

# Rapport d'activité annuel Année d'exercice 2016



**Centre National de Référence  
des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*  
Unité de Recherche et d'Expertise des Bactéries Pathogènes Entériques**

*et*

**Laboratoire associé  
Service de Microbiologie  
Hôpital Robert Debré - Paris**

**Responsables :**

**CNR-IP :**

François-Xavier WEILL  
Simon LE HELLO  
Sophie LEFEVRE  
Charlotte RENAUDAT  
Secrétariat

**[colishig@pasteur.fr](mailto:colishig@pasteur.fr)/[salmonella@pasteur.fr](mailto:salmonella@pasteur.fr)**

Tél : 01 45 68 83 45 [francois-xavier.weill@pasteur.fr](mailto:francois-xavier.weill@pasteur.fr)  
Tél : 01 40 61 37 24 [simon.le-hello@pasteur.fr](mailto:simon.le-hello@pasteur.fr)  
Tél : 01 45 68 83 44 [sophie.lefevre@pasteur.fr](mailto:sophie.lefevre@pasteur.fr)  
Tél : 01 40 61 35 88 [charlotte.renaudat@pasteur.fr](mailto:charlotte.renaudat@pasteur.fr)  
Tél : 01 45 68 83 39 Télécopie : 01 45 68 88 37

**Laboratoire associé (HRD) :**

Stéphane BONACORSI  
Patricia MARIANI-KURKDJIAN  
Secrétariat

**[e.coli@aphp.fr](mailto:e.coli@aphp.fr)**

Tél : 01 40 03 57 92 [stephane.bonacorsi@rdb.aphp.f](mailto:stephane.bonacorsi@rdb.aphp.f)  
Tél : 01 40 03 23 41 [patricia.mariani@rdb.aphp.fr](mailto:patricia.mariani@rdb.aphp.fr)  
Tél : 01 40 03 23 40 Télécopie : 01 40 03 24 50

<b>Résumé analytique .....</b>	<b>1</b>
<b>1/ Salmonella.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1 Missions et organisation du CNR.....</b>	<b>3</b>
<b>1.2 Activités d'expertise .....</b>	<b>3</b>
1.2.1 Evolution des techniques au cours de l'année 2016 .....	3
1.2.1.1 Liste des techniques développées et en développement.....	3
1.2.1.2 Techniques transférées vers d'autres laboratoires .....	4
1.2.2 Activités d'expertise <i>Salmonella</i> en 2016.....	4
1.2.2.1 Activité de sérotypage <i>Salmonella</i> , CNR-ESS, 2012-2016.....	5
1.2.2.2 Activité de sous-typage en 2016.....	5
1.2.2.3 Activité de surveillance de la résistance aux anti-microbiens .....	5
<b>1.3 Activités de surveillance des <i>Salmonella</i> .....</b>	<b>6</b>
1.3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à <i>Salmonella</i> .....	6
1.3.1.1 Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS pour <i>Salmonella</i> .....	6
1.3.1.2 Définition de l'échantillon de souches isolées.....	6
1.3.1.3 Analyse de la distribution des différents sérotypes et analyse des tendances .....	6
1.3.1.3.1 Nombre annuel de souches de <i>Salmonella</i> d'origine humaine répertoriées au CNR-ESS, 1983-2016.....	7
1.3.1.3.2 Répartition des 20 principaux sérotypes de <i>Salmonella</i> , 2000, 2005, 2010, 2015-2016.....	8
1.3.1.3.3 Proportion de souches de <i>Salmonella</i> par rapport aux fiches d'information .....	9
1.3.1.3.4 Nombre d'isollements annuels des sérotypes Enteritidis, Typhimurium et variant monophasique 1,4,[5],12:i:- en France, 1983-2016.....	10
1.3.1.3.5 Répartition des <i>Salmonella</i> par sites de prélèvement .....	10
1.3.1.3.6 Distribution des <i>Salmonella</i> par tranches d'âge .....	11
1.3.1.3.7 Nombre de souches de <i>Salmonella</i> reçues par région.....	12
1.3.1.3.8 Le sérotype Typhi en 2016 .....	14
1.3.1.3.9 Le sérotype Paratyphi A en 2016 .....	16
1.3.1.3.10 Le sérotype Paratyphi B en 2016 .....	17
1.3.1.4 Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France.....	17
1.3.1.4.1 Relevés périodiques envoyés à Santé publique France .....	17
1.3.1.4.2 Notifications de foyers de cas groupés à <i>Salmonella</i> .....	18
1.3.1.4.3 Foyers de cas groupés à <i>Salmonella</i> du CNR-ESS en 2016 .....	18
1.3.2 Contribution à la surveillance de la résistance aux antibiotiques .....	19
1.3.2.1 Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de <i>Salmonella</i> en 2016 .....	19
1.3.2.2 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium de 1993 à 2016 .....	20
1.3.2.3 Résistance aux antibiotiques du sérotype 1,4,[5],12:i:- (monophasique) de 2007 à 2016 .....	21
1.3.2.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis de 1993 à 2016 .....	22
1.3.2.5 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi de 1997 à 2016.....	22
1.3.2.6 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A de 2005 à 2016 .....	23
1.3.2.7 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B de 2000 à 2016 .....	24
1.3.2.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky de 2001 à 2016.....	25
1.3.2.9 Souches de <i>Salmonella</i> présentant une résistance particulière aux antibiotiques détectées au CNR-ESS en 2016 .....	26
1.3.2.9.1 Souches résistantes aux céphalosporines de 3 <sup>ème</sup> génération .....	26
a- <i>Salmonella</i> productrices de $\beta$ -lactamases à spectre étendu reçues au CNR-ESS en 2016.....	26
b- <i>Salmonella</i> productrices de céphalosporinases plasmidiques reçues au CNR-ESS en 2016 .....	27
c- <i>Salmonella</i> productrices de carbapénémases reçues au CNR-ESS en 2009-2016.....	28
1.3.2.9.2 Souches résistantes à la ciprofloxacine.....	28
a- Souches du sérotype Kentucky résistantes à la ciprofloxacine détectées au CNR-ESS, 2000-2016 .....	28
1.3.2.9.3 Souches de sensibilité diminuée à la ciprofloxacine d'origine plasmidique en 2016 .....	29
1.3.3 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux.....	32
1.3.4 Contribution à l'alerte et à l'investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux à <i>Salmonella</i> en 2016 .....	32

1.3.5 Contribution à la diffusion des données de surveillance et production du CNR .....	33
<b>2/ <i>Escherichia coli</i> .....</b>	<b>35</b>
<b>2.1 Missions et organisation du CNR.....</b>	<b>35</b>
<b>2.2 Activités d'expertise .....</b>	<b>35</b>
2.2.1 Activité d'expertise en 2016 .....	35
2.2.2 Inventaire des souches de <i>E. coli</i> d'origine intestinale et des selles analysées en 2016 .....	36
2.2.3 Bilan des activités concernant les <i>E. coli</i> entéro-hémorragiques (EHEC) .....	37
2.2.3.1 Analyse de la répartition des symptômes donnant lieu à une analyse de selles, souches ou sérums .....	37
2.2.3.2 Résultats obtenus sur les prélèvements de selles en 2016 .....	37
2.2.3.3 Souches de <i>E. coli</i> d'origine humaine productrices de Shiga-toxines isolées au CNR-ESS et LA-RD en 2016 .....	38
2.2.3.3.1 Analyse sur des souches de <i>E. coli</i> d'origine humaine productrices de Shiga-toxines.....	38
2.2.3.3.2 Analyse des profils de virulence.....	39
2.2.3.3.3 Analyse des variants des gènes <i>stx</i> (CNR-ESS et LA-RD) .....	43
2.2.3.3.4 Autres facteurs de virulence .....	44
2.2.3.4 Analyse des prélèvements (selles et/ou souches) dans l'entourage de patients présentant un SHU (LA-RD) .....	45
2.2.3.5 Sérotypage moléculaire par analyse RFLP de l'opéron O des souches de EHEC non sérotypables .....	45
2.2.3.6 Sérodiagnostic des syndromes hémolytiques et urémiques (CNR-ESS) .....	47
2.2.4 Bilan des activités 2016 concernant les souches de <i>E. coli</i> extra intestinales (ExpEC) (LA-RD) .....	48
2.2.4.1 Etude des facteurs de pathogénicité des souches de <i>E. coli</i> responsables de méningites .....	48
2.2.4.2 Etude des facteurs de pathogénicité des souches de <i>E. coli</i> extra-intestinales responsables de pathologies autres que les méningites .....	49
<b>2.3 Activités de surveillance des <i>Escherichia coli</i>.....</b>	<b>52</b>
2.3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à EHEC .....	52
2.3.1.1 Réseau partenaire.....	52
2.3.1.2 Analyse des caractéristiques épidémiologiques des EHEC .....	52
2.3.1.3 Résultats microbiologiques 2016 pour les cas de SHU pédiatriques notifiés à Santé publique France (collaboration avec Mathias Bruyand de Santé publique France) .....	54
2.3.2 Surveillance de la résistance aux anti-infectieux 2016 (LA-RD) .....	55
2.3.2.1 Sensibilité aux antibiotiques des souches EHEC (LA-RD) .....	55
2.3.2.2 Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>E. coli</i> responsables de pathologies extra intestinales (LA-RD) .....	56
2.3.3 Participation aux réseaux de surveillance .....	56
2.3.3.1 Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France.....	56
2.3.3.2 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux en particulier européens .....	57
2.3.3.3 Collaboration avec des partenaires nationaux exerçant dans le domaine animal, alimentaire ou dans l'environnement.....	57
2.3.4 Détection et investigation des cas.....	57
<b>3/ <i>Shigella</i>.....</b>	<b>60</b>
<b>3.1 Missions et organisation du CNR.....</b>	<b>60</b>
<b>3.2 Activités d'expertise .....</b>	<b>60</b>
3.2.1 Evolutions des techniques au cours de l'année 2016.....	60
3.2.2 Activités d'expertise pour l'année 2016.....	60
3.2.2.1 Inventaire global des souches reçues au CNR-ESS.....	60
3.2.2.2 Souches reçues de France métropolitaine.....	61
3.2.2.3 Souches reçues des DOM-TOM .....	62
3.2.2.4 Souches reçues de l'Etranger.....	63
3.2.2.5 Fiches d'information reçues sans envoi de souches.....	63
<b>3.3 Activités de surveillance des <i>Shigella</i> .....</b>	<b>64</b>
3.3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections .....	64

3.3.1.1 Réseau partenaire.....	64
3.3.1.2 Distribution globale des cas de shigellose en France métropolitaine et DOM-TOM.....	64
3.3.1.2.1 Analyse de la distribution en France métropolitaine et analyse de tendances .....	65
3.3.1.2.2 Analyse de la distribution dans les DOM-TOM et analyse de tendances.....	70
3.3.2 Surveillance de la résistance des shigelles aux anti-infectieux.....	73
3.3.2.1 Etude de la résistance aux antibiotiques des souches de <i>Shigella</i> (CNR-ESS) .....	73
3.3.2.1.1 Surveillance globale .....	73
3.3.2.1.2 Résistances émergentes chez <i>Shigella</i> spp. ....	75
3.3.3 Participation aux réseaux de surveillance .....	82
3.3.3.1 Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France.....	82
3.3.3.2 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux.....	82
<b>4/ Alerte .....</b>	<b>83</b>
<b>5/ Activités d'information, de formation et de conseil .....</b>	<b>84</b>
<b>5.1 Réunions et missions .....</b>	<b>84</b>
<b>5.2 Enseignement et formation .....</b>	<b>84</b>
<b>5.3 Accueil de stagiaires .....</b>	<b>85</b>
<b>5.4 Information et conseil aux biologistes et praticiens .....</b>	<b>87</b>
<b>6/ Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR-ESS et LA-RD .....</b>	<b>88</b>
<b>6.1 Activités de recherche et d'expertise en cours notamment ceux ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....</b>	<b>88</b>
6.1.1 <i>E. coli</i> .....	88
6.1.1.1 <i>E. coli</i> intestinaux.....	88
6.1.1.2 <i>E. coli</i> extra intestinaux (LA-RD).....	88
6.1.2 <i>Shigella</i> (CNR-ESS) .....	88
6.1.2.1 Génétique et génomique évolutive de <i>Shigella</i> .....	88
6.1.2.2 Génomique épidémiologique de <i>S. sonnei</i> .....	89
6.1.2.3 Etude de la structure des populations et suivi de clones internationaux de <i>S. flexneri</i> .....	89
6.1.2.4 Étude de l'évolution génomique de <i>S. dysenteriae</i> de type 1 .....	89
6.1.2.5 Méthodes de typage des souches de <i>Shigella</i> .....	90
6.1.3 <i>Salmonella</i> (CNR-ESS) .....	91
6.1.3.1 Contribution au développement en un étape de méthodes de typage et sous-typage par analyse du génome entier des <i>Salmonella</i> .....	91
6.1.3.2 Génomique épidémiologique .....	92
6.1.3.2.1 Etude de la structure des populations des souches de <i>S. enterica</i> sérotype Typhimurium et de son variant monophasique .....	92
6.1.3.2.2 Génomique évolutive sur <i>S. enterica</i> sérotype Kentucky ST198.....	93
6.1.3.2.3 Phylogéographie de <i>S. enterica</i> serotype Panama.....	93
6.1.3.3. Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez <i>Salmonella</i> .....	93
<b>6.2 Liste des publications et communications 2016 pour le CNR-ESS et LA-RD .....</b>	<b>94</b>
6.2.1 Publications nationales.....	94
6.2.2 Publications internationales .....	94
6.2.3 Communications nationales et internationales / Conférences sur invitations .....	96
6.2.3.1 Communications nationales .....	96
6.2.3.2 Communications internationales.....	97
6.2.3.3 Conférences sur invitations .....	97
<b>7/ Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux.....</b>	<b>99</b>
<b>7.1 <i>Salmonella</i>.....</b>	<b>99</b>
<b>7.2 <i>Escherichia coli</i> .....</b>	<b>99</b>
<b>8/ Programme d'activités depuis le 1<sup>er</sup> avril 2017 .....</b>	<b>100</b>

<b>8.1 Apporter une expertise microbiologique .....</b>	<b>100</b>
8.1.1 Infections à <i>E. coli</i> .....	100
8.1.1.1 Infections à <i>E. coli</i> entéro-hémorragiques .....	100
8.1.1.2 <i>E. coli</i> responsables d'infections extra-intestinales (LA-RD) .....	100
8.1.1.3. Etude et suivi de la résistance des souches de <i>E.coli</i> aux antibiotiques en lien avec le CNR de la résistance aux antibiotiques (LA-RD) .....	101
8.1.2 Infections à <i>Shigella</i> .....	102
8.1.3 Infections à <i>Salmonella</i> .....	102
<b>8.2 Contribuer à la surveillance épidémiologique, en lien avec Santé publique France.....</b>	<b>104</b>
<b>8.3 Contribuer à l'alerte en signalant à Santé publique France, tout événement inhabituel .....</b>	<b>106</b>
<b>ANNEXE 1 .....</b>	<b>108</b>
<b>Annexe 1. Missions et organisation du CNR.....</b>	<b>108</b>
<b>1.1 Missions et objectifs majeurs du CNR .....</b>	<b>108</b>
<b>1.2 Les équipes.....</b>	<b>110</b>
1.2.1 Le CNR-ESS: Effectif / Qualification du Personnel .....	110
1.2.2 Le laboratoire associé (LA-RD): Effectif / Qualification du Personnel .....	112
<b>1.3 Les locaux et équipements.....</b>	<b>112</b>
1.3.1 CNR-ESS (Institut Pasteur) .....	112
1.3.2 LA-RD .....	115
<b>1.4 Démarche qualité .....</b>	<b>116</b>
1.4.1 Démarche qualité du CNR-ESS.....	116
1.4.2 Démarche qualité du Laboratoire de Référence et d'Expertise Multi-Site (LREMS) .....	118
1.4.3 Démarche qualité du LA-RD .....	119
<b>ANNEXE 2 .....</b>	<b>120</b>
<b>Annexe 2. Capacités techniques du CNR .....</b>	<b>120</b>
<b>2.1 Pour <i>Salmonella</i> .....</b>	<b>120</b>
2.1.1 Liste des techniques de référence.....	120
2.1.2 Collections de souches, antigènes ou immun-sérums de référence .....	122
2.1.3 Liste des techniques recommandées par le CNR.....	122
<b>2.2 Pour <i>Escherichia coli</i> .....</b>	<b>123</b>
2.2.1 Liste des techniques de référence.....	123
2.2.1.1 au CNR-ESS.....	123
2.2.1.2 Techniques du LA-RD .....	125
2.2.2 Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles.....	126
2.2.3 Collection de souches.....	126
2.2.4 Techniques recommandées par le CNR-ESS ET LA-RD.....	127
<b>2.3 Pour <i>Shigella</i> .....</b>	<b>127</b>
2.3.1 Liste des techniques de référence.....	127
2.3.2 Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles.....	129
2.3.3 Collection de souches.....	129
2.3.4 Techniques recommandées par le CNR-ESS .....	129
<b>2.4 Sélection de dix publications représentatives de l'année 2016.....</b>	<b>130</b>

## SOMMAIRE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> Nombre annuel de souches de <i>Salmonella</i> humaine, CNR-ESS, 1983-2016 .....	7
<b>Figure 2:</b> Répartition des souches de <i>Salmonella</i> et des fiches d'information, 2000-2016 .....	7
<b>Figure 3:</b> Evolution des principaux sérotypes de <i>Salmonella</i> isolés chez l'homme, 1983-2016 .....	10
<b>Figure 4:</b> Répartition des sérogroupe de EHEC isolés en 2016 au CNR-ESS et au LA-RD.....	39
<b>Figure 5:</b> Distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2016.....	40
<b>Figure 6:</b> Classe d'âge et sexe des patients ayant une recherche de EHEC positive.....	52
<b>Figure 7:</b> Répartition des souche de EHEC isolées en 2016 (n=179) sur le territoire.....	54
<b>Figure 8:</b> Répartition régionale des sérogroupe O26, O80 et O157 en 2016.....	54
<b>Figure 9:</b> Nombre de cas de shigellose par département, signalés en 2016 au CNR-ESS, par l'envoi de souche ou la transmission d'une fiche d'information sans envoi de souche (département de domiciliation du patient ou à défaut département du laboratoire expéditeur).....	64
<b>Figure 10:</b> Evolution des différents sérogroupe de <i>Shigella</i> spp. entre 2012 et 2016 .....	67
<b>Figure 11:</b> Evolution des principaux sérotypes de <i>S. flexneri</i> entre 2012 et 2016 .....	67
<b>Figure 12:</b> Evolution des différents sérogroupe de <i>Shigella</i> spp. entre 2012 et 2016 .....	70
<b>Figure 13:</b> Evolution des principaux sérotypes de <i>S. flexneri</i> entre 2012 et 2016 .....	70

## SOMMAIRE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1:</b> 20 principaux sérotypes de <i>Salmonella</i> au cours des années, CNR-ESS.....	8
<b>Tableau 2:</b> Nombre d'isollements annuels des principaux sérotypes en France de 2011 à 2016.....	9
<b>Tableau 3:</b> Répartition par sites de prélèvement de 2005 à 2016.....	10
<b>Tableau 4:</b> Distribution par tranches d'âge de 2005 à 2016.....	11
<b>Tableau 5:</b> Souches de <i>Salmonella</i> reçues par régions de 2005 à 2016.....	12
<b>Tableau 6:</b> Souches de <i>Salmonella</i> reçues par nouvelles régions métropolitaines.....	13
<b>Tableau 7:</b> Origine géographique des souches de sérotype Typhi de 2011 à 2016.....	14
<b>Tableau 8:</b> Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi A de 2011 à 2016.....	16
<b>Tableau 9:</b> Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi B de 2011 à 2016.....	17
<b>Tableau 10:</b> Foyers de cas groupés de <i>Salmonella</i> de 2011 à 2016.....	18
<b>Tableau 11:</b> Répartition des différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au CNR-ESS et au LA-RD pour <i>E. coli</i> , année 2016.....	35
<b>Tableau 12:</b> Symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC, souches, selles et sérums reçus au CNR-ESS et au LA-RD, année 2016.....	37
<b>Tableau 13:</b> Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les plus fréquemment isolés au CNR- ESS et au LA-RD en 2016.....	41
<b>Tableau 14:</b> Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les moins fréquemment isolés au CNR-ESS et au LA-RD en 2016 (une seule souche pour chaque séro groupe).....	41
<b>Tableau 15:</b> Profil de virulence des EHEC non sérogroupables isolés au CNR-ESS et au LA-RD en 2016.....	41
<b>Tableau 16:</b> Profil de virulence déterminé directement par PCR sur les selles sans isolement de souches. CNR-ESS et LA-RD 2016.....	42
<b>Tableau 17:</b> Résultats du sérogroupage par PCR directe sur selles en 2016 (LA-RD).....	42
<b>Tableau 18:</b> Répartition des profils de variants en fonction des sérogroupes de EHEC les plus fréquents des souches isolées au CNR-ESS et au LA-RD en 2016.....	43
<b>Tableau 19:</b> Répartition des profils de variants en fonction des sérogroupes de EHEC les plus rares isolés au CNR-ESS et au LA-RD en 2016.....	44
<b>Tableau 20:</b> Répartition des profils de variants des EHEC non sérogroupables isolés au CNR-ESS et au LA-RD en 2016.....	44
<b>Tableau 21:</b> Sérogroupes des souches possédant le gène <i>atsA</i> . CNR-ESS et LA-RD 2016.....	45
<b>Tableau 22:</b> Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène <i>saa</i> . CNR-ESS et LA-RD 2016.....	45
<b>Tableau 23:</b> Caractéristiques des souches de EHEC sérotypées par analyse RFLP de l'opéron O en 2016 au CNR-ESS.....	46
<b>Tableau 24:</b> Répartition par âge et sexe des résultats de sérologie anti-LPS positive.....	47
<b>Tableau 25:</b> Facteurs de virulence des <i>E. coli</i> responsables de méningites en 2016 (LA-RD).....	49
<b>Tableau 26:</b> Caractéristiques des souches de ExpEC hors méningites en 2016 LA-RD.....	50
<b>Tableau 27:</b> Principal symptôme observé chez les patients ayant une recherche de EHEC positive (isolement d'une souche ou PCR positive). CNR ESS-LA 2016.....	52
<b>Tableau 28:</b> Répartition des différents sérogroupes de EHEC (souches isolées) par classe d'âge et par sexe des patients. CNR-ESS et LA-RD 2016.....	53
<b>Tableau 29:</b> Prévalence de la résistance (%) aux antibiotiques des souches EHEC en 2016 (LA-RD).....	55
<b>Tableau 30:</b> CMI à l'azithromycine des souches EHEC isolées en 2016 au LA-RD.....	56
<b>Tableau 31:</b> Prévalence de la résistance aux antibiotiques des souches EXPEC reçues en 2016 au LA-RD.....	56
<b>Tableau 32:</b> Distribution des différents sérotypes de <i>Shigella</i> spp. reçues au CNR-ESS en 2016 en provenance de France métropolitaine et description des cas associés.....	61
<b>Tableau 33:</b> Distribution des différents sérotypes de <i>Shigella</i> spp. reçues au CNR-ESS en 2016 en provenance des DOM-TOM.....	63
<b>Tableau 34:</b> Bilan des fiches d'information de <i>Shigella</i> spp. en 2016.....	63
<b>Tableau 35:</b> Répartition par site de prélèvement des souches de <i>Shigella</i> spp. reçues au CNR-ESS en 2016.....	65
<b>Tableau 36:</b> Distribution des différents sérotypes de <i>Shigella</i> spp. entre 2012 à 2016.....	66
<b>Tableau 37:</b> Répartition par sexe des cas de shigellose en France métropolitaine en 2016.....	68
<b>Tableau 38:</b> Répartition par sexe des principaux sérotypes de <i>S. flexneri</i> en France métropolitaine en 2016.....	68
<b>Tableau 39:</b> Répartition par classe d'âge des cas de shigellose de métropole en 2016.....	69
<b>Tableau 40:</b> Incidence des cas de shigellose en France métropolitaine en 2016.....	69

<b>Tableau 41:</b> Test non paramétrique de comparaison de l'incidence des cas de shigellose en France métropolitaine selon les classes d'âge en 2016 .....	70
<b>Tableau 42:</b> Répartition par sexe des cas de shigellose dans les DOM-TOM en 2016 .....	71
<b>Tableau 43:</b> Répartition par sexe des principaux sérotypes de <i>S. flexneri</i> dans les DOM-TOM en 2016 .....	71
<b>Tableau 44:</b> Répartition par classe d'âge des cas de shigellose en Guyane en 2016 .....	71
<b>Tableau 45:</b> Incidence des cas de shigellose en Guyane en 2016 .....	72
<b>Tableau 46:</b> Test non paramétrique de comparaison de l'incidence des cas de shigellose en Guyane selon les classes d'âge en 2016 .....	72
<b>Tableau 47:</b> Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différentes espèces de <i>Shigella</i> en provenance de France métropolitaine en 2016 .....	74
<b>Tableau 48:</b> Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différentes espèces de <i>Shigella</i> en provenance des DOM-TOM en 2016 .....	74
<b>Tableau 49:</b> Caractéristiques des souches de <i>Shigella</i> Azm <sup>R</sup> de 2016 .....	76
<b>Tableau 50:</b> Répartition par sexe et par âge des cas d'infection à <i>Shigella</i> spp. Azm <sup>R</sup> en 2016.....	78
<b>Tableau 51:</b> Incidence des cas de shigellose Azm <sup>R</sup> en France métropolitaine en 2016 .....	79
<b>Tableau 52:</b> Test non paramétrique de comparaison de l'incidence des cas de shigellose Azm <sup>R</sup> selon les classes d'âge en 2016 .....	79
<b>Tableau 53:</b> Caractéristiques des souches de <i>Shigella</i> résistantes aux C3G de 2016 .....	80



## Résumé analytique

Depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2012, le CNR des *Salmonella* et le CNR des *Escherichia coli* et *Shigella* ne forment plus qu'un seul CNR, celui des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* (CNR-ESS).

Le laboratoire de Bactériologie de l'hôpital Robert Debré, Paris (LA-RD) demeure le laboratoire associé au CNR pour les activités *E. coli*.

Dans le présent rapport, le terme CNR-ESS ET LA-RD sera utilisé pour décrire des activités ou des données communes aux deux laboratoires et les termes CNR-ESS et LA-RD seront utilisés séparément pour décrire les activités spécifiques de chacun des laboratoires.

---

### *Salmonella*

Au cours de l'année 2016, le CNR-ESS a enregistré 10545 isollements humains de *Salmonella* en France, dont 9826 en France métropolitaine et 719 dans les départements et territoires d'outre-mer (DOM-TOM) et à Monaco. Parmi ces isollements, 9045 (contre 10481 en 2015) ont été des souches sérotypées par le CNR-ESS et 1500 (contre 1876 en 2015) provenaient de fiches d'information adressées au CNR-ESS par les laboratoires collaborateurs.

Pour la 1<sup>ère</sup> fois depuis 2004, le sérotype Enteritidis reprends la 1<sup>ère</sup> place des sérotypes responsables des salmonelloses humaines, cela est principalement dû à une diminution du sérotype Typhimurium. L'année 2016 a également été marquée par la mise en place en routine du séquençage complet du génome depuis le 1<sup>er</sup> avril 2016. Sur l'année, 2345 génomes ont été analysés.

Le système de surveillance du CNR-ESS a permis de suivre l'émergence des clones de salmonelles résistants à la ciprofloxacine, aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, aux carbapénèmes, à l'azithromycine et/ou à la colistine.

---

### *E. coli*

L'activité concernant *E. coli* en 2016, tous types de prélèvements confondus, a connu une légère augmentation par rapport à 2015. En effet, le CNR-ESS a reçu, un total de 2145 prélèvements contre 1970 en 2015 avec un nombre de prélèvements de selles et de sérums plus important pour faire le diagnostic direct et indirect des infections à *E. coli* enterohémorragiques. Le nombre de souches analysées est en constante diminution comme témoignent les résultats ci-dessous :

- Souches: - **29,8 % (499 en 2016 versus 711 en 2015)**, 926 en 2014, 1124 en 2013)
- Selles: + **23,6 % (970 en 2016 versus 785 en 2015)**, 750 en 2014, 736 en 2013)
- Sérums: +37,2 % (564 en 2016 versus 411 en 2015, 404 en 2014, 434 en 2013)

L'année 2016 a été marquée une épidémie à EHEC O26:H11 dans une crèche de Marseille au sein d'une même section de nourrissons. La transmission était inter-humaine mais l'origine de la contamination n'a pu être identifiée. Cette épidémie a pu être investiguée microbiologiquement par une approche du séquençage complet du génome. Cette technique sera généralisée sur le prochain mandat pour toutes les souches EHEC isolées.

---

## *Shigella*

Durant l'année 2016, le CNR-ESS a reçu 982 souches envoyées comme appartenant au genre *Shigella*. Sur ces 982 souches, 866 ont été confirmées comme étant des *Shigella* spp., toutes d'origine humaine. Les 116 autres souches n'étant pas des *Shigella* spp.

Parmi ces 866 souches, 754 souches (isolées de 746 patients) provenaient de France métropolitaine, et 112 souches (isolées de 111 patients) provenaient de DOM (111 souches de Guyane et une de Mayotte).

De plus, 219 cas de shigellose (correspondant à 218 patients) ont été signalés au CNR-ESS par l'intermédiaire de fiches d'information sans envoi de souche: 216 en provenance de France métropolitaine et trois en provenance de l'île de la Réunion.

En compilant les souches reçues et les souches déclarées dans les fiches d'information et après élimination des doublons, **un total de 1076 cas de shigellose humaine en métropole et dans les DOM-TOM, a été répertorié au CRN-ESS en 2016.**

*Salmonella*

# 1/ *Salmonella*

## 1.1 Missions et organisation du CNR

Les missions et organisation du CNR sont présentées en annexe 1 du présent rapport.

## 1.2 Activités d'expertise

Les techniques de référence et disponibles au CNR sont présentées en annexe 2 du présent rapport.

### 1.2.1 Evolution des techniques au cours de l'année 2016

#### 1.2.1.1 Liste des techniques développées et en développement

Le **sérotypage classique par agglutination** reste le sérotypage de référence (ISO/TR 6579-3) et permet de mettre en évidence plus de 2600 sérotypes. De nombreuses techniques moléculaires permettaient de compléter le typage ou de suppléer le sérotypage classique. Il s'agissait des techniques suivantes :

- **L'analyse MLST** (Multilocus sequence typing). Cette méthode est basée sur l'analyse de la séquence de 7 gènes conservés (dits gènes de ménage). La base de données de l'UBPE sur BioNumerics® comprends 2446 souches de *Salmonella* couvrant 662 sérotypes. Les résultats sont partagés avec la communauté scientifique par l'intermédiaire du site MLST *Salmonella* de l'Université de Warwick (<http://mlst.warwick.ac.uk/>) qui recense, en 2012, 1669 séquençotypes pour plus de 500 sérotypes (Achtman *et al.* PloS Pathogens 2012).

- **Le séquençage après PCR des gènes de flagellines *fliC* et *fljB***. Cette méthode se base sur l'analyse des gènes codant pour les 2 phases flagellaires de *Salmonella*. La base de données de l'UBPE sur BioNumerics® comprend 1166 souches qui ont été analysées simultanément pour leur contenu allélique des gènes *fliC* et/ou *fljB* et pour leurs types MLST.

- **L'analyse du polymorphisme des 2 régions CRISPR** (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) par PCR puis séquençage. Plus de 7100 spacers différents ont été décrits par cette méthode originale qui a été mise au point au CNR-ESS (Fabre *et al.* PloS One 2012). Le CNR-ESS avait inventorié les CRISPR types de 1465 souches appartenant à 208 sérotypes. De plus, **une application CRISPOL**, méthode de sous-typage à haut débit de *S. enterica* sérotype Typhimurium et de ses variants monophasiques basée sur le polymorphisme des régions CRISPRa été mise au point au sein par le CNR-ESS en 2009. Elle repose sur la détection 68 spacers et 4 variants de spacers par hybridation en milieu liquide à l'aide de 72 sondes fixées sur des microbilles grâce à la technologie xMAP de Luminex®. La base de données de l'UBPE sur BioNumerics® comprend 974 profils différents obtenus après analyse de 12357 souches.

De cette expertise et de ces bases de données, une corrélation a été validée entre le sérotype et les sous-types qui peuvent être directement identifiés et extraits à partir du séquençage complet du génome (WGS). Ce WGS est effectué en routine au CNR-ESS depuis le 1<sup>er</sup> avril 2016:

- **L'analyse après séquençage du génome entier (whole genome sequencing, WGS)** prend une place prépondérante dans l'investigation des populations homogènes chez *Salmonella* à l'échelle internationale. Son utilisation en routine pour l'obtention du sérotype, des données de sous-typage tels MLST, séquences *fliC* et *fljB* et le CRISPOL-

type de la population dominante qu'est Typhimurium et ses variants permet une aide à la détection de tous phénomènes anormaux. De plus, les investigations des épidémies sont facilitées par une analyse des sites nucléotidiques polymorphiques (SNPs, single nucleotide polymorphisms), du génome accessoire (prophages, plasmides, îlots de virulence, ..), du résistome (l'ensemble des gènes de résistances aux antibiotiques) et du virulome (l'ensemble des gènes de virulence). En 2016, le CNR-ESS a investigué 4 épidémies nationales ou internationales par cette méthode avec la contribution de la Plateforme mutualisée (P2M) (voir paragraphe 1.3.4).

Cette technique WGS permet l'arrêt des anciennes méthodes moléculaires très largement utilisées auparavant pour sous-typer les souches: la macrorestriction ADN par **Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)**, **l'analyse MLVA** (Multi Locus VNTR (variable numbers of tandem repeats) Analysis), et **la méthode CRISPOL**.

#### 1.2.1.2 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

- **L'analyse MLVA** pour le sérotype Typhimurium et Enteritidis est standardisée et harmonisée internationalement. Le CNR-ESS aide à la mise en place et à l'harmonisation de cette technique pour les laboratoires français et étrangers sur demande.
- **La méthode CRISPOL, méthode de sous-typage à haut débit** de *S. enterica* sérotype Typhimurium et de ses variants monophasiques a été transféré au Laboratoire de Sécurité des Aliments (ANSES, Maisons- Alfort).
- **Les approches d'analyses du génome** sont échangées et confrontées avec celles utilisées par l'ANSES.

#### 1.2.2 Activités d'expertise *Salmonella* en 2016

Le CNR-ESS a réalisé le sérotypage systématique de la totalité des souches de *Salmonella* reçues des laboratoires collaborateurs de son réseau et a enregistré les informations envoyées par les laboratoires collaborateurs ayant sérotypé localement leurs souches.

En 2016, le CNR-ESS a enregistré **10545** isollements humains de *Salmonella* en France (contre 12357 en 2015), dont 9826 en France métropolitaine et 719 dans les départements et territoires d'outre-mer (DOM-TOM) et à Monaco. Parmi ces isollements, **9045** (contre 10481 en 2015) ont été des souches sérotypées par le CNR-ESS et 1500 (contre 1876 en 2015) provenaient de fiches d'information adressées au CNR-ESS par les laboratoires collaborateurs.

Depuis le 1<sup>er</sup> septembre 2015, les souches reçues au CNR, redondantes issues d'un même patient, et d'un même type prélèvement prélevé par même laboratoire au cours d'une période de 8 semaines (ou « doublons ») reçues au CNR ne sont plus analysées. En 2016 un total de 170 doublons ont ainsi été exclus, soit 1,9% des échantillons reçus (chiffre stable, 2% en 2015). De même, 90 fiches ont été exclues de l'analyse (fiche correspondante au même patient pour le même sérotype, et la même date d'isolement qu'une souche et/ou fiche reçue au CNR (contre 36 fiches pour 2015).

Le CNR-ESS a également réalisé le sérotypage de **83** souches de *Salmonella* dans le cadre de collaborations internationales avec la Belgique, le Cameroun, Israël, le Maroc, le Niger et la Suisse. Il a également réalisé le sérotypage de **185** souches non humaines isolées chez l'animal, dans des aliments ou dans l'environnement, en France (majoritairement Institut

Pasteur de Guadeloupe et le laboratoire de sécurité des aliments de l'ANSES, Maisons-Alfort) ou à l'étranger, dans le cadre de collaborations (Brésil, Israël, Maroc).

Il est à noter que 99 souches envoyées pour sérotypage de *Salmonella* se sont avérées être des bactéries autre que *Salmonella* (non comptabilisées).

#### 1.2.2.1 Activité de sérotypage *Salmonella*, CNR-ESS, 2012-2016

	2012	2013	2014	2015	2016
<b>Souches d'origine humaine reçues au CNR et sérotypées</b>	8870	9131	9077	10481	9045
<b>Fiches d'information</b> sur les souches d'origine humaine sérotypées par les laboratoires	1768	1736	1603	1876	1500
<b>Total souches d'origine humaine</b>	<b>10638</b>	<b>10867</b>	<b>10680</b>	<b>12537</b>	<b>10545</b>

#### 1.2.2.2 Activité de sous-typage en 2016

L'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), le MLVA, le MLST, le sous-typage à haut débit de *S. enterica* sérotype Typhimurium et des variants par CRISPOL ont été arrêtés pour être avantageusement remplacé par l'activité de séquençage du génome entier.

Cette activité, longtemps utilisée à des fins de recherche dans l'Unité BPE puis comme expertise pour le CCOMS (toutes les souches de références, >3000, sont en cours de séquençage). Elle s'est implantée progressivement comme un outil de routine au sein du CNR-ESS grâce à la plate-forme mutualisée P2M de PIBnet et leur possibilité du séquençage à haut débit via la technologie Illumina (Nextseq500, 150bp x2 en paired-end). Ainsi, en 2015, environ 200 génomes entiers ont été analysés dans le cadre des investigations épidémiques, nationales comme internationales. Suite à une étape de validation sur souches de référence menées en 2015, le WGS a été intégré comme outil de typage de routine le 1<sup>er</sup> avril 2016 pour les trois pathogènes du CNR-ESS. Pour les *Salmonella*, il remplace certaines techniques de référence, et notamment le sérotypage classique obtenu par agglutination sur lame selon le schéma de White-Kauffmann-Le Minor. Le WGS s'impose comme la technique permettant d'obtenir aussi en une étape les données de typage et sous-typage (MLST, CRISPOL,...). En 2016, **l'activité WGS a représenté 2345 souches de *Salmonella*.**

#### 1.2.2.3 Activité de surveillance de la résistance aux anti-microbiens

Cette activité régulière permet de suivre les profils de résistance aux antibiotiques parmi une sélection d'isolats cliniques de *Salmonella*. En 2016, **1565 souches de *Salmonella* ont été testées pour leur sensibilité aux antibiotiques**, 932 par détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par une approche semi-automatisée (sensititre, Trek) et 633 par diffusion en milieu gélosé (Enterobacteriaceae) en suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM\_EUCAST; communiqué 2015). Les résultats font l'objet d'un chapitre spécifique (**paragraphe 1.3.2**).

## 1.3 Activités de surveillance des *Salmonella*

### 1.3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à *Salmonella*

#### 1.3.1.1 Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS pour *Salmonella*

L'Unité des Entérobactéries à l'Institut Pasteur (Paris) a été renommée en 2001 « Unité de Biodiversité des Bactéries Pathogènes Emergentes » (BBPE) puis Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques (LBPE) le 1<sup>er</sup> janvier 2008 et, depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2010 Unité de Recherche et d'Expertise des Bactéries Pathogènes Entériques (UBPE). Cette unité a développé, depuis le début des années 1950 sous l'impulsion de Léon Le Minor, un réseau de laboratoires collaborant sur une base volontaire à la surveillance des infections dues aux entérobactéries (*Salmonella*, EPEC et *Shigella*). De nombreux directeurs de laboratoires de biologie médicale (LBM) correspondants sont des anciens élèves des cours de l'Institut Pasteur.

Ce réseau de surveillance par les LBM est unique en France pour plusieurs raisons:

- son ancienneté (depuis l'après-guerre),
- le nombre important et stable de LBM participants (autour de 1200),
- l'adhésion volontaire des LBM au système de surveillance des infections dues aux *Salmonella*, soit par l'envoi de souches pour sérotypage, soit par l'envoi de compte rendu de sérotypage si celui-ci a été fait dans le laboratoire expéditeur (fiche d'information).

La participation des LBM est essentielle à la surveillance des infections dues aux *Salmonella* survenant en France. Sa pérennité dans la durée est une préoccupation de tous les instants pour les biologistes du CNR-ESS: conseils techniques par téléphone ou réponse aux demandes précises des LABM (bibliographie, données épidémiologiques...).

**En 2016, 1185 LBM** de France métropolitaine et des DOM-TOM (contre 1222 en 2015) ont adressé des souches au CNR-ESS. Ils se répartissent en **397 laboratoires de centres hospitaliers** (contre 338 en 2015) envoyant 3089 souches (contre 3660 en 2015) et **788 LBM privés** (contre 884 en 2015) envoyant 5956 souches (contre 6821 en 2015). Le nombre de laboratoires du réseau est stable depuis 2003 pour les centres hospitaliers mais en diminution pour les LBM (1411 laboratoires, 331 CH et 1080 LBM). Le regroupement d'activité des laboratoires qui s'est amplifié ces dernières années depuis l'ordonnance du 13 janvier 2010 (obligeant les laboratoires à être accrédité selon la norme NF EN ISO/CEI 15189) a pour conséquence une diminution des LBM en France.

