

## Biotypes et sensibilité aux antibiotiques des souches de *Streptococcus pyogenes* isolées chez des enfants à Tunis

### Biotypes and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pyogenes* strains isolated in children in Tunis

S. Ksia · H. Smaoui · D. Hariga · A. Kechrid

Reçu le 12 décembre 2009 ; accepté le 26 janvier 2010  
© Société de pathologie exotique et Springer-Verlag France 2010

**Résumé** Le but de cette étude est de déterminer les caractéristiques épidémiologiques des souches de *Streptococcus pyogenes* ou streptocoque bêta-hémolytique du groupe A de Lancefield (SGA) isolées chez des enfants à Tunis, c'est-à-dire la détermination des biotypes ainsi que l'activité de différents antibiotiques (ATB) vis-à-vis de ces souches, et de préciser le support génétique de la résistance aux macrolides. L'étude a concerné 193 souches non répétitives de SGA isolées chez des enfants à l'hôpital d'enfants de Tunis entre 2000 et 2008. Parmi ces souches, 63 provenaient de prélèvements de gorge (32,7 %), 89 de prélèvements de pus (46,2 %), 30 de liquides de ponctions (15,5 %), quatre d'hémocultures (2 %) et sept de prélèvements divers (3,6 %). La détermination des biotypes a été effectuée par l'Api système Rapid ID32 STREP (bioMérieux). L'étude de la sensibilité aux ATB a été faite par la méthode de l'antibiogramme et par la détermination des CMI par la technique E-test. Les gènes de résistance aux macrolides ont été recherchés par la réaction de polymérase en chaîne PCR multiplex. L'étude des biotypes a montré la prédominance du biotype 1 avec 43,5 % (84 souches), suivi du biotype 3 avec 27 % (52 souches). Aucune résistance vis-à-vis des bêta-lactamines n'a été observée. En revanche, notre étude met en évidence un taux de résistance aux macrolides de 3,6 % (sept souches) et de 2,6 % (six souches) respectivement pour l'érythromycine et pour la clindamycine. Parmi les sept souches résistantes à l'érythromycine, quatre hébergeaient le gène *ermB*, un le gène *mefA* et deux les gènes *ermB* et *mefA* simultanément. En conclusion, les biotypes les plus fréquents dans notre collection sont le 1 et le 3. Toutes les souches sont sensibles aux bêta-lactamines. La résistance aux macrolides a concerné

3,6 % des souches. L'étude des gènes de résistance aux macrolides montre la prédominance du gène *ermB*.

**Mots clés** *Streptococcus pyogenes* · Biotypes · Résistance aux antibiotiques · *ermB* · *mefA* · *ermA* · Pédiatrie · Hôpital · Tunis · Tunisie · Afrique du Nord

**Abstract** The purpose of the present study is to determine the epidemiological features of *Streptococcus pyogenes* or group A streptococci (GAS) strains isolated in children in Tunis, that is to say biotypes and antimicrobial susceptibility determination and to specify genes involved in macrolide resistance. A total of 193 non-repetitive *Streptococcus pyogenes* strains isolated in the Children's Hospital of Tunis between 2000 and 2008 were tested. Among these strains, 63 were obtained from throat samples (32.7%), 89 from pus samples (46.2%), 30 from punctures samples (15.5%), 4 from blood-culture samples (2%) and 7 from other sources (3.6%). Determination of biotypes was performed with Rapid ID32 STREP system (bioMérieux). Antimicrobial susceptibility was performed on Mueller-Hinton agar (Bio-Rad) supplemented with 5% of defibrinated horse blood using both antibiogram method and MIC determination by E-test. Multiplex polymerase chain reaction (PCR) investigated macrolide-resistant genes. Biotypes 1 and 3 were predominant with 43.5% (84 strains) and 27% (52 strains), respectively. Susceptibility testing showed that all GAS isolates tested were susceptible to beta-lactams. Resistance to macrolides concerned 3.6% (7 strains) and 2.6% (6 strains), respectively, for erythromycin and clindamycin. From the 7 strains resistant to erythromycin, 4 harboured *ermB* gene, 1 harboured *mefA* gene and 2 harboured *ermB* and *mefA* genes. In conclusion, biotypes 1 and 3 were predominant. All strains were susceptible to beta-lactams. Macrolide resistance concerned 3.6% of GAS strains; it was frequently encoded by *ermB* gene.

