

Sur les 808 cas d'IIM sur la période 2017-2021, la distribution en sérotypes était : 45 cas d'Hia (5,6%), 129 cas d'Hib (16,0%), 3 cas d'Hic (<0,1%), 1 cas d'Hid (<0,1%) et 16 cas d'Hie (2,0%), 61 cas d'Hif (7,5%) et 553 cas non-typeables (68,4%). La moyenne d'âge était 37,5 ans et la médiane était 34,8 ans avec un ratio H/F de 1,0 (**Tableau 2**).

Tableau 2. Caractéristiques d'âge et de distribution en fonction du sexe des cas d'IIHi

	Hi	Hia	Hib	Hif	Hic/d/e	NT
Ratio H/F	1,0	1,2	1,5	0,8	6,3	0,9
Âge médian	34,76	1,320	1,355	56,42	39,09	50,92
Âge moyen	37,48	15,97	10,53	40,89	34,02	45,74

L'évolution de la distribution des sérotypes responsables d'infections invasives à *H. influenzae* pour cette période 2017-2021 est montrée également dans la **Figure 6**. Le nombre de souches Hi était en augmentation entre 2017 et 2019 puis a baissé significativement en 2020 pour augmenter à nouveau en 2021. La baisse observée en 2020 a eu lieu après le premier confinement et l'introduction des mesures de distanciation physique et sociale pour le contrôle de la pandémie de COVID-19 pour les souches Hi du sérotype f et les souches non-typeables. A l'opposé les souches des sérotypes a et b ont continué à augmenter en 2020 et 2021. Cette évolution différentielle des cas d'IIHi en fonction du sérotype est plus clairement observée lorsque les nombres des cas d'IIHi reçus au CNRMHi sont exprimés par les moyennes mobiles sur 3 mois (**Figure 7**). La diminution des cas d'IIHi a concerné essentiellement les adultes de 25 ans et plus reflétant la baisse des souches Hif et NT dans ces tranches d'âge. L'augmentation des cas d'IIHi étant essentiellement chez les <5 ans et était due aux souches Hib (**Figure 8**).