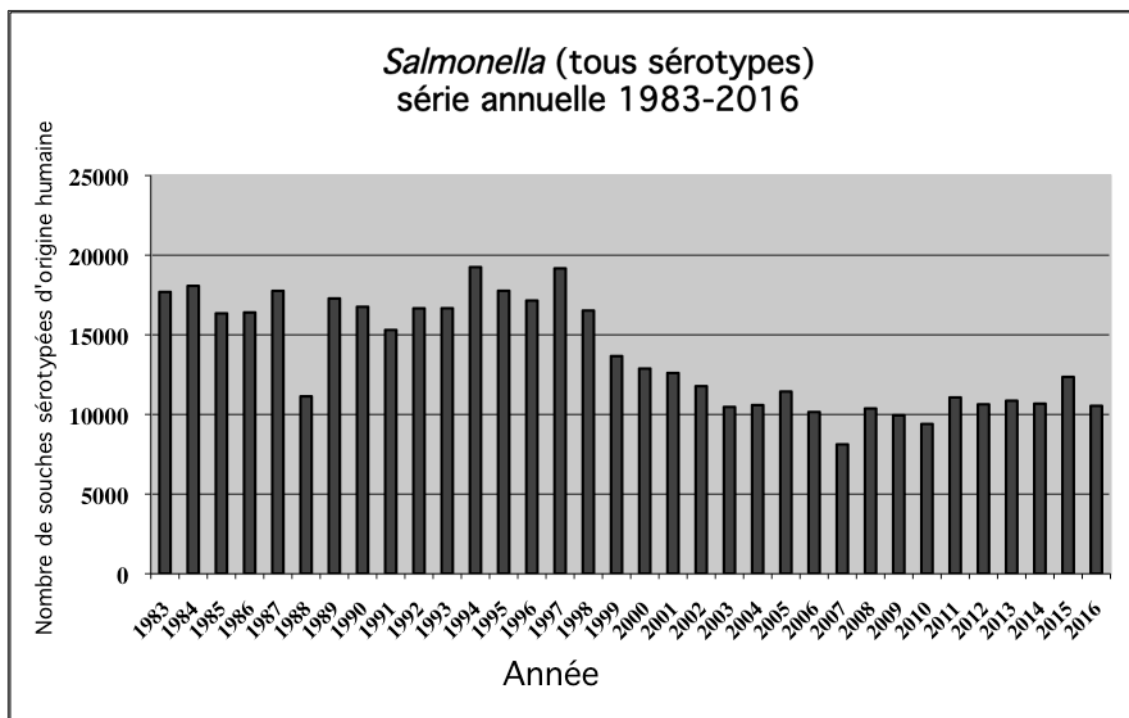
#### 1.3.1.2 Définition de l'échantillon de souches isolées

Le CNR-ESS participe à la surveillance des salmonelloses en **sérotypant toutes les souches** de *Salmonella* envoyées par les laboratoires collaborateurs et en collectant les informations sur les souches dont le sérotype a été déterminé par le laboratoire correspondant.

#### 1.3.1.3 Analyse de la distribution des différents sérotypes et analyse des tendances

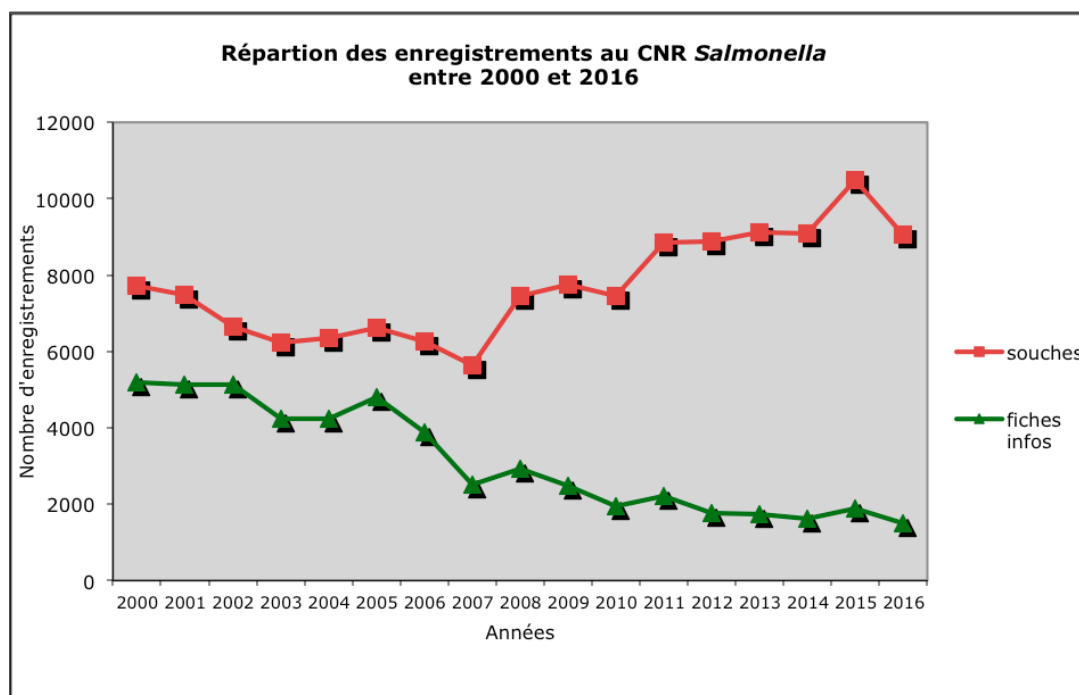
**En 2016**, le CNR-ESS a enregistré **10545** isollements humains de *Salmonella* en France métropolitaine, dans les DOM-TOM et à Monaco. Parmi ces **10545** isollements, **9045** ont été des souches sérotypées par le CNR-ESS et **1500** provenaient de fiches d'information adressées au CNR-ESS par les laboratoires collaborateurs.

1.3.1.3.1 Nombre annuel de souches de *Salmonella* d'origine humaine répertoriées au CNR-ESS, 1983-2016



**Figure 1:** Nombre annuel de souches de *Salmonella* humaine, CNR-ESS, 1983-2016

Depuis 2003, le nombre d'enregistrements de *Salmonella* au CNR-ESS est stable, autour de 10000. Cependant, la proportion de souches reçues est en perpétuelle augmentation par rapport au nombre de fiches d'information



**Figure 2:** Répartition des souches de *Salmonella* et des fiches d'information, 2000-2016



### 1.3.1.3.2 Répartition des 20 principaux sérotypes de *Salmonella*, 2000, 2005, 2010, 2015-2016

**Tableau 1:** 20 principaux sérotypes de *Salmonella* au cours des années, CNR-ESS

Rang	Distribution des sérotypes (n) par année*				
	2000	2005	2010	2015	2016
1	Enteritidis (4656)	Typhimurium (3992)	Typhimurium (3027)	Typhimurium (3288)	Enteritidis (2651)
2	Typhimurium (3800)	Enteritidis (3638)	Enteritidis (1711)	Enteritidis (2696)	Typhimurium (2071)
3	Hadar (787)	Agona (274)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1098)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (2370)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1958)
4	Virchow (321)	Infantis (210)	Kentucky (208)	Infantis (224)	Infantis (251)
5	Heidelberg (226)	Typhi (187)	Newport (191)	Derby (215)	Panama (174)
6	Infantis (209)	Derby (158)	Typhi (181)	Newport (171)	Kentucky (170)
7	Brandenburg (187)	Hadar (147)	Derby (167)	Kentucky (169)	Newport (158)
8	Derby (164)	Virchow (142)	Panama (148)	Napoli (149)	Typhi (157)
9	Typhi (152)	Newport (133)	Infantis (128)	Dublin (135)	Dublin (143)
10	Newport (137)	Panama (124)	Napoli (100)	Panama (129) Typhi (129)	Chester (113) Derby (113)
11	Panama (125)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (101)	Dublin (81)		
12	Dublin (105)	Manhattan (95)	Hadar (76)	Chester (113)	Saintpaul (104)
13	Indiana (87)	Napoli (93)	Corvallis (70)	Hadar (79)	Paratyphi B dt+ (90)
14	Blockley (83)	Indiana (86)	Kottbus (66) Virchow (66)	Saintpaul (78)	Napoli (82)
15	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (75)	Brandenburg (82)		IIIa. 48:z4,z23:- (73)	Poona (81)
16	Bredeney (63)	Dublin (73)	Saintpaul (64)	Agona (67)	Hadar (76)
17	Bovismorbificans (58)	Manhattan (62)	Montevideo (61)	Coeln (65)	Weltevreden (73)
18	Livingstone (56)	Worthington (55)	Rissen (60)	Virchow (63)	Agona (68)
19	Montevideo (51)	Kentucky (48)	Bovismorbificans (59)	Rissen (62)	Virchow (60)
20	Agona (50)	Dublin (45)	Brandenburg (56)	Weltevreden (60)	ParatyphiA (58)

\*données incluant les souches adressées au CNR-ESS *Salmonella* et les fiches d'information

De 2005 à 2015, le sérotype prédominant était Typhimurium alors que le sérotype Enteritidis était en baisse constante pour n'occuper que la 3ème place de 2011. Pour la 1<sup>ère</sup> fois depuis 2004, le sérotype Enteritidis reprends la 1ere place des sérotypes responsables des salmonelloses humaines, cela est principalement dû à une diminution du sérotype Typhimurium. Cette diminution soudaine reste inexpliquée, elle est homogène au regard des régions d'isolement, du sexe et de l'âge du patient. Le sérotype de formule antigénique 1,4,[5],12:i:- (variant monophasique de Typhimurium) a pris une place prépondérante parmi les isollements de salmonelles en France, en constante augmentation d'année en année depuis 2008 (principalement dû à la dissémination internationale du clone multi-résistant aux antibiotiques, 4,5,12:i:-). Le sérotype Kentucky est un sérotype émergent, associé à des souches hautement résistantes aux fluoroquinolones.

En 2016, certaines augmentations de sérotype ont été liées à des épidémies nationales et/ou internationales, il s'agit des sérotypes Enteritidis, Chester et Dublin (voir paragraphe 1.3.4).

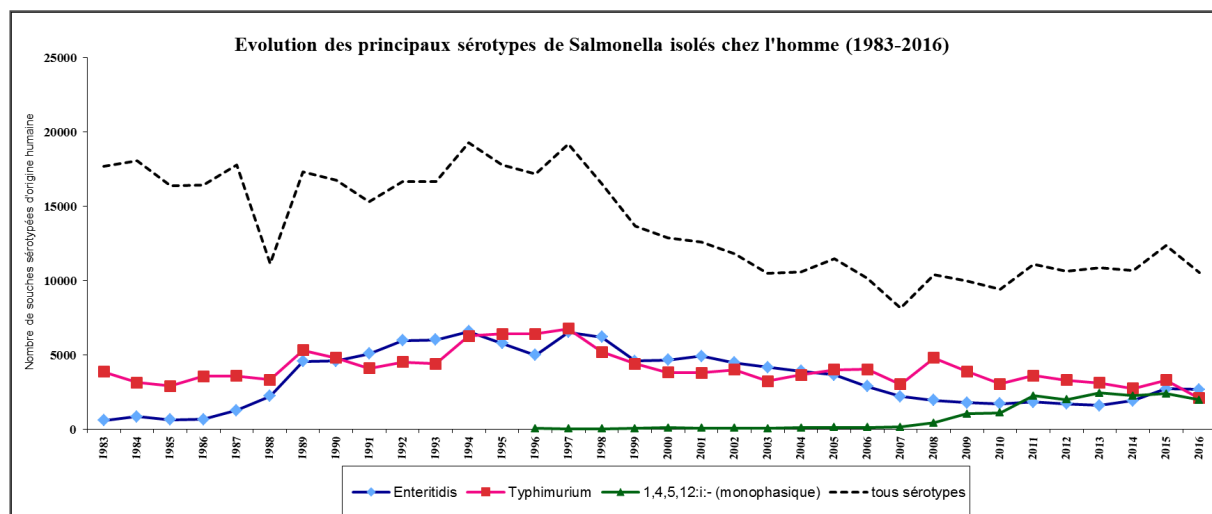
### 1.3.1.3.3 Proportion de souches de *Salmonella* par rapport aux fiches d'information

La part représentée par les fiches d'information (ou comptes-rendus de sérotypage) dans le total des isollements de *Salmonella* enregistrés au CNR-ESS est en constante diminution depuis 2005. Elle ne représente en 2016 que 14,2% des isollements enregistrés (tous sérotypes confondus) alors qu'elle était supérieure à 40% avant 2005. Les sérotypes Typhimurium et Enteritidis représentent à eux seuls plus de 95% des fiches d'information reçues au CNR-ESS. Cette tendance est vraisemblablement liée aux coûts et à la gestion des antisérums dans le cadre d'une assurance-qualité engagée mais limitée à certaines analyses.

**Tableau 2:** Nombre d'isollements annuels des principaux sérotypes en France de 2011 à 2016

Souches de <i>Salmonella</i> reçues en :	Tous sérotypes	Enteritidis	Typhimurium	1,4,[5],12:i:-	Typhi
2011	8849	1265	2018	2232	146
2012	8870	1278	2000	1969	118
2013	9131	1227	1789	2408	130
2014	9077	1507	1575	2235	150
2015	10481	2159	2017	2338	129
2016	9045	2099	1192	1942	150
Total 2011-2016	46408	7436	9399	11182	673
Comptes-rendus reçus en:					
2011	2220	544	1582	16	0
2012	1768	415	1294	9	1
2013	1736	348	1313	22	4
2014	1603	402	1145	5	3
2015	1876	537	1271	32	0
2016	1500	552	879	16	7
Total 2011-2016	10703	2798	7484	100	15
Total :					
2011	11069	1809	3600	2248	146
2012	10638	1693	3294	1978	119
2013	10867	1575	3102	2430	134
2014	10680	1909	2720	2240	153
2015	12357	2696	3288	2370	129
2016	10545	2651	2071	1958	157
Total 2011-2016	55611	9682	16004	11266	681
Proportion comptes-rendus de sérotypage/total (%) en :					
2011	20,1	30,1	43,9	0,7	0
2012	16,6	24,5	39,2	0,5	0,8
2013	16,0	22,1	42,3	0,9	3,0
2014	15,0	21,1	42,1	0,2	2,0
2015	15,2	19,9	38,6	1,6	0
2016	14,2	20,8	42,4	0,8	4,4
2011-2016	19,2	28,9	46,8	0,9	2,2

### 1.3.1.3.4 Nombre d'isollements annuels des sérotypes Enteritidis, Typhimurium et variant monophasique 1,4,[5],12:i:- en France, 1983-2016



**Figure 3:** Evolution des principaux sérotypes de *Salmonella* isolés chez l'homme, 1983-2016

### 1.3.1.3.5 Répartition des *Salmonella* par sites de prélèvement

**Tableau 3:** Répartition par sites de prélèvement de 2005 à 2016

Sites de prélèvement	2005	2008	2010	2015	2016
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Selles	5659 (86,4)	6221 (83,6)	6285 (84,2)	9509 (90,7)	7915 (87,5)
Sang	435 (6,5) <sup>1</sup>	453 (6,1) <sup>2</sup>	503 (6,7) <sup>3</sup>	499 (4,8) <sup>4</sup>	616 (6,8) <sup>5</sup>
Urines	204 (3,1)	209 (2,8)	285 (3,8)	320 (3,1)	380 (4,2)
Pus	16 (0,2)	10 (0,1)	11 (0,1)	28 (0,3)	9 (0,1)
Bile	5 (0,1)	1 (<0,1)	2 (<0,1)	8 (0,1)	9 (0,1)
LCR	1 (<0,1)	0	1 (<0,1)	3 (<0,1)	3 (<0,1)
Autres	83 (1,2)	81 (1,1)	111 (1,5)	93 (0,9)	100 (1,1)
Inconnu	151 (2,3)	464 (6,2)	265 (3,6)	21 (0,2)	13 (0,1)

<sup>1, 2, 3, 4, 5</sup> Le % tient compte des souches de serotypes Typhi et Paratyphi A.

<sup>1</sup>Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, le pourcentage est de 4,1%.

<sup>2</sup>Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, le pourcentage est de 4,2%.

<sup>3</sup>Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 4,5%.

<sup>4</sup>Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 3,7%.

<sup>5</sup>Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,2%

### 1.3.1.3.6 Distribution des *Salmonella* par tranches d'âge

**Tableau 4:** Distribution par tranches d'âge de 2005 à 2016

	<b>2005<sup>1</sup></b>	<b>2008<sup>2</sup></b>	<b>2010</b>	<b>2015</b>	<b>2016</b>
Classes d'âge	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<1 an*	586 (9)	407 (5,5)	549 (7,4)	605 (5,8)	498 (5,5)
1-5 ans*	1616 (24,7)	1979 (26,6)	1928 (25,8)	2493 (23,8)	1976 (21,9)
6-14 ans	913 (13,9)	1221 (16,4)	1042 (14,0)	1481 (14,1)	1143 (12,6)
15-64 ans	2306 (34,7)	2711 (36,4)	2768 (37,1)	4118 (39,3)	3749 (41,5)
≥65 ans	937 (14,3)	1005 (13,5)	1114 (14,9)	1763 (16,8)	1671 (18,5)
Inconnu	188 (2,9)	116 (1,6)	62 (0,8)	21 (0,2)	8 (<0,1)

\*Les classes d'âge <1 an et 1-5 ans ont fait l'objet de reclassement en 2009. Ainsi, les données générées pour 2005-2009 pour ces classes d'âge annulent et remplacent les données des rapports précédents.

<sup>1</sup>Une épidémie nationale à *S. enterica* sérotype Agona a été décrite en 2005 chez les enfants de moins de 1 an par consommation de poudre de lait infantile contaminée (154 cas).

<sup>2</sup>Une épidémie nationale à *S. enterica* sérotype Give a été décrite en 2008 chez les enfants de moins de 1 an par consommation de poudre de lait infantile contaminée (58 cas).

1.3.1.3.7 Nombre de souches de *Salmonella* reçues par région

**Tableau 5:** Souches de *Salmonella* reçues par régions de 2005 à 2016

	2005	2008*	2010*	2012*	2015*	2016
<b>Alsace</b> 67-68	135	179 (12)	248 (21)	260 (18)	398 (0)	347
<b>Aquitaine</b> 24-33-40-47-64	387	352 (2)	348 (2)	481 (5)	488 (1)	488
<b>Auvergne</b> 03-15-43-63	135	149 (17)	152 (29)	214 (61)	275 (1)	212
<b>Bourgogne</b> 21-58-71-89	148	174 (38)	131 (33)	201 (34)	225 (1)	218
<b>Bretagne</b> 22-29-35-56	200	225 (16)	239 (22)	251 (14)	239 (0)	250
<b>Centre</b> 18-28-36-37-41-45	230	270 (0)	265 (31)	250 (0)	273 (0)	238
<b>Champagne-Ardenne</b> 08-10-51-52	83	116 (4)	99 (2)	156 (5)	172 (0)	164
<b>Corse</b> 2A-2B	26	51 (13)	39 (10)	46 (4)	57 (6)	64
<b>Franche-Comté</b> 25-39-70-90	121	173 (21)	115 (15)	148 (29)	219 (1)	169
<b>Ile-de-France</b> 75-77-78-91-92-93-94-95	1702	1567 (5)	1422 (11)	1540 (10)	1845 (7)	1661
<b>Languedoc-Roussillon</b> 11-30-34-48-66	248	421 (48)	372 (53)	613 (49)	618 (5)	482
<b>Limousin</b> 19-23-87	71	90 (1)	59 (0)	101 (0)	88 (0)	83
<b>Lorraine</b> 54-55-57-88	146	188 (5)	176 (3)	278 (18)	360 (6)	280
<b>Midi-Pyrénées</b> 09-12-31-32-46-65-81-82	428	412 (7)	379 (13)	527 (8)	691 (0)	452
<b>Nord-Pas-de-Calais</b> 59-62	238	309 (5)	379 (4)	416 (2)	467 (0)	402
<b>Basse-Normandie</b> 14-50-61	123	132 (0)	176 (0)	237 (1)	213 (0)	165
<b>Haute-Normandie</b> 27-76	184	159 (0)	96 (0)	135 (6)	226 (8)	206
<b>Pays de la Loire</b> 44-49-53-72-85	270	412 (41)	438 (64)	464 (48)	546 (0)	546
<b>Picardie</b> 02-60-80	130	189 (0)	118 (3)	206 (1)	301 (5)	147
<b>Poitou-Charentes</b> 16-17-79-86	209	187 (0)	307 (3)	230 (2)	303 (0)	260
<b>Provence-Alpes-Côte d'Azur</b> 04-05-06-13-83-84	360	481 (100)	420 (93)	580 (78)	668 (2)	526
<b>Rhône-Alpes</b> 01-07-26-38-42-69-73-74	562	809 (371)	920 (478)	1005 (394)	1157 (66)	970
<b>TOTAL Métropole</b>	<b>6136</b>	<b>7045</b>	<b>6898</b>	<b>8339</b>	<b>9829</b>	<b>8330</b>
Monaco	7	6 (0)	15 (0)	6	11 (0)	8
Guadeloupe	75	50 (10)	143 (15)	91 (1)	92 (0)	141
Martinique	91	63 (4)	85 (10)	88 (11)	98 (0)	87
Guyane	116	123 (0)	175 (0)	164 (0)	251 (0)	276
La Réunion	65	42 (5)	64 (0)	81 (0)	100 (0)	99
Mayotte	62	45 (0)	43 (0)	32 (0)	73 (0)	62
Polynésie française	0	21 (0)	31 (0)	62 (0)	21 (0)	27
St Pierre et Miquelon	0	0	1 (0)	1	1 (0)	2
Nouvelle-Calédonie	0	5 (0)	3 (0)	6	5 (0)	13

\*total des souches reçues (souches envoyées par Biomnis)

La donnée « code postal du patient » est présente pour 7058 souches de *Salmonella* reçues au CNR-ESS en 2016 (78%). Pour les 1987 souches non renseignées, le code postal du laboratoire a été pris par défaut. Depuis juillet 2008, le laboratoire Biomnis envoie systématiquement toutes les souches de salmonelles au CNR-ESS mais le nombre de souches envoyées étant en constante diminution, ce suivi particulier a été arrêté en 2016.

Un décret du 29 septembre 2016 fixe le nom des nouvelles régions métropolitaines. Les régions **Bretagne**, **Île-de-France**, **Provence-Alpes-Côte d'azur** et **Pays-de-la-Loire** conservent leur périmètre et leur nom. La région **Centre-Val de Loire** ne voit que son nom modifié. Les autres anciennes régions ont en revanche fusionné en 8 nouvelles: **Normandie**, **Hauts-de-France**, **Grand-Est**, **Nouvelle-Aquitaine**, **Occitanie**, **Bourgogne-Franche-Comté**, **Auvergne-Rhône-Alpes** et **Corse**.

**Tableau 6:** Souches de *Salmonella* reçues par nouvelles régions métropolitaines de 2011 à 2016

	2011*	2012*	2013*	2014*	2015*	2016
<b>Auvergne- Rhône-Alpes</b> 01-03-07-15-26-38-42-43-63-69-73-74	1262 (580)	1219(455)	1238 (397)	1236 (363)	1432 (67)	1182
<b>Bourgogne – Franche – Comté</b> 21-25-39-58-70-71-89-90	325(74)	349 (63)	412 (61)	365 (18)	444 (2)	387
<b>Bretagne</b> 22-29-35-56	278 (33)	251 (14)	261 (19)	224 (4)	239 (0)	250
<b>Centre-Val de Loire</b> 18-28-36-37-41-45	222 (1)	250 (0)	200 (2)	220 (1)	273 (0)	238
<b>Corse</b> 2A-2B	57 (3)	46 (4)	58 (1)	56 (1)	57 (6)	64
<b>Île-de-France</b> 75-77-78-91-92-93-94-95	1498 (17)	1540 (10)	1665 (13)	1611 (6)	1845 (7)	1661
<b>Grand-Est</b> 67-68-08-10-51-52-54-55-57-88	669 (26)	694 (41)	659 (23)	799 (12)	930 (6)	791
<b>Hauts-de-France</b> 02-60-80-59-62	465 (6)	622 (3)	553 (8)	652 (8)	768 (5)	549
<b>Normandie</b> 14-27-50-61-76	294 (1)	372 (7)	372 (4)	412 (22)	439 (8)	371
<b>Nouvelle-Aquitaine</b> 16-17-19-23-24-33-40-47-64-79-86-87	858 (5)	812 (7)	771 (4)	794 (3)	879 (1)	831
<b>Occitanie</b> 09-11-12-30-31-32-34-46-48-65-66-81-82	1260 (71)	1140 (57)	1174 (11)	1148 (8)	1309 (5)	934
<b>Pays de la Loire</b> 44-49-53-72-85	500 (56)	464 (48)	574 (51)	520 (5)	546 (0)	546
<b>Provence-Alpes-Côte d'Azur</b> 04-05-06-13-83-84	580 (99)	580 (78)	603 (61)	468 (18)	668 (2)	526
<b>TOTAL Métropole</b>	<b>8268</b>	<b>8339</b>	<b>8540</b>	<b>8505</b>	<b>9829</b>	<b>8330</b>

### 1.3.1.3.8 Le sérotype Typhi en 2016

En 2016, 150 souches de *S. enterica* sérotype Typhi isolées chez 143 patients ont été répertoriées au CNR-ESS. Le tableau ci-dessous précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignement, le lieu de la contamination probable de 2011 à 2016.

**Tableau 7:** Origine géographique des souches de sérotype Typhi de 2011 à 2016

Pays de contamination	Nombre de souches					
	2011	2012	2013	2014	2015	2016
<i>Afrique</i>	<b>31</b>	<b>18</b>	<b>25</b>	<b>26</b>	<b>14</b>	<b>28</b>
Afrique (sans précision)	2	1			1	3
Algérie	1	1				3
Angola			1	3		
Benin	1					
Burkina Faso	1		1	1		
Burundi			1			
Cameroun	2	2	2		1	1
Cap Vert			1			
Centrafrique	1			1		
Comores	1	1		2		1
Congo						
Côte d'Ivoire	1	1	3	2		1
Ghana				1		
Guinée	1		1			2
Madagascar	5	6				2
Mali	4	3	3	2	3	5
Maghreb (sans précision)					1	
Maroc	5	2	7	11	7	3
Mozambique			1		1	
Niger			1			1
Nigeria			1			
République Centrafricaine						1
Sénégal	6			3		3
Soudan		1				
Tchad						1
Togo			1			1
Tunisie			1			
<i>Asie</i>	<b>32</b>	<b>25</b>	<b>23</b>	<b>43</b>	<b>18</b>	<b>30</b>
Afghanistan			1			
Bengladesh	7	1	1	2		3
Cambodge	1	1	1			
Chine			1			
Inde	18	11	15	28	12	21
Indonésie		2		3		1
Liban				1		
Myanmar		1				
Népal	1		2			
Pakistan	4	5		8	5	4

Philippines			1			
Sri Lanka	1	1		1	1	
Thaïlande		3				
Vietnam						1
<i>Amériques</i>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>3</b>		<b>5</b>	<b>3</b>
Etats Unis					1	
Haïti			1		2	
Mexique	4	1	2		2	2
Pérou						1
<i>Europe</i>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>3</b>
Allemagne						1
Chypre				1		
Espagne	1				1	1
Italie					1	
Pays Bas					1	
Pologne					1	
Portugal						1
<i>DOM-TOM</i>	<b>40</b>	<b>38</b>	<b>42</b>	<b>34</b>	<b>58</b>	<b>43</b>
Guadeloupe	2	1	1	1		
Guyane	4	6	11	6	9	7
Martinique		1				
Mayotte	30	25	30	25	41	33
Polynésie française		1				
Nouvelle Calédonie					1	
Réunion	4	4		2	7	3
<b>Pays de contamination non précisé</b>	<b>29</b>	<b>31</b>	<b>31</b>	<b>35</b>	<b>28</b>	<b>36</b>
<b>TOTAL</b>	<b>138</b>	<b>113</b>	<b>124</b>	<b>139</b>	<b>127</b>	<b>143</b>



### 1.3.1.3.9 Le sérotype Paratyphi A en 2016

En 2016, 55 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi A ont été répertoriées au CNR-ESS pour 48 patients. Le tableau ci-dessous précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignement, le lieu de la contamination.

**Tableau 8:** Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi A de 2011 à 2016

Pays de contamination	Nombre de souches					
	2011	2012	2013	2014	2015	2016
<b><i>Afrique</i></b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>8</b>
Côte d'Ivoire			1			
Egypte				1		
Madagascar						1
Mali		1				
Mauritanie		1				1
Sénégal <sup>1</sup>	3	1	2	1	2	5
Tchad						1
<b><i>Asie</i></b>	<b>21</b>	<b>25</b>	<b>42</b>	<b>31</b>	<b>16</b>	<b>28</b>
Asie (sans précision)		4	2		1	2
Afghanistan	1			1		
Bengladesh					1	1
Cambodge <sup>1</sup>			23	14	3	4
Chine			1			1
Inde	16	14	8	4	5	13
Indonésie	1	2			1	
Laos	1			1		1
Myanmar		1	2		2	3
Népal			2	1		
Pakistan	1	2	1	1		3
Sri Lanka				1		
Thaïlande		1	1	8	3	
Vietnam	1	1	2			
<b><i>Pays de contamination non précisé</i></b>	<b>8</b>	<b>10</b>	<b>18</b>	<b>13</b>	<b>9</b>	<b>12</b>
<b>TOTAL</b>	<b>32</b>	<b>38</b>	<b>63</b>	<b>46</b>	<b>27</b>	<b>48</b>

<sup>1</sup> Une augmentation importante de cas de fièvres paratyphoïdes à *S. enterica* sérotype Paratyphi A a été notée chez des touristes français de retour du Cambodge. Cette épidémie a été confirmée localement et sévissait toujours en 2014 (Tourdjman *et al.* Euro Surveill 2013 et Vlieghe *et al.* Euro Surveill 2013).

### 1.3.1.3.10 Le sérotype Paratyphi B en 2016

Le sérotype Paratyphi B est associé à des fièvres paratyphoïdes ou à des diarrhées fébriles. Classiquement, les souches se différencient en fonction de leur capacité à fermenter le d-tartrate (dt). Ainsi, on peut subdiviser les souches de sérotype Paratyphi B en biotype dt- associées à une pathologie de type fièvre paratyphoïde et en biotype dt+ (ou Java) associées à de simples diarrhées. Actuellement, nous utilisons une PCR afin de confirmer les souches dt- des souches dt+ (Malorny *et al.* J Clin Microbiol 2003).

En 2016, 14 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi B de biotype dt- ont été répertoriées au CNR-ESS pour 14 patients.

Le tableau ci-dessous précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignement, le lieu de la contamination.

**Tableau 9:** Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi B de 2011 à 2016

Pays de contamination	Nombre de souches					
	2011	2012	2013	2014	2015	2016
<i>Afrique</i>	2		1	1	0	1
Algérie	1					
Maroc	1	1	1	1		1
<i>Asie</i>	2		2	0	1	3
Inde			1			
Indonésie						1
Turquie	2		1		1	2
<i>Amérique</i>				1	1	3
Amérique (sans précision)						1
Pérou				1	1	2
<i>Pays de contamination non précisé</i>	11	8	5	7	7	7
<b>TOTAL</b>	<b>15</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>14</b>

### 1.3.1.4 Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France

#### 1.3.1.4.1 Relevés périodiques envoyés à Santé publique France

##### Relevés hebdomadaires et déclaration obligatoire en 2016:

- **255 foyers de cas groupés** d'infections à *Salmonella* signalés par les laboratoires correspondants (**272** messages en 2015),
- informations épidémiologiques et microbiologiques diverses sur les souches étudiées au laboratoire pour les sérotypes de ***Salmonella* responsables des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes** ou sur les souches impliquées dans des épidémies,
- compte-rendu hebdomadaire de l'analyse d'un algorithme R aidant à la détection d'événements épidémiques.

### Relevés annuels :

Edition annuelle d'un **rapport d'activité** du CNR-ESS.

### Relevés ponctuels :

- réponses du CNR-ESS à des demandes d'information émanant de Santé publique France (extraction par sérotype, classe d'âge...),
- au cours d'une épidémie, extraction et expertise microbiologique.

#### 1.3.1.4.2 Notifications de foyers de cas groupés à *Salmonella*

En 2016, le CNR-ESS a retransmis à Santé publique France par télécopie ou par courrier électronique **255** notifications de foyers de cas groupés à *Salmonella*.

**Tableau 10:** Foyers de cas groupés de *Salmonella* de 2011 à 2016

	Foyers de cas groupés signalés à <i>Salmonella</i> au CNR-ESS en:					
	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Nombre total de foyers	<b>229</b>	<b>233</b>	<b>203</b>	<b>224</b>	<b>272</b>	<b>255</b>
Sérotype causal:						
Enteritidis	41	55	46	65	80	80
Typhimurium	60	61	50	47	74	43
1,4,[5],12:i:-	68	52	52	64	64	57

#### 1.3.1.4.3 Foyers de cas groupés à *Salmonella* du CNR-ESS en 2016

255 épisodes de cas groupés déclarant 901 cas (272 pour 1142 cas en 2015) ont été notifiés en 2016.

Nombre de sérotypes de *Salmonella* impliqués: 40

Foyers hospitaliers: 7 (17 cas)

Collectivité: 3 (23 cas)

Autre (sans précision): 34 (147 cas)

Foyers familiaux: 206 (686 cas)

Ecoles: 5 (28 cas)

### 1.3.2 Contribution à la surveillance de la résistance aux antibiotiques

Pour la première fois, cette campagne a été réalisée sur un échantillon représentatif des souches cliniques de *Salmonella* (sans orientation de sérotype dans l'échantillonnage), soit 932 sur 9045 souches reçues au CNR (10,3%, une souche par patient). Cette nouvelle campagne a été réalisée par l'étude des CMI via un appareil de lecture semi-automatique (Sensititre, Trek). Les molécules testées correspondent à la plaque commerciale EUVSEC qui contient les dilutions d'antibiotiques suivants: ampicilline (de 1 à 64 mg/L), céfotaxime (0,25 à 4), ceftazidime (0,5 à 8), méropénème (0,03 à 16), gentamicine (0,5 à 32), sulfaméthoxazole (8 à 1024), triméthoprim (0,25 à 32), tétracycline (2 à 64), tigécycline (0,25 à 8), chloramphénicol (de 8 à 128), l'acide nalidixique (4 à 128), ciprofloxacine (0,03 à 8), azithromycine (2 à 64) et colistine (1 à 16).

L'étude de la résistance aux antibiotiques est aussi réalisée annuellement sur un échantillon représentatif des principaux sérotypes de *Salmonella* (Typhi, Paratyphi, Kentucky,...voir ci après). La technique utilisée est l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé (*Enterobacteriaceae*) en suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM-EUCAST; communiqué 2015). De 16 à 32 antibiotiques sont testés. Les résultats dans ce rapport ne mentionnent que les principaux antibiotiques.

Abréviations utilisées: A, amoxicilline; CRO, ceftriaxone; CAZ, ceftazidime; S, streptomycine; Sp, spectinomycine; K, kanamycine; To, tobramycine; G, gentamicine; Su, sulfamides; Tmp, triméthoprim; C, chloramphénicol; Te, tétracycline; Nal, acide nalidixique; Cip, ciprofloxacine; Azi, azithromycine; Imp, imipénème.

#### 1.3.2.1 Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de *Salmonella* en 2016

Antibiotique	Catégorisation CMI (mg/L) Intermédiaire/Résistant	% de souches résistantes en 2016: n=932, N=9045
Ampicilline	> 8	28,6
Céfotaxime	> 1	0,5
Ceftazidime	> 1	0,5
Méropénème	> 2	0
Gentamicine	> 2	1,2
Acide nalidixique	> 16	12,5
Ciprofloxacine	> 0,06	13,3
Sulfaméthoxazole <sup>1</sup>	> 256	40,7
Triméthoprim	> 2	6,5
Co-trimoxazole <sup>2</sup>	-	6,1
Chloramphénicol	> 8	6,9
Tétracycline	> 8	29,8
Tigécycline	> 1	1,0
Azithromycine	> 16	1,1
Colistine	> 2	8,3

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches (une seule par patient) du sérotype reçues au CNR-ESS

<sup>1</sup> Déterminée pour sulfisoxazole, donnée CLSI 2015

<sup>2</sup> Molécule non testée, résistance commune aux deux molécules sulfaméthoxazole et triméthoprim

Depuis 2014, le CA-SFM intègre les recommandations européennes EUCAST. Des modifications importantes sont à noter pour la ciprofloxacine pour les salmonelles, en

catégorisant « résistant » les souches présentant un CMI > 0,06 mg/L. Cela regroupe les anciennes catégorisations CIP-SD (à sensibilité diminuée à la ciprofloxacine, 0,06<CMI <1) et CIP-R (> 1 mg/L). Ainsi en 2016, 107 souches de salmonelles avaient une CIP-DS (11,5%) et 17 une CIP-R (1,8%). Ces dernières sont dominées par les sérotypes: Kentucky (n=14), Typhi (n=2) et Agona (n=1).

Concernant la résistance à la colistine, nous avons trois sérotypes dominants, Enteritidis, Dublin et Arachavaleta qui présentaient une CMI à 4 mg/L mais pour lesquels aucun gène de résistance n'est associé. Ce phénomène connu pour ces sérotypes n'est pas à ce jour expliqué, fausse résistance, hétérogénéité ou mécanisme inconnu. Pour les autres, il s'agit bien d'une résistance associée à la présence du gène *mcr-1* (pour 4 souches).

### 1.3.2.2 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium de 1993 à 2016

Antibiotique	% de souches résistantes en :							
	1993 (n=297) (N=1593)	1997 (n=250) (N=2801)	2002 (n=320) (N=1756)	2005 (n=100) (N=1767)	2008 (n=102) (N=2714)	2010 (n=100) (N=1714)	2013 (n=107) (N=1698)	2016 (n=141) (N=1192)
Amoxicilline	55,2	68,4	64,5	60	61,8	70	60,7	49,6
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	<b>0,3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>3,7</b>	<b>3,5</b>
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	0	0	0	0
Gentamicine	0,3	0,7	0,3	0	1	4	0,9	0,7
Acide nalidixique	3	3,6	4	8	0	15	4,7	9,9
Ciprofloxacine <sup>1</sup>	0	0	<b>0,3</b>	0	0	0	0	0
Sulfamides	58,9	70	68	61	57,8	71	62,6	60,3
Triméthoprime	0	6	5,3	10	7,8	11	5,6	17,0
Chloramphénicol	44,1	61,2	57	42	39,2	54	43,9	30,5
Tétracycline	69,6	83,2	71	65	60,8	75	70,1	51,1
Tigecycline	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0,7
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	0	0	1,4
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0,7

n: nombre de souches étudiées

N: nombre de souches (une seule par patient) du sérotype reçues au CNR-ESS

<sup>1</sup> Seules sont comptabilisées les souches CIP-R, CMI > 1 mg/L et/ou diamètre < 19 mm

nt: non testé

Depuis ces dernières années, la prévalence du clone DT104, classiquement penta-résistant avec le profil AS[Sp]SuCTe, diminue en France. Environ 60% de souches de Typhimurium avaient un profil de résistance évocateur du lysotype DT104 entre 1997 et 2002, 51% en 2003, 41% en 2005 et autour des 38% depuis 2006. Depuis 2010 est apparu au sein de ce clone, le phénotype penta-résistant + résistance à l'acide nalidixique sans augmentation notable en terme de proportion.

Une des caractéristiques de l'année 2010 est l'avènement de souches résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G), et notamment avec le profil « ACroCazFoxSKTGSuTmPCTe » associé à une épidémie nationale (42 cas). L'analyse des mécanismes moléculaires de résistance ont permis d'identifier la production concomitante de la BLSE CTX-M-1 et de la céphalosporinase CMY-2 chez ces souches (<http://www.infectiologie.com/site/jni11-com.php>). En dehors de cette épidémie, les souches de *S. enterica* sérotype Typhimurium résistantes aux C3G restent stables, avec 5% des souches en 2016.

Une souche présentait une résistance à la colistine sans pourtant pouvoir associer un mécanisme de résistance à cette molécule.

### 1.3.2.3 Résistance aux antibiotiques du sérotype 1,4,[5],12:i- (monophasique) de 2007 à 2016

Antibiotique	% de souches résistantes en :						
	2007 (n=50) (N=121)	2008 (n=55) (N=410)	2010 (n=101) (N=1098)	2012 (n=105) (N=1852)	2013 (n=109) (N=2271)	2014 (n=105) (N=2235)	2016 (n=196) (N=1942)
Amoxicilline	64	83,6	89,1	89,5	89,9	86,7	87,2
Ceftriaxone/ceftazidime	0	1,8	3	0	0	0	<b>2,5</b>
Carbapénèmes	0	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	2	3,6	7,9	0	0	0	2,5
Acide nalidixique	0	1,8	1	0	0,9	0	5,1
Ciprofloxacine <sup>1</sup>	0	0	1	0	0	0	0
Sulfamides	40	81,8	87,1	91,4	89,9	83,8	91,3
Triméthoprime	16	25,5	19,8	3,8	2,7	6,7	12,2
Chloramphénicol	20	10,9	8,9	2,9	0,9	3,8	6,6
Tétracycline	90	90,9	92,1	93,4	95,4	86,7	84,7
Tigecycline	nt	nt	nt	nt	nt	nt	1,0
Azithromycine	nt	nt	0	0	0	0	1,5
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	0	4,1

n: nombre de souches étudiées

N: nombre de souches (une seule par patient) du sérotype reçues au CNR-ESS

<sup>1</sup> Seules sont comptabilisées les souches CIP-R, CMI > 1 mg/L et/ou diamètre < 19 mm

nt: non testé

Le sérotype 1,4,[5],12:i- (monophasique) est un sérotype qui est en très nette augmentation ces dernières années, passant de 113 isollements en 2006 à près de 2000 en 2016 (du 9ème au 2ème sérotype le plus fréquemment isolé). Cette augmentation est due à l'émergence d'un variant monophasique de *S. enterica* sérotype Typhimurium multi-résistant aux antibiotiques de profil majoritaire « ASSuTe », de PFGE-type XTYM-159, de lysotype DT193 (ou DT120) et de CRISPOL type (CT) 1.

Depuis ces dernières années, la multirésistance du sérotype Typhimurium est liée à la prévalence du clone DT104 (45% en 2013). Ce profil « ASSpSuCTe » (avec un gène *bla*<sub>PSE-1</sub> de résistance à l'amoxicilline) est quasi-inexistant chez le « variant » monophasique 1,4,[5],12:i- qui présente majoritairement (83,5%) un profil « ASSuTe » (avec un gène *bla*<sub>TEM</sub> de résistance à l'amoxicilline).