S. Ksia · H. Smaoui (✉) · D. Hariga · A. Kechrid  
Laboratoire de microbiologie, hôpital d'enfants de Tunis,  
Bab-Saadoun, 1007 Tunis, Tunisie  
e-mail : hanen.smaoui@rns.tn

**Keywords** *Streptococcus pyogenes* · Biotypes · Susceptibility to antibiotics · *ermB* · *mefA* · *ermA* · Paediatrics · Hospital · Tunis · Tunisia · Northern Africa

## Introduction

*Streptococcus pyogenes* ou streptocoque bêta-hémolytique du groupe A de Lancefield (SGA) est une bactérie responsable d'infections suppuratives, notamment d'angines, survenant aussi bien chez l'enfant que chez l'adulte, mais aussi d'infections beaucoup plus graves, telles que les septicémies et les dermohypodermites nécrosantes, associées ou non à un syndrome de choc toxique streptococcique. Par ailleurs, cette bactérie est responsable d'infections non suppuratives, notamment le rhumatisme articulaire aigu [9]. Malgré une bonne couverture sanitaire de notre pays, cette complication demeure encore fréquente et elle est estimée à deux pour 100 000 habitants [4]. Le traitement des infections suppuratives est souvent empirique. Cependant, pour choisir le traitement ATB le plus adéquat, il est impératif de connaître la sensibilité aux différents ATB des bactéries incriminées.

Le traitement ATB des infections à SGA repose sur l'administration d'une bêta-lactamine, la molécule de choix étant la pénicilline G. Les macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS) représentent la meilleure alternative thérapeutique en cas d'allergie aux bêta-lactamines. Si aucune résistance aux bêta-lactamines n'a été observée jusqu'à présent, il n'en est pas de même pour les macrolides. En effet, la résistance aux macrolides a été rapportée dans plusieurs pays ces dernières années [6,16,19,26,33]. Chez le SGA, trois phénotypes de résistance à l'érythromycine sont connus : macrolide–lincosamide–streptogramine B (MLS<sub>B</sub>) constitutif, MLS<sub>B</sub> inductible codé par les gènes *erm* (*ermA* ou *ermB* ; ces gènes codent pour la méthylation de l'ARN ribosomal 23S) et le phénotype M codé par le gène *mefA* responsable de l'efflux de l'ATB à l'extérieur de la cellule bactérienne [33].

Le diagnostic des infections à streptocoque du groupe A se base essentiellement sur l'isolement et l'identification du germe. En effet, de nombreuses réactions biochimiques décrites, telles que la fermentation de divers sucres, permettent de différencier les souches et de les classer en biotypes. Cette technique est facilement réalisable grâce à des systèmes commercialisés et antérieurement utilisés par différentes équipes pour le typage des souches de SGA [7,20]. L'étude des biotypes de souches de SGA a été rapportée dans une seule publication tunisienne dans la région de Sousse qui a concerné des souches isolées de prélèvements de gorge [29].

Le but de notre étude est de déterminer les caractéristiques épidémiologiques des souches de SGA isolées chez des enfants à Tunis, à savoir la détermination des biotypes ainsi

que l'activité de différents ATB vis-à-vis de ces souches et de préciser le support génétique de la résistance aux macrolides.

## Matériel et méthode

### Souches bactériennes

Notre étude a porté sur 193 souches non répétitives de SGA isolées au laboratoire de microbiologie de l'hôpital d'enfants de Tunis pendant la période de 2000 à 2008. Parmi ces souches, 63 provenaient de prélèvements de gorge (32,7 %), 89 de prélèvements de pus (46,2 %), 30 de liquides de ponctions (15,5 %), quatre d'hémocultures (2 %) et sept de prélèvements divers (3,6 %).