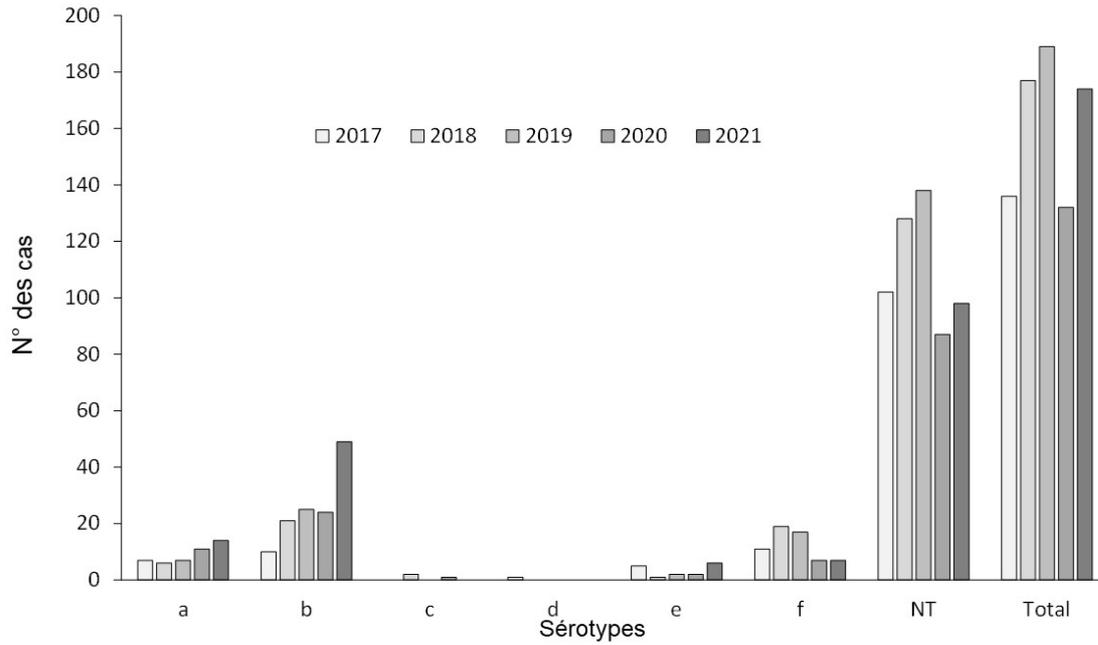


Figure 6. Évolution de la distribution des souches Hi en fonction des sérotypes responsable des cas d'IHHi en France pour la période 2017-2021 (nombre de cas confirmés par culture et/ou PCR).

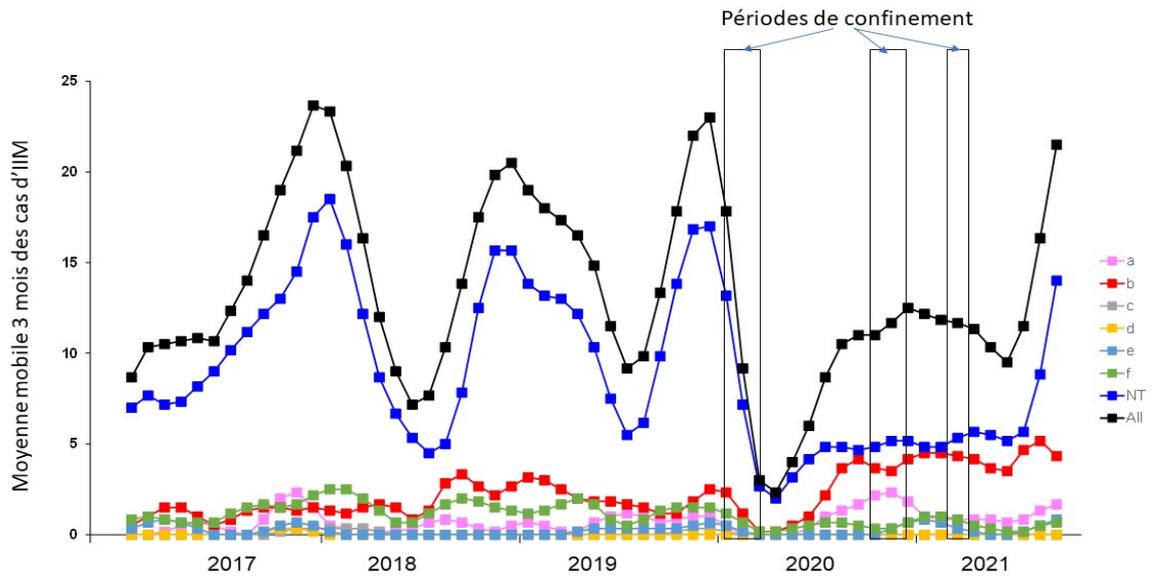


Figure 7. Évolution de la distribution des sérotypes des cas d'IHHi en France pour la période 2017-2021 (exprimée en moyenne mobile 3 mois).