En 2016, huit souches étaient résistantes à la colistine. Pour quatre d'entre elles, une recherche a été effectuée et a permis de révéler la présence du gène *mcr-1*.

### 1.3.2.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis de 1993 à 2016

Antibiotique	% de souches résistantes en :							
	1993 (n=70) (N=2345)	1997 (n=380) (N=2585)	2002 (n=99) (N=2054)	2005 (n=100) (N=1495)	2008 (n=102) (N=1183)	2010 (n=97) (N=1175)	2013 (n=105) (N=1149)	2016 (n=284) (N=2099)
Amoxicilline	0	6,8	6,1	12	2	6,2	8,6	4,2
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	0	1	0	0,3
Carbapénemes	nt	nt	nt	nt	0	0	0	0
Gentamicine	0	0,5	0	2	0	0	0	0
Acide nalidixique	0	2	11,1	21	24,5	21,6	33,3	16,5
Ciprofloxacine <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0
Sulfamides	0	3,9	0	2	1	0	8,6	11,3
Triméthoprime	0	2,3	0	2	0	0	1,9	0,7
Chloramphénicol	0	0,7	0	0	0	0	1,9	0,7
Tétracycline	2,8	3,4	3	1	0	2,1	6,7	2,8
Tigecycline	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	0	0	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	18,6

n: nombre de souches étudiées

N: nombre de souches (une seule par patient) du sérotype reçues au CNR-ESS

<sup>1</sup> Seules sont comptabilisées les souches CIP-R, CMI > 1 mg/L et/ou diamètre < 19 mm

nt: non testé

Le sérotype Enteritidis reste globalement sensible aux antibiotiques. Cependant, la résistance à l'acide nalidixique est en bonne proportion depuis 1993. La résistance à la colistine est tout à fait notable pour ce sérotype mais aucun mécanisme de résistance évident n'y est associé. Une investigation est en cours pour essayer d'expliquer cette hétérogénéité entre phénotype et génotype.

### 1.3.2.5 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi de 1997 à 2016

Antibiotique	% de souches résistantes en :						
	1997 (n=40) (N=170)	2002 (n=40) (N=133)	2005* (n=63) (N=116)	2008* (n=85) (N=85)	2010* (n=108) (N=109)	2013* (n=79) (N=80)	2016* (n=100) (N=108)
Amoxicilline	0	2,5	8,1	11,8	15,7	16,4	17,0
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	0	0	0
Carbapénemes	0	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	0	7,5	17,8	30,6	38,9	35,4	35,0
Ciprofloxacine <sup>1</sup>	0	0	0	0	<b>2,7</b>	<b>7,6</b>	<b>5,0</b>
Cotrimoxazole	5	7,5	7,9	11,8	20,4	17,7	15,0
Chloramphénicol	7,5	7,5	5,9	10,6	16,7	19,0	11,0
Tétracycline	5	7,5	5,9	8,2	10,2	11,4	10,0
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	0	0	0

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype (une seule par patient) reçues au CNR-ESS

\*Souches isolées en France métropolitaine excluant les souches provenant de Mayotte, La Réunion et des Antilles-Guyane.

<sup>1</sup> Seules sont comptabilisées les souches CIP-R, CMI > 1 mg/L et/ou diamètre < 19 mm

nt : non testé.

En 2010-2016, la résistance à l'acide nalidixique (Nal<sup>R</sup>) était observée chez près de 40% des souches de **sérotype Typhi** (avec une CMI > 256 mg/L). Il est important de noter l'évolution vers la résistance de haut niveau à la ciprofloxacine (CMI ciprofloxacine de 6 à 32 mg/L) pour près de 5% des patients qui revenaient d'Inde, du Népal du Pakistan ou du Sri Lanka.

Les souches Nal<sup>R</sup> étaient acquises en 2016 suite à des séjours en Inde (n=17), au Pakistan (n=4), au Bangladesh (n=3), au Cameroun (n=1), en République centrafricaine (n=1), au Maroc (n=1), au Mexique (n=1) et au Vietnam (n=1).

Depuis ces dernières années de plus en plus de souches multirésistantes mais Nal<sup>S</sup> sont acquises en Afrique. Entre 2010 et 2016, lorsque le lieu de contamination est indiqué, les souches multirésistantes de profil ASSu[TmpC]Te provenaient d'Algérie, d'Angola, du Burkina Faso, du Cameroun, de Côte d'Ivoire, du Ghana, de Guinée, du Mali, du Nigeria, de République Centrafricaine et du Tchad (Baltazar *et al.* Emerg Infect Dis 2015).

En 2016, les souches de Typhi contractées dans les DOM-TOM, c'est à dire Mayotte (n=33), Guyane Française (n=7) et La Réunion (n=3) étaient toutes sensibles à l'amoxicilline, à l'acide nalidixique et au cotrimoxazole, exceptée pour deux souches Nal<sup>R</sup> (et Cip<sup>R</sup> pour un des 2 cas) isolées à La Réunion avec notion de voyage en Inde.

### 1.3.2.6 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A de 2005 à 2016

Antibiotique	% de souches résistantes en :						
	2005 (n=21) (N=33)	2008 (n=41) (N=41)	2010 (n=30) (N=30)	2011 (n=31) (N=32)	2012 (n=39) (N=39)	2013 (n=59) (N=60)	2016 (n=53) (N=58)
Amoxicilline	0	2,4	0	0	0	1,7	3,8
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	0	0	0
Carbapénèmes	0	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	71,4	61,9	76,7	90,3	64,1	39,0	90,6
Ciprofloxacine <sup>1</sup>	0	0	3,3	0	0	0	1,9
Cotrimoxazole	0	0	0	0	0	0	1,9
Chloramphénicol	0	2,4	0	0	0	0	1,9
Tétracycline	0	2,4	3,3	0	0	1,7	1,9
Azithromycine	0	NT	0	0	0	0	0

n: nombre de souches étudiées

N: nombre de souches du sérotype isolées en France métropolitaine (une par patient) reçues au CNR-ESS

<sup>1</sup> Seules sont comptabilisées les souches CIP-R, CMI > 1 mg/L et/ou diamètre < 19 mm

nt: non testé.

Le pourcentage de résistance à l'acide nalidixique (CMI >256 mg/L) des souches de **sérotype Paratyphi A** est élevé. En 2016, ces souches ont été contractées en Inde (n=14), au Cambodge (n=4), au Sénégal (n=4) au Pakistan (n=3), au Myanmar (n=2), à Madagascar (n=2), au Bangladesh (n=1), en Chine (n=1) et au Laos (n=1). Depuis 2013, une augmentation de cas infectés après un séjour au Cambodge, d'abord par une souche de Paratyphi A sensible aux antibiotiques en 2013-2014 puis depuis 2015 par la même souche devenue Nal<sup>R</sup> (Tourdjman *et al.* Euro Suveill 2013 et Kuijpers *et al.* Microb Genom 2016).



### 1.3.2.7 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B de 2000 à 2016

Antibiotique	% de souches résistantes en :						
	2000 (n=68) (N=75)	2002 (n=78) (N=78)	2006 (n=35) (N=51)	2008 (n=47) (N=51)	2012 (n=37) (N=37)	2014 (n=41) (N=48)	2016 (n=100) (N=106)
Amoxicilline	5,1	28,2	8,6	8,5	16,2	12,2	8,0
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	2,7	0	0
Carbapénèmes	0	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	1,5	0	2,9	4,3	10,8	4,9	7,0
Ciprofloxacine <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0	0
Sulfamides	5,1	29,5	8,6	8,5	16,2	22,0	11,0
Triméthoprime	0	7,7	0	2,1	2,7	9,8	5,0
Chloramphénicol	5,1	24,4	8,6	8,5	10,8	4,9	3,0
Tétracycline	7,4	25,6	8,6	12,7	18,9	4,9	6,0

n: nombre de souches étudiées

N: nombre de souches du sérotype (une par patient) reçues au CNR-ESS

<sup>1</sup> Seules sont comptabilisées les souches CIP-R, CMI > 1 mg/L et/ou diamètre < 19 mm

Aucune souche de **Paratyphi B dt-** sur les 59 isolées durant la période 2010-2016, n'était résistante à l'amoxicilline mais 12 présentaient une résistance à l'acide nalidixique avec CMI > 256 mg/L et une avec une CMI à 12 mg/L. Cette dernière, isolée en 2013, possédait une mutation non-synonyme isolée dans le gène *gyrB* (Ser464Phe) comme ce qui avait été précédemment décrite pour certaines populations de Typhi (Accou-Demartin *et al.* Emerg Infect Dis 2011). En 2012, une souche Paratyphi B dt+ (biotype Java) produisait une céphalosporinase de type CMY et en 2013, deux souches produisaient une BLSE de type CTX-M-1.

### 1.3.2.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky de 2001 à 2016

Antibiotique	% de souches résistantes en :								
	2001 (n=28) (N=29)	2002 (n=31) (N=31)	2004 (n=32) (N=34)	2006 (n=55) (N=56)	2008 (n=126) (N=126)	2010 (n=188) (N=207)	2012 (n=185) (N=185)	2014 (n=162) (N=166)	2016 (n=164) (N=167)
Amoxicilline	21,4	22,6	21,9	25,5	57,1	69,4	66	69,1	79,3
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	0	<b>4,2</b>	<b>1,6</b>	<b>1,2</b>	<b>1,8</b>
Carbapénèmes	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	21,4	25,8	18,8	16,4	47,3	59,6	49,7	51,2	50,6
Acide nalidixique	21,4	25,8	25	32,7	77,7	84,5	83,7	84,6	89,6
Ciprofloxacine	0	<b>3,2</b>	<b>15,6</b>	<b>30,9</b>	<b>74,6</b>	<b>85,1</b>	<b>82,7</b>	<b>82,1</b>	<b>89,0</b>
Sulfamides	31,8	29	28,1	20	51,6	68,4	54,6	62,3	76,8
Triméthoprim	3,6	3,2	15,6	3,6	4	9,8	8,1	8,6	12,2
Chloramphénicol	0	3,2	9,4	1,8	9,5	5,7	2,1	8,0	6,7
Tétracycline	31,8	35,5	25	23,6	53,2	68,4	62,7	74,1	79,9
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	<b>1,1</b>	<b>3,2</b>	<b>2,5</b>	<b>1,8</b>

n : nombre de souches étudiées,

N : nombre de souches du sérotype (une seule par patient) reçues au CNR-ESS

nt : non testé.

<sup>1</sup> Seules sont comptabilisées les souches CIP-R, CMI > 1 mg/L et/ou diamètre < 19 mm

Depuis 2002, nous assistons à l'émergence de souches hautement résistantes à la ciprofloxacine au sein du sérotype Kentucky lié au clone X1-ST198 (Le Hello *et al.* J Infect Dis 2011 et Le Hello *et al.* Front Microbiol 2013). Les profils majoritaires rencontrés sont « ASSpGSuTeCip », « ACip » et « Cip ». A noter que des souches Cip<sup>R</sup> avec une résistance additionnelle aux C3G et aux carbapénèmes (souches marocaines produisant VIM-2, souches algériennes et égyptiennes produisant OXA-48) ou à l'azithromycine isolées depuis 2009 ont été décrites par le CNR-ESS (Le Hello *et al.* Lancet Infect Dis 2013 et Ktari *et al.* J Antimicrob Chemother 2015). A noter en 2014 l'isolement de la première souche de Kentucky productrice de NDM-1 dans une fabrique française.

### 1.3.2.9 Souches de *Salmonella* présentant une résistance particulière aux antibiotiques détectées au CNR-ESS en 2016

Depuis 2016, une fraction des souches de salmonelles sont séquencées et leur génome entier (n=2345 sur 9045, soit 25,9%) est analysée à la recherche des gènes de résistance via des scripts bioinformatiques développés *in situ* et à l'aide d'un site publique, Resfinder du Center for Genomic Epidemiology-CGE (<http://www.genomicepidemiology.org/>).

#### 1.3.2.9.1 Souches résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération

Deux mécanismes de résistance aux C3G et communs aux entérobactéries sont décrits chez *Salmonella*. Ces mécanismes de support plasmidique sont la production d'une BLSE et/ou la production d'une céphalosporinase (AmpC). Ils sont émergents chez *Salmonella*.

a- *Salmonella* productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu reçues au CNR-ESS en 2016

Type de la BLSE	N <sup>1</sup>	Sérotype(s) associé(s)	Renseignements épidémiologiques
CTX-M-1	1	4,5,12:i- (monophasique)	Contexte inconnu
	1	Infantis	Contexte inconnu
	1	Napoli	Contexte inconnu
	3	Typhimurium	Contexte inconnu
CTX-M-15	2	Poona	Contexte inconnu
CTX-M-55	1	4,5,12:i- (monophasique)	Contexte inconnu
CTX-M-9	14	Typhimurium	Maroc (4), Algérie (1), contexte inconnu (9)
SHV-12	1	Infantis	Contexte inconnu

<sup>1</sup>Nombre de souches (une souche par patient).

b- *Salmonella* productrices de céphalosporinases plasmidiques reçues au CNR-ESS en 2016

Type de la céphalosporinase	N <sup>1</sup>	Sérotype(s) associé(s)	Renseignements épidémiologiques
ACC-1	1	4,5,12:i:- (monophasique)	Contexte inconnu
CMY-2	1	4,12:i:- (monophasique)	Polynésie Française
	1	4,5,12:i:- (monophasique)	Séjour en Thaïlande
	1	Dublin	Contexte inconnu
	1	Heidelberg	Saint Pierre et Miquelon
	1	Regent	Séjour en Espagne
	1	Stanley	Séjour en Malaisie
	1	Typhimurium	Suisse
CMY-51	1	Enteritidis	Contexte inconnu

<sup>1</sup>Nombre de souches (une souche par patient).

Les souches de *Salmonella* résistantes aux C3G étaient rares jusqu'en 2009, mais depuis elles sont de plus en plus fréquemment isolées.

Les études de sensibilité aux antibiotiques menées par le CNR-ESS de 1993 à 2007 par échantillonnage des deux sérotypes majeurs, Enteritidis et Typhimurium (2718 souches testées) n'ont mis en évidence que quatre souches résistantes (0,15%), dont trois de sérotype Typhimurium. Un nombre croissant de souches résistantes aux C3G pour Typhimurium et son variant monophasique est observé au CNR-ESS, avec 9 souches en 2008 (7 Typhimurium et 2 monophasiques) et 12 en 2009 (9 Typhimurium et 3 monophasiques). L'année 2010 a été exceptionnelle avec l'épidémie nationale à *S. enterica* sérotype Typhimurium produisant simultanément une CTX-M-1 et une CMY-2 (plus de 40 cas).

D'autres sérotypes sont, depuis quelques années, particulièrement affectés par cette résistance comme Virchow avec 15 souches sur 689 testées (2,2%) entre 1997 et 2007 (CTX-M-2; CTX-M-9; TEM-52; SHV-12), Newport avec 58 souches sur 936 testées (6,2%) entre 1997 et 2008 qui produisaient la céphalosporinase CMY-2 et pour les Kentucky du clone ST198 déjà résistantes à la ciprofloxacine et qui expriment depuis 2010 des résistances aux C3G (CMY, CTX-M ou SHV) et à l'imipénème (OXA-48 ou VIM-2). L'atteinte préférentielle de ces sérotypes est un phénomène observé sur le plan international et serait vraisemblablement consécutif à l'utilisation de C3G dans la filière animale (bovins pour Newport et volailles pour Virchow et Kentucky). A côté de ces sérotypes majeurs, le CNR-ESS détecte des sérotypes rares producteurs de BLSE (Babelsberg, Concord, Derby, Waycross, Havana, Telelkebir, Nima...) depuis 2003. Le plus souvent il s'agit de salmonelles sélectionnées par une mauvaise utilisation de C3G chez des enfants candidats à l'adoption dans leur pays d'origine (Mali, Ethiopie et Vietnam). Des épidémies hospitalières sont également révélées avec un nombre de cas faible mais persistant sur plusieurs années au sein d'une même structure de soin. Des mesures de contrôles spécifiques permettent généralement leur éradication.

c- *Salmonella* productrices de carbapénémases reçues au CNR-ESS en 2009-2016

Type de la résistance aux carbapénèmes	N <sup>1</sup>	Sérotype	Année	Renseignements épidémiologiques
Mutations ompC et D	1	Indiana	2014	Acquisition hospitalière
VIM-2	5	Kentucky	2010	Maroc
OXA-48	1	Kentucky	2011	Séjour en Egypte
OXA-48	1	Kentucky	2013	Séjour en Algérie
OXA-48	1	Saintpaul	2009	Séjour en Egypte
NDM-1	1	Westhampton	2012	Séjour en Inde

<sup>1</sup>Nombre de souches (une souche par patient).

Les souches de *Salmonella* productrices de carbapénémases sont encore très rarement décrites. Cependant, quelques souches apparaissent, en particulier chez le clone multi-résistant Kentucky ST198 Cip<sup>R</sup> « X1-ST198-SGI1-Ks » (voir ci-dessous).

#### 1.3.2.9.2 Souches résistantes à la ciprofloxacine

La résistance à la ciprofloxacine définie *in vitro* par une concentration minimale inhibitrice (CMI) supérieure à 1 mg/L (communiqué 2013 du CA-SFM) reste de vigueur pour ce rapport 2016. Les versions postérieures sont fortement modifiées pour s'harmoniser avec les recommandations européennes EUCAST où la résistance à la ciprofloxacine est définie avec une CMI > 0,06 mg/L. Le suivi des résistances à cette molécule clé de traitement des salmonelloses sévères est *de facto* modifié. Les mécanismes de résistance aux fluoroquinolones sont principalement des modifications au niveau du site de fixation de ces antibiotiques au niveau de la DNA gyrase et la topoisomérase IV. Ces modifications sont dues à des mutations ponctuelles dans les gènes *gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE*. L'accumulation de mutations et la présence additionnelle d'un mécanisme d'efflux ou de facteurs plasmidiques comme les gènes *qnr* et le gène *aac6'-Ib-cr* augmentent le niveau de résistance de ces souches.

#### a- Souches du sérotype Kentucky résistantes à la ciprofloxacine détectées au CNR-ESS, 2000-2016

La première souche de sérotype Kentucky Cip<sup>R</sup> avait été isolée en décembre 2002 en France chez un touriste français qui avait souffert d'une gastroentérite au cours d'une croisière sur le Nil. Depuis, un nombre croissant de ces souches avait été isolé lors de salmonelloses au cours ou au décours d'un voyage en Egypte ou en Afrique de l'Est (2000-2005) puis Afrique du Nord (Maroc principalement) et Afrique de l'Ouest (2006-2009) (Weill *et al.* Emerg Infect Dis 2006).

Le typage moléculaire a révélé que ces souches appartenaient à un seul clone « X1-ST198-SGI1-Ks » défini par le profil PFGE X1, le séquençotype ST198 et la présence de l'îlot génomique SGI1 variant -Ks (et ses dérivés -Ps, -Qs). L'étude des mécanismes de résistance à la ciprofloxacine avait identifié deux substitutions significatives dans GyrA (Ser83Phe et Asp87Gly/Asn/Tyr ou Leu) et une dans ParC (Ser80Ile). Une collaboration internationale a révélé l'émergence, à l'échelon mondial, de ce clone et la similarité des souches humaines

Cip<sup>R</sup> avec des souches aviaires (poulets et dindes), aquacoles (fruits de mer) et environnementales (épices) de pays d'Afrique (Le Hello *et al.* J Infect Dis 2011, Le Hello *et al.* Antimicrob Agents Chemother 2013 et Le Hello *et al.* Front Microbiol 2013).

Le suivi de ce clone par le CNR-ESS indique que cette souche s'est installée en Europe (élevage de dinde en Pologne), au Moyen-Orient, dans le sous-continent Indien et en Asie du Sud-Est et présente, désormais, des résistances additionnelles aux C3G (CTX-M, CMY ou SHV) ou aux carbapénèmes (OXA-48, VIM-2 ou NDM-1) (Le Hello *et al.* Lancet Infect Dis 2013 et données personnelles). Plus récemment, les premières souches de Kentucky CIP<sup>R</sup> ont été isolées d'élevage de volailles françaises (Guillon *et al.* BE 2013).

#### 1.3.2.9.3 Souches de sensibilité diminuée à la ciprofloxacine d'origine plasmidique en 2016

La résistance aux fluoroquinolones peut être également le fait de facteurs plasmidiques comme les gènes *qnr A, B, S*, les gènes *oqxA* et *B*, *qepA* et le gène variant *aac6'-Ib-cr* qui augmentent le niveau de résistance de ces souches aux fluoroquinolones. Les études de sensibilité aux antibiotiques menées par le CNR-ESS par échantillonnage en 2016 permettent de confirmer la présence de ces gènes pour les souches suivantes:

gène impliqué	N <sup>1</sup>	Sérotype	Lieu probable de contamination quand indiqué
<i>aac6'-Ib-cr</i>	1	4,5,12:i:- (monophasique)	
	1	Kentucky	
	2	Poona	
<i>oqxA-B</i>	1	Derby	
<i>qepA</i>	1	Kentucky	
<i>qnrA1</i>	1	Montevideo	Algérie (1)
	13	Typhimurium	Maroc (4), Algérie (1)
<i>qnrB1</i>	2	Poona	
<i>qnrB19</i>	5	4,5,12 :i :- (monophasique)	
	6	4,12:i:- (monophasique)	
	1	Agona	Pérou (1)
	1	Corvallis	Maroc (1)
	6	Schwarzengrund	Côte d'Ivoire (1), Maroc (1)
	1	Bredeney	
	35	Chester	Côte d'Ivoire (1), Maroc (12), Mali (1), Sénégal (1)
	6	Enteritidis	Espagne (1)
	1	Larochelle	Cameroun (1)
	2	Muenchen	
	1	Nessziona	
	2	Newport	
	2	Paratyphi B Java	
	2	Poona	
	1	Reading	
	1	Saintpaul	
	3	Sandiego	
	2	Typhimurium	
	<i>qnrB6</i>	1	Entertidis
1		Lichtfield	
3		Saintpaul	
1		Mikawasima	
<i>qnrS1</i>	4	4,5,12:i:- (monophasique)	Thaïlande (2)
	2	4,12:i:- (monophasique)	Maroc (1)
	3	Agona	Asie (1)
	6	Chester	Maroc (1)
	3	Corvallis	Cambodge (1), Indonésie (1)
	1	Dublin	
	1	Goldcoast	
	2	Infantis	
	2	Montevideo	Thaïlande (1), Cambodge (1)
	2	Newport	
	1	Rissen	
	3	Saintpaul	Vietnam (1)
	2	Stanley	Malaisie (1)
	3	Typhimurium	
	<i>qnrS2</i>	1	Indiana

<sup>1</sup>Nombre de souches (une souche par patient).

La majorité des souches ayant acquis une résistance diminuée à la ciprofloxacine médiée par un plasmide possédaient le gène *qnrS1* et/ou *qnrB19*. Les souches possédant un gène *qnrS* étaient principalement isolées chez des patients qui revenaient majoritairement d'un séjour en Asie et celles possédant un gène *qnrB* ou *qnrA* étaient acquises en Afrique. Depuis septembre 2014, une épidémie importante de salmonelloses à sérotype Chester sévit au Maroc et est multi-source, les souches ont la particularité de posséder soit le gène *qnrS1* soit le gène *qnrB19* (Fonteneau *et al.* Euro Surveill 2017 et paragraphe 1.3.4).



### 1.3.3 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

Chaque année le CNR-ESS adresse à deux instances internationales, l'OMS et l'OIE, des données sur le nombre de *S. enterica* sérotypes Enteritidis et Typhimurium isolées en France.

Les souches étudiées au CNR-ESS dont les formules antigéniques ne figurent pas dans le schéma de White-Kauffmann-Le Minor sont transmises pour validation au Centre Collaborateur OMS de Référence et de Recherche pour les *Salmonella* (CCOMS) dont les responsables sont ceux du CNR-ESS. En 2016, le CNR-ESS a adressé au CCOMS les putatifs nouveaux sérotypes ou nouveaux variants suivants:

- le putatif nouveau sérotype (nom en cours d'homologation) de sous-espèce *enterica* de formule 1,42:1,v:1,5
- le putatif nouveau sérotype d'espèce *enterica* de formule 6,7:z4,z23:-
- le putatif nouveau sérotype de sous-espèce *enterica* de formule 6,14,25:c:1,7

et a confirmé les sérotypes/variants suivants qui seront décrits dans le prochain schéma de white-Kauffmann-Le Minor ainsi que dans son supplément:

- le nouveau sérotype **Gisors** de sous-espèce *enterica* de formule **39:g,m:-**
- le nouveau sérotype **Mainetloire** de sous-espèce *enterica* de formule **6,8:e,h:1,7**
- le nouveau variant **H:f** du sérotype **Warragul** de sous-espèce *enterica* de formule **6,14:f,g,m:-**
- le nouveau variant **O:1** du sérotype **Rubislaw** de sous-espèce *enterica* de formule **1,11:r:e,n,x**
- le nouveau variant H:p du sérotype Senftenberg de sous-espèce *enterica* de formule **1,3,19:g,p,s,t:-**
- 

Les responsables du CNR-ESS participent au réseau Global Foodborne Infections Network de l'OMS comme enseignants pour la partie microbiologique (cours théoriques et travaux pratiques) lors de formations organisées par ce réseau. L'édition 2007 du schéma de White-Kauffmann-Le Minor par P.A.D. Grimont et F.X. Weill est accessible en version française sous forme d'un fichier pdf téléchargeable à l'adresse suivante:

<http://www.pasteur.fr/ccoms/salmonella>

### 1.3.4 Contribution à l'alerte et à l'investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux à *Salmonella* en 2016

En 2016, le CNR-ESS a participé aux investigations des cas groupés à *Salmonella* suivantes:

- au suivi microbiologique de l'épidémie de salmonelloses à sérotype Chester chez des patients en provenance du Maroc, principalement en période de rentrée scolaire. Plus de 200 cas humains ont été recensés entre 2014 et 2016. Toutes les souches avaient été acquises préférentiellement sur le littoral marocain et la consommation de fruits de mer a été suspectée. Le CNR-ESS a analysé par WGS 150 souches humaines provenant de France, de Belgique, du Luxembourg, du Danemark et du Royaume Uni et six souches alimentaires et/ou environnementales (poulet, dinde, farine animale et eaux usées du Maroc). L'analyse des génomes indique un cluster épidémique de MLST type ST1954, pouvant porter 2 types différents de plasmides: incN-qnrS1 ou

ColE-qnrB19. L'épidémie n'est pas contenue au Maroc et s'est étendue aux mouvements plus récemment d'Afrique de l'Ouest (Fonteneau *et al.* Euro Surveill 2017).

- à la détection et à l'investigation microbiologique d'une augmentation nationale de salmonelloses liées au sérotype Dublin entre novembre 2015 et février 2016. Une investigation d'une grande ampleur, tant du côté vétérinaire que humain, microbiologique et épidémiologique, a été menée conjointement par le CNR-ESS, l'ANSES (Maisons-Alfort) et Santé publique France. Grâce à une approche microbiologique fine pour ce sérotype (WGS et MLVA), plusieurs épidémies successives liées à la consommation de fromages au lait cru contaminés (Vacherin pour la période novembre-décembre 2015 et Morbier pour la période janvier-février 2016) ont été détectées. Plus aucun cas épidémique n'est à noter après cette période. Un système de surveillance particulier a été mis en place chez les éleveurs-producteurs de Franche-Comté afin de contrôler cette émergence récente et les épidémies futures.
- à la participation aux investigations microbiologiques des épidémies transfrontalières suite aux notifications d'augmentation de cas de salmonelloses au sein d'un pays européen. Ces investigations se sont basées sur l'analyse des génomes de la (les) souche (s) contaminante (s) et des souches séquencées au CNR. Cela a permis d'identifier des cas français à *S. enterica* sérotype Enteritidis en lien avec la consommation d'œufs produits en Pologne en mars 2016, de cas à *S. enterica* sérotype Braenderup sans source retrouvée, à *S. enterica* sérotype Enteritidis avec la consommation d'œufs produits en Espagne en octobre 2016. Cela a permis aussi, au contraire, d'indiquer l'absence de cas à *S. enterica* sérotype Stourbridge en décembre 2016 sans source retrouvée. La confirmation d'une contamination transfrontalière a permis aux autorités européennes de prendre les mesures adéquates de retrait-rappel avec les pays concernés.

### **1.3.5 Contribution à la diffusion des données de surveillance et production du CNR**

Les rapports d'activité complets du CNR-ESS (depuis 2006) sont consultables (fichiers pdf) sur le site web de l'Institut Pasteur à l'adresse suivante: <http://www.pasteur.fr/cnr/salmonella>

# *Escherichia coli*

## 2/ *Escherichia coli*

### 2.1 Missions et organisation du CNR

Voir annexe 1

### 2.2 Activités d'expertise

#### 2.2.1 Activité d'expertise en 2016

En 2016, un total de 2145 prélèvements, dont 499 souches de *E. coli*, 970 prélèvements de selles, 564 sérums ont été analysés au CNR-ESS et au LA-RD.

La répartition des différents types de prélèvements, leur origine et leur nombre sont résumés dans le **tableau 11**.

**Tableau 11:** Répartition des différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au CNR-ESS et au LA-RD pour *E. coli*, année 2016

Activité	Type de prélèvement	CNR-ESS	LA-RD	Total	
<i>E. coli</i>	Selles ou écouvillonnage rectal	297	673	970	
	Sérums	564	-	564	
	Extrait d'ADN de selles	1	26	27	
	Biopsie digestive	-	2	2	
	<b>Souches humaines isolées de:</b>				
	Selles ou écouvillonnage rectal/anal	334	42	376	
	Biopsies	5	2	7	
	LCR	0	21	21	
	Sang	6	43	49	
	Urines	6	19	25	
	Liquide péritonéal	1	2	3	
	Pus profonds	0	5	5	
	Prélèvements articulaires	0	3	3	
	Autres	6	4	10	
	<b>Sous-total souches humaines</b>	<b>358</b>	<b>141</b>	<b>499</b>	
	<b>Autres origines</b>				
	Origine animale/alimentaire	63*	-	63	
	Etude	20**	-	20	
	<b>Total prélèvements</b>	<b>1303</b>	<b>842</b>	<b>2145</b>	

\* Animal: 13 Alimentaire: 50

\*\* Contrôle inter-laboratoire

Le nombre total de prélèvements reçus et traités au CNR-ESS et au LA a augmenté de 8,8% entre 2015 et 2016 (1970 prélèvements reçus en 2015). En 2016, une seule épidémie liée au séro groupe EHEC O26 a été observée dans une crèche de Marseille (voir chapitre « Contribution à la surveillance épidémiologique »).

Parmi les 2145 prélèvements reçus au CNR-ESS et LA, 2109 provenaient de métropole, 16 des DOM-TOM, et 20 prélèvements pour un contrôle de qualité international réalisé à la fois par le CNR-ESS et le LA-RD.

### **2.2.2 Inventaire des souches de *E. coli* d'origine intestinale et des selles analysées en 2016**

Le CNR-ESS a reçu au total 358 souches, 297 selles, ainsi qu'un extrait d'ADN de selles. Le LA-RD a reçu 141 souches et 673 selles, ainsi que 26 extraits d'ADN de selles et deux biopsies digestives (**Tableau 11**).

Ces prélèvements ont été adressés par des services hospitaliers, des laboratoires d'analyses médicales, facultés de médecine, centres de santé, laboratoires départementaux et Instituts médicaux ou vétérinaires.

## 2.2.3 Bilan des activités concernant les *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC)

### 2.2.3.1 Analyse de la répartition des symptômes donnant lieu à une analyse de selles, souches ou sérums

Les prélèvements de selles et/ou souches ont été reçus pour 1225 patients et les sérums pour 426 patients. Les symptômes ayant motivé une recherche de *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC) ont été précisés pour 80% (979/1225) des patients en ce qui concerne les selles et/ou les souches et pour 49% (209/426) des patients en ce qui concerne les sérums. Ils sont répertoriés dans le **tableau 12**.

**Tableau 12:** Symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC, souches, selles et sérums reçus au CNR-ESS et au LA-RD, année 2016

Symptômes observés	Souches/selles* N / 979 (%)	Sérums* N / 209 (%)
Diarrhée glairo-sanglante ou diarrhée sanglante	295 (30,1%)	9 (4,3%)
SHU**/suspicion de SHU**	175 (17,9%)	167 (79,9%)
Diarrhée/gastro-entérite aiguë	259 (26,5%)	26 (12,4%)
Microangiopathie thrombotique (MAT)	53 (5,4%)	2 (1%)
Entourage de SHU	52 (5,3%)	
Contrôle post-azithromycine***	26 (2,7%)	
Diarrhée au retour de voyage	16 (1,6%)	
Colite hémorragique	6 (0,6%)	
Anémie, thrombopénie	1 (0,1%)	2 (1%)
Choc septique/toxinique	3 (0,3%)	2 (1%)
Insuffisance rénale aiguë	7 (0,7%)	1 (0,5%)
Sepsis	9 (0,9%)	
Protocole microbiote fecal	33 (3,4%)	
Autre	21 (2,2%)	
Asymptomatique	22 (2,2%)	

\* nombre de patients pour lequel le(s) symptôme(s) est (sont) spécifié(s)

\*\*SHU: syndrome hémolytique et urémique

\*\*\* Pratiqué chez des patients comptabilisés 1 fois en SHU

### 2.2.3.2 Résultats obtenus sur les prélèvements de selles en 2016

Sur les 970 prélèvements de selles reçus, la **recherche directe** des gènes de Shiga-toxines par amplification génique *in vitro* (PCR) a été positive pour **272 échantillons, soit 28%** des selles reçues; **ces résultats correspondent à 255 patients**, soit 26% des patients ayant bénéficié de cet examen.

Les résultats de la PCR directe sur les selles ont été corrélés aux résultats obtenus après culture de celles-ci, à l'exception de 124 patients (48%) pour lesquels la recherche directe des gènes de Shiga-toxines sur les selles était positive sans qu'aucune souche EHEC n'ait pu être isolée.

### 2.2.3.3 Souches de *E. coli* d'origine humaine productrices de Shiga-toxines isolées au CNR-ESS et LA-RD en 2016

#### 2.2.3.3.1 Analyse sur des souches de *E. coli* d'origine humaine productrices de Shiga-toxines

La présence des gènes *stx1* et *stx2* codant respectivement les Shiga-toxines STX1 et STX2 a été recherchée dans tous les prélèvements et/ou souches reçus. Le gène *eae*, codant l'attachement et l'effacement aux cellules épithéliales présents chez les EHEC et les EPEC, a également été recherché, ainsi que le gène *ehxA* codant l'enterohémolysine.

En 2016, le CNR-ESS a séquencé le génome entier toutes leurs souches de EHEC reçues et/ou isolées de selles. Les analyses mises en place permettent d'extraire le sérotype, le MLST-7 gènes, un grand panel de gènes de virulence et les gènes de résistance à l'aide d'un site public du Center for Genomic Epidemiology- CGE. (<http://www.genomicepidemiology.org/>)

En 2016, 186 souches de EHEC ont été confirmées par le CNR-ESS ET LA-RD. Parmi ces 186 souches, sept souches avaient été isolées au LA-RD en 2015 mais ont été reçues au CNR-ESS en 2016 pour sérotypage moléculaire et séquençage complet du génome. Ces sept souches sont donc exclues de l'analyse des données sur les souches 2016. Il s'agissait de deux souches O128:H2, deux souches O146:H21, une souche O172:H25, une souche O182:H25 et une souche non sérotypable.

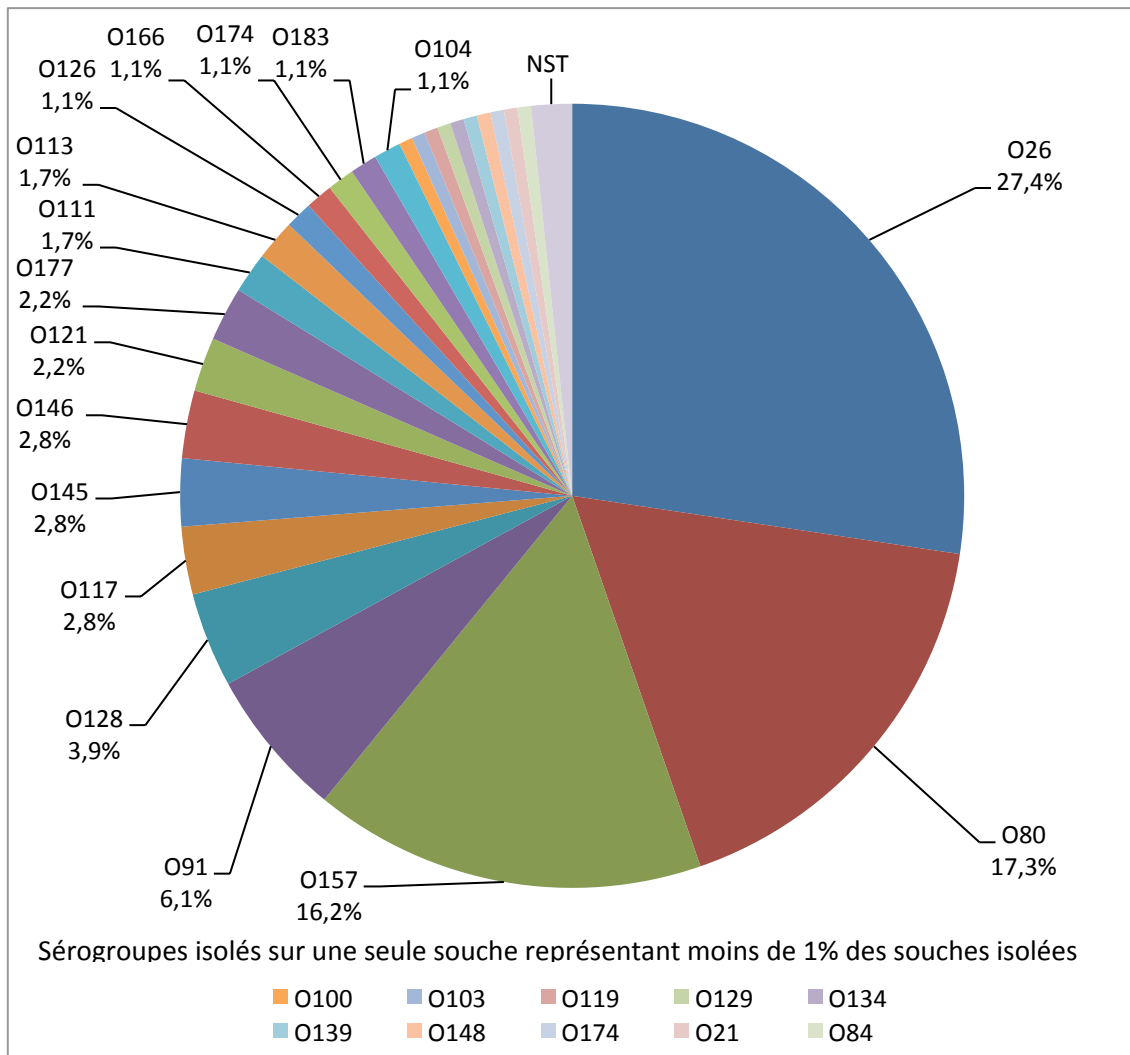
Ainsi, **179 souches** sont présentées dans ce rapport au titre de l'exercice de l'année 2016. Ces souches ont été isolées chez 178 patients (co-infection pour un patient). Les données de sérogroupes (LA-RD) et de sérotype (CNR-ESS) sont agrégées et présentées ci-dessous.

Les sérogroupes majoritairement isolés en France en 2016 étaient (**figure 4**):

- O26: 49 souches isolées soit 27,4% dont 48 souches ont été séquencées toutes de sérotype O26:H11
- O80: 31 souches isolées soit 17,3% dont 11 souches ont été séquencées toutes de sérotype O80:H2
- O157: 29 souches isolées soit 16,2% dont 13 souches ont été séquencées toutes de sérotype O157:H7
- O91: 11 souches isolées soit 6,1% dont 4 souches ont été séquencées toutes de sérotype O91:H21
- O128: 7 souches isolées soit 3,9% et toutes séquencées O128:H2
- O117: 5 souches isolées soit 2,8% et toutes séquencées O117:H7
- O145: 5 souches isolées soit 2,8% dont 2 souches ont été séquencées toutes de sérotype O145:H34
- O146: 5 souches isolées soit 2,8% et toutes séquencées O146:H21

Trois souches sont restées non sérogroupables (NST).

En 2016, en faisant abstraction de l'épidémie à EHEC O26 survenue à Marseille, le séro groupe O26 est prédominant en France. Le séro groupe O80 est le second séro groupe devant le séro groupe O157. Le séro groupe O80 poursuit son augmentation: 17,3 % des souches isolées en 2016 versus 11 % en 2015. Ce séro groupe est essentiellement isolé chez des enfants ayant développé un syndrome hémolytique et urémique (SHU).



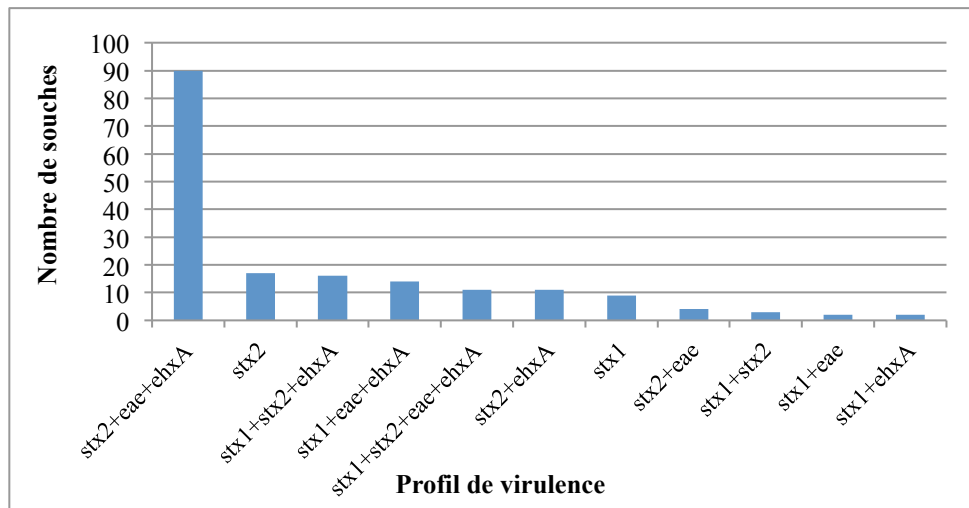
**Figure 4:** Répartition des sérogroupes de EHEC isolés en 2016 au CNR-ESS et au LA-RD.