### Identification bactérienne

Les souches de SGA ont été identifiées par l'aspect morphologique des colonies, la bêta-hémolyse, la coloration de Gram, le test de catalase, la sensibilité à la bacitracine et par une réaction d'agglutination spécifique du SGA en utilisant le coffret Slidex Strepto Kit (bioMérieux). Les souches identifiées ont été conservées, congelées à  $-80^{\circ}\text{C}$  dans un tube eppendorf contenant 1,5 ml de bouillon cœur/cerveille additionné de 15 % de glycérol. La remise en culture a été faite sur gélose colombiana additionnée de 5 % de sang de cheval. Les boîtes ont été incubées à  $37^{\circ}\text{C}$  sous une atmosphère enrichie de 5 % de  $\text{CO}_2$  pendant 18 à 24 heures.

### Détermination des biotypes

L'étude des biotypes a été effectuée par le système d'identification Rapid ID32 STREP (bioMérieux). C'est un système formé de 32 microcupules contenant des substrats déshydratés, permettant la détermination des activités biochimiques des souches. L'inoculum bactérien utilisé et les différentes étapes de l'étude des biotypes ont été conformes à ceux décrits précédemment [7,13].

### Sensibilité aux ATB

La sensibilité aux ATB a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé de type Mueller-Hinton additionné de 5 % de sang de cheval selon les normes du Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie [36]. Les ATB testés étaient : pénicilline G, amoxicilline, érythromycine, clindamycine, pristinamycine, tétracycline, rifampicine, kanamycine, gentamicine, streptomycine, chloramphénicol, vancomycine, teicoplanine et lévofloxacine. Les disques kanamycine, gentamicine et streptomycine sont hautement chargés. La recherche du phénotype MLS<sub>B</sub>i a été réalisée sur l'antibiogramme en recherchant une image d'amputation de la

zone d'inhibition entre le disque de clindamycine et celui de l'érythromycine. Les CMI de la pénicilline G, amoxicilline, érythromycine, clindamycine et rifampicine ont été réalisées pour toutes les souches en utilisant la méthode E-test (AB-BIODISK) selon les recommandations du CLSI [10].

Le contrôle de qualité interne a été réalisé par les souches de références *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27553, *E. Coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### Mise en évidence des gènes de résistance aux macrolides

La recherche des gènes de résistance aux macrolides a été réalisée pour toutes les souches résistantes à l'érythromycine. Les gènes *ermA*, *ermB* et *mefA* ont été recherchés par PCR multiplex selon les procédures préalablement décrites [26]. Les amorces utilisées pour la recherche du gène *mefA* étaient 5'- AGT ATC ATT AAT CAC TAG TGC-3' et 5'- TTC TTC TGG TAC TAA AAG TGG-3', celles du gène *ermB* étaient 5'- GAA AAG GTA CTC AAC CAA ATA-3' et 5'- AGT AAC GGT ACT TAA ATT GTT TAC-3' et celles du gène *ermA* étaient 5'- AGA AGG TTA TAA TGA AAC AGA-3' et 5'- GGC ATG ACA TAA ACC TTC AT-3'. Les souches de *S. pneumoniae* P6, P8 et P9 et la souche *S. aureus* S7 hébergeant les gènes *ermB*, *mefA*, *mefA* + *ermB* et *ermA* respectivement ont été utilisées comme témoins positifs des réactions de PCR pour la recherche des gènes de résistance aux macrolides.

### Test statistique

Le test du Chi<sup>2</sup> de Pearson pour comparer les répartitions d'une variable qualitative entre des groupes différents a été utilisé pour déterminer si l'association entre biotype et type d'infection est statistiquement significative.

### Résultats

Le biotype a été déterminé par la combinaison des résultats de cinq tests biochimiques différents déterminés sur galerie rapid ID32 strep (bioMérieux) [7]. Dans notre étude, le biotype 1 était prédominant avec 43,5 %, suivi du biotype 3 avec 27 %, du biotype 5 avec 15,5 % et du biotype 2 avec 14 %. Les biotypes 1 et 2 étaient prédominants dans les prélèvements de gorge par rapport aux autres prélèvements, les biotypes 3 et 5 étaient prédominants dans les prélèvements de pus par rapport aux autres prélèvements, avec une différence statistiquement significative ( $p = 7 \cdot 10^{-6}$  et 0,01 respectivement). Le biotype 3 est prédominant dans les prélèvements de ponctions avec une différence statistiquement significative ( $p = 0,03$ ) (Tableau 1).