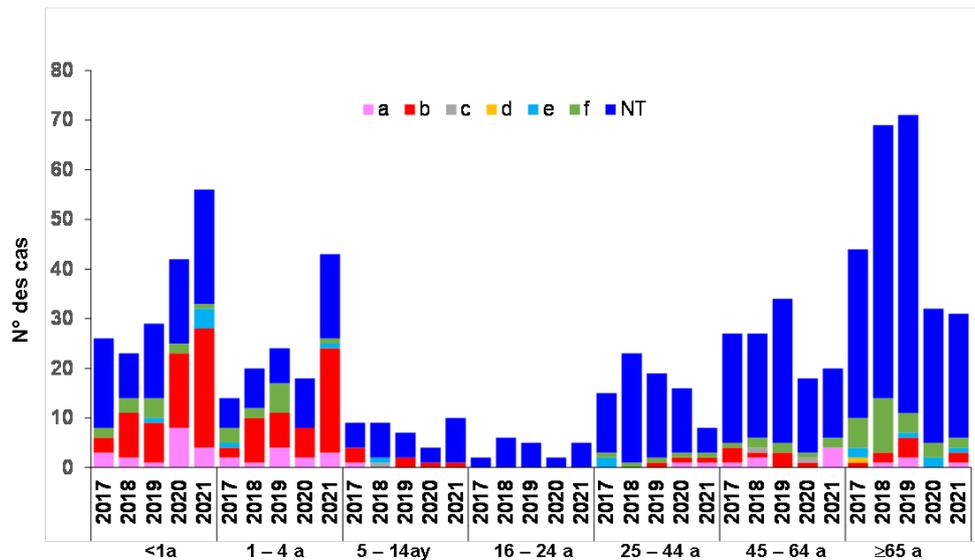


Figure 8. Évolution de la distribution en fonction de l'âge des souches Hi responsables d'infections invasives en France entre 2017 et 2021 (nombre des cas confirmés par culture et/ou par PCR)

Les données de génotypage par MLST ont été extraites des données du génome entier et les données en complexes clonaux sont obtenues pour 775 cas d'IIHi ce qui représente 96% de l'ensemble des cas d'IIHi reçus au CNRMHi pour la période 2017-2021.

La distribution en complexes clonaux pour la période 2017-2021 (cc) est présentée dans la **Figure 9**. Les souches ont été distribuées dans 55 cc et 68 souches n'appartenaient pas à un cc identifié. Ce résultat souligne la grande hétérogénéité des souches et cela est particulièrement observé pour les souches NT (**Figure 9** et **Figure 10**). A l'opposé les souches typables présentent une grande homogénéité. Des rares souches NT appartiennent aux mêmes complexes clonaux que des souches typeables comme les souches NT du cc ST-6.

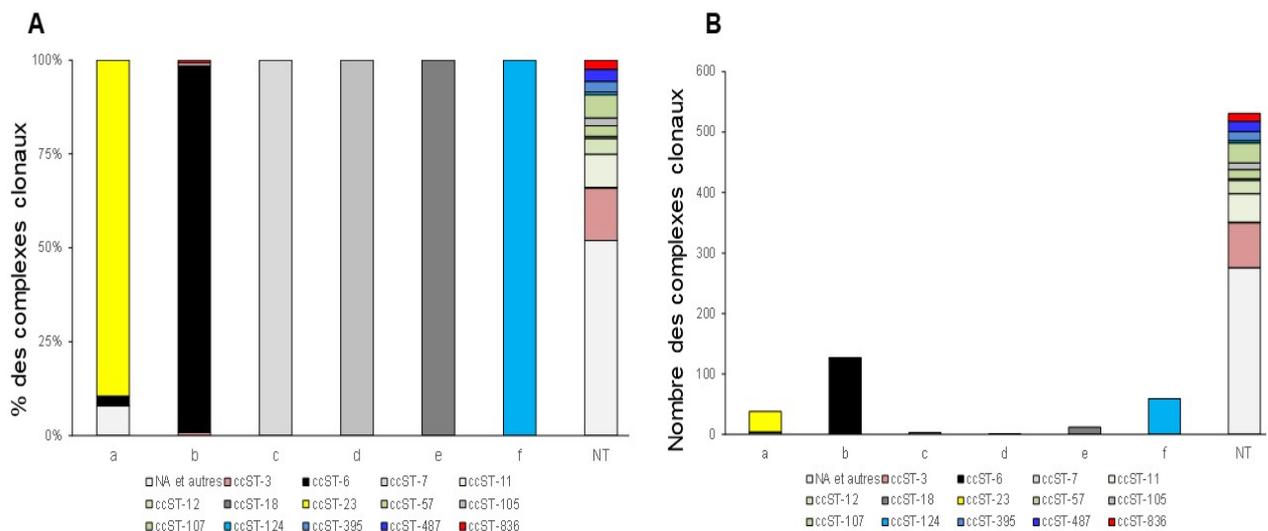


Figure 9 : Pourcentages (A) et Nombre (B) des cas d'IIHi en fonction du génotype et du sérotype pour la période 2017-2021.