#### 2.2.3.3.2 Analyse des profils de virulence

En 2016, l'analyse des profils de virulence montrent que le profil le plus souvent retrouvé est le **profil *stx2+eae+ehxA*** avec **50,3%** des souches, tous sérotypes confondus.

La distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2016 est indiquée dans la **figure 5**.





**Figure 5:** Distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2016

La répartition des **profils de virulence des souches de EHEC** (n=179) en fonction du sérotype est représentée respectivement dans:

- le **tableau 13**: souches de EHEC appartenant aux sérotypes les plus fréquemment incriminés dans les infections à EHEC (au moins deux souches isolées en 2016) et regroupant un total de 166 souches.
- le **tableau 14**: sérotypes les moins fréquemment rencontrés (une seule souche isolée en 2016) et regroupant un total de 10 souches.
- le **tableau 15**: souches non sérotypables ni par agglutination ni par méthode moléculaire (trois souches).

Le profil *stx2+eae+ehxA* est majoritaire dans le sérotype O26 (63,3% des souches), dans le sérotype O80 (96,8% des souches), dans le sérotype O157 (58,6% des souches), dans le sérotype O117 (trois souches sur quatre) et dans les sérotypes O145 et O121 (toutes les souches).

Le profil *stx1+eae+ehxA* n'est plus majoritairement retrouvé dans le sérotype O26 contrairement à 2015 (16,3% en 2016 des souches versus 47,8% des souches en 2015).

**Tableau 13:** Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les plus fréquemment isolés au CNR- ESS et au LA-RD en 2016

profil de virulence	Sérogroupes les plus fréquents																Total	
	O26	O80	O157	O91	O128	O117	O145	O146	O121	O177	O111	O113	O126	O166	O174	O183		O104
<i>stx2+eae+ehxA</i>	31	30	17	0	0	0	5	0	4	3	0	0	0	0	0	0	0	90
<i>stx1+stx2+ehxA</i>	0	0	1	5	1	0	0	3	0	0	0	1	0	1	1	2	0	15
<i>stx1+eae+ehxA</i>	8	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	12
<i>stx1+stx2+eae+ehxA</i>	1	0	7	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	11
<i>stx2+ehxA</i>	1	0	2	0	5	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	11
<i>stx1</i>	2	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	9
<i>stx2</i>	1	1	0	2	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	1	8
<i>stx1+stx2</i>	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
<i>stx2+eae</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
<i>stx1+eae</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>stx1+ehxA</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2
<b>Total</b>	49	31	29	11	7	5	5	5	4	4	3	3	2	2	2	2	2	166

**Tableau 14:** Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les moins fréquemment isolés au CNR-ESS et au LA-RD en 2016 (une seule souche pour chaque séro groupe)

Profil de virulence	N souches	Sérogroupes
<i>stx2</i>	6	O21, O100, O129, O139, O148, O174
<i>stx1+eae+ehxA</i>	2	O84, O103
<i>stx1+eae+ehxA</i>	1	O134
<i>Stx2+eae</i>	1	O119
Total	10	

**Tableau 15:** Profil de virulence des EHEC non sérogroupables isolés au CNR-ESS et au LA-RD en 2016

Profil de virulence	N souches
<i>stx2</i>	3
Total	3

Pour 124 patients, les **PCR directes sur les selles** ou à partir de cultures sur gélose d'isolement étaient **positives sans qu'aucune souche n'ait pu être isolée**.

Le profil de virulence de ces 124 cas figure dans le **tableau 16** ci-dessous.

**Tableau 16:** Profil de virulence déterminé directement par PCR sur les selles sans isolement de souches. CNR-ESS et LA-RD 2016

Profil de virulence/PCR positives sur selles	Nombre de patient	%
<i>stx2</i>	52	41,9
<i>stx1</i>	23	18,6
<i>stx2+eae+ehxA</i>	17	13,7
<i>stx1+stx2</i>	14	11,3
<i>stx2+ehxA</i>	5	4,0
<i>stx1+stx2+ehxA</i>	4	3,2
<i>stx1+stx2+eae+ehxA</i>	3	2,4
<i>stx2+eae</i>	3	2,4
<i>stx1+eae</i>	1	0,8
<i>stx1+eae+ehxA</i>	1	0,8
<i>stx1+ehxA</i>	1	0,8
Total	124	100

Parmi les 124 patients ayant eu une PCR directe sur les selles positive sans isolement, 118 ont été diagnostiqués au LA-RD qui réalise une PCR de sérogroupage direct sur les selles, et 6 au CNR-ESS qui ne réalise pas cette technique.

Au LA-RD, la PCR détectant les sérogroupes majeurs n'a été réalisée que sur les selles de 47 de ces 118 patients (uniquement ceux présentant soit un SHU, soit une diarrhée sanglante).

En effet, parmi les selles de ces 118 patients, 71 selles avec une PCR positive provenaient de LBM utilisant une PCR multiplex entérique automatisée (PCR BDMAX) systématiquement recontrôlée au LA-RD. Pour ces patients, la recherche de la souche et/ou la PCR sérogroupage directe n'était réalisée qu'en fonction de l'âge et en fonction des signes cliniques et uniquement si le CT de la PCR était inférieur à 25. Aucun cas de SHU ni de cas groupés symptomatiques d'infection à EHEC avérée n'a été associé à ces résultats de PCR multiplex entérique positive.

Les résultats de la PCR sérogroupage figurent dans le **tableau 17**.

**Tableau 17:** Résultats du sérogroupage par PCR directe sur selles en 2016 (LA-RD)

PCR Sérogroupage	Nombre de patients	%
O80	6	12,8
O26	6	12,8
O91	2	4,3
O26 et O103	1	2,1
O55	1	2,1
O55 et O145	1	2,1
O104 et O91	1	2,1
O111	1	2,1
O145	1	2,1
O145 et O80	2	4,3
O157	1	2,1
NST*	24	51,1
Total	47	100

\* NST: non sérogroupables

### 2.2.3.3.3 Analyse des variants des gènes *stx* (CNR-ESS et LA-RD)

La mise en évidence des **variants des gènes *stx*** a été réalisée sur 176 souches isolées en 2016.

Le variant *stx2a* est à nouveau le variant majoritaire puisque retrouvé chez 45,8% des souches, seul chez 58 souches et associé à d'autres variants chez 24 souches. Il a été le variant majoritaire en 2014 (45,5% des souches) mais n'avait été retrouvé que chez 29,6% des souches en 2015 (50 souches). Ce variant est majoritairement retrouvé dans le sérotype O26 (65,3%) et dans le sérotype O157 (41,3%). Le variant *stx2d* est majoritaire dans le sérotype O80.

Le variant *stx1a* a été retrouvé chez 26,3% des souches (versus 33,7% en 2015), seul (n=24) ou associé à d'autres variants (n=23). Le variant *stx2c* a été retrouvé chez 20,3% des souches (versus 33,1% en 2015), seul (n=5) ou associé à d'autres variants *stx1* ou *2* (n=32).

La répartition des profils des variants en tenant compte des sérotypes les plus fréquents et les plus rares sont regroupés respectivement **dans les tableaux 18, 19 et 20 ci-dessous**:

**Tableau 18:** Répartition des profils de variants en fonction des sérotypes de EHEC les plus fréquents des souches isolées au CNR-ESS et au LA-RD en 2016

Profil des variants	Sérotypes les plus fréquents															TOTAL		
	O26	O80	O91	O157	O128	O117	O145	O146	O121	O177	O111	O113	O126	O166	O174		O183	O104
<i>stx2a</i>	32	6	0	12	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0	1	0	1	56
<i>stx1a</i>	11	0	1	2	0	5	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	22
<i>stx2c+stx2d</i>	2	13	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17
<i>stx2d</i>	0	11	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	15
<i>stx1a+stx2a</i>	1	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	9
<i>stx2b</i>	0	0	0	0	5	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
<i>stx1c+stx2b</i>	0	0	0	0	2	0	0	3	0	0	0	1	0	1	0	0	0	7
<i>stx2a+stx2c+stx2d</i>	0	0	2	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
<i>stx1a+stx2a+stx2c+stx2d</i>	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
<i>stx1a+stx2b</i>	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
<i>stx1a+stx2d</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3
<i>stx2c</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	3
<i>stx2a+stx2c</i>	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3
<i>stx1a+stx2c</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>stx1c</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2
<i>stx2a+stx2d</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Non réalisé	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Non déterminé	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<b>TOTAL</b>	<b>49</b>	<b>31</b>	<b>11</b>	<b>29</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>166</b>

**Tableau 19:** Répartition des profils de variants en fonction des sérogroupes de EHEC les plus rares isolés au CNR-ESS et au LA-RD en 2016

Profil des variants	O21	O84	O100	O103	O119	O129	O134	O139	O148	O174	Total
<i>stx2d</i>	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	3
<i>stx1a</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2
<i>stx1a+stx2a</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>stx2c</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
<i>stx2e</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Aucun trouvé	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Total	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10

**Tableau 20:** Répartition des profils de variants des EHEC non sérogroupables isolés au CNR-ESS et au LA-RD en 2016

Profil des variants	Souches de séro groupe indéterminé
<i>stx2a</i>	2
<i>Stx2d</i>	1
<b>Total général</b>	<b>3</b>

#### 2.2.3.3.4 Autres facteurs de virulence

La recherche des gènes codant pour les facteurs de virulence des *E. coli* enteroaggrégants (*aggR*, *pic*, *astA*) et celle du gène *saa* ont été réalisées chez 97 souches. Ces gènes ont été retrouvés chez 47 de ces souches.

##### - gène *astA*:

Le gène *astA* a été retrouvé chez 41 patients pour lesquels les symptômes n'étaient disponibles que dans 27 cas: dix patients avec un SHU, 12 avec une diarrhée glairo-sanglante (DGS) et cinq avec une diarrhée simple.

Parmi ces 41 souches,

- 28 possédaient le gène *eae* ; sept ont été isolées chez des patients avec un SHU (4 EHEC O26, deux O177 et un O157), et six des EHEC O26 ont été isolées lors de l'épidémie de la crèche à Marseille (voir chapitre « contribution à la surveillance épidémiologique »).

- 13 ne possédaient pas le gène *eae* (dont trois EHEC O26 et trois EHEC O157) et trois d'entre elles ont été isolées chez des patients atteints de SHU (un O157, deux NST).

**Tableau 21:** Sérogroupes des souches possédant le gène *atsA*. CNR-ESS et LA-RD 2016

Sérogroupe	Gène	
	<i>eae</i> +	<i>eae</i> -
O26	13	3
O157	10	3
O177	3	
O174		1
O183		1
O117		1
O113		2
O111	1	
O84	1	
NST		2
Total	28	13

- **gène *saa***: les cinq souches porteuses du gène *saa* ne possédaient pas le gène *eae*. L'une d'entre elles était porteuse du gène *astA*. Les sérotypes étaient tous différents. Une seule d'entre elles a été responsable d'un SHU chez un adulte.

**Tableau 22:** Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène *saa*. CNR-ESS et LA-RD 2016

Clinique	Sérotype	<i>eae</i>	<i>hly<sub>A</sub></i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>hly<sub>A</sub></i>	<i>saa</i>	<i>astA</i>
Diarrhée glairo-sanglante	O174:H2	-	+	+	+	-	+	+	-
Diarrhée simple	O104:H16	-	+	+	-	+	+	+	-
SHU*	NST**	-	-	-	+	-	-	+	+
Pyélonéphrite avec IRA	O126:H20	-	-	+	-	-	-	+	-
Diarrhée chronique	O183:H18	-	+	+	+	-	+	+	-

\*Syndrome hémolytique et urémique

\*\* Souche non sérogroupable

- **les gènes *aggR* et *pic*** identifiés sur une même souche O104:H4 *stx2a* isolée chez un adulte dont les symptômes n'ont pas été précisés.

#### 2.2.3.4 Analyse des prélèvements (selles et/ou souches) dans l'entourage de patients présentant un SHU (LA-RD)

La mise en évidence des EHEC a été réalisée dans l'entourage de 10 cas de SHU, soit 52 personnes prélevées dans l'entourage familial. Parmi elles, quatre étaient positives (quatre souches isolées et une PCR positive dans les selles). Les souches isolées présentaient le même profil que celle du cas index de SHU.

Pour les patients atteints de SHU typique à EHEC et pour leurs contacts positifs, 26 ont été de façon certaine traités par azithromycine et ont eu un contrôle des selles 48 heures après l'arrêt du traitement. Ce contrôle des selles était négatif pour les 26 cas.

#### 2.2.3.5 Sérotypage moléculaire par analyse RFLP de l'opéron O des souches de EHEC non sérotypables

Le sérotypage moléculaire par analyse RFLP de l'opéron O a été réalisée au CNR-ESS pour les souches non sérotypables ni par agglutination, ni par PCR sérotypage au LA-RD (15

souches), ni par séquençage complet du génome au CNR-ESS (21 souches) en 2016. Parmi ces souches passées en Operon O ont été rajouté les sérotypes rares obtenus par WGS afin de compléter la base des sérotypes moléculaires.

**Tableau 23:** Caractéristiques des souches de EHEC sérotypées par analyse RFLP de l'opéron O en 2016 au CNR-ESS

N° Lagon CNR ESS	N° souche LA-RD	WGS stx	<i>eae</i>	<i>ehxA</i>	<i>aggR</i>	Operon O	FLIC	WGS O	WGS H
201600864		<i>stx1a</i>	+	+	-	R111	F8	ND	H8
201600885		<i>stx1c, stx2b</i>	-	+	-	ND	F21	ND	H21
201600976		<i>stx2c</i>	-	-	-	R174	F21	ND	H21
201601496		<i>stx2b</i>	-	+	-	R128	F2	ND	H2
201601994		<i>stx1a</i>	+	+	-	ND	F2	O:84	H2
201601997		<i>stx1a</i>	-	-	-	R117	F7	O:117	H7
201602558		<i>stx2d</i>	+	+	-	R80	F2	ND	H2
201602954		<i>stx1a</i>	-	-	-	R117	F7	O:117	H7
201604157bis		<i>stx2c</i>	+	+	-	R177	F25	O:177	H25
201604211bis		<i>stx2d</i>	-	-	-	ND	F19	O:100	H19
201604763		<i>stx2a</i>	-	+	-	R174	F2	ND	H2
201604834		<i>stx2c</i>	-	-	-	R148	F8	O:148	H8
201606918		<i>stx2</i>	-	-	-	R21	F12	O:21	H12
201606956		<i>stx2d</i>	-	-	-	R113	F4	O:113	H4
201607043		<i>stx1a, stx2a</i>	-	+	-	R134	F38	O:134	H38
201607153		<i>stx1a, stx2a</i>	-	+	-	R91	F21	ND	H21
201607651		<i>stx1a, stx2a</i>	-	+	-	R183	F18	O:183	H18
201609720		<i>stx1c</i>	-	+	-	R166	F28	ND	H28
201609800		<i>stx1a</i>	-	-	-	R117	F7	ND	H7
201609895		<i>stx1a</i>	-	-	-	R126	F20	ND	H20
201611226	40151	<i>stx2b</i>	-	+	-	R146	F21	ND	H21
201611227	40234	<i>stx1a, stx2d</i>	-	+	-	R174	F2	ND	H2
201611230	40546	<i>stx1c</i>	-	+	-	R104	F16	ND	H16
201611231	40583	<i>stx2b</i>	-	+	-	R128	F2	ND	H2
201611232	40605	<i>stx1c, stx2b</i>	-	+	-	R113	F4	ND	H4
201611233	40614	<i>stx1c, stx2b</i>	-	+	-	R166	F28	ND	H28
201611234	40624	<i>stx2a</i>	-	-	-	Proche R 128	F10	ND	H10
201611236	41214	<i>stx2d</i>	+	+	-	R 177	F25	O:177	H25
201611241	40906	<i>stx2d</i>	-	-	-	R17/44/73/ 77/106	F18	O:17 / O:44	H18
201611243	40905	<i>stx1a, stx2a</i>	-	+	-	R 183	F18	ND	H18
201611244	40706	<i>stx2c</i>	+	+	-	R 177	F25	ND	H25
201611245	40671	<i>stx2d</i>	-	-	-	R 113	F4	ND	H4
201611247	41215	<i>stx2a</i>	-	-	-	Proche R 75	F5	ND	H5
201611248	41235	<i>stx2e</i>	-	-	-	R 139	F1	ND	H1
201611249	41299	<i>stx2d</i>	+	-	-	R 119	F8	ND	H8
201611574		<i>stx2d</i>	-	-	-	ND	F20	O:129	H20

ND: Non déterminé

### 2.2.3.6 Sérodiagnostic des syndromes hémolytiques et urémiques (CNR-ESS)

Un total de 564 sérums de 426 patients, reçus de différents services hospitaliers et de LBM ont été analysés au CNR-ESS. Parmi ces **564** sérums, 561 provenaient de France métropolitaine, un de Guadeloupe et deux de l’Ile de la réunion (concernant le même patient). Les anticorps anti-LPS appartenant aux deux classes d’immunoglobulines IgA et IgM dirigés contre les huit sérogroupes de *E. coli* les plus fréquemment responsables de SHU (O157, O26, O55, O91, O103, O111, O128 et O145) ont été recherchés. Cette recherche a été complétée depuis 2011 par le sérotype O104. Cependant, la recherche des anticorps dirigés contre le sérotype O80 n’est pas réalisée.

Le CNR-ESS recommande deux prélèvements à 15 jours d’intervalle (J0 étant le jour du diagnostic du SHU). Pour les 426 patients, 304 patients ont eu un seul sérum analysé, 108 ont eu deux sérums, 13 ont eu 3 sérums et un a eu 5 sérums.

En ne considérant qu’un sérum par patient (le positif en cas de discordance), le bilan des résultats obtenus est indiqué dans le **tableau 24**.

**Tableau 24:** Répartition par âge et sexe des résultats de sérologie anti-LPS positive

Immunoglobuline (Ig)	0-5 ans		6-15 ans		16-64 ans		65 ans et plus		Total
	F	M	F	M	F	M	F	M	
IgA + IgM O157	10	7	5	4	3	4			33
IgA + IgM O26	18	14	3		3	4	1	1	44
IgA + IgM O145				1	2				3
IgA + IgM O91						1	1	1	3
IgA + IgM O145	2	1							3
IgA + IgM O111						1			1
IgM O157	1			1	3	1		1	7
IgM O26	1			3	3	1			8
IgM O91								1	1
IgM O103						1			1
IgA O26	1				1		1		3
IgA O145					2				2
IgA O91				1		1			2
IgA O103						1	1		2
IgA O157					1				1
IgA + IgM (O157 + O26)			2	2					4
IgA + IgM (O91+O157)					1				1
IgA + IgM (O91 + O103)								1	1
IgM O26 + IgM O157					1				1
IgA O145 + IgM O157					1				1
IgA O145+ IgA O91				1					1
<b>Total</b>	<b>33</b>	<b>22</b>	<b>10</b>	<b>13</b>	<b>21</b>	<b>15</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>123</b>

Sur les **426 patients** ayant bénéficié d’une sérologie, **123** ont eu une sérologie positive (**28,9%**). Les données cliniques étaient disponibles pour 79 d’entre eux : 69 cas de SHU, trois cas de diarrhée glairo-sanglante, trois cas de diarrhées simples, deux cas de troubles digestifs avec vomissements, un cas de l’entourage d’un SHU.



La présence d'anticorps anti-LPS O157 était positive pour 48 des patients ayant une sérologie positive soit 1/3 des patients ayant une sérologie positive. Parmi eux, 28 cas avaient un SHU, 3 cas une diarrhée et pour 17 cas les symptômes n'étaient pas renseignés.

241 patients ont eu une **sérologie anti-LPS sans recherche de EHEC dans les selles**. Parmi eux, **61 ont eu une sérologie positive** avec des anticorps dirigés contre les sérogroupes suivants: O157 (27 cas), O26(22 cas), O91(3 cas), O103(2 cas), O145(2 cas), O26 et O157(2 cas), O91 et O103(1 cas), O91 et O157(1 cas), et O91 et O145(1 cas). Les données cliniques étaient précisées pour 21 patients: 14 SHU, 3 diarrhées sanglantes, 2 diarrhées simples, 1 fièvre et vomissements et 1 troubles digestifs et douleurs.

**Seuls 185 patients ont bénéficié à la fois d'une recherche de EHEC dans les selles et une sérologie anti-LPS.**

Parmi ces 185 patients, la sérologie était positive pour 62 patients: 36 avaient une recherche de EHEC positive et 21 une recherche de EHEC négative. Cinq patients avaient une sérologie positive, une PCR positive dans les selles mais pas de souche isolée.

La sérologie ne permettant que la détection des sérotypes O26, O55, O91, O103, O104, O111, O128, O145 et O157, les résultats étaient concordants avec le sérotype des souches EHEC isolées pour l'ensemble des cas sauf pour 6 patients:

- un enfant de 2 ans présentant un SHU à *E. coli* O80 et une sérologie positive pour O26
- un enfant de 2 ans, dont les symptômes ne sont pas précisés, présentait une infection à *E.coli* O80 et une sérologie positive pour O26
- un enfant de 3 ans présentant un SHU à *E. coli* O157 et une sérologie positive pour O26
- une femme de 48 ans présentant un SHU à *E. coli* O80 et une sérologie positive à O145
- une femme de 74 ans (symptômes non précisés) présentant une infection à *E. coli* O80 et une sérologie positive pour O26.

Il est possible que ces patients aient eu dans les selles plusieurs sérogroupes et qu'un seul d'entre eux ait été isolé.

**La sérologie était positive alors que la recherche des EHEC dans les selles était négative pour 21 patients**, cette discordance peut s'expliquer d'une part par un prélèvement tardif des selles par rapport à la diarrhée prodromique et d'autre part par l'administration d'un traitement antibiotique stérilisant les selles.

**La sérologie était négative pour 303 patients. Elle était négative avec une recherche de EHEC positive pour 48 patients:**

- chez 35 de ces 48 patients, une souche avait été isolée: O80 (15 cas), O26 (7 cas), O121 (trois cas) et un cas de O21, O91, O100, O111, O119, O126, O128, O145, O148, O177.
- chez 13 de ces 48 patients, la PCR à partir des selles était positive mais aucune souche de EHEC n'a été isolée.

## **2.2.4 Bilan des activités 2016 concernant les souches de *E. coli* extra intestinales (ExpEC) (LA-RD)**

### **2.2.4.1 Etude des facteurs de pathogénicité des souches de *E. coli* responsables de méningites**

Le LA-RD a reçu 21 souches de *E. coli* isolées de LCR. Ces 21 souches ont été isolées du LCR de 19 enfants et deux adultes. Parmi les 19 enfants, 11 étaient des nouveau-nés âgés de 5 jours à 31 jours, cinq étaient des nourrissons âgés de un à 3 mois, et trois étaient âgés de 4 à

7 mois. Deux enfants sont décédés. Les deux adultes avaient plus de 65 ans et l'un d'entre eux est décédé.

Les résultats de l'étude des facteurs de virulence sont présentés dans le **tableau 25** et permettent d'incrémenter la base de données française des méningites à *E. coli*.

**Tableau 25:** Facteurs de virulence des *E. coli* responsables de méningites en 2016 (LA-RD)

N° souche	Sexe	Age/PL	Groupe phylogénétique	PCR nonaplex wzy	PCRKI	ChuA	Hra	yjaA	TSPE4.C2	fyuA	Hly	stx/foc	PAP C	Aer	PAP G	cnfl	ibeA	iroN	
408	F	13 jours	A	neg	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	
410	F	2 mois	B2	O4	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	II	+	-	+
411	F	2 mois	D	neg	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	
414	M	1 mois	B2	neg	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	
415	M	5 jours	B21	O2	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	II	-	-	+
416	M	24 jours	B21	O18	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+
417	M	14 jours	D	neg	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	II	-	-	+
418	F	1 mois	B2	O16	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	II	-	-	-
420	M	3 mois	F	O1	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
421	M	4 mois	A	O45	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	II	-	-	-
422	F	8 jours	C	neg	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
424	M	17 jours	B2	neg	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
425	M	6 jours	F	O1	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
426	M	1 mois	F	O1	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
427	M	19 jours	B2	O16	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	II	-	-	-
428	M	67 ans	B1	neg	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
429	F	9 jours	B21	O18	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+
430	M	8 jours	B21	O1	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	II	-	-	+
431	M	7 mois	A	neg	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
432	F	10 jours	B21	O45	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	II	-	-	+
433	F	91 ans	B21	O18	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+

#### 2.2.4.2 Etude des facteurs de pathogénicité des souches de *E. coli* extra-intestinales responsables de pathologies autres que les méningites

Le LA-RD a reçu 59 souches d'EXPEC hors méningites isolées des prélèvements suivants:

- hémocultures (n=33)
- urines (n= 14)
- gastrique nouveau-né (n=2)
- pus (n=4)
- placenta (n=1)
- lésions cutanées (n=3)
- liquide articulaire (n=1)
- prélèvement pulmonaire (n=1)

Ces souches ont été isolées chez 45 patients présentant:

- un sepsis sévère (n=26) dont 6 avec une MAT (sans EHEC) et un au cours d'un SHU à EHEC O80
- un urosepsis (n=7)
- une fasciite nécrosante (n=4)
- une infection cutanée (n=3)

- un purpura fulminans (n=2)
- une infection maternofoetale (n=1)
- une arthrite (n=1)
- un abcès rénal (n=1)

Les caractéristiques de ces souches sont indiquées dans le **tableau 26**.

**Tableau 26:** Caractéristiques des souches de ExpEC hors méningites en 2016 LA-RD

n° RDB	Sexe	age	origine du prélèvement	gr quadruplex	pcr K1	ChuA	Hra	yjaA	TSPE4.C2	fyuA	Hly	sfu/foc	PAP C	Aer	PAP G	cnfl	ibaA	iron
RDEX432	M	61 ans	hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+
RDEX433	M	58 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-
RDEX434	F	13 ans	hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	II	-	-	+
RDEX435	M	2 mois	ecbu	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
RDEX436	F	12 ans	hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
RDEX437	F	52 ans	ecbu	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
RDEX438	M	17 jours	hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
RDEX439	M	1 jour	liquide gastrique	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEX440	M	4 jours	hémoculture	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
RDEX441	M	1 mois	hémoculture	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
RDEX442	M	63 ans	ecbu	B2	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
RDEX443	F	59 ans	hémoculture	B1	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEX444	M	8 mois	hémoculture	A	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEX445	F	33 ans	hémoculture	A	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEX446	F	6 ans	ecbu	B2	d	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEX447	M	4 mois	ecbu	B2	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
RDEX448	F	27 ans	placenta	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEX449	F	27 ans	hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEX450	M	1 jour	liquide gastrique	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEX451	M	63 ans	ecbu	A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEX452	F	10 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
RDEX453	F	80 ans	hémoculture	B1	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
RDEX454	M	7 jours	hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	-	+
RDEX455	F	3 ans	hémoculture	F	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEX456	M	58 ans	pus	D	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-
RDEX457	M	58 ans	pus	D	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-
RDEX458	M	58 ans	pus	D	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-
RDEX459	F	75 ans	ecbu	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEX460	F	36 ans	ecbu	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEX460 bis	F	36 ans	ecbu	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEX461	M	25 ans	ecbu	F	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
RDEX462	M	49 ans	hémoculture	B21	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
RDEX463	M	80 ans	hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	+	+
RDEX464	F	83 ans	hémoculture	F	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEX465	F	17 jours	hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	II+III	+	-	+
RDEX466	F	44 ans	ecbu	D	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEX467	M	2 mois	ecbu	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	II	+	-	+
RDEX468	F	4 jours	hémoculture	B2	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	II	+	-	+
RDEX469	F	5 jours	trachée	B2	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	II	+	-	+
RDEX470	F	5 jours	hémoculture	B2	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	II	+	-	+
RDEX471	M	2 mois	liquide articulaire	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
RDEX472	M	50 ans	hémoculture	B2	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	II	+	-	+
RDEX473	F	40 ans	ponction sous cutanée	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEX474	M	53 ans	ecbu	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	-	+
RDEX475	M	36 ans	hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-
RDEX476	M	65 ans	cuisse	B1	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
RDEX477	M	65 ans	hémoculture	B1	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
RDEX478	M	61 ans	hémoculture	D	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
RDEX480	F	47 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEX481	F	54 ans	hémoculture	D	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEX482	F	64 ans	hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
RDEX483	M	61 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEX484	M	40 ans	hémoculture	F	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEX485	F	42 ans	hémoculture	A	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
RDEX486	F	74 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	II	-	-	-
RDEX487	F	74 ans	ponction cellulite epaule	D	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	II	-	-	-
RDEX488	F	74 ans	ecbu	D	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	II	-	-	-
RDEX489	F	74 ans	ponction cellulite jambe	D	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	II	-	-	-
RDEX490	F	74 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	II	-	-	-

## 2.3 Activités de surveillance des *Escherichia coli*

### 2.3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à EHEC

#### 2.3.1.1 Réseau partenaire

Le CNR-ESS et le LA-RD collaborent afin d'échanger leurs données et/ou les souches permettant la validation des résultats des analyses faites pour un même patient (exemple: sérologie et typage de souche). Mais avant tout, le CNR-ESS et le LA-RD collaborent avec un réseau de laboratoires, qui fournissent les différents prélèvements et informations nécessaires à la surveillance (laboratoires privés, laboratoires hospitaliers, centres de santé, Instituts et Ecoles vétérinaires...).

#### 2.3.1.2 Analyse des caractéristiques épidémiologiques des EHEC

En 2016, **302 patients** (178 patients pour 179 souches isolées et 124 patients n'ayant qu'une PCR positive sur les selles) ont eu une **recherche de EHEC positive** (isolement de souche ou PCR positive sur les selles). Nous observons une augmentation par rapport à 2015 (246 patients positifs) liée à l'augmentation du nombre de demandes engendrées par les contrôles systématiques des PCR multiplex entériques réalisées par de nombreux LBM en 2016.

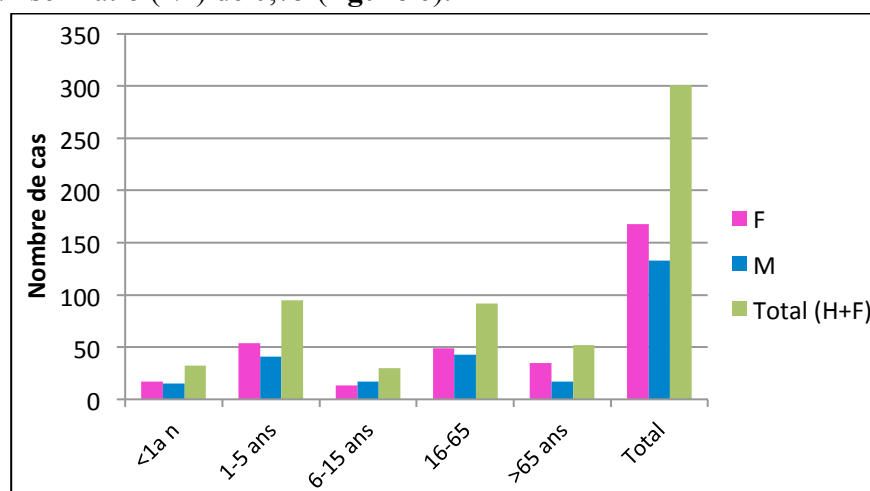
**Tableau 27:** Principal symptôme observé chez les patients ayant une recherche de EHEC positive (isolement d'une souche ou PCR positive). CNR ESS-LA 2016

Principal symptôme observé	Nombre de cas	%
Diarrhée glairo-sanglante	34	11,2%
SHU/Suspicion de SHU*	103	34,0%
Diarrhée/GEA	74**	24,8%
Entourage de SHU	4	1,3%
Douleurs abdominales isolées	17	5,6%
Microangiopathie thrombotique	9	3,0%
Autres symptômes divers	7	2,3%
Aucun symptôme	11	3,6%
Non précisé	43	14,2%
Total	302	100%

\*Syndrome hémolytique et urémique

\*\* dont 13 au retour d'un voyage: Tunisie, Maroc, Egypte, Bénin, Centrafrique, Madagascar, Namibie, Yémen, Amazonie, Mexique, Nicaragua, Ouzbékistan, Thaïlande

La prévalence la plus importante est retrouvée dans la tranche d'âge de 1 à 5 ans (96 cas, soit 31,8%) avec un sex-ratio (h/f) de 0,75 (**figure 6**).



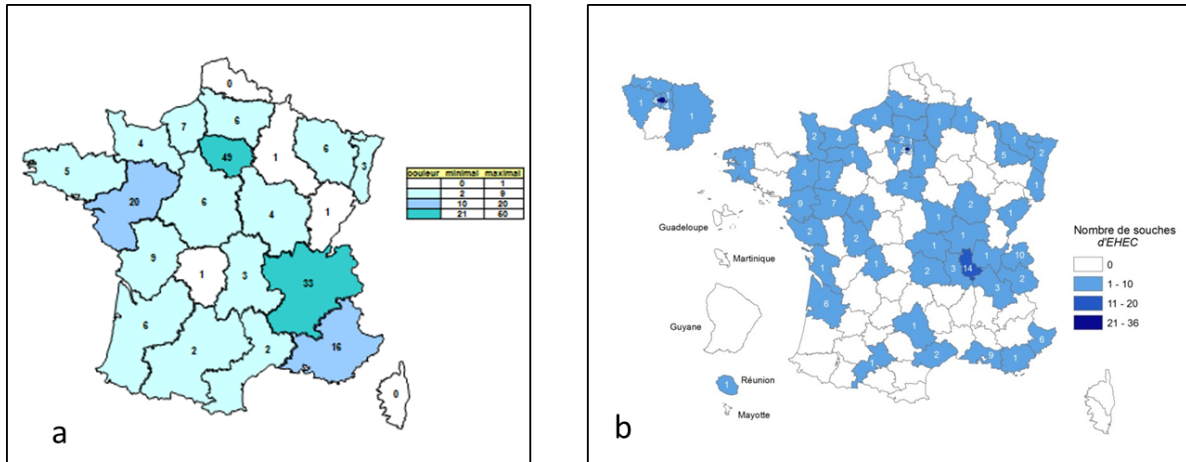
**Figure 6:** Classe d'âge et sexe des patients ayant une recherche de EHEC positive CNR-ESS et LA-RD 2016

Concernant les souches, dans la tranche d'âge la plus atteinte (1-5 ans avec 68 cas), les souches de EHEC retrouvées appartenait majoritairement aux sérogroupes O26 (30 cas, soit 43%), O157 (12 cas, soit 17%), O80 (9 cas, soit 13%) (**tableau 28**).

**Tableau 28:**Répartition des différents sérogroupes de EHEC (souches isolées) par classe d'âge et par sexe des patients. CNR-ESS et LA-RD 2016

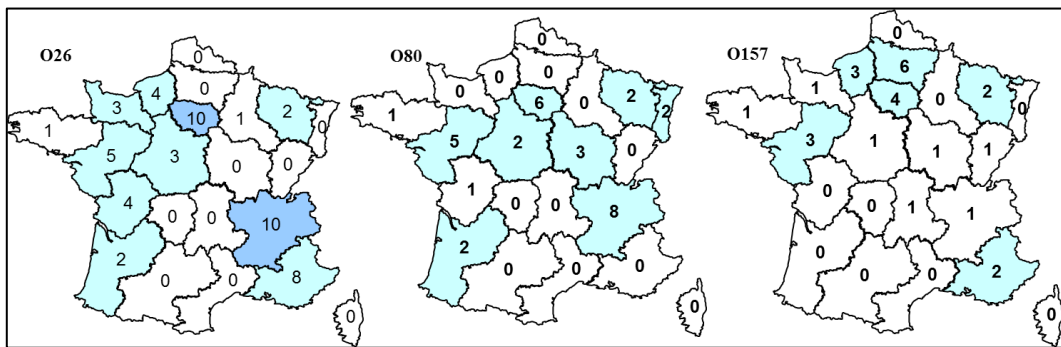
Sérogroupes	<1an		1-5 ans		6-15 ans		16-65ans		>65 ans		Total
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	
O26	6	3	17	13	2		4	2		2	49
O80	4	7	6	3			3	2	5	1	31
O157			5	7	4	6	1	4	2		29
O91		1		1		1	1	1	5	1	11
O128		1	1		2		2	1			7
O117				1		1		1		2	5
O145	1		1	1		1		1			5
O146			1				2	1			4
O121	2	1	1								4
O177	1			2		1					4
O111			2		1						3
O113				1			2				3
O104			1				1				2
O126								1	1		2
O166					1		1				2
O174							1		1		2
O183			1			1					2
O21							1				1
O84							1				1
O100									1		1
O103	1										1
O119				1							1
O129									1		1
O134										1	1
O139			1								1
O148									1		1
O174								1			1
NST		1	1				1				3
Total	15	14	38	30	10	11	21	15	17	7	178

La répartition géographique des souches isolées en 2016 est indiquée sur la **figure 7** ci-dessous. En dehors de l'Ile de France, il est à noter une forte prévalence dans la région Rhône-Alpes-Auvergne avec 33 souches isolées.



**Figure 7:** Répartition des souche de EHEC isolées en 2016 (n=179) sur le territoire  
a- répartition régionale régions antérieures à la réforme de septembre 2016  
b- répartition départementale

En 2016, la répartition géographique des principaux sérogroupes montre que contrairement aux années précédentes, le sérotype O80 tend à se modifier. En effet, jusqu'en 2015 il était essentiellement isolé dans l'Est de la France et plus particulièrement dans la région Rhône – Alpes (**figure 8**).



**Figure 8:** Répartition régionale des sérogroupes O26, O80 et O157 en 2016

### 2.3.1.3 Résultats microbiologiques 2016 pour les cas de SHU pédiatriques notifiés à Santé publique France (collaboration avec Mathias Bruyand de Santé publique France)

Parmi les **111 cas de SHU notifiés en 2016** à Santé publique France par le Réseau des Néphrologues pédiatres, l'étude microbiologique a donné les résultats suivants:

- Pour **47 enfants** de moins de 15 ans, **une souche de EHEC a été isolée** appartenant au sérogroupes suivants: O26 (n=23), O80 (n=13), O157 (n=6), O121 (n=1), NST (n=4)  
 Pour 5 des patients, la PCR sérogroupage dans les selles était positive pour un second sérotype dans quatre cas (deux EHEC O26, un EHEC O80, un EHEC O121) et deux autres sérogroupes dans un cas (EHEC O55 et O111)
- Pour **12 patients**, la **PCR était positive dans les selles sans isolement de souches** avec une PCR sérogroupage positive dans les selles permettant d'incriminer les sérogroupes suivants: EHEC O80 (n=5), EHEC O26(n=4), EHEC O157 (n=1), EHEC O55 (n=1), EHEC O145 (n=1) et une PCR positive pour un second sérotype dans trois cas (trois EHEC O145)

- Pour **22 enfants**, la **PCR Shiga-toxine était positive dans les selles mais sans identification d'un sérotype**. La sérologie des anticorps anti LPS était positive pour O157 (n=6), O26 (n=2), et négative pour sept cas. Sept patients n'ont pas eu de recherche d'anticorps.
- L'analyse de selles était négative pour neuf enfants. Pour quatre d'entre eux, la sérologie était positive pour O157 (n=3), O26 (n=1). La sérologie était négative pour les cinq autres patients.
- **Vingt et un enfants n'ont pas eu d'analyse de selles**; les sérologies ont été réalisées pour 17 d'entre eux et étaient positives pour O26 (n=6), O157 (n=4), O145 (n=1) et négatives pour 6 patients.

## 2.3.2 Surveillance de la résistance aux anti-infectieux 2016 (LA-RD)

### 2.3.2.1 Sensibilité aux antibiotiques des souches EHEC (LA-RD)

Bien que l'utilisation des antibiotiques soit controversée dans les infections à EHEC, l'étude de la sensibilité des souches présente un intérêt épidémiologique.

Le LA-RD a étudié la sensibilité des 116 souches de EHEC isolées en 2016, en particulier vis-à-vis des antibiotiques suivants:

- Bêta-lactamines: amoxicilline (AMX) et ceftriaxone (CRO)
- Aminosides (kanamycine, tobramycine, et gentamicine)
- Triméthoprim-sulfaméthoxazole (SXT)
- Quinolones et fluoroquinolones : acide nalidixique (NAL) et ciprofloxacine (CIP)

Comme les années précédentes, les souches de EHEC appartenant au sérotype O157 sont plus sensibles aux antibiotiques que les souches d'EHEC non O157.

Aucune souche productrice de BLSE n'a été isolée en 2016 au LA-RD.

La prévalence de la résistance exprimée en pourcentage est indiquée dans le **tableau 29**.

**Tableau 29:** Prévalence de la résistance (%) aux antibiotiques des souches EHEC en 2016 (LA-RD)

% de Résistance	AMX	CRO	Aminosides	SXT	NAL	CIP
O157 (n=16)	18,7	0	0	6,2	6,2	0
Non O157 (n=100)	36	0	25	24	22	0

Parmi les souches non O157 résistantes à l'AMX (n=36), 21 appartenait au sérotype O80 et cinq au sérotype O26. Une résistance associée aux aminosides, à l'acide nalidixique et au cotrimoxazole était retrouvée chez 17 souches dont 15 souches appartenant au sérotype O80, deux au sérotype O55, deux non serotypables et une au sérotype O121.