Aucune résistance aux bêta-lactamines n'a été observée. En effet, toutes les souches de SGA étaient sensibles à la pénicilline G et à l'amoxicilline (Tableau 2).

**Tableau 1** Distribution des biotypes de 193 souches de SGA selon le type de prélèvement / *Distribution of the biotypes of the 193 GAS strains according to the sampling technique*

|  | Pus | Gorge | Ponctions | Hémocultures | Divers |
|--|-----|-------|-----------|--------------|--------|
| Biotype 1                              | 27  | 37    | 7         | 2            | 4      |
| Biotype 2                              | 10  | 14    | 4         | 0            | 0      |
| Biotype 3                              | 36  | 9     | 15        | 2            | 1      |
| Biotype 5                              | 16  | 3     | 4         | 0            | 2      |
| Total                                  | 89  | 63    | 30        | 4            | 7      |
| Divers : prélèvement nasal et trachéal |     |       |           |              |        |

**Tableau 2** Distribution des CMI<sub>50</sub> et CMI<sub>90</sub> en mg/l des différents antibiotiques / *Distribution of the MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> in mg/l of various antibiotics*

| Antibiotiques | CMI <sub>50</sub> (mg/l) | CMI <sub>90</sub> (mg/l) | Intervalles CMI (mg/l) |
|---------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| Pénicilline G | 0,008                    | 0,012                    | 0,004–0,023            |
| Amoxicilline  | 0,016                    | 0,023                    | < 0,016–0,047          |
| Érythromycine | 0,047                    | 0,094                    | < 0,016–> 256          |
| Clindamycine  | 0,064                    | 0,125                    | < 0,016–> 256          |
| Rifampicine   | 0,023                    | 0,047                    | < 0,016–0,094          |

CMI: Concentration minimale inhibitrice

Concernant les MLS, la résistance à l'érythromycine et à la clindamycine était de 3,6 % ( $n = 7$  souches) et 2,6 % ( $n = 6$  souches) respectivement. Toutes les souches étaient sensibles à la pristinamycine. Pour les phénotypes de résistance aux macrolides, le phénotype MLS<sub>BC</sub> était prédominant et a été retrouvé chez six souches, par contre le phénotype M a été retrouvé chez une seule souche, alors que le phénotype MLS<sub>B</sub>i était absent. Les CMI de l'érythromycine et de la clindamycine des souches possédant le phénotype MLS<sub>BC</sub> étaient supérieures à 256 mg/l, par contre celles de la souche possédant le phénotype M étaient de 12 mg/l et 0,19 mg/l respectivement. Les résultats des CMI<sub>50</sub> et CMI<sub>90</sub> des différents ATB testés sont représentés dans le Tableau 2.

Le gène *ermB* conférant une résistance croisée à tous les macrolides et apparentés a été retrouvé seul chez quatre souches et le gène *mefA* a été retrouvé seul chez une seule souche. Deux souches résistantes à l'érythromycine hébergeaient simultanément les deux gènes *ermB* et *mefA*. Dans notre étude, aucune souche ne possédait le gène *ermA* (Fig. 1).