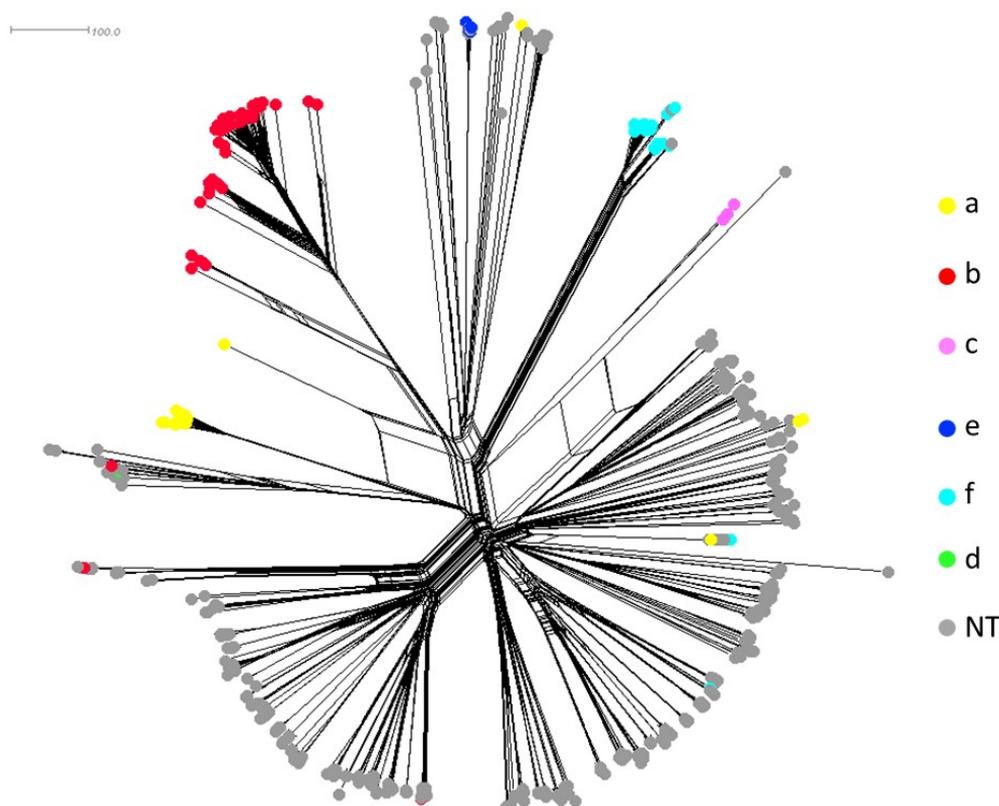


Figure 10. Distribution phylogénique des souches invasives d'*H. Influenzae*. Les sérotypes sont indiqués avec des couleurs distinctes pour chaque sérotype.

2.2. Surveillance de la résistance de *H. influenzae* aux anti-infectieux :

Sensibilité aux antibiotiques

Un antibiogramme standardisé est réalisé pour l'ensemble des souches reçues au CNR (invasives et non-invasives) sur milieu MHF selon les recommandations de l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Les valeurs critiques sont également celles recommandées par l'EUCAST.

Les antibiotiques testés sont : l'ampicilline, l'amoxicilline, l'amoxicilline/acide clavulanique, cefotaxime, ceftriaxone (pour les souches cefotaxime R) et la recherche de la bêta-lactamase, la ciprofloxacine et la rifampicine.

Une bêta-lactamase a été détectée respectivement dans 123 souches (16%) et 181 (17%) de l'ensemble des souches invasives et non-invasives caractérisées au CNR par antibiogramme. Ces pourcentages sont restés relativement stables pendant la période 2017-2021 autour de 20%. Cette bêta-lactamase, le plus souvent de type ROB-1, confère la résistance à l'ampicilline et à l'amoxicilline et est inhibée par l'acide clavulanique.