En raison des fortes concentrations intraluminales de l'azithromycine (AZM), les CMI AZM ont été déterminées vis-à-vis des souches isolées en 2016 par la méthode de l'Etest et figurent dans le **tableau** ci-dessous. Aucune souche résistante à l'azithromycine n'a été détectée.



**Tableau 30:** CMI à l'azithromycine des souches EHEC isolées en 2016 au LA-RD

	<b>CMI 50 (mg/L)</b>	<b>CMI 90 (mg/L)</b>	<b>Intervalle (mg/L)</b>
O157 (n=16)	4	4	3 - 4
Non O157 (n=100)	4	6	2 - 8

### 2.3.2.2 Sensibilité aux antibiotiques des souches de *E. coli* responsables de pathologies extra intestinales (LA-RD)

La sensibilité des souches aux principales familles d'antibiotiques en particulier AMX, CFM, cefotaxime (CTX), gentamicine (GEN), NAL et CIP a été étudiée par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA-SFM (**tableau 31**).

**Tableau 31:** Prévalence de la résistance aux antibiotiques des souches EXPEC reçues en 2016 au LA-RD

	<b>AMX</b>	<b>CTX</b>	<b>SXT</b>	<b>NAL</b>	<b>CIP</b>	<b>GEN</b>
ExpEC méningites (n=21)	47,6	0	33,3	4,8	4,8	0
ExpEC hors méningites (n=46)	67,4	17,4	56,5	21,7	15,2	4,3

En 2016, huit souches productrices de BLSE ont été isolées dans les pathologies hors méningite avec une résistance associée aux quinolones (n=5), au cotrimoxazole (n=7) et à la gentamicine (n=2).

Aucune souche productrice de BLSE n'a été isolée de méningite.

### 2.3.3 Participation aux réseaux de surveillance

#### 2.3.3.1 Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France

Une fiche de renseignements spécifique au CNR-ESS et au LA-RD accompagne chaque souche ou prélèvement reçu au CNR. Dans cette fiche, il doit être renseigné: le nom et l'adresse du laboratoire expéditeur, la demande d'examen, les renseignements sur le patient, les symptômes cliniques, le prélèvement et des renseignements épidémiologiques permettant de mettre en évidence les épidémies potentielles et leurs origines. Ces fiches et les résultats obtenus permettent l'interface avec Santé publique France à différents niveaux:

- Signalement systématique de tous les cas de SHU chez les enfants de moins de 15 ans à Santé publique France/Santé publique France.
- Dans le cadre de la surveillance des EHEC, toute souche ou selle porteuse de gènes *stx* est immédiatement signalée à Santé publique France/Santé publique France par téléphone et/ou messagerie électronique et envoi d'une copie du résultat par fax.
- Concernant les résultats de sérologie pour la surveillance de SHU, une copie de tous les résultats concernant des enfants de moins de 15 ans (positifs ou négatifs), sont faxés à Santé publique France dès leur édition.

### 2.3.3.2 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux en particulier européens

Participation au réseau ECDC-FWD pour la surveillance européenne des infections à *E. coli* producteurs de Shiga-toxines et des *Shigella*.

### 2.3.3.3 Collaboration avec des partenaires nationaux exerçant dans le domaine animal, alimentaire ou dans l'environnement

Une collaboration a été engagée et se poursuivra avec les réseaux nationaux en charge de la surveillance comme l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon (Laboratoire National de Référence *E. coli*), et avec l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) pour des études ponctuelles sur les STEC, dans les aliments, chez l'animal et dans l'environnement avec échange et comparaison de souches.

### 2.3.4 Détection et investigation des cas

➤ Dans la période du 24 Septembre au 15 Octobre, **six cas d'infection à EHEC O26:H11** (*stx2*, *eae* et *ehxA*) ont été rapportés dans une crèche de Marseille au sein d'une même section de nourrissons. L'investigation a été menée par Santé publique France et l'ARS-PACA.

Le cas index a présenté un SHU et a été hospitalisé le 24 septembre et les cinq autres cas présentaient une diarrhée simple (4 cas dont le premier a été diagnostiqué le 4 octobre) et une diarrhée sanglante (un cas).

Trente-six enfants de la crèche ainsi que 5 membres du personnel ont présenté une diarrhée entre le 15/09 et le 13/10. Les selles des cas symptomatiques ont été adressées au CNR-ESS et LA-RD.

Parmi les familles, 6 cas de diarrhée ont été rapportés avec 2 cas confirmés à EHEC O26. Le frère du cas index, qui avait présenté une diarrhée sanglante le 14-septembre, a bénéficié d'une analyse des selles très tardivement (le 11/10/16) qui était positive en PCR (*stx2*) sur les selles uniquement mais sans souche isolé.

L'éviction de tous les enfants symptomatiques de la crèche, toutes sections confondues (diarrhées et selles non moulées) a été décidé par les instances avec une réintégration des enfants de la section positifs pour STEC exclus conditionnée par la réalisation de deux coprocultures négatives prélevées à au moins 24h d'intervalle. Des mesures d'hygiène ont été prises et ont permis l'éradication de ces transmissions, à savoir fermeture et désinfection de la crèche le 7 Octobre. Aucun cas n'est survenu après le 30 septembre

Au total, le CNR-ESS et LA-RD a reçu 70 prélèvements de selles pour 57 patients prélevés (51 contacts dont 8 adultes). Parmi les sujets-contact, deux personnes d'une même famille étaient positives. Les patients positifs ont tous reçus l'azithromycine et leur réintégration a été possible après un contrôle négatif de deux selles successives prélevées à au moins 24h d'intervalle.

De nombreux virus entériques circulaient à la même période et les selles de 23 des patients ont également été adressées au CNR des virus entériques ; 22 d'entre elles étaient positives à norovirus et/ou adenovirus (dont un positif pour EHEC O26).

Une transmission interhumaine au sein d'une section et au sein d'une famille a été suspectée pour cette épidémie. Le cas index a été symptomatique avant son hospitalisation. La source de contamination de son frère aîné n'a pas pu être identifiée. Une analyse WGS des souches isolées au cours de l'épidémie a permis de faire le lien entre toutes ces souches.

➤ Investigation d'un cas de DGS dans une halte-garderie dans le Val d'Oise

Le 02/10/2017, un cas de DGS à *E.coli* O111 : H8 ( stx1+eae+ehxA) a été rapporté dans une halte- garderie du département du Val d'Oise chez un enfant âgé de un an. Cette infection à EHEC n'a pas évoluée vers un SHU. L'enfant a reçu 3 jours d'azithromycine et a été évincé de la halte –garderie.

A la demande des services sanitaires de la ville et du pédiatre référent de la halte-garderie, les selles des 32 enfants en contact avec le cas index ainsi que les selles de 4 membres du personnel ont été adressées au CNR-ESS et LA-RD. Aucun contact ne présentait de DGS. Aucun cas secondaire a été détecté.

Le cas index a réintégré la halte- garderie après avoir eu un contrôle négatif sur deux selles prélevées à 24h d'intervalle.

*Shigella*

## **3/ *Shigella***

### **3.1 Missions et organisation du CNR**

Voir Annexe 1

### **3.2 Activités d'expertise**

#### **3.2.1 Evolutions des techniques au cours de l'année 2016**

Les différentes techniques d'étude des souches de *Shigella* spp. (techniques d'identification, et de sous-typage, techniques de détection de gènes de pathogénicité et technique d'étude de la sensibilité aux antibiotiques) sont présentées dans l'annexe 2 de ce rapport.

Il n'y a pas eu d'évolutions de ces techniques en 2016.

#### **3.2.2 Activités d'expertise pour l'année 2016**

##### **3.2.2.1 Inventaire global des souches reçues au CNR-ESS**

Le CNR-ESS a réalisé l'identification biochimique, le sérotypage classique par agglutination et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de la totalité des souches de *Shigella* spp. reçues des laboratoires collaborateurs en 2016. Nous avons également enregistré les fiches d'informations signalant l'isolement d'une souche de *Shigella* spp. sans demande de confirmation par le CNR-ESS.

Durant l'année 2016, le CNR-ESS a reçu 982 souches d'origine humaine, envoyées comme appartenant au genre *Shigella*. Sur ces 982 souches, 866 ont été confirmées comme étant des *Shigella* spp. Les 116 autres souches n'étant pas des *Shigella* spp.

Depuis 2014, la proportion des souches de *Shigella* spp. qui ne le sont pas, double chaque année : 3,67% en 2014 *versus* 6,11% en 2015 et 11,8% en 2016. Ces résultats mettent en avant une perte d'expertise des laboratoires de biologie médicale dans l'identification des *Shigella* spp. Ce phénomène est très probablement lié à l'utilisation de plus en plus répandue de la spectrométrie de masse de type MalDI-Tof, qui différencie mal *Shigella* spp. de *E. coli*. Nous travaillons actuellement à l'amélioration des bases de données et des algorithmes de différenciation par cette méthode.

En 2016, sur les 866 souches confirmées, 754 souches (isolées de 746 patients) provenaient de France métropolitaine et 112 souches (isolées de 111 patients) provenaient de DOM (111 souches de Guyane et une de Mayotte). Neuf souches ont été réceptionnées et analysées en doublon. Les 857 cas de shigellose répertoriés (Métropole + DOM-TOM) étaient répartis de la façon suivante: 453 cas d'infection à *S. sonnei*, 352 cas à *S. flexneri*, 37 cas à *S. boydii*, 14 cas à *S. dysenteriae* et un cas à *Shigella* rough non sérotypable.

De plus, 219 cas de shigellose ont été signalés par l'intermédiaire de fiches d'information sans envoi de souche : 216 en provenance de France métropolitaine et trois en provenance de l'île de la Réunion. Ces 219 cas de shigellose étaient répartis chez 218 patients comme suit: 186 cas d'infections à *S. sonnei*, 20 cas d'infection à *S. flexneri*, trois cas d'infection à *S. boydii*, un cas d'infection à *S. dysenteriae* et enfin 9 cas pour lesquels l'espèce n'était pas

précisée. Un patient, du département du Rhône (dpt. 69) et sans notion de voyage, aurait présenté une infection à *S. sonnei* suivie d'une infection à *S. flexneri* (comptabilisé comme 2 cas).

En compilant les souches reçues et les souches déclarées dans les fiches d'information et après élimination des doublons, **un total de 1076 cas de shigellose humaine en métropole et dans les DOM-TOM, a été répertorié au CNR-ESS en 2016.**

Durant l'année 2016, le CNR-ESS n'a reçu aucune souche vétérinaire de *Shigella* spp, ni de souche en provenance de l'étranger.

### 3.2.2.2 Souches reçues de France métropolitaine

**En 2016, le CNR-ESS a reçu 754 souches de *Shigella* spp. (isolées chez 746 patients en provenance de France métropolitaine.** La distribution de ces souches et du nombre de cas associés, en fonction des différents sérogroupes et sérotypes de *Shigella* spp. est présentée dans le **tableau 32**.

Une notion de voyage est associée à 30% des cas de shigellose de France métropolitaine en 2016: 71% pour les cas de *S. dysenteriae*, 43% pour les *S. boydii*, 30% pour les *S. flexneri* et 27% pour les *S. sonnei*. Le continent africain est le plus représenté (16% des cas) avec une notion de voyage dans de nombreux pays d'Afrique de l'Ouest ainsi qu'à Madagascar, mais aussi un fort signalement de cas de *S. sonnei* g en provenance du Maroc. Le continent asiatique est retrouvé en deuxième position (7% des cas) avec nombre important de souches en provenance d'Inde.

Concernant les 63 cas en relation avec des épidémies à *Shigella* spp, voici ceux ayant fait l'objet d'enquêtes de terrain par des ARS :

- Camp de vacances du Var: épidémie à *S. sonnei* g en juillet 2016. Au total 15 cas de gastro-entérite aiguë reportés par l'ARS dont 3 hospitalisations avec présence de *S. sonnei* g confirmée.
- Ecole confessionnelle d'Ile-de-France (département 94): épidémie à *S. sonnei* g, multi sensible aux antibiotiques, en octobre 2016. Neuf enfants scolarisés et/ou parents proches contaminés de 5 familles différentes. Cinq cas confirmés.

**Tableau 32:** Distribution des différents sérotypes de *Shigella* spp. reçues au CNR-ESS en 2016 en provenance de France métropolitaine et description des cas associés.

Sérotypes	Nombre de cas (souches)	Notion de voyage*	Epidémie*
<b><i>Shigella boydii</i></b>	<b>37 (37)</b>	<b>16 (avec 10 Afrique, 5 Asie et 1 Amérique du sud) soit 43%</b>	<b>0</b>
1	3	2 Pakistan	-
2	9	2 Inde; 1 Maroc	-
4	5	1 Madagascar	-
9	1	-	-
10	2	1 Bolivie; 1 Inde	-
11	5	1 Côte d'Ivoire; 2 Sénégal	-
12	1	1 Nigéria	-
13	3	-	-
14	1	-	-
19	1	1 Cameroun	-
20	6	1 Madagascar; 1 Sénégal; 1 Togo	-
<b><i>Shigella dysenteriae</i></b>	<b>14 (14)</b>	<b>10 (avec 8 Afrique et 2 Asie) soit 71%</b>	<b>1</b>
2	2	1 Afrique; 1 Burkina Faso	-
3	6	1 Cameroun; 1 Cap-Vert; 1 Côte d'Ivoire	-
6	1	1 Sénégal	-
9	1	1 Côte d'Ivoire	-
12	1	1 Inde	-
sérotipe provisoire 97-10607 (96-204)	3	1 Maroc; 1 Birmanie	Familiale : 1 (Maroc)
<b><i>Shigella flexneri</i></b>	<b>278 (283)</b>	<b>84 (avec 48 Afrique, 17 Asie, 9 Amérique du nord, 5 Europe, 4</b>	<b>13</b>

		Amérique du sud et 1 autre) <b>soit 30%</b>	
1a	2	1 Pérou	-
1b	43	2 Arabie Saoudite; 1 Burkina Faso; 1 Cap-Vert; 1 Comores; 2 Congo; 2 Cuba; 1 Egypte; 2 Madagascar; 1 Maroc; 1 Népal; 1 Rép. Dom.; 1 Sénégal	Autre groupes de cas: 1 (Cap-Vert)
2a	137 (139)	1 Afrique; 1 Algérie; 1 Burkina Faso; 1 Cambodge; 1 Colombie; 1 Congo; 2 Côte d'Ivoire; 1 Grèce; 1 Guadeloupe; 1 Guinée-Bissau; 4 Inde; 1 Italie; 1 Kenya; 3 Madagascar; 1 Mayotte; 2 Mexique; 2 Sénégal; 1 Sri Lanka; 1 Togo	Familiale: 4 Autre groupes de cas: 2 (1 Mexique)
2b	11	1 Afrique; 1 Côte d'Ivoire; 1 Madagascar	-
3a	23	1 Chine; 2 Espagne; 1 Mexique; 2 Rép. Dom.; 1 Thaïlande	Familiale: 1 (Espagne) Autre groupes de cas: 2 (2 Rép. Dom.)
3b	8	1 Maroc; 1 Pérou; 1 Vietnam	Autre groupes de cas: 1
4	9	2 Madagascar	-
4 (mannitol -)	1	1 Indonésie	-
4c	3	2 Cameroun	Familiale: 2 (2 Cameroun)
6 Boydii 88	18 (19)	1 Afghanistan; 1 Afrique; 3 Algérie; 1 Cambodge; 1 Cameroun; 1 Cap-Vert; 1 Inde ; 1 Madagascar; 1 Maroc; 1 Pérou	-
6 Herfordshire	3	1 Kenya; 1 Tanzanie	-
X	3	1 Autre; 1 Togo	-
Y	1	-	-
sérotype provisoire 1c	16 (18)	1 Emirats Arabes Unis; 1 Espagne; 1 Guinée; 1 Mali; 1 Mauritanie; 1 Tchad	-
<b>Shigella sonnei</b>	<b>416 (419)</b>	<b>112</b> (avec 53 Afrique, 28 Asie, 11 Amérique du nord, 10 Europe, 7 Amérique du sud, 1 Océanie, et 2 autres) <b>soit 27%</b>	<b>49</b>
a	11	1 Brésil; 3 Maroc; 1 Namibie; 1 Tanzanie; 1 Venezuela	Familiale: 1
a (ODC-)	2	2 Maurice	-
e	2	-	-
g	260 (261)	1 Algérie; 1 Bolivie; 2 Cambodge; 1 Chine; 1 Colombie; 3 Costa Rica; 2 Cote d'Ivoire; 3 Cuba; 1 Djibouti; 1 Egypte; 4 Espagne; 1 Grèce; 13 Inde; 3 Israël; 1 Liban; 3 Maroc; 1 Mexique; 1 Népal; 3 Pérou; 2 Portugal; 1 Rép. Dom.; 2 Sénégal; 1 Soudan; 2 Sri Lanka; 1 Tadjikistan; 1 Tchad; 2 Thaïlande; 2 Togo; 1 Tunisie; 1 Turquie; 1 Autre	Familiale: 28 (3 Maroc, 1 Costa Rica, 1 Espagne, 1 Israël, 1 Maurice, 1 Tunisie) TIAC: 3 (2 Espagne) Camp de vacances du Var: 2 Ecole professionnelle du dpt 94: 5 Autre groupes de cas: 10 (1 Inde, 1 Colombie)
g (mannitol -)	90 (91)	1 Cuba; 1 Espagne; 1 Ile Norfolk; 1 Italie; 3 Madagascar; 20 Maroc; 1 Autre	-
g (mannitol - et ONPG-)	1	1 Madagascar	-
g (ONPG-)	50 (51)	1 Cuba; 1 Etats-unis; 1 Ghana; 1 Italie; 2 Mali; 1 Niger; 1 Sénégal; 1 Tchad; 1 Tunisie; 1 Turquie	-
<b>Rough/ Non sérotypable (NST)</b>	<b>1 (1)</b>	-	-
<b>Total</b>	<b>746 (754)</b>	<b>222 (30%)</b>	<b>63</b>

\*La notion de voyage ainsi que les épidémies sont indiquées en nombre de cas.

La Turquie se trouve à cheval entre les continents africain et asiatique. Nous l'avons comptabilisé en Asie.

Pays souligné si ≥ 5 cas par séro groupe de *Shigella* spp.

### 3.2.2.3 Souches reçues des DOM-TOM

En 2016, le CNR-ESS a reçu 112 souches de *Shigella* isolées chez 111 patients en provenance des DOM-TOM (**tableau 33**). Cent-onze souches provenaient de Guyane française (Cayenne, Kourou, Saint-Laurent du Maroni) et une souche était isolée d'un habitant de Mayotte au cours d'un voyage en métropole.

Aucune notion de voyage n'a été déclarée parmi les 111 cas de shigellose des DOM-TOM, en dehors du patient de Mayotte en voyage en France métropolitaine.

Un seul cas a été associé à une notion d'épidémie, mais sans précision: catégorie « Autre groupe de cas ».

**Tableau 33:** Distribution des différents sérotypes de *Shigella* spp. reçues au CNR-ESS en 2016 en provenance des DOM-TOM

Sérotypes	Guyane française	Mayotte
<i>S. flexneri</i> 1b	15	1*
<i>S. flexneri</i> 2a	49 (50)	0
<i>S. flexneri</i> 3a	6	0
<i>S. flexneri</i> 3b	1	0
<i>S. flexneri</i> 4c	2	0
<i>S. sonnei</i> a	2	0
<i>S. sonnei</i> g	35	0
<b>Total</b>	<b>110 (111)</b>	<b>1</b>

Nombre de cas (nombre de souches si différent)

\*Souche isolée d'un patient de Mayotte au cours d'un voyage en métropole

#### 3.2.2.4 Souches reçues de l'Étranger

En 2016, le CNR n'a reçu aucune souche de *Shigella* spp. en provenance de l'étranger.

#### 3.2.2.5 Fiches d'information reçues sans envoi de souches

Ces fiches d'information ont été établies initialement pour répertorier les cas de *S. sonnei* au niveau de la France métropolitaine.

En 2016 le CNR-ESS a reçu 260 fiches d'information signalant 248 cas d'infection à *Shigella* spp. Deux cent cinquante six fiches provenaient de laboratoires d'analyse de France métropolitaine et des DOM-TOM. Douze fiches ont été envoyées par erreur en plusieurs exemplaires et 29 fiches ont été envoyées en doublon de souches. Un total de 219 cas de shigellose a donc été effectivement signalé par fiche d'information sans envoi de souche en 2016 (216 en provenance de France métropolitaine et 3 en provenance de l'Île de la Réunion).

Ces 219 cas de shigellose étaient répartis chez 218 patients comme suit (voir **tableau 34**): 186 cas d'infections à *S. sonnei*, 20 cas d'infection à *S. flexneri*, trois cas d'infection à *S. boydii*, un cas d'infection à *S. dysenteriae* et enfin neuf cas pour lesquels l'espèce n'était pas précisée. Un LBM du département 69 a déclaré avoir isolé chez un même patient une souche de *S. sonnei* suivie d'une souche de *S. flexneri* à 17 jours d'intervalle.

**Tableau 34:** Bilan des fiches d'information de *Shigella* spp. en 2016

	2016
<i>S. boydii</i>	3
<i>S. dysenteriae</i>	1
<i>S. flexneri</i>	20
<i>S. sonnei</i>	186
Non précisé	9
<b>Total</b>	<b>219</b>

En nombre de cas



### 3.3 Activités de surveillance des *Shigella*

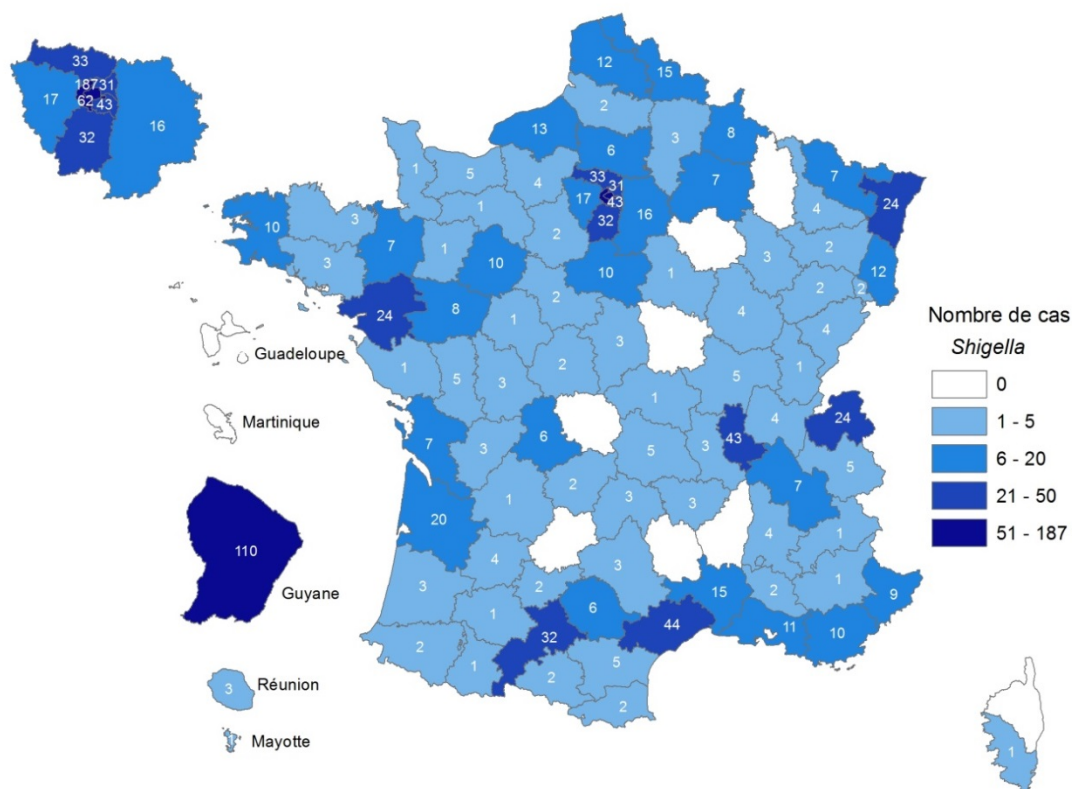
#### 3.3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

##### 3.3.1.1 Réseau partenaire

Le CNR-ESS collabore depuis de nombreuses années avec un réseau de laboratoires, qui fournissent les différents prélèvements et informations nécessaires à la surveillance (laboratoires privés, laboratoires hospitaliers, centres de santé, Instituts et Ecoles vétérinaires...).

##### 3.3.1.2 Distribution globale des cas de shigellose en France métropolitaine et DOM-TOM

En 2016, les 1076 cas déclarés au CNR-ESS par l'envoi de souches ou de fiches d'information provenaient de 88 départements de France métropolitaine et de trois DOM (Guyane, La Réunion et Mayotte). Le détail de la répartition par département est présenté dans la **figure 9**.



(Carte réalisée par Santé publique France, Mars 2017, Edith Laurent)

**Figure 9:** Nombre de cas de shigellose par département, signalés en 2016 au CNR-ESS, par l'envoi de souche ou la transmission d'une fiche d'information sans envoi de souche (département de domiciliation du patient ou à défaut département du laboratoire expéditeur).

La répartition des souches de *Shigella* spp. reçues au CNR-ESS selon leur site de prélèvement est présentée dans le **tableau 35**. On observe un faible taux de bactériémie à *Shigella* spp.

**Tableau 35:** Répartition par site de prélèvement des souches de *Shigella* spp. reçues au CNR-ESS en 2016

	Métropole	DOM-TOM
Selles	712	108
Biopsie colique/rectale	25	0
Sang	3 ( <i>S. flexneri</i> 2a)	1 ( <i>S. flexneri</i> 3a)
Urines	2	1
Péritonéal	1	0
Inconnue	1	1
Autre	1	0
Non renseigné	1	0
<b>Total général</b>	<b>746</b>	<b>111</b>

### 3.3.1.2.1 Analyse de la distribution en France métropolitaine et analyse de tendances

En 2016, le CNR-ESS a reçu 754 souches de *Shigella* spp. (isolées chez 746 patients en provenance de France métropolitaine contre 682 (674) en 2015, 866 (854) en 2014, 673 (664) en 2013 et 594 (593) en 2012. La distribution des différentes souches et du nombre de cas d'infection à *Shigella* spp. répertoriés au CNR-ESS sur les 5 dernières années (2012-2016) est représentée dans le **tableau 36** et dans la **figure 10**. Nous observons que **les espèces les plus fréquemment isolées chaque année en France métropolitaine sont *S. sonnei* (56 ± 6,1%) et *S. flexneri* (36 ± 5,7%)**. Les espèces *S. boydii* (6 ± 0,8%) et *S. dysenteriae* (2 ± 0,6%) étant minoritaires.

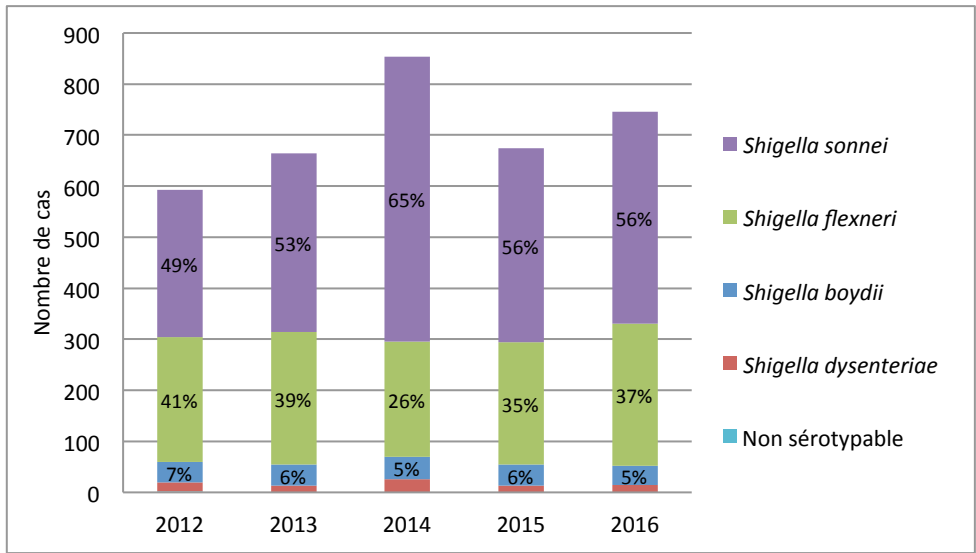
Une particularité a été observée pour l'espèce *S. flexneri* (**figure 11**) avec une **augmentation significative du sérotype *S. flexneri* 2a et une diminution significative du sérotype *S. flexneri* 3a entre 2012** (respectivement 30% et 24%) **et 2016** (respectivement 49% et 8%) (test du  $\chi^2$ ,  $p < 0,05$ ). Pour l'espèce *S. sonnei*, le sérotype *S. sonnei* g (65 ± 8,2%) est systématiquement prépondérant, sans évolution significative entre 2012 et 2016 (test du  $\chi^2$ , NS). L'évolution des espèces minoritaires *S. boydii* et *S. dysenteriae* n'est pas présentée.

**Tableau 36:** Distribution des différents sérotypes de *Shigella* spp. entre 2012 à 2016

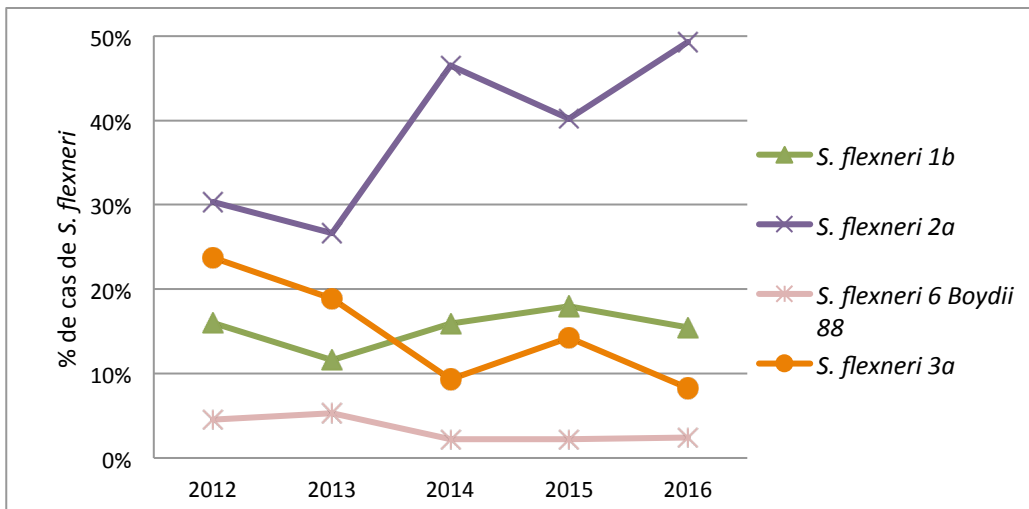
Sérotypes	2012	2013	2014	2015	2016
<b><i>Shigella boydii</i></b>	<b>41 (41)</b>	<b>42 (42)</b>	<b>44 (44)</b>	<b>42 (42)</b>	<b>37 (37)</b>
1	2	3	1	2	3
2	15	11	17	12	9
4	8	12	15	16	5
5	-	1	-	-	-
8	1	-	-	-	-
9	-	-	-	-	1
10	5	4	1	4	2
11	-	-	1	-	5
12	-	1	-	1	1
13	1	-	3	2	3
14	1	2	1	2	1
18	-	1	2	1	-
19	1	-	-	-	1
20	7	6	3	2	6
Sérotypage provisoire Ewing 1621-54	-	1	-	-	-
<b><i>Shigella dysenteriae</i></b>	<b>17 (17)</b>	<b>13 (13)</b>	<b>26 (26)</b>	<b>12 (12)</b>	<b>14 (14)</b>
2	6	4	5	4	2
3	3	-	-	3	6
4	2	2	3	-	-
6	-	-	1	-	1
9	-	-	-	-	1
12	-	1	1	1	1
14	1	-	-	-	-
Sérotypage provisoire 97-10607 (96-204)	4	6	14*	4*	3
Sérotypage provisoire 93-119	1	-	1*	-	-
Sérotypage provisoire Sh111	-	-	1*	-	-
<b><i>Shigella flexneri</i></b>	<b>244 (245)</b>	<b>259 (263)</b>	<b>226 (227)</b>	<b>239 (243)</b>	<b>278 (283)</b>
1	-	7	3	2	-
1a	3	4	-	2	2
1b	39	30	36	43	43
2a	74	69	105	96	137 (139)
2b	11	16	9	7	11
3a	58	49	21	34	23
3b	6	3	2	4	8
4	7	7	9	4	9
4 (mannitol -)	-	-	-	-	1
4 variété Saïgonensis	2	2	-	-	-
4a	-	1	-	1	-
4b	-	1	-	-	-
4c	3	6	6	12	3
6 Boydii 88	27	35	19	15	18 (19)
6 Herfordshire	5	5	5	2	3
6 Manchester	4	1	-	-	-
6 Newcastle	-	1	-	-	-
X	1	2	2	-	3
Y	2	3	1	2	1
Sérotypage provisoire 1c	2	17	8*	15 (16)*	16 (18)
<b><i>Shigella sonnei</i></b>	<b>289 (289)</b>	<b>350 (355)</b>	<b>558 (569)</b>	<b>380 (384)</b>	<b>416 (419)</b>
a	16	14	23	11	11
a (mannitol -)	-	-	-	1	-
a (ODC-)	-	-	-	-	2
e	1	-	1	-	2
f	1	1	2	1	-
g	162	253	413	220	260 (261)
g (mannitol -)	55	46	70	82	90 (91)
g (mannitol - et ODC-)	-	-	1	1	-
g (mannitol - et ONPG-)	2	1	6	2	1
g (ONPG-)	52	33	40	61	50 (51)
g (ODC-)	-	2	-	1	-
g (ODC- et ONPG-)	-	-	2	-	-
<b>Rough/Non sérotypable (NST)</b>	<b>2 (2)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1 (1)*</b>	<b>1 (1)</b>
<b>Total</b>	<b>593 (594)</b>	<b>664 (673)</b>	<b>854 (866)*</b>	<b>674 (682)*</b>	<b>746 (754)</b>

Nombre de cas (nombres de souches)

\*Données ajoutées par rapport aux rapports précédents (voir rectification du fichier d'extraction des données Lagon).



**Figure 10:** Evolution des différents sérogroupes de *Shigella* spp. entre 2012 et 2016



**Figure 11:** Evolution des principaux sérotypes de *S. flexneri* entre 2012 et 2016

- Répartition par sexe

En 2016, nous observons une **prédominance du nombre de cas de shigellose chez les hommes (59%) par rapport aux femmes (41%) de métropole**. Cette différence de genre n'est pas observée dans la population des DOM-TOM, voir 3.3.1.2.2.

**Tableau 37:** Répartition par sexe des cas de shigellose en France métropolitaine en 2016

	Cas de shigellose
Femme	303 (41%)
Homme	441 (59%)
Données non renseignées	2 (0,3%)
Total	746 (100%)

Nombre de cas (pourcentage)

Il a été décrit, en Angleterre, que le nombre de cas d'infections à *S. flexneri* 2a et 3a avait augmenté de manière marquée ces dernières années chez les hommes homosexuels (Euro Surveill. 2015;20(15):pii=21097). Nous avons donc étudié la répartition par sexe des principaux cas d'infection à *S. flexneri* en 2016 (**Tableau 38**). Les résultats montrent 3 fois plus d'hommes que de femmes pour les cas infectés par *S. flexneri* 2a (104 cas d'homme vs 33 cas de femme) et près de 2 fois plus d'hommes que de femmes pour *S. flexneri* 3a (15 cas d'homme vs 8 cas de femme). Pour *S. flexneri* 1b, nous observons des proportions proches d'hommes et de femmes (23 cas d'hommes vs 20 cas de femmes).

Cependant une analyse statistique de ces résultats par le test du  $\chi^2$  montre les résultats suivants : une équivalence statistique est observée entre la proportion d'hommes infectés par *S. flexneri* 2a ( $\text{Homme}_{S. flexneri 2a} = 104/137$ ) et par *S. flexneri* 3a ( $\text{Homme}_{S. flexneri 3a} = 15/23$ ), mais aussi entre la proportion d'hommes infectés par *S. flexneri* 3a ( $\text{Homme}_{S. flexneri 3a} = 15/23$ ) et par *S. flexneri* 1b ( $\text{Homme}_{S. flexneri 1b} = 23/43$ ). Il n'y a donc pas de lien statistique entre le sexe et le sérotype 3a. Seul le sérotype 2a montre une proportion d'homme statistiquement supérieure au sérotype 1b. A ce stade ces résultats ne sont pas en contradiction avec les résultats publiés ci-dessus. Une étude supplémentaire nécessiterait une description plus précise de ces cas par le recueil de l'orientation sexuelle des patients. Cette dernière n'est pas disponible à ce jour en France.

**Tableau 38:** Répartition par sexe des principaux sérotypes de *S. flexneri* en France métropolitaine en 2016

	<i>Shigella flexneri</i> 2a	<i>Shigella flexneri</i> 1b	<i>Shigella flexneri</i> 3a
Homme	104	23	15
Femme	33	20	8
Ratio H/F	3,15	1,15	1,88

- Répartition par âge

Les **tableaux 39 et 40** présentent la répartition par classe d'âge des cas de shigellose de France métropolitaine déclarés au CNR-ESS en 2016 (en nombre de cas, % de cas et incidence par rapport à une estimation INSEE de la population de métropole). Le **tableau 41** présente quant à lui les tests statistiques de comparaison de ces différentes classes d'âge. Les résultats montrent que l'incidence des cas de shigellose est statistiquement différente selon la classe d'âge :

- L'incidence des 26-35 ans (2,35 pour 100 000 habitants) est supérieure aux autres classes d'âge et elle est 2 fois plus élevée que celle de la population générale (1,15 pour 100 000 habitants).
- L'incidence des 0-5 ans et des 36-45 ans est également supérieure à celle de la population générale : 1,6 fois et 1,5 fois respectivement.
- Enfin la classe des plus de 61 ans est la moins représentée (0,38 cas pour 100 000 habitants) avec une incidence 3 fois moins importante que celle de la population générale.

**Tableau 39:** Répartition par classe d'âge des cas de shigellose de métropole en 2016

	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>Shigella</i> rough NST	Total
0-5 ans	5 (14%)	2 (14%)	25 (9%)	53 (12%)	1 (100%)	86 (11%)
6-15 ans	3 (8%)	3 (21%)	17 (6%)	48 (12%)	0	71 (10%)
16-25 ans	10 (27%)	1 (7%)	22 (8%)	46 (11%)	0	79 (11%)
26-35 ans	5 (14%)	4 (29%)	68 (24%)	109 (26%)	0	186 (25%)
36-45 ans	4 (11%)	1 (7%)	60 (22%)	75 (18%)	0	140 (19%)
46-60 ans	4 (11%)	1 (7%)	56 (20%)	65 (16%)	0	126 (17%)
≥ 61 ans	6 (16%)	2 (14%)	30 (11%)	20 (5%)	0	58 (8%)
Total	37 (100%)	14 (100%)	278 (100%)	416 (100%)	1 (100%)	746 (100%)

Nombre de cas (% de cas)

**Tableau 40:** Incidence des cas de shigellose en France métropolitaine en 2016

	Poids de la population type (INSEE, 1 <sup>er</sup> janvier 2016, France métropolitaine)	Incidence des cas de shigellose (pour 100 000 habitants en 2016)
0-5 ans	4 587 388 (7%)	<b>1,87</b>
6-15 ans	8 022 591 (12%)	0,89
16-25 ans	7 508 545 (12%)	1,05
26-35 ans	7 909 116 (12%)	<b>2,35</b>
36-45 ans	8 352 392 (13%)	<b>1,68</b>
46-60 ans	12 768 397 (20%)	0,99
≥ 61 ans	15 456 170 (24%)	0,38
Population générale	64 604 599 (100%)	1,15

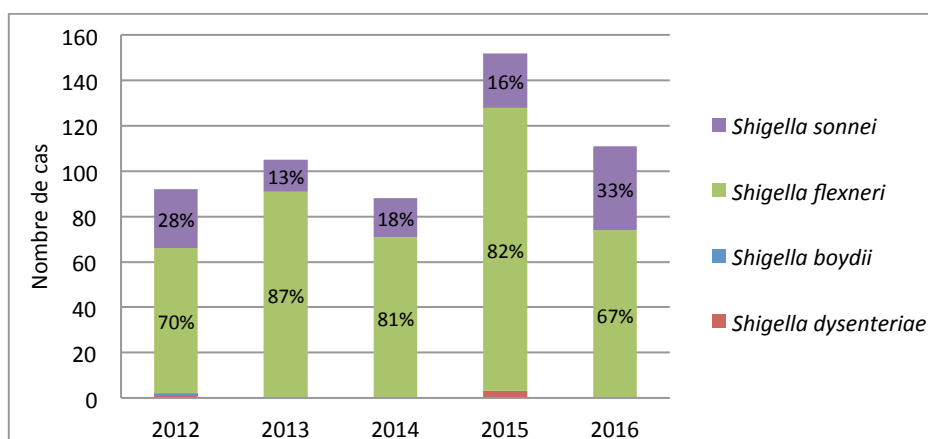
**Tableau 41:** Test non paramétrique de comparaison de l'incidence des cas de shigellose en France métropolitaine selon les classes d'âge en 2016

	0-5	6-15	16-25	26-35	36-45	46-60	>=61
0-5 ans	-	5,68	4,28	1,68	0,83	5,19	14,56
6-15 ans	3,91	-	1,01	6,04	3,91	0,72	6,05
16-25 ans	3,21	1,11	-	5,26	3,03	0,45	7,86
26-35 ans	1,88	9,84	7,86	-	3,33	9,60	23,34
36-45 ans	0,79	5,38	3,83	2,81	-	4,93	15,64
46-60 ans	3,77	0,76	0,44	6,22	3,78	-	8,35
≥ 61 ans	6,51	3,94	4,69	9,32	7,40	5,15	-
Population générale	3,44	2,42	0,82	6,55	3,46	1,75	14,21

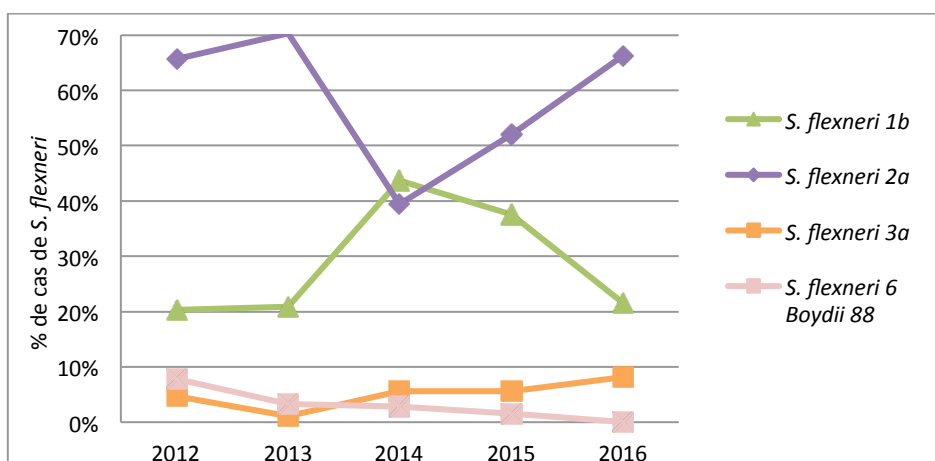
sont surlignées les comparaisons de classe d'âge présentant une différence significative (soit score  $Z_{5\%} > 1,96$ ). Ex : le score de comparaison des 26-35 ans avec les 6-15 ans est 9,84 soit  $> 1,96$ , donc présence d'une différence significative entre ces deux classes.