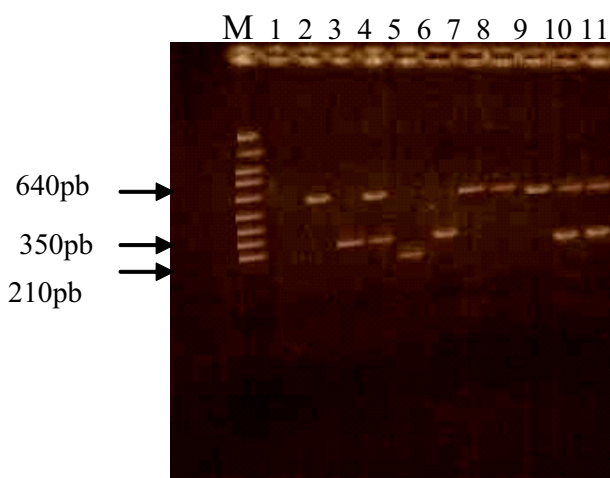
Le taux de résistance à la tétracycline était de 45 %. Concernant les aminosides, aucune résistance haut niveau à la gentamicine n'a été notée. La résistance à la streptomycine et à la kanamycine a concerné une seule souche. Cette même souche était résistante à la bacitracine. L'identification de cette souche était confirmée par le caractère bêtahémolytique des colonies, l'absence de catalase, la présence du pyrrolidonyl arylamidase ainsi que la présence de l'antigène spécifique du groupe A. Toutes les souches de SGA étaient

sensibles à la lévofloxacine, à la rifampicine et aux glycopeptides.

## Discussion

Dans notre étude, les biotypes 1, 3 et 5 sont les plus fréquents et ils représentent 43,5 % (84/193), 27 % (52/193) et 15,5 % (30/193) respectivement. Cela est également retrouvé dans d'autres études faites en France [7,27,28]. Par ailleurs, il existe une corrélation entre les biotypes et le type de prélèvement. En effet, dans notre étude, les biotypes 1 et 2 sont prédominants dans les prélèvements de gorge, le biotype 5 dans les prélèvements de pus et le biotype 3 dans les prélèvements de pus et de ponctions. Dans une étude faite en Chine [20], le biotype 10 est prédominant dans les prélèvements de gorge et les biotypes 3 et 4 sont prédominants chez les souches de portage. Selon une étude faite en France [22], le biotype 1 est prédominant dans les prélèvements invasifs, alors que les biotypes 3 et 2 dans les prélèvements non invasifs.

L'étude de la sensibilité aux ATB montre que toutes les souches de SGA sont sensibles à la pénicilline G et à l'amoxicilline. Les CMI varient de 0,004 à 0,023 mg/l pour la pénicilline G et de 0,016 à 0,094 mg/l pour l'amoxicilline, ce qui est en accord avec des résultats obtenus par d'autres auteurs [3,34]. La résistance à la pénicilline G n'est jamais rapportée chez SGA jusqu'à présent de par le monde [33]. Ainsi, la pénicilline G reste le traitement de choix des infections à SGA [4,32]. Dans notre étude, sept souches (3,6 %) sont résistantes à l'érythromycine dont six (2,6 %) sont aussi résistantes à la clindamycine. En Allemagne, toutes les souches résistantes à l'érythromycine sont aussi résistantes à la clindamycine [34]. Une augmentation importante de la résistance à l'érythromycine chez SGA a été rapportée ces dernières années dans différents pays [2]. Le taux de résistance à l'érythromycine est de 2,7 % en Norvège [21], 9,6 % aux États-Unis [17], 14,5 % en France [24], 24 % en Grèce [18] et 35,8 % en Italie [30]. Dans une étude faite en Espagne [2], une association significative a été retrouvée entre la consommation des macrolides et la résistance à l'érythromycine chez SGA. En effet, la consommation totale des macrolides, mais non la consommation d'un groupe spécifique des macrolides, entraîne une augmentation significative de la résistance. Dans notre étude, le taux de la résistance à la clindamycine est de 2,6 %. Ce taux est de 1,1 % en Allemagne [34], 3,2 % en Espagne [26] et 12,6 % en France [24]. Dans notre étude, le phénotype MLS<sub>BC</sub> est le phénotype prédominant chez les souches résistantes à l'érythromycine (6/7 des souches), alors que le phénotype MLS<sub>B</sub>i est absent. Par contre, le phénotype M est présent chez une seule souche. La fréquence du phénotype MLS<sub>BC</sub> est variable selon les études : 8 % en Allemagne [34] et 8,3 %