Un autre mécanisme de résistance aux bêta-lactamines est l'altération du gène *ftsI* codant pour la PLP3. Le CNR a documenté les mutations dans ce gène qui confèrent la résistance aux bêta-lactamines y compris les céphalosporines de troisième génération. Le **Tableau 3** est une synthèse des phénotypes observés parmi les souches caractérisées au

CNRMHi pour la période 2017-2021.

Les souches résistantes à l'amoxicilline et à l'ampicilline (tout mécanisme confondu) représentent toujours une proportion importante même au sein des souches invasives (23% versus 60% pour les souches-non invasive). Cela est également le cas si l'analyse concerne les souches isolées chez les enfants de <16 ans. Cette proportion est significativement plus importante parmi les souches non invasives. Ces résultats soulignent la nécessité de maintenir une surveillance active de ces souches car cela pourrait remettre en question le traitement par amoxicilline en première intention des infections de la sphère ORL chez l'enfant. Une stratégie alternative pour le traitement de ces infections non-invasives serait de proposer le triméthoprime/sulfaméthoxazole (TMP/SMX). Le CNR a testé l'ensemble des souches reçues entre 2017 et 2021 pour le TMP/SMX. En effet, cette résistance est moins fréquente parmi les souches invasives en comparaison aux souches non-invasives (17% versus 31% respectivement). Ce sont donc des proportions moins importantes que celles de la résistance à l'amoxicilline ou à l'ampicilline (**Tableau 3**). Les données obtenues indiquent que la proportion des souches sensibles au TMP/SMX parmi les souches résistantes à l'amoxicilline était de 71% parmi les souches invasives et de 65% parmi les souches non-invasives (**Figure 11**).

Ces résultats soulignent également la nécessité de séparer les souches invasives des souches non invasives lorsque les données de la résistance (mais aussi de sérotypes et des génotypes) sont discutées.

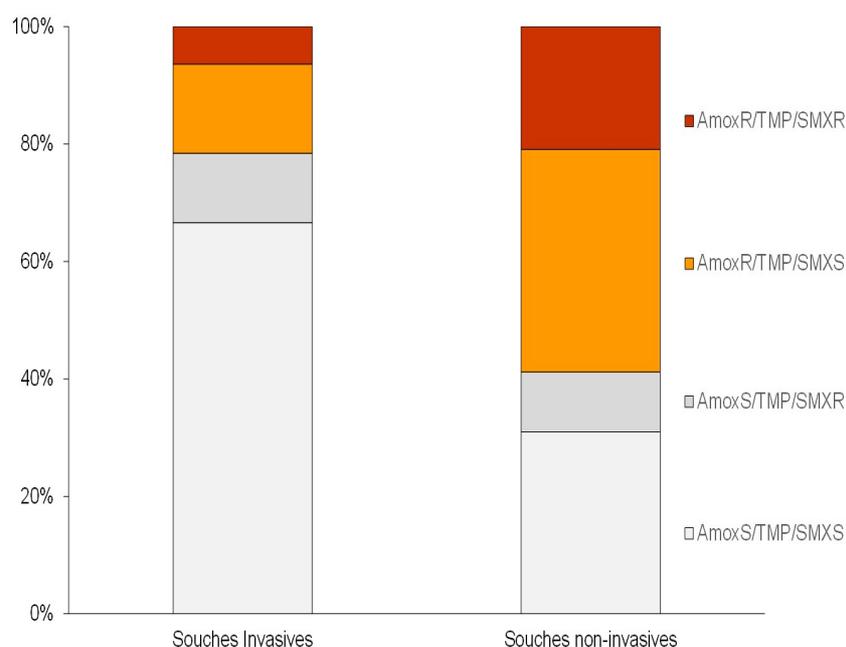


Figure 11. Distribution (en pourcentage) des souches invasives et non-invasives en fonction de leur susceptibilité/résistance à l'amoxicilline et au TMP/SMX