### 3.3.1.2.2 Analyse de la distribution dans les DOM-TOM et analyse de tendances

Dans les DOM-TOM, et contrairement à la métropole, l'espèce *S. flexneri* ( $77 \pm 8,6\%$ ) est nettement plus représentée que l'espèce *S. sonnei* ( $22 \pm 8,5\%$ ) au cours des 5 dernières années (2012-2016) (voir figure 12). La répartition des différents sérotypes de *S. flexneri* isolées en 2016 est quant à elle similaire à celle de métropole : *S. flexneri* 2a (66%) est suivi de 1b (22%) puis de *S. flexneri* 3 a (8%) (voir figure 13).



**Figure 12:** Evolution des différents sérogroupes de *Shigella* spp. entre 2012 et 2016



**Figure 13:** Evolution des principaux sérotypes de *S. flexneri* entre 2012 et 2016

- **Répartition par sexe**

En 2016, nous observons **51% de cas de shigellose chez les hommes et 49% chez les femmes des DOM-TOM**. Le sexe ratio homme/femme est de 57/54=1,1 (voir **tableau 42**) et **il n'y a pas de déséquilibre entre les sexes** contrairement aux cas de métropole. Ce qui se confirme parmi les résultats des sérotypes *S. flexneri* 2a (sexe ratio=1,2), *S. flexneri* 1b (sexe ratio=0,6) et *S. flexneri* 3a (ratio=0,5) (test khi<sup>2</sup>, NS) (voir **tableau 43**).

**Tableau 42:** Répartition par sexe des cas de shigellose dans les DOM-TOM en 2016

	Cas de shigellose
Femme	54 (49%)
Homme	57 (51%)
Données non renseignées	0
Total	111 (100%)

Nombre de cas (pourcentage)

**Tableau 43:** Répartition par sexe des principaux sérotypes de *S. flexneri* dans les DOM-TOM en 2016

	<i>Shigella flexneri</i> 2a	<i>Shigella flexneri</i> 1b	<i>Shigella flexneri</i> 3a
Homme	27	6	2
Femme	22	10	4
Ratio H/F	1,2	0,6	0,5

- **Répartition par âge**

Les **tableaux 44 et 45** présentent la répartition par classe d'âge des cas de shigellose de Guyane déclarés au CNR-ESS en 2016 (en nombre de cas, % de cas et taux normalisé par rapport à une estimation INSEE de la population de métropole). Le **tableau 46** présente quant à lui les tests statistiques de comparaison de ces différentes classes d'âge. Une incidence différente est observée selon les classes d'âge :

- L'incidence des 0-14 ans (79,6 cas pour 100 000 habitants) est plus de 2 fois supérieure à celle de toutes les autres classes d'âge. Elle est presque 2 fois supérieure à celle de la population générale (45,1 cas pour 100 000 habitants).
- L'incidence des 15-29 ans (38,6 cas pour 100 000 habitants) est supérieure à celle des classes plus âgées mais elle reste inférieure à l'incidence de la population générale.
- Enfin le cas de shigellose le plus âgé a été rapporté chez une femme de 72 ans.

**Tableau 44:** Répartition par classe d'âge des cas de shigellose en Guyane en 2016

	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	Total
0-14 ans	44 (59%)	22 (59%)	66 (59%)
15-29 ans	13 (18%)	9 (24%)	22 (20%)
30-44 ans	6 (8%)	3 (8%)	9 (9%)
45-59 ans	6 (8%)	3 (8%)	9 (8%)
60-74 ans	4 (5%)	0	4 (4%)
≥ 75 ans	0	0	0
Total	73 (100%)	37 (100%)	110 (100%)

Nombre de cas (% de cas)



**Tableau 45:** Incidence des cas de shigellose en Guyane en 2016

	Poids de la population type (INSEE, 2013, Guyane)	Incidence des cas de shigellose (pour 100 000 habitants en 2016)
0-14 ans	82 921 (34,0%)	<b>79,6</b>
15-29 ans	56 989 (23,3%)	38,6
30-44 ans	51 899 (21,3%)	17,3
45-59 ans	34 623 (14,2%)	26,0
60-74 ans	13 732 (5,6%)	29,1
≥ 75 ans	3 954 (1,6%)	0
Population générale	244 118 (100%)	45,1

**Tableau 46:** Test non paramétrique de comparaison de l'incidence des cas de shigellose en Guyane selon les classes d'âge en 2016

	0-14 ans	15-29 ans	30-44 ans	45-59 ans	60-74 ans	≥ 75 ans
0-14 ans	-	<u>3,83</u>	8,45	<u>5,20</u>	<u>3,21</u>	ND
15-29 ans	<u>2,67</u>	-	2,66	1,15	0,58	ND
30-44 ans	<u>3,94</u>	1,78	-	0,77	0,72	ND
45-59 ans	<u>2,97</u>	0,94	0,95	-	0,18	ND
60-74 ans	<u>1,94</u>	0,51	0,93	0,19	-	ND
≥ 75 ans	1,73	1,19	0,80	0,96	0,95	ND
Population générale	<u>3,05</u>	0,71	<u>4,36</u>	<u>2,06</u>	1,06	ND

sont surlignées les comparaisons de classe d'âge présentant une différence significative (soit score  $Z_{5\%} > 1,96$ , loi Normale centrée réduite). Ex : le score de comparaison des 0-14 ans et 15-29 ans est  $3,83 > 1,96$ , donc présence d'une différence significative entre ces deux classes.

### 3.3.2 Surveillance de la résistance des shigelles aux anti-infectieux

#### 3.3.2.1 Etude de la résistance aux antibiotiques des souches de *Shigella* (CNR-ESS)

##### 3.3.2.1.1 Surveillance globale

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques s'effectue au CNR-ESS par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon le référentiel CASFM / EUCAST 2015.

En 2016, les antibiotiques testés étaient les suivants:

- Ampicilline 10µg
- Ceftazidime 10 µg
- Céfotaxime 5µg
- Ertapénème 10µg
- Streptomycine 10 µg
- Amikacine 30µg
- Gentamycine 10µg
- Acide nalidixique 30µg
- Péfloxacine 5µg
- Ciprofloxacine 5µg
- Tétracycline 30µg
- Tigécycline 15µg
- Chloramphénicol 30µg
- Sulfamides 200µg
- Triméthoprimine 5µg
- Azithromycine 15µg

En cas de profil d'interprétation intermédiaire ou résistant à l'acide nalidixique, péfloxacine, ciprofloxacine, ceftazidime, céfotaxime ou azithromycine, les CMI sont déterminées par la méthode des E-test.

Un antibiogramme a été réalisé sur toutes les souches de *Shigella* spp. d'origine humaine reçues en 2016 au CNR-ESS. Les **tableaux 47 et 48** présentent les pourcentages de résistance aux principaux antibiotiques. Les calculs ont été réalisés à partir des souches dé-doublonnées : en provenance de France métropolitaine (n=746) et des DOM-TOM (n=111).

**Tableau 47:** Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différentes espèces de *Shigella* en provenance de France métropolitaine en 2016

Sérogroupe	Nbre souches (sans doublons)	AMP %	CAZ / CTX %	STR %	AKN%	GEN %	SUL %	TMP %	CHL %	TET %	NAL / PEF* %	CIP* %	AZM %
<i>S. boydii</i>	37	35,1	5,4	59,5	0,0	0,0	70,3	70,3	2,7	62,2	21,6	0,0	2,7
<i>S. dysenteriae</i>	14	78,6	7,1	100	0,0	0,0	78,6	78,6	50,0	85,7	7,1	0,0	7,1
<i>S. flexneri</i>	278	80,9	0,4	86,7	0,0	0,4	53,6	63,3	62,2	83,8	16,2	7,9	16,5
<i>S. sonnei</i>	416	26,7	5,3	93,8	0,0	1,7	78,1	98,3	2,2	68,3	32,5	22,1	15,9
Rough NST	1	0,0	0,0	100	0,0	0,0	100	100	0,0	100	0,0	0,0	0,0
<b>Total</b>	<b>746</b>	<b>48,4</b>	<b>3,5</b>	<b>89,5</b>	<b>0,0</b>	<b>1,1</b>	<b>68,6</b>	<b>83,5</b>	<b>25,5</b>	<b>74,1</b>	<b>25,3</b>	<b>15,4</b>	<b>15,3</b>

AKN=amikacine, AMP=ampicilline, AZM=azithromycine, CTX=cefotaxime, CAZ=ceftazidime, CHL=chloramphénicol, CIP=ciprofloxacine, GEN=gentamicine, NAL=acide nalidixique, STR=streptomycine, SUL=sulfamides, TET=tétracycline, TMP=triméthoprime

\*comprend les souches interprétées intermédiaires ou résistantes.

**Tableau 48:** Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différentes espèces de *Shigella* en provenance des DOM-TOM en 2016

Sérogroupe	Nbre souches (sans doublons)	AMP %	CAZ / CTX %	STR %	AKN%	GEN %	SUL %	TMP %	CHL %	TET %	NAL* %	CIP* %	AZM %
<i>S. boydii</i>	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. dysenteriae</i>	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. flexneri</i>	74	83,8	0,0	98,7	0,0	0,0	43,2	94,6	74,3	87,8	0,0	0,0	0,0
<i>S. sonnei</i>	37	94,6	0,0	94,6	0,0	0,0	91,9	94,6	89,2	91,9	0,0	0,0	2,7**
<b>Total</b>	<b>111</b>	<b>87,4</b>	<b>0,0</b>	<b>97,3</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>59,5</b>	<b>94,6</b>	<b>79,3</b>	<b>89,2</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,9</b>

AKN=amikacine, AMP=ampicilline, AZM=azithromycine, CTX=cefotaxime, CAZ=ceftazidime, CHL=chloramphénicol, CIP=ciprofloxacine, GEN=gentamicine, NAL=acide nalidixique, STR=streptomycine, SUL=sulfamides, TET=tétracycline, TMP=triméthoprime

\*comprend les souches interprétées intermédiaires ou résistantes.

\*\*souche d'un habitant de Mayotte en voyage en métropole.

### 3.3.2.1.2 Résistances émergentes chez *Shigella* spp.

#### ➤ Résistance à l'azithromycine

En 2016, 115 souches de *Shigella* spp. résistantes à l'azithromycine (CMI>16 mg/L) (**Azm<sup>R</sup>**), sans doublon, ont été détectées au CNR-ESS (liste détaillée dans le **tableau 49**): 67 *S. sonnei* (sérotypes a et g), 46 *Shigella flexneri* (sérotypes 2a, 3a, 3b, 4, 6 Boyd 88, X et sérotype provisoire 1c), une *S. boydii* 4 et une *S. dysenteriae* 12. Ces résultats confirment l'émergence progressive de cette résistance observée depuis 2014 (n=2 en 2013, n=14 en 2014 et n=66 en 2015) en France métropolitaine. Toutes les souches étaient isolées jusqu'à ce jour chez des habitants de métropole. En 2016, une souche a été isolée chez un habitant de Mayotte, présentant cependant une notion de voyage en France.

Parmi ces 115 souches Azm<sup>R</sup>, **90% (n=103) ont été isolées chez des hommes**, avec un sexe ratio homme/femme élevé de 103/12=8,6. Le détail de la répartition par sexe et par âge des cas est présenté dans le **tableau 50**. On observe une nette différence d'incidence selon les classes d'âge (**tableaux 51 et 52**) :

- **l'incidence des 21-30 ans, 31-40 ans et 41-50 ans est nettement supérieure aux autres classes d'âge** et plus de 2 fois supérieure à l'incidence de la population générale (0,18 cas pour 100 000 habitants).
- Les incidences des 0-20 ans (0,02 cas pour 100 000 habitants) et des ≥ 61 ans (0,01 cas pour 100 000 habitants) sont quant à elles nettement inférieures à celle de la population générale.

Une notion de voyage a été associée chez seulement 12 patients sur 115 (10%).

Sur cette même période, il est intéressant de noter que **l'association de résistance AMP-STR-TET-CHL-AZM** a été détectée chez **87% des souches de *S. flexneri* Azm<sup>R</sup>** (40/46) reçues au CNR-ESS : 100 % des sérotypes 3a (5/5), 3b (3/3) et X (1/1), et 99% du sérotype 2a (31/32). Ce profil de résistance a déjà été décrit chez *S. flexneri* 3a dans une étude épidémiologique internationale (Baker *et al.*, Lancet Infect Dis, 2015). Cette étude montre l'émergence d'une lignée de *S. flexneri* 3a chez des homosexuels, et sa dissémination intercontinentale. L'analyse génomique de souches de cette lignée, isolées entre 1955 et 2014, a montré la présence systématique de l'élément génétique mobile SRL-PAI (porteur des gènes *blaOXA-1*, *catA1*, *aadA1* et *tetB*, codant la résistance aux bêta-lactamines, chloramphénicol, aminosides et tétracyclines respectivement). A partir de juillet 2010, trois sous-lignées majoritaires (80% des isolats collectés de juillet 2010 à juin 2011) sont apparues: ces dernières possèdent toutes le plasmide pKSR100, porteur des gènes *ermB* et *mphA* responsable d'une résistance à haut niveau à l'azithromycine. Enfin deux de ces sous-lignées présentent en plus l'intégron pKSR100 ou le plasmide pCERC1, porteur de gènes de résistance supplémentaires au cotrimoxazole.

L'association de résistance stricte de type AMP-STR-TET-CHL-AZM a été observée chez toutes nos souches de *S. flexneri* 3a (n=5), 3b (n=3) et X (n=1), ainsi que chez quatre souches de *S. flexneri* 2a. 27 autres souches de *S. flexneri* 2a présentaient une résistance supplémentaire au cotrimoxazole et 2 souches de *S. flexneri* 2a une résistance en plus à la ciprofloxacine.

**Enfin sur les 40 souches de *S. flexneri* de phénotype de résistance AMP-STR-TET-CHL-AZM détectées au CNR-ESS, 100% ont été isolées chez des hommes de 21 à 60 ans : 18% avaient entre 21 et 30 ans, 35% entre 31 et 40ans, 38% entre 41 et 50 ans et 10% entre 51 et 60 ans. Seulement 2 cas étaient associés à une notion de voyage : 1 en Italie et 1 en Espagne.**

**Tableau 49:** Caractéristiques des souches de *Shigella* Azm<sup>R</sup> de 2016

Sérotypes	N° CNR	CMI AZM (mg/L)	Profil résistance complet	Notion de voyage
<i>S. boydii</i> 4	201602080	32	AMP STR PEF TET SMX TMP AZM	-
<i>S. dysenteriae</i> 12	201609239	24	AMP CTX STR NAL SMX TMP AZM	Inde
<i>S. flexneri</i> 2a (n=32)	201600157	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201601099	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201601119	64	AMP STR CIP TET CHL SMX TMP AZM	-
	201601191	>256	AMP STR TET CHL AZM	-
	201601470	32	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201601514	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201601557	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201601852	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201601874	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201601935	32	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	Italie
	201601989	24	AMP STR CIP TET CHL SMX TMP AZM	-
	201603123	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201603572	>256	AMP STR TET CHL AZM	-
	201604534	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	Aucun
	201605364	>256	AMP STR PEF TET CHL SMX TMP AZM	Aucun
	201605510	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201605742	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201605855	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201606173	>256	AMP STR TET CHL AZM	-
	201606228	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201606252	>256	AMP STR TET CHL AZM	-
	201606330	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	Guadeloupe
	201606942	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201609636	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201609658	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201609974	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201610087	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201610267	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201610485	24	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	Aucun
	201611066	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201611311	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
	201611706	>256	AMP STR TET CHL SMX TMP AZM	-
<i>S. flexneri</i> 3a (n=5)	201600214	32	AMP STR TET CHL AZM	-
	201601508	>256	AMP STR TET CHL AZM	-
	201607219	>256	AMP STR TET CHL AZM	-
	201608229	>256	AMP STR TET CHL AZM	Espagne
	201608388	>256	AMP STR TET CHL AZM	-
<i>S. flexneri</i> 3b (n=3)	201600994	>256	AMP STR TET CHL AZM	-
	201608124	48	AMP STR TET CHL AZM	-
	201610861	>256	AMP STR TET CHL AZM	-
<i>S. flexneri</i> 4	201600021	192	STR PEF TET SMX TMP AZM	-

<i>S. flexneri</i> 6 Boyd 88	201605241	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	Cambodge
<i>S. flexneri</i> sér. prov. 1c (n=3)	201600866	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	Aucun
	201606839	>256	AMP STR PEF TET SMX TMP AZM	-
	201607070	128	AMP STR PEF TET SMX TMP AZM	-
<i>S. flexneri</i> X	201610706	>256	AMP STR TET CHL AZM	
<i>S. sonnei</i> a (n=2)	201603190	>256	AMP CTX STR TET SMX TMP AZM	Maroc
	201605018	>256	AMP STR CIP SMX TMP AZM	-
<i>S. sonnei</i> g (n=64)	201600117	>256	AMP STR CIP SMX TMP AZM	-
	201600158	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201600162	>256	STR NAL TET SMX TMP AZM	-
	201600653	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201600884	>256	STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201600966	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201601117	>256	AMP STR CIP SMX TMP AZM	-
	201601157	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201601367	>256	AMP STR CIP SMX TMP AZM	Chine
	201601748	>256	AMP STR CIP SMX TMP AZM	-
	201602115	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	-
	201602860	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201602861	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201602863	>256	AMP STR CIP SMX TMP AZM	-
	201602864	>256	AMP STR CIP SMX TMP AZM	-
	201602867	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201603739	>256	AMP CTX CAZ STR NAL TET SMX TMP AZM	-
	201603742	>256	AMP CTX STR NAL TET SMX TMP AZM	-
	201603898	48	AMP CTX CAZ STR GEN CIP TET SMX TMP AZM	-
	201604144	>256	AMP STR CIP SMX TMP AZM	-
	201604478	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	Aucun
	201604682	>256	AMP STR CIP SMX TMP AZM	Turquie
	201604687	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201605089	>256	AMP STR CIP SMX TMP AZM	-
	201605090	>256	AMP STR CIP SMX TMP AZM	-
	201605743	>256	AMP CTX STR CIP SMX TMP AZM	-
	201605745	128	AMP STR TMP AZM	-
	201605809	>256	STR TET SMX TMP AZM	-
	201605965	>256	AMP STR CIP SMX TMP AZM	-
	201606036	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	-
	201606749	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	-
	201606817	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	-
	201606993	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	-
	201607131	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	-
	201607759	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	-
	201607913	32	AMP STR TMP AZM	France
	201608572	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201608836	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	Cuba

	201608858	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201608950	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201609048	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201609069	24	AMP STR TET SMX TMP AZM	-
	201609123	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	-
	201609226	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201609801	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201609802	>256	AMP STR CIP SMX TMP AZM	-
	201609836	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	-
	201609975	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201610028	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201610080	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201610090	128	STR NAL TET SMX TMP AZM	-
	201610216	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	Aucun
	201610335	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	Aucun
	201610461	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201610554	>256	AMP CTX CAZ STR NAL TET SMX TMP AZM	-
	201610631	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	Aucun
	201610666	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201611169	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	Cuba
	201611351	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	Autre
	201611359	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	-
	201611488	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	-
	201611650	>256	AMP STR TET SMX TMP AZM	Aucun
	201611705	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	Aucun
	201611756	>256	AMP STR CIP TET SMX TMP AZM	Thaïlande
<i>S. sonnei</i> g (mannitol-)	201600651	64	AMP STR NAL TET SMX TMP AZM	-

AKN=amikacine, AMP=ampicilline, AZM=azithromycine, CTX=cefotaxime, CAZ=ceftazidime, CHL=chloramphénicol, CIP=ciprofloxacine, GEN=gentamicine, NAL=acide nalidixique, STR=streptomycine, SUL=sulfamides, TET=tétracycline, TMP=triméthoprim

**Tableau 50:** Répartition par sexe et par âge des cas d'infection à *Shigella* spp. Azm<sup>R</sup> en 2016

	Femmes	Hommes	Total
0-20 ans	1 (8%)	2 (2%)	3 (3%)
21-30 ans	3 (25%)	28 (27%)	31 (27%)
31-40 ans	5 (42%)	32 (31%)	37 (32%)
41-50 ans	2 (17%)	31 (30%)	33 (29%)
51-60 ans	0	9 (9%)	9 (8%)
≥ 61 ans	1 (8%)	1 (1%)	2 (2%)
Total	12 (10%)	103 (90%)	115 (100%)

**Tableau 51:** Incidence des cas de shigellose Azm<sup>R</sup> en France métropolitaine en 2016

	Poids de la population type (INSEE, 1 <sup>er</sup> janvier 2016, France métropolitaine)	Incidence des cas de shigellose Azm <sup>R</sup> (pour 100 000 habitants en 2016)
0-20 ans	16 434 876 (25%)	0,02
21-30 ans	7 547 892 (12%)	<b>0,41</b>
31-40 ans	7 983 078 (12%)	<b>0,46</b>
41-50 ans	8 766 829 (14%)	<b>0,38</b>
51-60 ans	8 415 754 (13%)	0,11
≥ 61 ans	15 456 170 (24%)	0,01
Population générale	64 604 599 (100%)	0,18

**Tableau 52:** Test non paramétrique de comparaison de l'incidence des cas de shigellose Azm<sup>R</sup> selon les classes d'âge en 2016

	0-20 ans	21-30 ans	31-40 ans	41-50 ans	51-60 ans	≥ 61 ans
0-20 ans	-	4,40	4,79	4,41	2,02	0,42
21-30 ans	20,89	-	0,48	0,36	5,86	24,90
31-40 ans	24,16	0,51	-	0,92	6,98	28,74
41-50 ans	20,04	0,34	0,83	-	5,40	23,90
51-60 ans	4,90	2,99	3,35	2,88	-	6,10
≥ 61 ans	0,35	4,42	4,80	4,43	2,12	-
Population générale	13,53	2,99	3,53	2,84	1,88	16,21

sont surlignées les comparaisons de classe d'âge présentant une différence significative (soit score  $Z_{5\%} > 1,96$ ). Ex : le score de comparaison des 21-30 ans avec les 0-20 ans est 20,89 soit  $> 1,96$ , donc présence d'une différence significative entre ces deux classes.



➤ **Résistance aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération**

En 2016, le CNR-ESS a détecté 26 souches de *Shigella* spp. résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G<sup>R</sup>): 22 *S. sonnei*, deux *S. boydii*, une *S. dysenteriae*, une *S. flexneri*. Ces résultats confirment l'émergence de cette résistance observée ces dernières années (n=7 en 2014 et n=20 en 2015). Ces souches ont toutes été isolées chez des personnes résidant en France métropolitaine. Pour cinq d'entre elles une notion de voyage a été rapportée : retour d'Inde (n=3), du Maroc (n=1) ou du Cambodge (n=1). Aucune souche en provenance des DOM-TOM n'a été détectée à ce jour avec ce phénotype de résistance.

Les souches de *Shigella* C3G<sup>R</sup> sur la période 2016 sont présentées dans le **tableau 53**.

**Tableau 53:** Caractéristiques des souches de *Shigella* résistantes aux C3G de 2016

Sérotypes	N° CNR	Type de bêta-lactamase	CMI (mg/L)		Profil de résistance associé à la bêta-lactamase	Notion de voyage
			CRO	CAZ		
<i>S. sonnei</i> g (n=20)	201601246	CTX-M-15	12	1	STR CIP TET SMX TMP	Cambodge
	201601512	CTX-M-15	12	1	STR CIP TET SMX TMP	-
	201602347	CTX-M-15	48	3	STR CIP TET SMX TMP	-
	201603634	CTX-M-55	>256	6	STR CIP TET SMX TMP	-
	201603739	CTX-M-27	32	1.5	STR NAL TET SMX TMP AZM	-
	201603742	CTX-M-27	64	1.5	STR NAL TET SMX TMP AZM	-
	201603813	CMY-2	4	4	STR TET SMX TMP	-
	201603898	CTX-M-55	32	4	STR GEN CIP TET CHL SMX TMP AZM	-
	201605735	CTX-M-55	96	6	STR CIP TET SMX TMP	-
	201605743	CTX-M-3	64	1	STR CIP SMX TMP AZM	-
	201605946	CTX-M-15	48	3	STR GEN NAL TET SMX TMP	-
	201606870	CTX-M-55	>256	8	STR CIP TET SMX TMP	-
	201607242	CTX-M-15	48	2	STR GEN NAL TET SMX TMP	-
	201607279	CTX-M-55	>256	8	STR CIP TET SMX TMP	-
	201607467	CTX-M-15	96	2	STR GEN NAL TET SMX TMP	-
	201608145	CTX-M-15	>256	4	STR CIP TET SMX TMP	-
	201609067	CTX-M-15	16	1	STR NAL TET SMX TMP	-
	201609525	CTX-M-15	128	2	STR GEN TET SMX TMP	-
	201609526	CTX-M-15	64	2	STR GEN TET SMX TMP	-
	201610554	CTX-M-27	128	2	STR NAL TET SMX TMP AZM	-
<i>S. sonnei</i> g (mannitol -)	201608087	CTX-M-15	>256	8	STR TET SMX TMP	-
<i>S. sonnei</i> a	201603190	CTX-M-27	128	2	STR TET SMX TMP AZM	Maroc
<i>S. boydii</i> 2 (n=2)	201611283	CTX-M-15	16	1.5	STR NAL SMX TMP	Inde
	201611779	CTX-M-15	16	1.5	STR NAL SMX TMP	Inde

<i>S. flexneri</i> 2a	201603583	CTX-M-15	>256	12	STR CIP TET CHL SMX TMP	-
<i>S. dysenteriae</i> 12	201609239	CTX-M-15	8	0.75	STR NAL SMX TMP AZM	Inde

AZM=azithromycine, CTX=cefotaxime, CAZ=ceftazidime, CHL=chloramphénicol, CIP=ciprofloxacine, GEN=gentamicine, NAL=acide nalidixique, STR=streptomycine, SUL=sulfamides, TET=tétracycline, TMP=triméthoprime.  
Les notions de voyage non renseignées sont indiquées par un tiret -

### ➤ Résistance aux fluoroquinolones

Le taux de résistance à la ciprofloxacine parmi les souches de *Shigella* spp. reçues au CNR est supérieur à 10% depuis 2012. En 2016, 15,4% (n=115) des souches de *Shigella* spp. en provenance de France métropolitaine présentaient une résistance à la ciprofloxacine (**tableau 47**). Cette résistance n'a été observée à ce jour que sur des souches d'habitants de France métropolitaine. A ce jour, le CNR-ESS n'a détecté aucune souche résistante à la ciprofloxacine chez un habitant des DOM-TOM.

### 3.3.3 Participation aux réseaux de surveillance

#### 3.3.3.1 Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France

Une fiche de renseignements spécifique au CNR-ESS accompagne chaque souche reçue au CNR. Dans cette fiche, il doit être indiqué : le nom et l'adresse du laboratoire expéditeur, la demande d'examen, les renseignements sur le patient, les symptômes cliniques, le prélèvement et des renseignements épidémiologiques permettant de mettre en évidence les épidémies potentielles et leurs origines. Ces fiches et les résultats obtenus permettent l'interface avec Santé publique France à différents niveaux. La surveillance se fait lors de la validation des résultats avec un signalement par téléphone ou courrier électronique de toute augmentation inhabituelle du nombre de souches de shigelles. De plus, dans le cadre d'une épidémie, la surveillance de l'antibiogramme est accrue de façon à signaler rapidement l'apparition d'une résistance. La surveillance des *Shigella* se fait aussi par la compilation des fiches de renseignements reçues pour *S. sonnei* et le signalement de la même façon des épidémies potentielles.

#### 3.3.3.2 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

Collaboration avec le CCOMS des *Shigella* (Dr N. Strockbine, CDC, Atlanta, USA) et le Dr K. Talukder, de l'ICDDR, Dhaka, Bangladesh dans le cadre de l'étude et de la description de nouveaux sérotypes de *Shigella*.

## 4/ Alerte

Les responsables du CNR sont en relation quotidienne avec leurs homologues du Département des Maladies Infectieuses de Santé publique France. Les épidémies potentielles détectées sont signalées par téléphone à Santé publique France afin de vérifier si l'épidémie est connue et s'informer de l'enquête éventuellement en cours à leur niveau. Le CNR participe activement aux conférences téléphoniques lors des investigations d'épidémies.

Le CNR signale systématiquement à Santé publique France en temps réel par téléphone, fax ou courrier électronique :

Pour les *E. coli*:

- tous les cas de SHU chez les enfants de moins de 15 ans,
- toute souche ou selle positive pour les gènes *stx*,
- tout résultat positif de sérologie *E. coli* ainsi que tout résultat positif et/ou négatif de sérologie *E. coli* concernant des enfants de moins de 15 ans.

Pour les *Shigella*:

- tous les cas groupés,
- toute augmentation anormale du nombre de *Shigella* d'un sérotype donné,
- tout nouveau profil de résistance aux antibiotiques.

Pour les *Salmonella*:

- toutes les élévations anormales de sérotypes détectées par le programme de détection ou par les responsables du CNR,
- tout nouveau profil de résistance aux antibiotiques.

Le CNR fournit au Réseau Européen de surveillance (ECDC-FWD), à travers la plateforme épidémiologique EPIS et la plateforme moléculaire Tessa-MSS, les caractéristiques microbiologiques des souches responsables d'épidémies nationales ou locales qui présentent une potentialité à se produire dans d'autres pays de la communauté européenne ou internationale et le nombre de souches ayant le même sérotype que certaines souches épidémiques signalées en Europe.

## 5/ Activités d'information, de formation et de conseil

### 5.1 Réunions et missions

- Rencontre Santé publique France – ECDC. 9 Juin 2016- Santé publique France – Saint Maurice. Bonacorsi S., Bruyand M., De Valk H., Gouali M., Le Hello S., Mariani-Kurkdjian P. Emergence of STEC O80 serogroup among pediatric HUS in France
- F.-X. Weill. Réunion de travail à l'Institut Robert Koch, du 17 au 18 octobre 2016, Wernigerode (Allemagne).  
Bonacorsi

### 5.2 Enseignement et formation

- S. Bonacorsi. Membre du Jury d'HDR de Mme Mathie Lorrot, Juin 2016, Université Paris-Diderot
- S. Bonacorsi. Membre du jury de thèse de Sciences de Mr Christophe Carcie, Décembre 2016, Université de Toulouse
- S. Bonacorsi. Membre du jury de thèse de Médecine de Mme Marie Pouletty, Juin 2016, Université Paris VI
- S. Bonacorsi et P. Mariani-Kurkdjian. Membres du jury de thèse de Sciences, Mme Charlotte Baliere, Janvier 2016, Université de Bretagne occidentale
- P. Mariani-Kurkdjian. Membre du Jury d'HDR de Mr Gregory Jubelin Décembre 2016, Université de Clermont Ferrand
- P. Bidet. Membre du jury de thèse de Médecine de Mr Mathieu Bendavid Ouyoussef, Octobre 2016, Université Paris V
- S. Bonacorsi. Enseignement en Master 1- IMVI – Paris-Descartes Paris-Diderot : Pathogénèse de *E.coli*
- S. Bonacorsi. Enseignement en Master 2- Paris-Descartes: *E.coli* a versatile pathogen
- S. Bonacorsi. Enseignement en Master 2- Université Paris Sud. *E.coli* de pathogénicité extra-intestinale
- S. Bonacorsi. Enseignement au DFGSM 3 , Parcours biologique Microbiologie, S3 Microbiologie générale ,S4 Pathologies infectieuses , Janvier 2016, Université Paris V
- S. Bonacorsi. Enseignement au DIU d'Urologie Pédiatrique, Janvier 2016 CHU Lyon
- S. Bonacorsi. Enseignement au DFMS- DFMSA de Pédiatrie, Novembre 2016, Université Paris-Diderot

- S. Bonacorsi. Enseignement à la FMC du CHU R.Debré, Novembre 2016, CHU Robert Debré
- S. Bonacorsi et P. Mariani-Kurkdjian. Participation à l'enseignement universitaire sur les *E.coli* intestinaux et extraintestinaux au DIU de Pathologie infectieuse pédiatrique (organisé par le Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique)
- S. Bonacorsi, P. Bidet et P. Mariani-Kurkdjian. Participation aux Internes de Pédiatrie et de Biologie dans le cadre des staffs et enseignements
- P. Mariani-Kurkdjian. Enseignement en Master 2 Bactériologie Option "Microbiologie moléculaire et médicale" –Septembre 2016 – Paris VI
- S. Le Hello. Enseignement en Master Professionnel, module "composantes hygiéniques de la qualité, maîtrise des risques", 5 janvier 2016, UPMC, Paris Jussieu
- S. Le Hello. Enseignement en Master 2, module " Applications médicales et Pharmaceutiques de la biodiversité microbienne", 8 février 2016, AgroParisTech, Paris 5
- S. Le Hello. Enseignement en Master 2 spécialité microbiologie, option "bactériologie moléculaire et médicale" – 23 septembre 2016, Paris VI
- S. Le Hello. Enseignement professionnel, Alpa – Institut Pasteur de Lille, 14 décembre 2016
- F.-X. Weill. Membre du jury de thèse de M. Le Hello, Décembre 2016, AgroParisTech, Paris 5
- F.-X. Weill. Membre du jury de thèse de Sciences de Mme Sandy Moore, Décembre 2016, Université d'Aix-Marseille
- F.-X. Weill. Membre du jury d'HDR de M ; Benoit Doublet, Novembre 2016, Université de Tours

### 5.3 Accueil de stagiaires

Le CNR-ESS reçoit des stagiaires BTS, masters, doctorants, post-doctorants sur projet et des stagiaires étrangers, dont certains du réseau international des Instituts Pasteur, qui viennent acquérir des techniques spécifiques phénotypiques et moléculaires afin de travailler sur des souches prévalentes dans leur pays, aussi bien humaines qu'alimentaires.

#### Liste des stagiaires au CNR-ESS en 2016:

- Estelle SERRE, Licence professionnelle CFA AFI 24 (Université Pierre et Marie Curie, Jussieu, Paris), stage du 1<sup>er</sup> septembre 2015 au 14 septembre 2016 sur la mise en place du séquençage complet du génome en routine pour *Salmonella*, au sein du CNR-ESS.
- Boutheina KSIBI, Doctorante (Université de Sfax, Maroc), stage du 18 avril au 15 juillet 2016 sur la caractérisation moléculaire fine des souches d' *enterica* isolées dans

la région de Sfax entre 2000 et 2015.

- Sonia KTARI, Enseignante (Faculté de Médecine de Sfax, Maroc), stage du 9 au 23 mai 2016 sur l'analyse des résultats d'une étude portée sur les souches humaines et non-humaines de *Salmonella* Typhimurium et Enteritidis isolées entre 2000 et 2013 à Sfax.
- Laura KUIJPERS, Doctorante (Institut de Médecine Tropicale d'Antwerpen, Belgique), stage du 23 mai au 3 juin 2016 sur le séquençage génomique complet d'*enterica* sérotypes Typhi et Paratyphi A du Cambodge.
- Théophile MICHAU, Elève de troisième (Collège Notre Dame de France, Paris), stage d'observation du 6 au 10 mai 2016.
- Syndia SADIKALAY, Doctorante (Université des Antilles, Guadeloupe), stage du 12 septembre au 14 octobre 2016 sur la formation aux techniques de conjugaisons bactériennes.
- Elisabeth HANSEN, Master 2 Biologie moléculaire et cellulaire (Université Pierre et Marie Curie, Paris 5), stage du 5 décembre 2016 au 14 juin 2017 sur le travail de génomique comparative de *Shigella*.
- Sophia ACHAIBOU, Licence professionnelle de génomique (ENCPB, Paris), stage en alternance de septembre 2016 à septembre 2017 sur l'étude de la différenciation *Shigella/E.coli* par spectrométrie de masse de type Maldi-Tof.
- Julien BUSKO, Elève de troisième (Collège Léon Gambetta, Paris), stage d'observation du 12 au 16 décembre 2016.
- Théo ISSENHUTH, Elève de troisième (Collège Claude Monet, Paris), stage d'observation du 12 au 16 décembre 2016.

#### Liste des stagiaires au LA-RD en 2016:

- Guillaume GESLAIN, Master 2 Sciences du médicament "Parcours : "Microbiologie (bactéries, virus, parasites) : microbiotes, agents pathogènes et thérapeutiques anti-infectieuses" Caractérisation d'un groupe clonal émergent de *Escherichia coli* de sérotype O1:K1 responsable de méningite néonatale.
- Jacques BIRGUEL : Biologiste de l'hôpital de Tokomberé au Cameroun. Stage de perfectionnement de 3 semaines en Avril 2016.
- Emilie ROUSSEAU, L2 Sciences Interdisciplinaires Appliquées à la Santé, Université Paris Diderot. Observation des actions entreprises dans le service dans la prise en charge des échantillons, des opérations de veille sanitaire, des activités de recherche et d'enseignement, stage du 13 au 24 juin 2016.
- Ella PAYE, Elève de troisième (Collège Claude Monet, Paris), stage d'observation du 12 au 16 décembre 2016.

#### **5.4 Information et conseil aux biologistes et praticiens**

La plupart des informations concernant le CNR-ESS ET LA-RD (analyses réalisées, fiche de renseignements à compléter, condition d'envoi, de transport...) sont accessibles par le biais d'une page Internet sur le site de l'Institut Pasteur dont voici les liens :

<http://www.pasteur.fr/cnr/salmonella>

<http://www.pasteur.fr/cnr/ecoli-shigella>

<https://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-collaborateurs-l-oms-ccoms/salmonella>

<http://cnr-escherichiacoli-robertdebre.aphp.fr>

Les résultats sont envoyés au laboratoire par courrier, une copie peut être envoyée par fax ou par courrier électronique sur demande du laboratoire.

Des conseils à la fois pratiques (milieu de transport, feuille d'information...), diagnostic (importance des gènes de pathogénicité ou du sérotype détecté...), thérapeutiques et/ou épidémiologiques sont donnés de façon quasi quotidienne par téléphone ou courrier électronique ([colishig@pasteur.fr](mailto:colishig@pasteur.fr) ou [salmonella@pasteur.fr](mailto:salmonella@pasteur.fr) ou [e.coli@aphp.fr](mailto:e.coli@aphp.fr)).



## 6/ Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR-ESS et LA-RD

### 6.1 Activités de recherche et d'expertise en cours notamment ceux ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.

#### 6.1.1 *E. coli*

##### 6.1.1.1 *E. coli* intestinaux

- **Caractérisation du clone émergent de EHEC O80:H2 stx2** (Master 2 : Dr Aurelie Cointe – en cours)
- **Evaluation d'une technique de génotypage ultra-rapide, la PCR MLVA** : thèse d'exercice en cours
- **Participation au PHRC national ZYTHROSHU**  
« Intérêt de l'azithromycine dans le traitement des syndromes hémolytiques et urémiques post diarrhée »

##### 6.1.1.2 *E. coli* extra intestinaux (LA-RD)

- **Unité INSERM 1137**  
S. Bonacorsi et P. Mariani- Kurkdjian sont membres de l'équipe 2 de l'unité INSERM 1137 nouvellement créée en 2014. La thématique de l'unité porte sur *Escherichia coli* : épidémiologie de la résistance, étude des mécanismes de virulence avec des approches évolutives et de modélisation.
- **Etude clinico-biologique des méningites néonatales à *E. coli* en France (LA-RD)**  
Analyse de l'émergence du clone O1 :K1 :H7 ( Master2 – Dr Guillaume Geslain)
- **Participation au PHRC national COMBAT (LA-RD)**  
« Observatoire des méningites bactériennes de l'adulte » pour la caractérisation des souches de *E. coli*.
- **Participation à l'étude du portage des BLSE dans la flore fécale chez l'enfant en lien avec le groupe ACTIV** (Association Clinique et Thérapeutique du Val de Marne)
- **Participation à l'Observatoire des pyélonéphrites de l'enfant à *E. coli* BLSE sous l'égide du GPIP (LA-RD).**

#### 6.1.2 *Shigella* (CNR-ESS)

##### 6.1.2.1 Génétique et génomique évolutive de *Shigella*

Ces travaux permettent de mieux comprendre comment évoluent les génomes au cours du temps et conduisent au développement d'outils moléculaires permettant notamment de différencier des souches épidémiques de souches sporadiques et ce même au sein de

populations bactériennes génétiquement très homogènes (exemple des *S. sonnei* de biotype « g »).

Ces travaux se font en collaboration avec les Prs G. Dougan et N. Thomson du Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, Royaume Uni, le Dr K. Holt de l'University of Melbourne, Australie et avec le Dr C. Bouchier de la Plateforme de Génomique de l' Institut Pasteur.