**Figure 1.** Résultats de l'amplification par PCR des gènes de résistance aux MLS. M: Marqueur de poids moléculaire, I: Témoin négatif, 2: Témoin (+) du gène *ermB* (640pb), 3: Témoin (+) du gène *mefA* (350pb), 4: Témoin (+) des gènes *ermB* et *mefA* (640 pb; 350pb), 5: Témoin (+) du gène *ermA* (210pb), 6 à 11: les 6 souches résistantes à l'érythromycine.



en Turquie [1]. Cela est en contradiction avec les résultats obtenus à Hong Kong, en Italie et en Belgique où la majorité des souches de SGA résistantes à l'érythromycine expriment le phénotype M [12,15,19].

Dans notre étude, la souche exprimant le phénotype M héberge le gène *mefA* responsable de l'efflux. Parmi les six souches exprimant le phénotype MLS<sub>BC</sub>, quatre hébergent le gène *ermB* seul (2 %) et deux hébergent le gène *ermB* en association avec le gène *mefA* (1 %). Dans ce dernier cas, le phénotype MLS<sub>B</sub> masque le phénotype M. La prédominance du gène *ermB* chez les souches de SGA résistantes aux MLS est également retrouvée en France [5] et à Hong Kong [19] par contre, le gène *mefA* est prédominant dans d'autres pays comme la Finlande, l'Espagne, l'Italie, les États-Unis et le Canada [5]. L'association de ces deux gènes chez SGA est peu fréquente en France, de 0 à 2,8 % [8], et en Italie où elle est de 3,17 % [14]. Par contre, elle est fréquente en Afrique du Sud où elle représente près d'un tiers des souches de SGA résistantes à l'érythromycine [8]. Le gène *ermA* est absent dans notre collection, il est présent en Allemagne avec 38 % [31] et en France avec 4,2 % [5].

Les souches exprimant le phénotype MLS<sub>B</sub> ont des CMI de l'érythromycine et de la clindamycine plus élevées que les souches exprimant le phénotype M [1,11]. En effet, dans notre étude, les CMI de ces ATB sont multipliées par plus de 20 fois chez les souches exprimant le phénotype MLS<sub>BC</sub> comparativement à ceux exprimant le phénotype M.

Une seule souche de SGA est multirésistante aux ATB : il s'agit de la souche résistante à la bacitracine. Cette souche est simultanément résistante à l'érythromycine et à la clindamycine, et présente une résistance de haut niveau à la streptomycine et à la kanamycine. L'association de ces résistances est également retrouvée en Belgique et en France [23,25]. En revanche, la sensibilité à la bacitracine est restée pendant longtemps un des critères d'identification des souches de SGA. La résistance à cet ATB est de description récente et elle reste très rare. Elle résulte de la production excessive de l'enzyme undecaprenole kinase codée par le gène *bacA* [20].

Toutes nos souches de SGA sont sensibles à la lévofloxacine, la rifampicine, la teicoplanine et la vancomycine. Cela est également retrouvé partout dans le monde [26,34]. Le taux de résistance à la tétracycline est de 45 % (87/193), il est de 20 à 25 % en France [35] et 65,3 % à Hong Kong [19].

## Conclusion

L'étude des caractéristiques biochimiques par galerie rapid ID32 des 193 souches de SGA a montré que le biotype 1 est le biotype prédominant, suivi du biotype 3 et du biotype 5. L'étude de la sensibilité aux ATB a confirmé que SGA demeure sensible à toutes les bêta-lactamines. Le taux de

résistance à l'érythromycine est de 3,6 % et le phénotype de résistance prédominant parmi ces souches est le MLS<sub>BC</sub> (6/7 souches). Ces souches hébergent, soit le gène *ermB* seul (4/6), soit les gènes *ermB* et *mefA* simultanément (2/6). Le phénotype M est exprimé par une seule souche possédant le gène *mefA*.

**Remerciements** Tous nos remerciements s'adressent au Pr Anne Bouvet de l'Université Paris Descartes qui a accueilli deux des auteurs de cet article au Centre National de Référence des Streptocoques, où une partie des typages a été effectuée. Nous remercions aussi le Pr R. Leclercq qui nous a donné les souches P6, P8, P9 et S7 utilisées comme témoins positifs des réactions de PCR.