Tableau 3. Profils d'antibio-sensibilité des souches d'infections invasives étudiées 2017-2021

maladie/phénotype	a	b	c	d	e	f	NT	Total	% de résistance
Ampicilline									
Souches invasives sensibles S	43	106	2	1	9	58	385	604	
Souches invasives résistantes R	1	21	1	0	3	2	150	178	
Total	44	127	3	1	12	60	535	782	23%
Souches non-invasives sensibles S	0	1	3	0	2	2	272	280	
Souches non-invasives résistantes R	0	0	1	0	1	0	420	422	
Total	0	1	4	0	3	2	692	702	60%
Amoxicilline									
Souches invasives sensibles S	43	106	2	1	9	58	386	605	
Souches invasives résistantes R	1	21	1	0	3	2	149	177	
Total	44	127	3	1	12	60	535	782	23%
Souches non-invasives sensibles S	0	1	3	0	2	2	272	280	
Souches non-invasives résistantes R	0	0	1	0	1	0	420	422	
Total	0	1	4	0	3	2	692	702	60%
Amoxicilline/acide clavulanique									
Souches invasives sensibles S	44	125	3	1	12	60	459	704	
Souches invasives résistantes R	0	2	0	0	0	0	76	78	
Total	44	127	3	1	12	60	535	782	10%
Souches non-invasives sensibles S	0	1	3	0	3	2	375	384	
Souches non-invasives résistantes R	0	0	1	0	0	0	317	318	
Total	0	1	4	0	3	2	692	702	45%
Beta-lactamase									
Souches invasives Beta-lactamase+	1	20	1	0	3	2	96	123	16%
Souches Non-Invasive Beta-lactamase+	0	0	0	0	1	0	180	181	17%
Cefotaxime									
Souches invasives sensibles S	46	126	3	1	12	61	516		
Souches invasives résistantes R	0	2	0	0	0	0	23	25	
Total	46	128	3	1	12	61	539	790	3%
Souches non-invasives sensibles S	0	1	4	0	2	2	490	499	
Souches non-invasives résistantes R	0	0	0	0	1	0	210	211	
Total	0	1	4	0	3	2	700	710	30%
Rifampicine									
Souches invasives sensibles S	46	128	3	1	12	61	539	790	
Souches invasive résistantes R	0	0	0	0	0	0	0	0	
Total	46	128	3	1	12	61	539	790	
Souches non-invasives sensibles S	0	1	4	0	3	2	698	708	
Souches non-invasives résistantes R	0	0	0	0	0	0	2	2	
Total	0	1	4	0	3	2	700	710	0,3%
Ciprofloxacine									
Souches invasives sensibles S	45	127	3	1	12	61	534	783	
Souches invasives résistantes R	1	1	0	0	0	0	5	7	
Total	46	128	3	1	12	61	539	790	
Souches non-invasives sensibles S	0	1	3	0	3	2	672	681	
Souches non-invasives résistantes R	0	0	1	0	0	0	23	24	
Total	0	1	4	0	3	2	695	705	3%
Triméthoprim et le Sulfaméthoxazole,									
Souches invasives sensibles S	45	114	3	1	12	56	421	652	
Souches invasives résistantes R	1	13	0	0	0	3	114	131	

Ampicilline R>1mg/L ; Amoxicilline et Amoxicilline/acide clavulanique R> 2mg/L ;
Cefotaxime R>0,125 mg/L ; Rifampicine R>1mg/L, Ciprofloxacine R>0,06mg/L et TMP/SMX R>1 mg/ml

2.3. Alerte

Le CNRMHi a constaté l'augmentation d'IIHib en France et en particulier chez les <5 ans avec une majorité des enfants vaccinés contre les Hib.

Des analyses ont été réalisées en collaboration avec SpF et le réseau ACTIV (Association Clinique et Thérapeutique Infantile du Val de Marne) qui couvre les services de pédiatrie en France métropolitaine.

Ces résultats devraient permettre d'alimenter une réflexion sur une possible révision du schéma vaccinal des nourrissons avec les vaccins hexavalents (primovaccination et rappel) en vue d'apporter une protection durable et de prévenir la résurgence d'IIHib.