Le CNR-ESS apporte son expertise sur la circulation des populations bactériennes, effectue la sélection des souches représentatives à partir de sa collection, effectue la caractérisation moléculaire et phénotypique de première intention et des mécanismes de résistance aux antibiotiques, et en fonction des projets (porteur ou collaboration) recherche des financements (fonctionnement et salaires) pour le séquençage haut-débit, l'analyse et l'interprétation des résultats.

#### 6.1.2.2 Génomique épidémiologique de *S. sonnei*

Ce projet fait suite à l'étude sur la structure des populations de *S. sonnei* (132 génomes dont 54 issus du CNR-ESS) coordonnée par le Wellcome Trust Sanger Institute et publiée en 2012 dans Nature Genetics (Holt *et al.*). Il s'agit maintenant d'utiliser le séquençage complet à haut débit (méthodologie Illumina) pour suivre et mieux comprendre les épidémies à *S. sonnei* dans les communautés fermées mais reliées sur le plan international. Une étude récemment publiée (Baker *et al*, Emerg Infect Dis 2016) concernait des souches de *S. sonnei* « g » du CNR-ESS isolées d'écoles confessionnelles entre 1996 et 2015 en France et en Amérique du Nord et d'autres souches isolées chez des juifs orthodoxes au Royaume Uni, en Belgique et en Israël. Ce travail a montré l'existence d'une population bactérienne de *S. sonnei* originaire d'Israël et se disséminant périodiquement dans les différentes communautés juives orthodoxes en Europe et en Amérique du nord.

#### 6.1.2.3 Etude de la structure des populations et suivi de clones internationaux de *S. flexneri*

Ce projet coordonné par le Wellcome Trust Sanger Institute concerne le séquençage complet (méthodologie Illumina) d'une collection représentative mondiale de plus de 500 souches de *S. flexneri*. Le CNR a participé de façon majeure à cette étude en sélectionnant dans sa collection 151 souches acquises entre 1918 et 2013 sur différents continents et en assurant l'analyse des mécanismes de résistance aux antibiotiques (Connor *et al.* Elife 2015). De ces résultats, des populations particulières de *S. flexneri* ont été mise en évidence, telle une population de *S. flexneri* 2a ayant acquis un prophage *stx1* à Saint-Domingue (Gray *et al*, Clin Microbiol Infect 2015) et une population de *S. flexneri* 3a circulant chez des homosexuels au Royaume Uni et en France (Baker *et al*, Lancet Infect Dis 2015).

#### 6.1.2.4 Étude de l'évolution génomique de *S. dysenteriae* de type 1

*Shigella dysenteriae* de type 1 (Sd1) ou Bacille de Shiga est une bactérie entéropathogène très importante en Santé publique car elle a un potentiel épidémiogène (responsable de grandes épidémies dans les pays en voie de développement et est parfois importée en France chez des voyageurs), elle possède comme facteur de virulence la Shiga-toxine, elle est multi-résistante aux antibiotiques, (iv) et c'est un agent infectieux potentiel pour le bioterrorisme.

Le CNR-ESS a initié et coordonné une étude de génomique évolutive de cet agent pathogène après avoir rassemblé pendant 7 ans une collection unique de plus de 350 souches isolées sur

les différents continents de 1915 à 2011. Ces souches proviennent de la collection du CNR ainsi que de celles de nombreuses équipes participantes : CDC (Atlanta, USA), iccdr,b, (Dacca, Bangladesh), PHE (Colindale, Royaume Uni), PHAS (Stockholm, Suède), NIPH (Oslo, Norvège), AFRIMS (Bangkok, Thaïlande), RKI et BfR (Berlin, Allemagne), CDCC (Pékin, Chine), CIP (Paris, France), ...

L'analyse de la sensibilité aux antibiotiques de cette collection a permis d'identifier les premières souches multirésistantes en Asie en 1966 puis lors de la grande épidémie d'Amérique centrale en 1969-1972 (>500,000 dont plus de 20,000 décès). Lors de cette épidémie américaine, la multi-résistance à la streptomycine, aux sulfamides, au chloramphénicol et à la tétracycline était médiée par un plasmide de type IncB. De 1972 à 1981, plusieurs autres plasmides, de types IncX, IncK, IncF ou IncII, entraînant une résistance additionnelle aux aminopénicillines et au cotrimoxazole ont été identifiés. Nous avons mis en évidence qu'au cours des années 1980 à partir de l'Inde, la très grande majorité des souches avait acquis dans le chromosome un îlot de pathogénicité (le PAI) comportant une région de multirésistance aux antibiotiques (le SRL).

A ce jour le séquençage par la méthode Illumina a été réalisé sur 332 souches. L'analyse des 16900 SNPs informatifs et du génome accessoire a permis de mettre en évidence 3 lignées génétiques avec une forte tendance phylogéographique. Cependant une transmission intercontinentale entre le sous-continent Indien et l'Afrique de l'Est a été mise en évidence à la fin des années 1980 avec un rapide remplacement des lignées africaines antérieures par cette nouvelle souche possédant le SRL. Des souches historiques ont permis de mettre en évidence une lignée génétique ayant circulé en Europe du Sud, Centrale et de l'Est depuis les années 1880 et ce jusque dans les années 1970 en Afrique du Nord

Plus de six plasmides de grande taille des différents groupes d'incompatibilité sont en cours d'assemblage après séquençage 454 pour comprendre la genèse du SRL-PAI.

Dix génomes représentant toutes les lignées et sous-lignées génétiques ont également été séquencés par la technologie PacBio.

Un article a été publié dans Nature Microbiology en 2016 (Njamkepo *et al*, Nat Microbiol 2016).

#### 6.1.2.5 Méthodes de typage des souches de *Shigella*

Le typage des souches de *Shigella* repose sur le sérotypage à l'aide d'antisérums dirigés contre les antigènes somatiques O. Il est nécessaire de pouvoir disposer de méthodes moléculaires alternatives en cas de souches autoagglutinables (« rough »), de nouveaux sérotypes ou en cas de rupture de stock des sérums de typage.

Tous ces travaux se font au sein du CNR-ESS. Le but ultime étant de pouvoir caractériser l'ensemble des populations de *Shigella* et de EIEC à partir des données génomiques. Les outils bio-informatiques sont en cours de développement pour l'analyse en routine des génomes. Ces outils se basent sur l'expertise et les bases de données étendues du CNR-ESS concernant la:

- caractérisation des séquences du gène *fliC* et du locus *rfb* chez *Shigella*

- l'étude du polymorphisme des Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR) dans le génome de *Shigella*
- distribution des « Multi Locus Sequence Typing » (MLST) pour les différents sérotypes de *Shigella*

### 6.1.3 *Salmonella* (CNR-ESS)

#### 6.1.3.1 Contribution au développement en un étape de méthodes de typage et sous-typage par analyse du génome entier des *Salmonella*

Le CNR-ESS s'efforce de développer des outils moléculaires à haut débit, à moindre coût permettant d'analyser de façon simple et robuste les relations phylogénétiques entre les isolats tout en gardant un lien avec les méthodes de typages précédentes, comme le sérotypage, de façon à ne pas perdre les données accumulées depuis plus de 80 ans. L'outil qui prend une place considérable est la mise en place du séquençage complet du génome. Leur analyse automatique est grandement facilitée par l'expertise et les bases de données étendues du CNR-ESS sur *Salmonella*. Les données automatiquement extraites concernent :

- les données de la méthode MLST

Lors d'un travail en collaboration avec le Pr M. Achtman (University College Cork, Irlande) et S. Brisse (PF8, Institut Pasteur), nous avons étudié une collection de 4257 souches de *S. enterica* appartenant à 554 sérotypes par la technique de multilocus sequence typing (MLST). La contribution du CNR-ESS et du CCOMS était de 1900 souches pour 500 sérotypes. Cette méthode, facilement automatisable, repose sur la caractérisation par séquençage de sept gènes « de ménage » non soumis à une pression de sélection. Les résultats montraient une parfaite corrélation entre sérotypes et multilocus sequence types (ST). Ce travail concluait que l'utilisation du MLST pouvait être une alternative au sérotypage, la méthode de référence pour le typage des salmonelles depuis plus de 80 ans (Achtman *et al.* Plos Pathogens 2012). L'ensemble des données associées à chaque souche (origine, sérotype, ST, phage type, ..) est accessible à la communauté scientifique via un site web dédié : *Salmonella enterica* MLST Database (<http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/dbs/Senterica>).

Le travail se poursuit dans le but de finaliser au cours des prochaines années les 2600 sérotypes de *Salmonella* déposés au CCOMS. Aujourd'hui les données MLST sont extraites automatiquement des génomes.

- Inventaire des séquences des gènes *fliC* et *fliB* codant pour les antigènes flagellaires H

Nous continuons l'analyse extensive de la diversité de ces gènes de façon à développer un dictionnaire sérotype/séquences *fliC* et *fliB*/MLST

- Etude du polymorphisme des régions CRISPR pour typer et sous-typer les *Salmonella* en une seule étape

Le CNR-ESS a étudié une nouvelle approche pour le typage des salmonelles basée sur le polymorphisme d'une famille de séquences répétées d'ADN nommée CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats). Chez *Salmonella*, il existe deux régions, CRISPR1 et CRISPR2 séparées par 20 kb dont une partie contient la machinerie CAS

(CRISPR-associated genes). Chaque région est caractérisée par la succession de séquences directes répétées d'ADN (DR ou direct repeats) d'une longueur moyenne de 29 pb et régulièrement intercalées par des séquences non codantes de 32 pb appelées spacers (27 en moyenne par souche). Dans un premier travail publié en 2012 (Fabre *et al.* Plos One 2012), le contenu en spacers d'une collection globale de 750 souches représentatives de plus de 130 sérotypes dont les plus fréquemment impliqués en pathologie humaine, comme Typhimurium et Enteritidis, a été inventorié. Plus de 3800 spacers ont été mis en évidence par séquençage Sanger des deux régions (de 500 pb à 4 kb par région). Le contenu en spacers de chaque souche (de 1 à 124 par région) était parfaitement corrélé au sérotype et même à la structure génétique des populations obtenue par MLST. Ce travail a fait également l'objet d'une demande de dépôt de brevet (no. FR07/09188 Weill *et al.* « Typage et sous-typage moléculaire de *Salmonella* par identification des séquences nucléotidiques variables des loci CRISPR ») avec extension internationale (no. PCT/IB200/8004004)

Le travail se poursuit et à l'heure actuelle le typage CRISPR est maintenant réalisé en routine sur les génomes de sérotype Typhimurium et de son variant monophasique. Un outil génomique pour le sérotype Enteritidis est en cours de développement.

#### 6.1.3.2 Génomique épidémiologique

Depuis 2016, la structure PIBnet de l'Institut Pasteur et ses séquenceurs dédiés pour cette activité de Santé publique, plusieurs milliers de génomes peuvent être réalisés par an rien que pour le CNR-ESS ouvrant la voie à l'épidémiologie génomique en temps réel une fois que les différents outils d'analyses et de les bases de données auront été développées. Plusieurs régions du génomes sont analysées à partir des séquences génomiques réassemblées : le polymorphisme de 7 (MLST) à plus de 200 gènes du core genome (cgMLST), la structure du locus *rfb* définissant l'antigène O et la séquence des gènes *fliC* et *fliB* codant pour les antigènes H, le polymorphisme des régions CRISPR, les gènes de résistance aux antibiotiques seront extraits, ..... Ce travail bénéficie de l'apport du dictionnaire sérotype/MLST/CRISPR décrit dans les paragraphes précédents. Une nouvelle nomenclature des souches de *Salmonella* sera à redéfinir mais celle-ci devra rester corrélée aux anciennes méthodes de typage tel le sérotypage.

Ce travail sera fait en synergie avec nos collègues de la Gastrointestinal Bacteria Reference Unit (Dr K. Grant) de Public Health England (Colindale).

##### 6.1.3.2.1 Etude de la structure des populations des souches de *S. enterica* sérotype Typhimurium et de son variant monophasique

Ce travail en collaboration avec le Pr M. Achtman (University of Warwick, RU) qui fait suite à l'analyse de la collection mondiale par la technique CRISPOL a pour but de comparer l'évolution des 2 régions CRISPR (polymorphisme du contenu en spacers) à celle du génome (principalement SNPs informatifs sur le core genome). Pour cela en plus de 7000 génomes disponibles dans les bases de données, une collection de 7000 souches historiques et appartenant aux différents groupes CRISPOL a été sélectionnée et séquencée au CNR-ESS. Une généalogie de la population Typhimurium va être proposée, et en particulier, en se basant sur la co-evolution des régions CRISPR et du chromosome bactérien.

#### 6.1.3.2.2 Génomique évolutive sur *S. enterica* sérotype Kentucky ST198

Une étude de génomique évolutive de cette souche émergente et multirésistante aux antibiotiques décrite par les responsables du CNR (Weill *et al.* Emerg Infect Dis 2006, Le Hello *et al.* J Infect Dis 2011, Le Hello *et al.* Lancet Infect Dis 2013) est actuellement menée. Après avoir rassemblé une collection globale de cet agent pathogène (souches de 1937 à 2013, humaines, animales, environnementales, des différents continents), 150 génomes ont été séquencés grâce à des financements extérieurs. L'analyse bioinformatique est réalisée dans le cadre d'une collaboration avec l'Université de Melbourne (Dr K. Holt, scientifique ayant effectué un séjour scientifique dans l'Unité BPE en 2012).

#### 6.1.3.2.3 Phylogéographie de *S. enterica* serotype Panama

*S. enterica* sérotype Panama est la 1<sup>ère</sup> souche responsable de salmonelloses dans la région des Antilles-Guyane, probablement expliquée par la proximité de la population humaine aux reptiles. Ces salmonelloses sont souvent sévères, notamment associées à des septicémies et des méningites chez l'enfant. Cette sévérité reste mal comprise entre une pathogénicité intrinsèque de cette population bactérienne et/ou une sensibilité d'hôte. Nous séquençons 300 souches de ce sérotype, souches isolées d'endroit différents du globe, historiques et récentes, humaines et animales (reptiles) afin d'étudier sa structure et son évolution. Une étude sur ses capacités de translocation de barrière intestinale et méningée sera également menée.

#### 6.1.3.3. Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Salmonella*

Le CNR *Salmonella* a mené en 2016 plusieurs travaux sur la caractérisation de souches résistantes aux antibiotiques :

- \* Poursuite de la caractérisation systématique de toutes les souches de *S. enterica* résistantes aux C3G isolées en France et participation aux investigations nationales (Montevideo, Brandenburg, Blockley). Une attention particulière sur les souches résistantes à l'azithromycine et/ou à la colistine est portée par le CNR-ESS.

- \* Caractérisation des souches de *S. enterica* résistantes aux carbapénèmes (OXA-48, VIM-2, NDM-1). L'analyse globale des plasmides portant ces gènes de carbapénémases est actuellement en cours au CNR-ESS.

- \* Un projet sur les populations résistantes aux antibiotiques historiques de *S. enterica* serotype Typhimurium est également en cours

## 6.2 Liste des publications et communications 2016 pour le CNR-ESS et LA-RD

### 6.2.1 Publications nationales

1. Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S Diagnostic des infections à *Escherichia coli* entérohémorragique. Revue française des laboratoires, Novembre 2016, n°486, 45-52.
2. Van der Mee-Marquet N et le groupe de travail du Haut Conseil de Santé publique (Chéron G, Bonacorsi S, Bruyand M, King L, Le Goaster C, Loirat C, Mariani-Kurkdjian P, Pellane I, Vaillant V, Weill FX). Conduite à tenir en cas de gastroentérites à *Escherichia coli* entérohémorragique. Revue française des laboratoires, Novembre 2016, n°486, 53-59.

### 6.2.2 Publications internationales

1. Kuijpers L\*, Le Hello S\*, Fawal N, Fabre L, Tourdjman M, Dufour M, Sar D, Kham C, Phe T, Vlieghe E, Bouchier C, Jacobs J, Weill FX. Genomic analysis of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi A during an outbreak in Cambodia, 2013-2014, Microb. Gen. 2(11):e000092.
2. Duchêne S, Holt E, Weill FX, Le Hello S, Hawkey J, Edwards DJ, Fourment M, Holmes EC. Genome-scale rates of evolutionary change in bacteria, Microb. Gen. 2(11):e000094.
3. Dallman T, Inns T, Jombart T, Ashton P, Loman N, Chatt C, Messelhaeusser U, Rabsch W, Simon S, Nikisins S, Bernard H, Le Hello S, Jourdan da-Silva N, Kornschöber C, Mossong J, Hawkey P, de Pinna E, Grant K, Cleary P. Phylogenetic structure of European wide *Salmonella* Enteritidis outbreak correlates with national and international egg distribution network, Microb. Gen. 2(8):e000070.
4. Gossner\* CM, Le Hello S\*, de Jong B, Rolffhamre P, Faensen D, Weill FX, Giesecke J. Around the world in 1475 *Salmonella* geo-serotypes, Emerg. Infect Dis. 22(7):1298-1302.
5. Wong VK, Baker S, Connor TR, Pickard D, Page AJ, Dave J, Murphy N, Holliman R, Sefton A, Millar M, Dyson ZA, Dougan G, Holt KE, International Typhoid Consortium. An extended genotyping framework for *Salmonella enterica* serovar Typhi, the cause of human typhoid, Nat. Commun. 7:12827.
6. International Typhoid Consortium, Wong VK, Holt KE, Okoro C, Baker S, Pickard DJ, Marks F, Page AJ, Olanipekun G, Munir H, Alter R, Fey PD, Feasey NA, Weill FX, Le Hello S, Hart PJ, Kariuki S, Breiman RF, Gordon MA, Heyderman RS, Jacobs J, Lunguya O, Msefula C, MacLennan CA, Keddy KH, Smith AM, Onsare RS, De Pinna E, Nair S, Amos B, Dougan G, Obaro S. Molecular Surveillance Identifies Multiple Transmissions of Typhoid in West Africa, PLoS Negl Trop Dis. 10(9):e0004781.
7. Baker KS, Dallman TJ, Behar A, Weill FX, Gouali M, Sobel J, Fookes M, Valinsky L, Gal-Mor O, Connor TR, Nissan I, Bertrand S, Parkhill J, Jenkins C, Cohen D, Thomson NR. Travel- and Community-Based Transmission of Multidrug-Resistant

*Shigella sonnei* Lineage among International Orthodox Jewish Communities, *Emerging Infect. Dis.* 22(9):1545-53.

8. Connor TR, Owen SV, Langridge G, Connell S, Nair S, Reuter S, Dallman TJ, Corander J, Tabing KC, Le Hello S, Fookes M, Doublet B, Zhou Z, Feltwell T, Ellington MJ, Herrera S, Gilmour M, Cloeckaert A, Achtman M, Parkhill J, Wain J, De Pinna E, Weill FX, Peters T, Thomson N. What's in a Name? Species-Wide Whole-Genome Sequencing Resolves Invasive and Noninvasive Lineages of *Salmonella enterica* Serotype Paratyphi B, *MBio.* 7(4) pii: e00527-16.
9. Jones G, Pihier N, Vanbockstael C, Le Hello S, Cadel Six S, Fournet N, Jourdan-da Silva N. Outbreak of *Salmonella Enteritidis* linked to the consumption of frozen beefburgers received from a food bank and originating from Poland: northern France, December 2014 to April 2015, *Euro Surveill.* 21(40).
10. Feasey NA, Hadfield J, Keddy KH, Dallman TJ, Jacobs J, Deng X, Wigley P, Barquist Barquist L, Langridge GC, Feltwell T, Harris SR, Mather AE, Fookes M, Aslett M, Msefula C, Kariuki S, MacLennan CA, Onsare RS, Weill FX, Le Hello S, Smith AM, McClelland M, Desai P, Parry CM, Cheesbrough J, French N, Campos J, Chabalgoity JA, Betancor L, Hopkins KL, Nair S, Humphrey TJ, Lunguya O, Cogan TA, Tapia MD, Sow SO, Tennant SM, Bornstein K, Levine MM, Lacharme-Lora L, Everett DB, Kingsley RA, Parkhill J, Heyderman RS, Dougan G, Gordon MA, Thomson NR. Distinct *Salmonella Enteritidis* lineages associated with enterocolitis in high-income settings and invasive disease in low-income settings, *Nat. Genet.* 48(10):1211-7.
11. Leekitcharoenphon P, Raufu I, Nielsen MT, Rosenqvist Lund BS, Ameh JA, Ambali AG, Sørensen G, Le Hello S, Aarestrup FM, Hendriksen RS. Investigating *Salmonella* Eko from Various Sources in Nigeria by Whole Genome Sequencing to Identify the Source of Human Infections, *PLoS One.* 11(5):e0156212.
12. Bale J, Meunier D, Weill FX, dePinna E, Peters T, Nair S. Characterisation of new *Salmonella* serovars by whole genome sequencing and traditional typing techniques, *J. Med. Microbiol.* 65(10):1074-1078.
13. Njamkepo E, Fawal N, Tran-Dien A, Hawkey J, Strockbine N, Jenkins C, Talukder KA, Bercion R, Kuleshov K, Kolínská R, Russell JE, Kaftyreva L, Accou-Demartin M, Karas A, Vandenberg O, Mather AE, Mason CJ, Page AJ, Ramamurthy T, Bizet C, Gamian A, Carle I, Sow AG, Bouchier C, Wester AL, Lejay-Collin M, Fonkoua MC, Le Hello S, Blaser MJ, Jernberg C, Ruckly C, Mérens A, Page AL, Aslett M, Roggentin P, Fruth A, Denamur E, Venkatesan M, Bercovier H, Bodhidatta L, Chiou CS, Clermont D, Colonna B, Egorova S, Pazhani GP, Ezernitchi AV, Guigon G, Harris SR, Izumiya H, Korzeniowska-Kowal A, Lutyńska A, Gouali M, Grimont F, Langendorf C, Marejková M, Peterson LA, Perez-Perez G, Ngandjio A, Podkolzin A, Souche E, Makarova M, Shipulin GA, Ye C, Žemličková H, Herpay M, Grimont PA, Parkhill J, Sansonetti P, Holt KE, Brisse S, Thomson NR, Weill FX. Global phylogeography and evolutionary history of *Shigella dysenteriae* type 1, *Nat. Microbiol.* 1:16027.
14. Soysal N, Mariani-Kurkdjian P, Smail Y, Liguori S, Gouali M, Loukiadis E, Fach P, Bruyand M, Blanco J, Bidet P, Bonacorsi S. Enterohemorrhagic *Escherichia coli*



Hybrid Pathotype O80:H2 as a New Therapeutic Challenge. *Emerg. Infect. Dis.* 22(9):1604-12.

15. Leekitcharoenphon P, Hendriksen RS, Le Hello S, Weill FX, Baggesen DL, Jun SR, Ussery DW, Lund O, Crook DW, Wilson DJ, Aarestrup FM. Global genomic epidemiology of *Salmonella Typhimurium* DT104, *Appl. Environ. Microbiol.* 82(8):2516-26.
16. Makendi C, Page AJ, Wren BW, Le Thi Phuong T, Clare S, Hale C, Goulding D, Klemm EJ, Pickard D, Okoro C, Hunt M, Thompson CN, Phu Huong Lan N, Tran Do Hoang N, Thwaites GE, Le Hello S, Brisabois A, Weill FX, Baker S, Dougan G. A Phylogenetic and Phenotypic Analysis of *Salmonella enterica* Serovar Weltevreden, an Emerging Agent of Diarrheal Disease in Tropical Regions, *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10(2):e0004446.
17. Commereuc M, Weill FX, Loukiadis E, Gouali M, Gleizal A, Kormann R, Ridet C, Frémeaux-Bacchi V, Rondeau E, Hertig A. Recurrent Hemolytic and Uremic Syndrome Induced by *Escherichia coli*, *Medicine (Baltimore)*. 95(1):e2050.
18. Jost C, Bidet P, Carrère T, Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S. Susceptibility of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* to azithromycin in France and analysis of resistance mechanisms. *J. Antimicrob. Chemother.* 71(5):1183-7.
19. Douëllou T, Delannoy S, Ganet S, Mariani-Kurkdjian P, Fach P, Loukiadis E, Montel M, Thevenot-Sergentet D. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from dairy products - Genetic diversity and virulence gene profiles. *Int. J. Food Microbiol.* 232:52-62
20. Birgy A, Levy C, Bidet P, Thollot F, Derkx V, Béchet S, Mariani-Kurkdjian P, Cohen R, Bonacorsi S. ESBL-producing *Escherichia coli* ST131 versus non-ST131: evolution and risk factors of carriage among French children in the community between 2010 and 2015. *J. Antimicrob. Chemother.* 71(10):2949-56.

### 6.2.3 Communications nationales et internationales / Conférences sur invitations

#### 6.2.3.1 Communications nationales

- ◆ Stéphane BONACORSI. Congrès de la Société Française de Microbiologie, Mars 2016, Institut Pasteur, Paris.
- ◆ F.-X. Weill. Chairman, Symposium *Salmonella* and Salmonellosis « I3S2016 », du 6 au 8 juin 2016, Saint-Malo (France).
- ◆ S. Le Hello. Symposium *Salmonella* and Salmonellosis « I3S2016 », du 6 au 8 juin 2016, Saint-Malo (France).
- ◆ S. Le Hello. « Participation à la journée du réseau *Salmonella* », 8 décembre 2016, ANSES, Maisons-Alfort (France).

### 6.2.3.2 Communications internationales

- S. Le Hello. First Global Meeting of WHO Collaborating Centres in Food Safety and Other Stakeholders, du 15 au 17 mai 2016, Genève (Suisse).
- S. Le Hello. Congrès AGISAR, du 16 au 21 octobre 2016, Raleigh (Etats-Unis).
- P. Mariani-Kurkdjian. 11th Annual Workshop of the National Reference Laboratories (NRLs) for *E. coli* in the EU – 10 et 11 Novembre 2016, Rome (Italie). “Enterohaemorrhagic *E. coli* Hybrid Pathotype O80:H2 an emerging clone in France”.
- Bruyand M., Van Cauteren D., Mariani-Kurkdjian P., Gouali M., Loirat C., Letort MJ., Le Hello S., King L., Bonacorsi S. de Valk H. Major shift in Shiga toxin producing *Escherichia coli* serogroups causing hemolytic and uremic syndrome in children in France, 1996-2015. European Scientific Conference on Applied Infectious Disease Epidemiology (ESCAIDE), 28-30 November 2016, Stockholm (Suède).

### 6.2.3.3 Conférences sur invitations

- S. Le Hello. « Surveillance des salmonelloses humaines en France ». Journées « Salmonelles en filière porcine », 21 janvier 2016, Ploufragan (France).
- S. Le Hello. « Un exemple de coopération réussie entre LNR et CNR autour de *Salmonella* ». Séminaire commun LNR-CNR, 31 mars 2016, ANSES Maisons-Alfort (France).
- S. Le Hello. Trois auditions CNR *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella* au CES-BIORISK et Groupe de Travail Attribution source. Janvier, Mars et Octobre 2016, ANSES Maisons-Alfort (France).
- F.-X. Weill. Conférence à l’Université de Santiago, du 18 au 25 avril 2016, Santiago du Chili (Chili).
- F.-X. Weill. Conférence du Réseau International des Instituts Pasteur, du 18 au 20 mai 2016, Shangai (Chine).
- S. Le Hello. « Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives à *Salmonella* en France : le rôle du CNR dans la détection et l’investigation », 21 avril 2016. ARIA Centre, Orléans (France).
- S. Le Hello. « Antimicrobial resistance in *Salmonella* in France », 9 juin 2016. Rencontre Santé publique France -CDC, Saint-Maurice (France).
- S. Le Hello. « Foodborne diseases and one health approach ». MOOC Global Health at the Human-Animal-Ecosystem Interface: An Interdisciplinary Overview, 10 juin 2016.
- F.-X. Weill. Conférence au congrès « Emerging Pathogens at the Human-Animal-Environment Interface », du 10 au 13 octobre 2016, Doha (Etat du Qatar).

- P. Mariani-Kurkdjian. Audition CNR *E coli*, *Shigella*, *Salmonella* au CES-BIORISK et Groupe de Travail Attribution source. Octobre 2016, ANSES Maisons-Alfort (France).
- Stéphane Bonacorsi. Symposium bioMérieux. Perspectives du diagnostic syndromique : le point de vue d'un biologiste et d'un clinicien » Décembre 2016, Paris (France).

## **7/ Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux**

### **7.1 *Salmonella***

Le CNR-ESS va poursuivre sa collaboration avec les laboratoires de l'ANSES, en particulier l'unité caractérisation et épidémiologie bactérienne de Maisons-Alfort et du LNR *Salmonella* à Ploufragan. Le CNR-ESS apporte son expertise sur le sérotypage et au transfert de nouvelles technologies à ces laboratoires et participent conjointement aux investigations épidémiologiques. Pour exemple, la méthodologie CRISPOL a été transférée à l'ANSES à Maisons-Alfort et une comparaison de la base de données du CNR-ESS (> 6000 souches humaines) avec celle de l'ANSES (environ 1000 souches animales ou alimentaires) est toujours en cours.

Le CNR-ESS est parfois sollicité pour avis d'experts sur certaines saisines ou autres projets de révisions des normes européennes en lien avec la directive 2033/99/CE. Il participe également au comité d'expert scientifique CES-BIORISK.

Le CNR-ESS participe en tant qu'expert au consortium « Salmonovar » coordonné par l'Institut Français du porc (Ifip) qui consiste à suivre l'évolution de souches monophasiques de Typhimurium dans des matrices de saucisson sec.

Le CNR-ESS collabore avec des laboratoires scientifiques vétérinaires nationaux et internationaux (INRA, DTU....).

### **7.2 *Escherichia coli***

Une collaboration a été engagée et se poursuivra avec les réseaux nationaux en charge de la surveillance comme les Ecoles Vétérinaires de Lyon (LNR *E. coli*) et de Maisons-Alfort, ou pour des études ponctuelles sur les STEC, dans les aliments, chez l'animal et dans l'environnement avec échange et comparaison de souches.

## 8/ Programme d'activités depuis le 1<sup>er</sup> avril 2017

### 8.1 Apporter une expertise microbiologique

#### 8.1.1 Infections à *E. coli*

##### 8.1.1.1 Infections à *E. coli* entéro-hémorragiques

Dès le 1<sup>er</sup> avril 2017, conformément aux missions définies par le décret n°2016-806 du 16 juin 2016 pour le mandat 2017-2021 (<http://Santé publique France.santepubliquefrance.fr/>), l'activité *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC) se réorganise comme suit :

- **L'arrêt définitif** la recherche des anticorps anti-LPS des principaux sérogroupes d'EHEC (O26, O55, O91, O103, O111, O128, O145, O157, O80 et O104) dans le sérum. Cette technique à visée épidémiologique n'était pas valide pour le diagnostic. Aucune technique sérologique alternative n'existe par ailleurs. Le CNR-ESS se laisse éventuellement la possibilité de développer une technique plus facilement validante.
- **L'isolement et l'identification des EHEC sur souches et sur prélèvements biologiques, et ce quel que soit l'âge du patient (adulte ou enfant), seront désormais exclusivement réalisés sur le site du LA-RD** : service de microbiologie, Hôpital Robert Debré, 48 boulevard Serurier, 75019 Paris cedex 19. Cela consiste en l'agglutination des souches, le sérotypage par PCR et la recherche par PCR des gènes de virulence : les gènes des Shiga-toxines *stx1* et *stx2*, le gène de l'adhésine intimine *eae* et le gène de l'enterohémolysine *hlyA* ou *ehxA* sur souches bactériennes et dans les selles se feront désormais sur le seul site du LA:
- **Le séquençage complet du génome** des *E. coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) s'effectuera au CNR, à l'Institut Pasteur, 28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris cedex afin de typer les souches dans le cadre de la détection et des investigations des infections à EHEC

Le CNR-ESS ET LA-RD poursuit le travail d'information des laboratoires et de formation auprès de tous les biologistes.

##### 8.1.1.2 *E. coli* responsables d'infections extra-intestinales (LA-RD)

- **Développement et mise en œuvre des techniques de typage et de génotypage des souches. Distinction des souches responsables de cas groupés de celles responsables de cas sporadiques et affiliation des souches aux différents clones**

- Génotypage des *E. coli* responsables de méningite néonatale (ECMN)

Les souches seront caractérisées par leur appartenance à un groupe phylogénétique, par leur empreinte de virulence et par leur antigène somatique.

- Le groupe phylogénétique sera déterminé par une PCR multiplex permettant de distinguer les 4 principaux groupes (A, B1, B2, D).

- Les empreintes de virulence comporteront la recherche par PCR des 10 gènes de virulence suivants:

- Adhésines: pfimbriae (*papC*, *papGII*, *papGIII*), Sfimbriae (*sfa/foc*)
- Toxines: hémolysines (*hlyC*), cytotoxique necrotising factor (*cnf1*)
- Systèmes de captation du fer : yersiniabactine (*fyuA*), aérobactine (*iucC*), salmocheline (*iroN*)
- Invasives: invasive brain endothelial cell (*ibeA*)

La PCR multiplex de groupage a été mise au point dans le LA-RD et constitue actuellement l'une des méthodes de référence utilisée dans le monde (Clermont *et al*, 2000). De plus, nous avons mis au point une PCR multiplex permettant la recherche de l'ensemble des facteurs sus-cités en seulement 2 PCR.

Les sérogroupes les plus fréquents sont recherchés par une PCR multiplex mise au point dans le laboratoire. L'ensemble de ces caractéristiques associé à la recherche phénotypique du séro groupe capsulaire K1 et des principaux antigènes somatiques O (83, 45, 18, 16, 7, 1) permettra d'affilier en temps réel chaque souche à un groupe clonal. Ce résultat sera confronté aux données cliniques de chaque patient.

Rétrospectivement, les souches seront de plus, caractérisées par la technique MLST (Bidet *et al*. J Inf Dis 2007). La combinaison du ST et du séro groupe O permet d'identifier au sein des souches responsables de pathologies extra-intestinales, 49 sous-types, certains étant plus particulièrement associés aux souches responsables d'urosepsis (STc27 (O2), STc27(6) ou à des méningites. Ces caractérisations standardisées permettent de comparer les souches sur le plan international (Mahjoub-Mesai *et al*. J Inf Dis 2011).

Le laboratoire associé apportera également son expertise dans l'analyse de la survenue de cas groupés ou de la transmission mère-enfant qui pourra être réalisée grâce au typage des souches par PFGE. Ces investigations bénéficieront de l'expérience du laboratoire depuis une quinzaine d'années dans le domaine de l'épidémiologie moléculaire ce qui a permis de constituer une banque de profils type.

- **Expertise pour une aide au diagnostic des méningites décapitées par antibiothérapie**

Le LA-RD apportera une expertise pour l'aide au diagnostic des méningites néonatales décapitées par une antibiothérapie par la réalisation de PCR spécifiques vis-à-vis de *E.coli* et le cas échéant, vis-à-vis d'autres bactéries responsables de méningites néonatales. Le laboratoire a acquis une expérience en matière de diagnostic par PCR des méningites décapitées (Negre *et al*. Infect Immun. 2004).

#### 8.1.1.3. Etude et suivi de la résistance des souches de *E.coli* aux antibiotiques en lien avec le CNR de la résistance aux antibiotiques (LA-RD)

Le LA-RD étudie la sensibilité des souches de *E.coli* intestinaux et extra-intestinaux aux principales familles d'antibiotiques en particulier amoxicilline, amoxicilline/acide clavulanique, céfotaxime, aminosides et ciprofloxacine sera étudiée par la méthode de l'antibiogramme et la détermination des CMI. Ces techniques sont réalisées quotidiennement

au laboratoire. La prévalence de la résistance pour chacun de ces antibiotiques pourra être ainsi déterminée. La présence de BLSE sera caractérisée sur le plan moléculaire à l'aide d'une PCR multiplex (Dallenne *et al.* J Antimicrob Chemother 2010).

Les souches présentant des résistances particulières seront adressées au CNR de la résistance aux antibiotiques.

### **8.1.2 Infections à *Shigella***

- **Contribuer au développement de méthodes de typage**

L'utilisation du séquençage haut-débit est faite en routine au CNR-ESS. Elle sera utile dans le cadre d'investigations d'épidémies et l'apport d'outils d'analyse permettra de remplacer progressivement l'identification biochimique et de sérotypage.

### **8.1.3 Infections à *Salmonella***

- **Contribuer au développement des méthodes de typage**

L'utilisation du séquençage à haut-débit est désormais utilisée en routine pour une proportion conséquente des souches reçues (> 6000/an). Les bases de données concernant les séquences des gènes des flagellines et les séquençotypes (MLST), et de CRISPOL (pour la poulation Typhimurium) sont automatiquement extraites. Une méthode de sélection des souches à analyser est en cours de modélisation, ceci afin de conserver les pouvoirs de détection et d'investigations des épidémies au sein du CNR-ESS.

- **Suivre des tendances évolutives temporelles des différents sérotypes de *Salmonella*, en s'appuyant sur un réseau de laboratoires d'analyse de biologie médicale sur tout le territoire**

Le réseau du CNR-ESS est stable depuis des décennies et comprenait environ 95% des LBM de France métropolitaine et ultramarine en 2016.

En 2012, une étude d'évaluation des délais de notification du système de surveillance des salmonelloses humaines, France 2007-2011 a été menée (Jones *et al.* Euro Surveill 2014). Le CNR *Salmonella* se basera sur les éléments émis de cette étude pour étudier les délais inhérents du passage du sérotypage au séquençage complet du génome et son impact dans ses missions de détections/d'investigations des épidémies.

- **Suivre l'évolution de la résistance des *Salmonella* aux antibiotiques et étudier leurs mécanismes de résistance et leurs supports génétiques**

Nous allons poursuivre l'analyse de la sensibilité aux antibiotiques à l'aide de méthodes standardisées (antibiogrammes suivant le CA-SFM et l'EUCAST ) et la détermination des CMI par la méthode des micro-dilution (Sensititre) pour une collection d'environ 1000 souches de *Salmonella* représentative des 10 000 souches reçues environ par an.

La recherche et la compréhension de l'acquisition de certaines résistances sont privilégiées. Elles concernent les résistances aux antibiotiques clés dans le traitement des salmonelloses sévères, à savoir la ciprofloxacine, les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, les carbapénèmes et une alternative que représente l'azithromycine et/ou la colistine.

- **Détecter précocement les épisodes épidémiques, par la caractérisation des souches de *Salmonella* par la méthode de typage la plus adaptée au sérotype en cause et par le développement de seuils d’alerte**

Le CNR-ESS continuera à utiliser en routine hebdomadaire le programme de détection basé sur les trois algorithmes et développé par Santé publique France. Un algorithme similaire basé sur les MLST et CRISPOL-types est en cours de développement depuis leurs extractions automatiques en WGS.



## 8.2 Contribuer à la surveillance épidémiologique, en lien avec Santé publique France

- **En transmettant à Santé publique France, en temps réel, les résultats concernant les infections à EHEC, les foyers de cas groupés notifiés au CNR des EHEC, *Salmonella* ou *Shigella***

Le CNR-ESS et le Laboratoire associé continueront de transmettre quotidiennement à Santé publique France par fax et par courrier tous les foyers de cas groupés à un même groupe de EHEC, de *Shigella* et/ou de *Salmonella* (épidémies familiales, hospitalières, scolaires, crèches, toxi-infections alimentaires collectives, infections collectives) signalées au CNR-ESS ET LA-RD par les laboratoires correspondants. Tous les phénomènes d'importance seront communiqués sans attendre par téléphone. Le CNR-ESS va poursuivre son envoi hebdomadaire à Santé publique France des foyers de cas groupés notifiés par les laboratoires de son réseau ainsi que les différents relevés épidémiologiques habituels.

- **En participant à l'investigation des cas groupés (typage de souches, comparaison des souches isolées chez les malades et dans d'autres sources,..)**

Le CNR-ESS et LA-RD va poursuivre sa participation à l'investigation des cas groupés en collaboration avec Santé publique France.

Les souches EHEC d'origine humaine ou non seront étudiées désormais par séquençage complet du génome. Toutes les souches seront envoyées par le LA-RD au CNR-ESS pour cela. Le CNR-ESS va également séquencées toutes les shigelles et une sélection de souches de *Salmonella* (>50% des souches).

- **Lors de la survenue d'une épidémie, en réalisant rapidement un typage le plus discriminant possible (adapté en fonction du sérotype en cause) afin de différencier les cas épidémiques et non épidémiques et de comparer des souches isolées chez les malades et dans d'autres sources en particulier alimentaire**

Le CNR-ESS et LA-RD va poursuivre son expertise microbiologique lors d'investigations d'épidémies en collaboration avec Santé publique France (pour le choix des souches épidémiques ou non épidémiques), l'ENV-Lyon (LNR) et l'ANSES- LERQAP Maisons-Alfort (pour analyser en parallèle les souches représentatives d'origine alimentaire). Il mettra en œuvre, le plus rapidement possible le séquençage du génome complet des souches épidémiques et non-épidémiques de sa collection de façon à déterminer si les souches étudiées sont reliées génétiquement.

- **En suivant les tendances évolutives temporelles des différentes espèces de EHEC, *Shigella* ou *Salmonella* en s'appuyant sur un réseau de laboratoires d'analyse de biologie médicale sur tout le territoire**

Le réseau du CNR date des années 1950, c'est un réseau stable (environ 1200-1400 laboratoires participants), il possède une bonne couverture géographique et est relativement exhaustif. La dernière enquête CNR-AFSSAPS dans le cadre du contrôle national de qualité a montré que le CNR avait connaissance de 54% des isollements de *Shigella* et 66% des *Salmonella*. La mise en place du site web-Voozoo permet de remplacer les fiches d'informations et raccourcira ainsi les délais d'information du CNR concernant l'isolement des souches de *Shigella* et *Salmonella*.

- **En collaborant avec les structures en charge de la surveillance des STEC et des Salmonelles chez l'animal, dans les aliments et dans l'environnement (échanges de souches...)**

Une collaboration a été engagée et se poursuivra avec les réseaux nationaux en charge de la surveillance comme l'Ecole Vétérinaire de Lyon (Dr Loukiadis) et de Maisons-Alfort ou pour des études ponctuelles sur les STEC, dans les aliments, chez l'animal et dans l'environnement avec échange et comparaison de souches.