**Conflit d'intérêt** : aucun.

## Références

1. Acikgov ZC, Gocer S, Tuncer S (2003) Macrolide resistance determinants of group A Streptococci in Ankara, Turkey. *J Antimicrob Chemother* 52: 110–2
2. Alós JI, Aracil B, Oteo J, Gómez-Garcés JL (2003) Significant increase in the prevalence of erythromycin-resistant, clindamycin- and miocamycin-susceptible (M phenotype) *Streptococcus pyogenes* in Spain. *J Antimicrob Chemother* 51: 333–337
3. Baquero F, García-Rodríguez JA, de Lomas JG, Aguilar L (1999) Antimicrobial resistance of 914 beta-hemolytic streptococci isolated from pharyngeal swabs in Spain: results of a 1-year (1996–1997) multicenter surveillance study. The Spanish Surveillance Group for Respiratory Pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 43: 178–80
4. Ben Abdelaziz A, Attia Lotfi C, Harrabi I, et al (2003) Audit de la prise en charge de l'angine en médecine générale dans la région sanitaire de Sousse (Tunisie). *Med Mal Infect* 33: 215–20
5. Bingen E, Bidet P, Mihaila-Amrouche L (2004) Emergence of macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* strains in French children. *Antimicrob Agents Chemother* 48: 3559–62
6. Bingen E, Fitoussi F, Doit C, et al (2000) Resistance to macrolides in *Streptococcus pyogenes* in France in pediatric patients. *Antimicrob Agents Chemother* 44: 1453–7
7. Bouvet A, Geslin P, Kriz-Kuzemenska P, et al (1994) Restricted association between biotypes and serotypes within group A streptococci. *J Clin Microbiol* 32: 1312–7
8. Canu A, Leclercq R (2002) Les macrolides : une diversité de mécanismes de résistance. *Med Mal Infect* 32: 32–44
9. Carapetis JR, Steer AC, Mulholland EK, Weber M (2005) The global burden of group A streptococcal diseases. *Lancet Infect Dis* 5: 685–94
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (2005) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fifteenth Informational Supplement. CLSI document M100- S15. Wayne, Pennsylvania
11. Creti R, Imperi M, Baldassarri L, et al (2007) emm Types, virulence factors, and antibiotic resistance of invasive *Streptococcus pyogenes* isolates from Italy: What has changed in 11 years? *J Clin Microbiol* 45: 2249–56

12. Descheemaeker P, Chapelle S, Lammens C, et al (2000) Macrolide resistance and erythromycin resistance determinants among Belgian *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae* isolates. *J Antimicrob Chemother* 45: 167–73
13. Freney J, Bland S, Etienne J, et al (1992) Description and evaluation of the semiautomated 4-hour rapid ID 32 Strep method for identification of streptococci and members of related genera. *J Clin Microbiol* 30: 2657–61
14. Giovanetti E, Brenciani A, Lupidi R, et al (2003) Presence of the tet(O) gene in erythromycin- and tetracycline-resistant strains of *Streptococcus pyogenes* and linkage with either the mef(A) or the erm(A) gene. *Antimicrob Agents Chemother* 47: 2844–9
15. Giovanetti E, Montanari MP, Mingoia M, Varaldo PE (1999) Phenotypes and genotypes of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* strains in Italy and heterogeneity of inducibly resistant strains. *Antimicrob Agents Chemother* 43: 1935–40
16. Gracia M, Díaz C, Coronel P, et al (2009) Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pyogenes* in Central, Eastern, and Baltic European Countries, 2005 to 2006: the cefditoren surveillance program. *Dig Microb Infect Dis* 64: 52–6
17. Green M, Martin JM, Barbadora KA, et al (2004) Reemergence of macrolide resistance in pharyngeal isolates of group A streptococci in southwestern Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother* 48: 473–6
18. Grivea IN, Al-Lahham A, Katopodis GD, et al (2006) Resistance to erythromycin and telithromycin in *Streptococcus pyogenes* isolates obtained between 1999 and 2002 from Greek children with tonsillopharyngitis: phenotypic and genotypic analysis. *Antimicrob Agents Chemother* 50: 256–61
19. Ip M, Lyon DJ, Leung T, Cheng AF (2002) Macrolide resistance and distribution of erm and mef genes among beta-haemolytic streptococci in Hongkong. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 21: 238–40
20. Kumar MP, Menon T, Lobo C, et al (2004) Biotypes of group A streptococci isolated from children. *J Med Microbiol* 53: 229–30
21. Littauer P, Caugant DA, Sangvik M, et al (2006) Macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* in Norway: population structure and resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother* 50: 1869–99
22. Loubinoux J, Florent M, Merad B, et al (2004) Epidemiological markers of group A streptococcal infections in France. *Indian J Med Res* 119: 152–4
23. Malhotra-Kumar S, Wang S, Lammens C, et al (2003) Bacitracin-resistant clone of *Streptococcus pyogenes* isolated from pharyngitis patients in Belgium. *J Clin Microbiol* 41 (11): 5282–4
24. Mariani-Kurkdjian P, Doit C, Deforche D, et al (2004) Émergence de la résistance aux macrolides chez *Streptococcus pyogenes* en pédiatrie. *Pathol Biol* 52: 489–92
25. Mihaila-Amrouche L, Bouvet A, Loubinoux J (2004) Clonal spread of emm type 28 isolates of *Streptococcus pyogenes* that are multiresistant to antibiotics. *J Clin Microbiol* 42: 3844–6
26. Morosini MI, Cantón R, Loza E (2003) *Streptococcus pyogenes* isolates with characterized macrolide resistance mechanisms in Spain: in vitro activities of telithromycin and cethromycin. *J Antimicrob Chemother* 52: 50–5
27. Müller-Alouf H, Geoffroy C, Geslin P, et al (1997) Serotype, biotype, pyrogenic exotoxin, streptolysin O and exoenzyme patterns of invasive *Streptococcus pyogenes* isolates from patients with toxin shock syndrome, bacteremia and other severe infections. *Adv Exp Med Biol* 418: 241–3
28. Müller-Alouf H, Geoffroy C, Geslin P, et al (1997) Streptococcal pyrogenic exotoxin A, streptolysin O, exoenzymes, serotype and biotype profiles of *Streptococcus pyogenes* isolates from patients with toxic shock syndrome and other severe infections. *Zentralbl Bakteriol* 286: 421–33
29. Mzoughi R, Bouallègue O, Selmi H (2004) Group A streptococci in children with acute pharyngitis in Sousse, Tunisia. *East Mediterr Health J* 10: 488–93
30. Passali D, Lauriello M, Passali GC, et al (2007) Group A streptococcus and its antibiotic resistance. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 27: 27–32
31. Reinert RR, Lütticken R, Bryskier A, Al-Lahham A (2003) Macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* in the pediatric population in Germany during 2000–2001. *Antimicrob Agents Chemother* 47: 489–93
32. Reinert RR, Lütticken R, Sutcliffe JA, et al (2004) Clonal relatedness of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* isolates in Germany. *Antimicrob Agents Chemother* 48: 1369–73
33. Robinson DA, Sutcliffe JA, Tewodros W, et al (2006) Evolution and global dissemination of macrolide-resistant group A streptococci. *Antimicrob Agents Chemother* 50: 2903–11
34. Sauermann R, Gattringer R, Graninger W, et al (2003) Phenotypes of macrolide resistance of group A streptococci isolated from outpatients in Bavaria and susceptibility to 16 antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 51: 53–7
35. Schlegel L, Bouvet A (2000) Streptococcaceae: Streptococcus, Abiotrophia, Enterococcus, Lactococcus, Aerococcus et autres genres apparentés. In: Freney J, Renaud F, Hansen W, Bollet C. Précis de bactériologie clinique. Editions ESKA p 835–90
36. Soussy C (coordonnateur) (2008) Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie. Recommandations