Le CNR-ESS va poursuivre sa collaboration avec les réseaux de l'ANSES. Il s'engage également à instaurer des collaborations avec toute autre structure en rapport avec les *Salmonella* et *E.coli*.

- **En participant avec Santé publique France au réseau européen ECDC-FWD (Tessy) de surveillance des *Salmonella* et des STEC (envoi trimestriel des données de surveillance, collaboration en cas d'alerte européenne, ...)**

Le CNR-ESS ET LA-RD participe depuis plusieurs années au réseau européen de surveillance Enter-Net devenu ECDC-FWD qui est chargé de la surveillance internationale des infections gastro-intestinales humaines (*E. coli* entérohémorragiques, salmonelles, shigelles...). Le CNR-ESS et LA-RD participe chaque année à des contrôles qualité externes internationaux de souches STEC et salmonelles organisés par ce réseau. Par ailleurs, le CNR-ESS et LA-RD transmet ses données trimestriellement via Santé publique France à ce réseau européen et répond aux demandes d'informations qui lui sont adressées par l'ECDC-FWD ou par d'autres réseaux comme l'EFSA.

- **En collaborant aux activités des réseaux de surveillance internationaux et en particulier européen notamment dans le cadre de l'application de la directive**

Le CNR-ESS et LA-RD va poursuivre sa collaboration avec les réseaux de surveillance internationaux, notamment en répondant aux collectes annuelles de données de ces structures. Il est aussi parfois sollicité pour un avis d'expert sur certaines « saisines » ou autres projets de révisions des normes européennes en lien avec la directive 2003/99/CE.

Dans le cadre des infections à *E. coli* extra-intestinaux, la surveillance épidémiologique se fera grâce au réseau national de surveillance basé sur les laboratoires correspondants hospitaliers permettant de constituer une banque de souches isolées dans le LCR et de suivre l'évolution des caractéristiques de ces infections et leurs facteurs de risque (létalité, séquelles neurologiques...). La coordination de l'Observatoire national des méningites bactériennes de l'enfant, créé à l'initiative du Groupe de Pathologie Infectieuse pédiatrique (GPIP) de la Société Française de Pédiatrie (SFP) et de l'association clinique et thérapeutique infantile du Val de Marne (ACTIV), est poursuivi. Cet observatoire comprend un réseau de 259 services de pédiatrie et 168 services de bactériologie répartis dans toute la France. Grâce à ce réseau, le recueil exhaustif des données cliniques auprès de chaque service de pédiatrie permettra de mieux caractériser la méningite à *E. coli*, notamment sur les antécédents familiaux, le déroulement de la grossesse, de l'accouchement et des suites de couches, l'examen clinique à la naissance et le terme de l'enfant, les antécédents personnels, le tableau clinique au moment de la prise en charge de la méningite, l'évolution avec en particulier, l'apparition de complications et localisations parenchymateuses. Le bilan infectieux réalisé sera détaillé ainsi que l'antibiogramme de chaque souche. Enfin, la prise en charge thérapeutique sera étudiée en particulier avec le type, la dose et la durée des antibiotiques.

Parallèlement à la caractérisation clinique, la caractérisation génétique des souches de *E. coli* sera réalisée au sein du LA-RD.

### **8.3 Contribuer à l'alerte en signalant à Santé publique France, tout événement inhabituel**

Grâce à ses différents réseaux, le CNR-ESS ET LA-RD poursuivra sa collaboration quotidienne avec Santé publique France en signalant et en participant activement à l'investigation de tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles...), survenue de cas groupés, apparition de souches inhabituelles.

# **Annexes**

# ANNEXE 1

## Annexe 1. Missions et organisation du CNR

### 1.1 Missions et objectifs majeurs du CNR

Les objectifs du Centre National de Référence des *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella* (CNR-ESS) sont de surveiller au niveau national et de caractériser les souches d'*E. coli*, *Shigella* et de *Salmonella* sur le plan moléculaire afin d'analyser leurs diversités génétiques et leurs facteurs de pathogénicité.

*Les missions du CNR-ESS ET LA-RD se répartissent de la manière suivante:*

#### ***Pour les E. coli responsables d'infections digestives:***

- contribuer au développement du diagnostic de routine des infections à *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) et en particulier des *E. coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les laboratoires de diagnostic (CNR-ESS ET LA-RD),
- contribuer à la surveillance des infections à STEC (*Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines) et du syndrome hémolytique et urémique (SHU) en lien avec Santé publique France, en mettant en évidence la présence de STEC dans les selles (CNR-ESS ET LA-RD),
- participer, en lien avec Santé publique France, à l'investigation de cas groupés par séquençage complet du génome des souches et comparaison de souches isolées chez les malades et dans d'autres sources en collaboration avec les structures en charge de la surveillance ou d'études ponctuelles sur les STEC chez l'animal, dans les aliments et dans l'environnement telles que l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon et l'ANSES,
- contribuer à des études de recherche appliquée (CNR-ESS ET LA-RD),
- contribuer avec Santé publique France aux réseaux de surveillance internationaux et en particulier européen notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonoses 2003/99/CE (CNR-ESS ET LA-RD),
- contribuer à l'alerte en signalant à Santé publique France tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, survenue de cas groupés, apparition de souches inhabituelles (CNR-ESS ET LA-RD).

#### ***Pour les E. coli responsables de méningites néonatales (LA-RD):***

- développer et mettre en œuvre des techniques de typage et de génotypage des souches permettant de les caractériser (typage, génotypage, empreinte de virulence) et de distinguer les souches responsables de cas groupés de celles qui sont responsables de cas sporadiques et l'affiliation des souches aux différents clones,
- développer en liaison avec Santé publique France, un réseau de surveillance basé sur les laboratoires correspondants hospitaliers permettant de constituer une banque de souches isolées dans le LCR et de suivre l'évolution des caractéristiques de ces infections et leurs facteurs de risque (létalité, séquelles neurologiques, etc.),
- étudier et suivre la résistance des souches aux antibiotiques,
- apporter une expertise pour une aide au diagnostic des méningites décapitées par antibiothérapie,
- contribuer à l'alerte en signalant à Santé publique France tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, cas groupés, formes cliniques ou souches inhabituelles, etc.

***Pour les Shigella (CNR-ESS):***

- suivre les tendances évolutives temporelles des différentes espèces/sérogroupe de *Shigella*, en s'appuyant sur un réseau de laboratoires d'analyses de biologie médicale sur tout le territoire.
  - suivre l'évolution de la résistance des *Shigella* aux antibiotiques et des mécanismes de résistance en liaison avec le CNR de la résistance aux antibiotiques.
  - contribuer à la détection et l'investigation des cas groupés en lien avec Santé publique France, par séquençage complet du génome.
  - contribuer à des études de recherche appliquée.
  - participer, en lien avec Santé publique France, aux réseaux de surveillance et d'alerte internationaux et en particulier européens.
  - contribuer à l'alerte en signalant à Santé publique France, tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, survenue de cas groupés, modification des profils de résistance, apparition de souches inhabituelles, etc...
- Toutes ces missions sont possibles avec la collaboration de nombreux hôpitaux et laboratoires répartis dans toute la France et à une collaboration étroite avec Santé publique France.

***Pour les Salmonella (CNR-ESS):***

- contribuer à la mise en place du séquençage complet du génome en routine.
- suivre les tendances évolutives temporelles des différents clones de *Salmonella*, en s'appuyant sur un réseau de laboratoires d'analyse de biologie médicale sur tout le territoire.
- contribuer à la surveillance et à l'investigation des toxi-infections alimentaires collectives à *Salmonella* en signalant à Santé publique France les foyers de cas groupés notifiés au CNR-ESS.
- suivre l'évolution de la résistance aux antibiotiques de *Salmonella* et étudier les mécanismes de résistance notamment en collaboration avec le CNR des mécanismes de résistance aux antibiotiques.
- détecter précocement les épisodes épidémiques, par la caractérisation des souches de *Salmonella* par séquençage complet du génome.
- développer la capacité, lors de la survenue d'une épidémie, de réaliser rapidement un typage des souches de *Salmonella* concernées afin de différencier les cas épidémiques et non épidémiques et de comparer des souches isolées chez les malades et dans d'autres sources, en particulier alimentaire.
- collaborer avec les réseaux nationaux de surveillance des salmonelles chez l'animal, dans les aliments et l'environnement.
- participer avec Santé publiques France au réseau européen des surveillance des *Salmonella* de l'ECDC (European Center for Disease Prevention and Control) : envoi trimestriel des données de surveillance, collaboration en cas d'alerte européenne, ...
- collaborer aux réseaux de surveillance internationaux et en particulier européens notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonoses 2003/99/CE.
- contribuer à l'alerte en signalant à Santé publique France, tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, survenue de cas groupés, modification des profils de résistance, apparition de souches inhabituelles, ...

## 1.2 Les équipes

### 1.2.1 Le CNR-ESS: Effectif / Qualification du Personnel

#### - Effectif par catégories de fonctions

L'Unité de Recherche et d'Expertise des Bactéries Pathogènes Entériques (UBPE) a été créée en 2010 et a remplacé le laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques. Cette unité est dirigée par le Dr François-Xavier Weill et regroupe le CNR-ESS, le CNR des Vibriens et choléra et le Centre Collaborateur de l'OMS pour la Référence et la Recherche sur les *Salmonella*. Le personnel du CNR-ESS se répartissant de la façon suivante :

#### ETAT DES EMPLOIS DESTINES A L'ACTIVITE DU CNR

Noms et Prénoms	Poste	% Activité	Taux d'affectation %	ETP
François-Xavier WEILL	Chef de Laboratoire	100	10	0,10
Sophie LEFEVRE	Ingénieure de recherche confirmé	100	90	0,90
Simon LE HELLO	Cadre médical	100	50	0,50
Isabelle CARLE	Technicienne supérieure de recherche	100	75	0,75
Monique LEJAY-COLLIN	Technicienne supérieure de recherche	100	75	0,75
Corinne RUCKLY	Technicienne supérieure recherche	100	75	0,75
Chantal BELHASSEN	Technicienne de recherche	100	75	0,75
Véronique GUIBERT	Technicienne de recherche	100	75	0,75
Laëtitia FABRE	Ingénieure de recherche confirmé	100	50	0,50
Estelle SERRE	Technicienne supérieure de recherche	100	90	0,90
Magali RAVEL	Technicienne supérieure recherche	100	75	0,75
<b>TOTAL : 7,40</b>				
Marie LEMESLE	Technicienne supérieure administrative	100	30	0,30
Carole GASTON	Employée administrative	100	100	1,00
				1,30

### *Les responsables scientifiques*

#### **François-Xavier Weill**

Docteur en médecine, DES de Biologie Médicale, Doctorat d'université de Microbiologie, ancien Interne et Assistant Hospitalier Universitaire (Bordeaux). Habilitation à diriger les recherches (Paris V).

#### **Simon Le Hello**

Docteur en pharmacie, DES de Biologie Médicale, Doctorat d'université de Microbiologie, DEA, ancien Interne de l'AP-HP.

#### **Sophie Lefèvre**

Docteur en pharmacie, DES de Pharmacie spécialisée, Doctorat d'université de Microbiologie, ancien interne de Strasbourg.

### *Le personnel technique*

#### **\* Techniciens effectuant les analyses:**

- **Laëtitia Fabre**, Ingénieure de Recherche, Bachelor in Science (Kingston, RU), Master 2 de Microbiologie. Expérience : 15 ans au CNR-ESS.
- **Véronique Guibert**, technicienne de recherche. Expérience : 21 ans au CNR-ESS.
- **Corinne Ruckly**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 9 ans au CNR des méningocoques, 15 ans au CNR-ESS.
- **Monique Lejay-Collin**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 30 ans au CNR-ESS.
- **Isabelle Carle**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 29 ans au CNR-ESS.
- **Estelle Serre**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : depuis septembre 2016 au CNR-ESS.
- **Magali Ravel**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 1 an au CNR-ESS.

#### **\* Technicien du Centre Collaborateur OMS, décrivant les nouveaux sérotypes et développant de nouvelles techniques pour le CNR:**

- **Sylvie Issenhuth-Jeanjean**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 16 ans au CNR-ESS et au CCOMS.

#### **\*Technicien du laboratoire de préparation réalisant les milieux spéciaux pour le CNR :**

- **Chantal Belhassen**, technicienne de recherche. Expérience : xx ans au CNR-ESS.

#### **\* Technicien du Centre Collaborateur OMS préparant les sérums et effectuant le sérotypage pour le CNR:**

- **Brigitte Chavinier-Jové**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 12 ans au CNR-ESS.



### Le personnel administratif

- **Carole Gaston**, employée administrative du CNR-ESS, enregistrement des dossiers et archivage
- **Marie Lemesle**, BTS Assistante Secrétaire Trilingue, secrétaire de l'unité BPE. Expérience : 4 ans au CNR-ESS.

### 1.2.2 Le laboratoire associé (LA-RD): Effectif / Qualification du Personnel

#### - Effectif par catégories de fonctions

Nom - Prénom	Libellé Emploi	ETP
M. BONACORSI Stéphane	PU-PH	0,2
Mme MARIANI-KURKDJIAN Patricia	PH	0,2
Melle LIGUORI Sandrine	ARC	1

### 1.3 Les locaux et équipements

#### 1.3.1 CNR-ESS (Institut Pasteur)

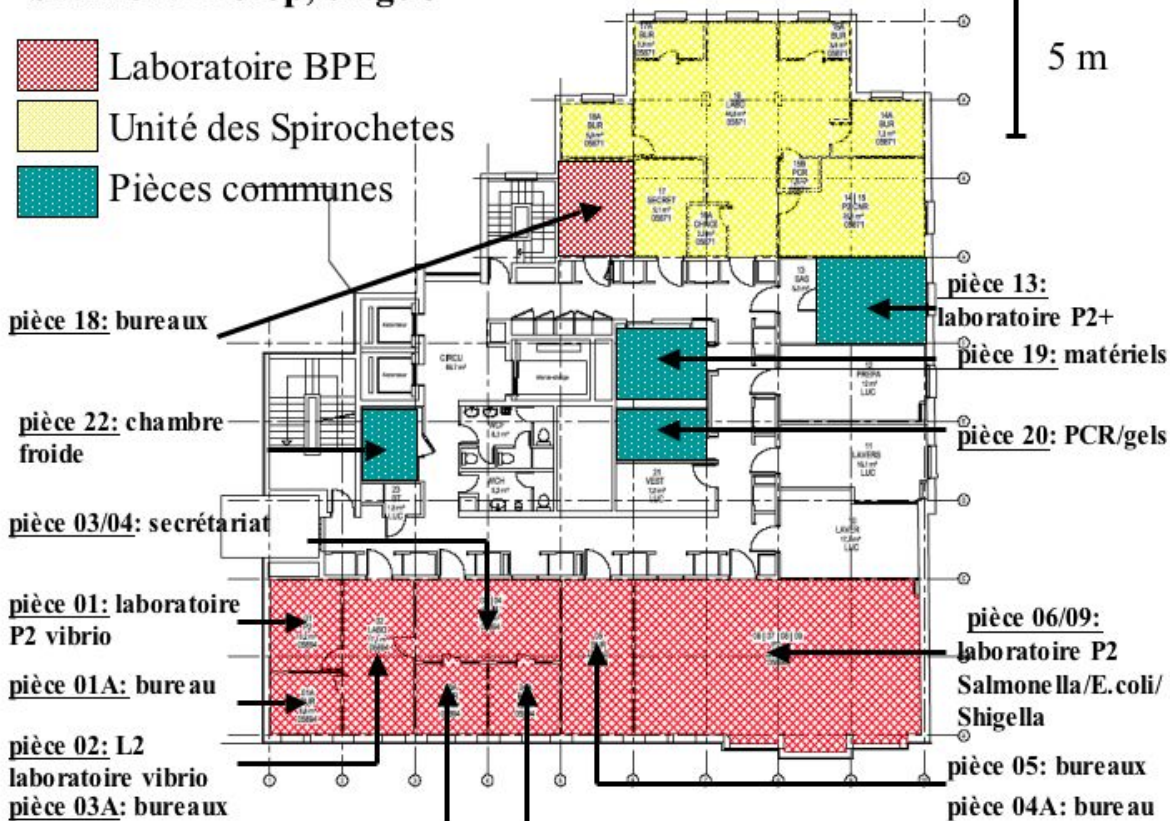
Le CNR-ESS, le CNR des Vibrions et du choléra, le CCOMS des *Salmonella* font partie de l'Unité d'Expertise et de Recherche des Bactéries Pathogènes Entériques dont les locaux se situent au 3<sup>ème</sup> étage du bâtiment Biotop.

Les activités du CNR-ESS ont lieu dans les pièces suivantes:

- Pièce bureaux : directeur du CNR (pièce 4a), 2 directeurs adjoints (pièce 3a), 2 secrétaires (pièce 03/04), 8 techniciennes (pièce 5), 3 technicien(ne)s, 3 stagiaires et 1 bureau de biologiste (pièce 11) et 1 technicienne, 2 postes stagiaires partagés avec 1 technicien et 1 stagiaire du CNR Choléra (pièce 18) avec un ordinateur par personne.
- Laboratoire P2 avec 2 PSM (pièce 06/09) de 72.8m<sup>2</sup> avec 12 paillasse dont 6 sont dédiées à l'activité *Salmonella* (5 techniciennes + 1 stagiaire), pour le sérotypage, la détermination de la résistance aux antibiotiques et les amplifications géniques (PCR) et le WGS (PSM). Les autres paillasse se répartissent en 4 pour l'activité *E. coli/Shigella* et 2 pour le CCOMS *Salmonella*,
- Laboratoire P2+ de 13,5 m<sup>2</sup> pour l'analyse des souches STEC
- Trois autres pièces climatisées partagées avec l'unité postulante des Spirochètes et les 3 CNR de l'UBPE : une pièce de 11,6 m<sup>2</sup> où se trouvent les agitateurs Infors, les 2 congélateurs à -80°C et l'ultracentrifugeuse, une pièce, une pièce de 7,5 m<sup>2</sup> dédié comme îlot déchet et une pièce de 16,1 m<sup>2</sup> où se trouvent les appareils d'électrophorèses, les extracteurs ADN, la machine à galce et l'appareil d'acquisition d'image de gels Geldoc.

Pour réduire les coûts, le circuit des souches est commun pour tous les CNR de l'unité BPE (ouverture des paquets, enregistrement des informations épidémiologiques au secrétariat, local commun pour conserver les souches, pièce pour matériels et chambre froide communes).

### bâtiment Biotop, étage 3



Au 4<sup>ème</sup> étage: deux bureaux d'une superficie de 5 m<sup>2</sup> chacun donnant sur un laboratoire de 22,5 m<sup>2</sup>

Les deux bureaux numérotés 4A et 3A pouvant accueillir 2 personnes chacun sont occupés par une technicienne supérieure dédiée à l'activité de recherche et développement du CNR-ESS (4A), par la collaboratrice principale du CCOMS (3A) et par une ingénieure de recherche de l'Unité BPE (3A).

Le laboratoire déjà fonctionnel est consacré aux activités de recherche (techniques MLST, CRISPR, MLVA...) et est équipé du matériel suivant :

- 2 congélateurs à -20°C
- 2 réfrigérateurs à +4°C
- Un bain-marie sec
- Une étuve à 37°C
- Une centrifugeuse de paillasse

Au 1<sup>er</sup> étage, l'Unité BPE a acquis des locaux qui seront partagés avec le CNR des Leptospires (Unité des Spirochètes). Ces locaux de 33 m<sup>2</sup> ont été aménagés pour un circuit de marche en avant pour réaliser de la PCR diagnostique.

La mise en place d'une marche en avant permettra d'envisager l'accréditation COFRAC de ces méthodes de diagnostic selon la norme NF EN ISO 15189 dans les meilleures conditions.

Ces laboratoires ont été équipés par les deux unités.

**Matériel, équipement du CNR-ESS:**

- Équipement habituel d'un laboratoire de bactériologie : enceintes climatiques (+4°C, 30°C, 37°C, réfrigérée de 4° à 30°C)
- Postes de sécurité microbiologique de type II (x 2)
- Matériel d'électrophorèse en agarose et d'hybridation, capture électronique d'images \*
- Thermocycleurs (x 5)
- Appareil PCR temps réel CFX96 (Bio-Rad)
- Appareil d'électrophorèse en champ pulsé Bio-Rad DRIII (x2)
- Système automatisé de lecture et d'interprétation d'antibiogrammes Sirscan (I2A) avec logiciel d'épidémiologie
- Équipement informatique : 6 ordinateurs Macintosh, 11 PC
- Congélateur à -80°C

\* Partagé avec les autres CNR de l'Unité et § de l'Unité des Spirochètes.

**Moyens extérieurs à la structure:**

- Collaboration importante avec la Plateforme de microbiologie mutualisée (P2M) au sein d'une structure transversale PIBnet (Pasteur International Bioresources network) pour les méthodes à haut-débit (WGS et Maldi toff).
- Réseau informatique de l'Institut Pasteur et le Centre d'Information pour la Biologie.
- L'assistance d'Epiconcept pour le bon fonctionnement et l'amélioration du logiciel « Lagon » utilisé en routine au CNR depuis novembre 2009 pour enregistrer les analyses et éditer les résultats.

### 1.3.2 LA-RD

Le Laboratoire Associé est situé dans le Service de Microbiologie du CHU Robert Debré (APHP). Il comprend :

- Une pièce pour l'étude des selles avec un poste de sécurité microbiologique pour l'isolement et l'identification des *E. coli* (local dédié au Laboratoire Associé).
- Une pièce pré PCR avec poste de sécurité PCR (locaux communs).
- Une pièce dédiée aux électrophorèses en agarose et au champ pulsé (locaux communs).
- Une chambre froide (locaux communs).

#### **Matériels et Equipements de la structure actuelle:**

##### Matériel appartenant au laboratoire:

- Poste de sécurité microbiologique de type II
- Étuve
- Microscope
- Centrifugeuse
- Réfrigérateur
- Congélateur à -20°C
- Maldi-TOF Brucker Microflex pour identification bactérienne

##### En commun:

- Pièce pré PCR avec poste de sécurité PCR
- Une pièce climatisée comprenant :
  - o Thermocyclers (x 3)
  - o Appareil PCR temps réel (Smart Cycler)
  - o Appareil d'électrophorèse en champ pulsé (Chef mapper- BioRad)
  - o Diversilab (Rep-PCR)
  - o Pièce post PCR comprenant
  - o Matériel d'électrophorèse en agarose
  - o Appareils de capture électronique des images (Gel docXRS /Biorad et Biocapture/Vilbert Lourmat)
- Laverie
- Réserve matériel en verre et matériel plastique à usage unique
- Chambre froide
- Congélateurs à -80°C (x 4)
- Logiciel de gestion des laboratoires (Lab400)
- Équipements informatiques de bureau en réseau protégé avec sauvegarde en salle informatique centrale de l'hôpital
- Bureaux médicaux

#### **Moyens extérieurs à la structure:**

- Accès à la structure de recherche IAME (Université Paris Diderot- Unité INSERM 1137)
- Utilisation d'un prestataire de service (Génome Express) pour le séquençage d'ADN

## 1.4 Démarche qualité

### 1.4.1 Démarche qualité du CNR-ESS

#### Engagement du CNR-ESS dans une démarche qualité

Le CNR-ESS est engagé dans une démarche qualité selon la norme ISO 15189 : la totalité des membres du personnel impliqués dans cette activité a suivi une formation à l'Assurance Qualité. Sophie Lefèvre a été nommée correspondante qualité en mai 2016 pour reprendre le suivi de notre projet qualité. Corinne Ruckly a été nommée suppléante correspondante qualité.

Un système qualité efficace a été mis en place avec une gestion documentaire électronique des documents (procédures, modes opératoires et enregistrement) et une mise en ligne progressive sur la plateforme webcampus de l'Institut Pasteur dans l'espace dédié à notre CNR.

Le 28 juin 2016, notre CNR a participé à un audit interne externalisé sur la technique suivante : « **Détection des gènes codant les Shiga-toxines Stx1 et Stx2 chez *Escherichia coli* par un système de PCR multiplex en point final.** ». Bilan : 6 écarts (dont 0 écarts critiques) et 7 remarques.

Le 22 novembre 2016, notre CNR a participé à un audit interne organisationnel. Bilan : 0 écarts et 12 remarques.

Le 27 février 2017, nous avons effectué une revue de qualité pour l'année 2016, présentant la dynamique de notre démarche qualité, un bilan des différents audits internes, un bilan des différents processus, une évaluation des indicateurs qualité de la politique qualité du LREMS, une évaluation des fournisseurs, ainsi que les axes d'amélioration à travailler sur l'année à venir.

En mai 2017 nous allons participer à la revue de direction du LREMS.

A ce jour nous attendons confirmation d'une date pour la réalisation d'un nouvel audit interne technique en juin 2017, ainsi que pour un audit COFRAC fin 2017-début 2018.

Le périmètre de la démarche, restreint initialement aux activités *E. coli*, est en train de s'étendre à l'ensemble du CNR-ESS, en terme organisationnel et de gestion et traçabilité du matériel, des réactifs et des consommables.

#### Evaluation externe de la qualité

Le CNR-ESS participe chaque année aux contrôles de qualité externe européens proposés par l'ECDC via le laboratoire danois Statens Serum Institute.

- Les résultats du CNR-ESS à l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (méthode de diffusion en milieu gélosé et détection de la production de BLSE, AmpC acquise et carbapénémase) étaient 100% conformes aux résultats attendus.
- Le sous-typage moléculaire des *Salmonella* par PFGE a montré une bonne analyse BioNumerics avec des commentaires mineurs sur la qualité de nos gels.
- Le sous-typage moléculaire des *Salmonella* par MLVA a montré quant à lui 100% de résultats corrects parmi les profils alléliques.

Comme indiqué dans le paragraphe 1.2.2.2 (page 5 de ce rapport) sur l'évolution des activités de sous-typage au cours de l'année 2016, les techniques de PFGE et de MLVA ont été arrêtées pour être avantageusement remplacées par l'activité de séquençage du génome entier.

- Le dépistage des souches de *E. coli* susceptibles de produire des Shiga-toxines a montré : 100% de dépistage des gènes de pathogénicité *eae*, *stx1* et *stx2* et de leurs variants ; 100% de dépistage de la fermentation du sorbitol ; 90% d'exactitude dans le sérotypage des antigènes O et H. Les discordances obtenues ont fait l'objet d'une action corrective.

#### Reconnaissance du laboratoire par des instances nationales et internationales

L'Unité BPE a été redésignée le 16 juin 2009 (1<sup>ère</sup> désignation le 1<sup>er</sup> janvier 1965) par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme Centre Collaborateur de l'OMS pour la Référence et la Recherche pour les *Salmonella*. Ce centre dirigé par François-Xavier Weill a pour principales missions : la mise à jour du Schéma de White-Kauffmann-Le Minor, l'appui aux Centres Nationaux de Références (sérotypage de souches complexes distribution de souches pour production d'antisérums,..) et des activités de recherche. Le CCOMS participe comme organisateur du Contrôle de Qualité Externe international du réseau de l'OMS, GFN.

F.-X. Weill est membre depuis 2010 d'un groupe de travail Européen en charge de l'élaboration d'une norme ISO pour le sérotypage des *Salmonella*.

Le CNR-ESS effectue le sérotypage des souches complexes provenant du Laboratoire National de Référence de l'ANSES Maisons-Alfort.

## 1.4.2 Démarche qualité du Laboratoire de Référence et d'Expertise Multi-Site (LREMS)

### Synthèse 2016

#### Historique:

En 1996, les Centres Nationaux de Référence (CNR) de l'Institut Pasteur ont entrepris une démarche qualité pour suivre le Guide de Bonne Exécution des Analyse en Biologie Médicale (GBEA) et, depuis 2008, dans le cadre des inspections de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM), les exigences des arrêtés du 30 juillet 2004 et du 16 juillet 2007 liés aux Micro-Organismes et Toxines (MOT).

#### Projet ISO 15189 du Laboratoire de Référence et d'Expertise Multisite (LREMS) de l'Institut Pasteur:

Ce projet s'inscrit dans l'objectif de répondre à l'ordonnance du 13 janvier 2010 et à la loi du 31 mai 2013 relative aux activités de biologie médicale.

Les Centres Nationaux de Référence et d'Expertise de l'Institut Pasteur et la Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU) sont organisés en Multisite et constituent le LREMS.

Le projet accréditation ISO 15189 de l'Institut Pasteur est une démarche dynamique pilotée par :

- la Direction aux Ressources Techniques et à l'Environnement et son Service Qualité, Environnement et Développement Durable (QEDD) qui apporte ses ressources et son expertise dans l'accompagnement du projet d'accréditation ISO 15189 du LREMS ;
- la direction des Affaires médicales et de Santé Publique ;
- et la Coordination des Centres Nationaux de Référence de l'Institut Pasteur.

Les services supports de l'Institut Pasteur participent également à la démarche d'accréditation du LREMS en apportant les ressources nécessaires au bon déroulement des activités.

#### Actions d'importance 2016 conduites auprès des CNR de l'Institut Pasteur à Paris et Lyon:

**Janvier à Mars 2016:** réalisation des revues qualité des CNR.

**1<sup>er</sup> Avril 2016:** demande d'extension d'accréditation pour les CNR des Papillomavirus, E. Coli, Salmonelles, Shigelles et Vibrions Cholera (en attente de la notification de réception du dossier).

**Mai 2016:** notification par le COFRAC du renouvellement de l'accréditation du LREMS (CIBU, CNR Anaérobies, CNR de la Coqueluche et autres bordetelloses, CNR des Corynébactéries du complexe *Diphtheriae*, CNR des Hantavirus, CNR des Fièvres Hémorragiques Virales, CNR des Virus *Influenzae*, CNR de la Leptospirose, CNR des Listeria, CNR des Méningocoques, CNR des Mycoses invasives et antifongiques, CNR de la Peste et autres yersiniose, CNR de la Rage) .

L'attestation d'accréditation est disponible à l'adresse : <https://www.cofrac.fr/annexes/sect8/8-2588.pdf>

**23 Mai 2016:** revue de direction du LREMS.

**Juin-Juillet 2016 et septembre-octobre 2016:** audits internes technique et qualité.

**4<sup>ème</sup> trimestre 2016:** article dans la revue Compétences du COFRAC concernant l'accréditation des CNR de l'Institut Pasteur avec un focus sur le CNR des Fièvres Hémorragiques Virales.

**Octobre 2016:** report de l'audit de surveillance COFRAC en Janvier 2017.

### **Perspectives 2017:**

**Janvier à Mars 2017:** réalisation des revues qualité des CNR.

**16 au 20 janvier 2017: audit de surveillance COFRAC ;** les conclusions de l'audit de surveillance de Janvier 2017 ont été positives, le rapport d'évaluation indique que les évaluateurs accordent leur confiance au LREMS.

**Avant le 22 mai 2017:** revue de direction du LREMS.

**Juin-Juillet 2017 et septembre-octobre 2017:** audits internes technique et qualité.

**Septembre 2017:** organisation de groupes de travail technique pour les prochains projets de validation de méthodes et finalisation des dossiers de validation de méthode pour une demande d'extension prochaine.

**Courant 2017:** ajout de nouvelles méthodes dans le périmètre d'accréditation, pour les CNR ayant déjà des techniques accréditées sous la même portée d'accréditation.

**Fin 2017-début 2018:** audit de surveillance et/ou d'extension du LREMS.

### **1.4.3 Démarche qualité du LA-RD**

En raison de l'obligation faite aux laboratoires de biologie de respecter la norme NF EN ISO 15189 (ordonnance du 13 janvier 2010), le service de Microbiologie ainsi que le Pôle de Biologie du CHU Robert Debré sont entrés dans la démarche d'accréditation en 2013. Des procédures spécifiques à l'activité du laboratoire associé ont été rédigées : procédures générales, procédures pré-analytiques, analytiques et post-analytiques.

**La visite d'accréditation a eu lieu le 31 mars et le 1<sup>er</sup> avril 2014. Le service de Microbiologie et l'ensemble du Pôle de Biologie ont été accrédités (Accréditation n°8-3318). Aucun écart critique n'a été relevé au cours de cette évaluation, seuls des axes d'amélioration ont été définis.**



## ANNEXE 2

### Annexe 2. Capacités techniques du CNR

#### 2.1 Pour *Salmonella*

##### 2.1.1 Liste des techniques de référence

###### \* Des techniques d'identification du genre, des espèces et des sous-espèces de *Salmonella*

###### *Bactériologie classique*

- **Culture sur différents milieux** (Drigalski, TSA, BCP, XLT4, Hektoen, Kligler–Hajna, Mannitol-Mobilité).

- **Tests biochimiques** réalisés en macro-galerie :

- Fermentation du Lactose, du Mannitol, du Dulcitol, du Rhamnose, du Xylose, du Mucate, du Citrate de Christensen, de l'Acétate de Trabulsi et du Glycérol. Production de Gaz/Glucose, de Gaz/Mannitol, de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S), et de la tétrathionate réductase (TTR). Activité Lysine décarboxylase (LDC), Ornithine décarboxylase (ODC), tryptophanase (Indole), bêta-galactosidase (ONPG) et bêta-glucuronidase. Culture sur Citrate de Simmons. Lyse par le phage 01. Possibilité de réalisation de micro-galerie (API 20E, BioMérieux).

###### *Autres méthodes de différenciation d'espèces et de sous-espèces utilisables si besoin*

- **Séquençage du gène *rrs*** (codant pour l'ARN 16S) ou du **gène *rpoB*** (codant pour la sous-unité bêta de l'ARN polymérase) permet de vérifier l'appartenance des souches au genre *Salmonella* (*rrs*) et aux différentes espèces et sous-espèces de *Salmonella* (*rpoB*) grâce à la comparaison des séquences obtenues à celles contenues dans la base de données de l'UBPE.

###### \* Des techniques d'identification des sérotypes

- Le **sérotypage classique par agglutination**. Il nécessite l'emploi d'environ 200 antisérums (polyvalents et monovalents) polyclonaux absorbés, préparés chez le lapin. Le 1/3 des sérums est d'origine commerciale (principalement BioRad), le reste est préparé dans l'UBPE. Le sérotypage classique par agglutination reste le sérotypage de référence (ISO/TR 6579-3) et permet de mettre en évidence plus de 2500 sérotypes.

- Le **sérotypage moléculaire** d'une souche de *Salmonella*. Trois techniques permettent de compléter le typage ou de suppléer le sérotypage classique :

- **L'analyse MLST** (Multilocus sequence typing). Cette méthode est basée sur l'analyse de la séquence de 7 gènes conservés (dits gènes de ménage) après amplification génique. Les résultats sont partagés avec la communauté scientifique par l'intermédiaire du site MLST *Salmonella* de l'Environmental Research Institute de Cork (<http://mlst.ucc.ie/mlst/dbs/Senterica>) qui recense, en 2012, 1669 séquençotypes pour plus de 500 sérotypes (Achtman *et al*, PloS Pathogens 2012).

- **Le séquençage après PCR des gènes de flagellines *fliC* et *fliB***. Cette méthode se base sur l'analyse des gènes codant pour les 2 phases flagellaires de *Salmonella*.

- **L'analyse du polymorphisme des 2 régions CRISPR** (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) par PCR puis séquençage. Plus de 7100 spacers différents ont été décrits par cette méthode ; ils sont accessibles sur le site web dédié (<http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/crispr/CRISPRDB.html>). Cette méthode originale a été mise au point au CNR-ESS (Fabre L *et al*, PloS One 2012).

**\* Des techniques de sous-typage des *Salmonella*:**

- **L' électrophorèse en champ pulsé** (Pulsed-Field Gel Electrophoresis, PFGE) à l'aide de différentes endonucléases (méthode standardisée et de référence PulseNet, accessible à <http://www.cdc.gov/pulsenet/>).

- **L' analyse MLVA** (Multi Locus VNTR (variable numbers of tandem repeats) Analysis) pour les sérotypes Typhimurium et son variant monophasique (méthode standardisée et harmonisée depuis 2011). Des schémas MLVA pour les sérotypes Enteritidis, Derby, Dublin, Typhi, Paratyphi A et Newport existent et sont en cours de validation et/ou harmonisation.

- **La méthode CRISPOL, méthode de sous-typage à haut débit** de *S. enterica* sérotype Typhimurium et de ses variants monophasiques **basée sur** le polymorphisme des régions CRISPR. Cette méthode, mise au point au sein par le CNR-ESS en 2009, repose sur la détection de 68 spacers présents chez Typhimurium. Cette détection est effectuée par hybridation en milieu liquide à l'aide de 72 sondes (68 spacers et 4 variants de spacers) fixées sur des microbilles grâce à la **technologie xMAP de Luminex®**.

De façon plus spécifique, le CNR-ESS dispose des techniques pour:

- **Le profil d'hybridation à l'aide d'une sonde IS200** pour le sérotype Paratyphi B,

- **La recherche par PCR de la présence de prophages** pour le sérotype Typhimurium,

**\* Des techniques d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des *Salmonella***

- **L'antibiogramme** par diffusion en milieu gélosé de 16 à 32 antibiotiques testés (suivant les dernières recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) et la détermination de la CMI par la méthode E-test® (BioMérieux®).

- **L'étude des mécanismes de résistance aux antibiotiques** (caractérisation des gènes de résistance, de leur environnement génétique et de leur support).

**\* Des techniques de séquençage complet des génomes des *Salmonella*:**

Cette technique est proposée par une plateforme (P2M) permettant l'extraction d'ADN à grand volume (MagNAPure 96, Roche) et le séquençage par la technologie Illumina (NextSeq500). Les analyses bio-informatiques sont issues du CNR-ESS

**\* Des techniques de spectrométrie de masse:**

La plateforme P2M propose également une analyse des échantillons par MALDI-TOFF, mais très peu utile en routine pour l'identification des types de *Salmonella*.

### 2.1.2 Collections de souches, antigènes ou immun-sérums de référence

Toutes les souches adressées au CNR-ESS depuis 1947 ont été conservées en tubes gélosés gardés à température ambiante. La collection du CNR-ESS comprend plus de 300.000 souches. L'ensemble de tous les sérotypes connus de *Salmonella* est conservé sous forme lyophilisée au Centre Collaborateur OMS de Référence et de Recherche sur les *Salmonella* (CCOMS). Certaines souches possédant des résistances particulières aux antibiotiques sont conservées à  $-80^{\circ}\text{C}$ . Les informations relatives aux souches sont disponibles sur des cahiers et sur des fichiers informatiques. La mise à disposition de ces souches se fait avec l'accord du ou des responsables du CNR-ESS sous forme de contrat MTA (Material Transfert Agreement).

### 2.1.3 Liste des techniques recommandées par le CNR

Le **sérotypage** des souches doit être réalisé conformément au schéma de White-Kauffmann-Le Minor (WKL) (9<sup>ème</sup> édition 2007), maintenu par le CCOMS (dirigé par les responsables du CNR-ESS). La demande d'un schéma WKL en format pdf se faisant en écrivant à l'adresse [whosalm@pasteur.fr](mailto:whosalm@pasteur.fr) (prière de mentionner les coordonnées professionnelles) ou téléchargeable en version anglaise ou française à l'adresse [www.pasteur.fr/ccoms/salmonella](http://www.pasteur.fr/ccoms/salmonella).

Le sous-typage par **électrophorèse en champ pulsé** doit être réalisé à l'aide d'un protocole standardisé sur le plan international (protocole PulseNet disponible à <http://www.cdc.gov/pulsenet/>). Des renseignements techniques sont disponibles auprès des responsables du CNR-ESS.

- **L'analyse MLVA** pour le sérotype Typhimurium et Enteritidis est standardisée et harmonisée. Le CNR-ESS aide à la mise en place et à l'harmonisation de cette technique pour les laboratoires français.

- **La méthode CRISPOL, méthode de sous-typage à haut débit** de *S. enterica* sérotype Typhimurium et de ses variants monophasiques est utilisée en routine au CNR-ESS (Institut Pasteur, Paris) et au Laboratoire de Sécurité des Aliments (ANSES, Maisons-Alfort).

- **Le séquençage complet des génomes à haut débit (WGS)** des *Salmonella* est utilisé en routine au CNR-ESS (Institut Pasteur, Paris). Il permet d'extraire le sérotype moléculaire (MLST + séquence *fliC* et *fljB*), le CRISPOL-type des populations de Typhimurium, le contenu en gène de résistance, le contenu en plasmide ainsi que d'en connaître leur replicon-type. Il permet aussi les analyses microbiologiques les plus fines par comparaison SNPs, en utilisant les méthodologies les plus adaptées à l'investigation.

## 2.2 Pour *Escherichia coli*

### 2.2.1 Liste des techniques de référence

#### 2.2.1.1 au CNR-ESS

##### a. Techniques d'identification du genre, des espèces et des sous-espèces

###### **Bactériologie classique**

- Possibilité de culture sur différents milieux (Drigalski, TSA, BCP, XLD, Hektoen, Kligler Hajna, Mannitol-Mobilité, Mac Conkey-sorbitol, CHROMagar STEC).

- Tests biochimiques réalisés en macro-galerie :

Fermentation du Lactose, du Mannitol, du Dulcitol, du Rhamnose, du Xylose et du Glycérol. Production d'o-nitrophenyl-beta-D-galactopyranoside (ONPG), de Gaz/Glucose, de Gaz/Mannitol, de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S), et de la tétrathionate réductase (TTR). Activité Lysine décarboxylase (LDC), Ornithine décarboxylase (ODC), tryptophanase (indole) et bêta-glucuronidase. Possibilité de réalisation de micro-galerie (API 20E, BioMérieux).

###### Autres méthodes de différenciation d'espèces utilisées en routine

- La recherche par **PCR du gène *iudA*, codant pour la bêta-glucuronidase**, la présence de ce gène permet de valider l'identification *E. coli* –*Shigella*.

- **La détection par PCR des gènes codant pour l'invasivité (*ial* et *ipaH*)** pour différencier une souche déficiente de *E. coli* d'une *Shigella*. Ces gènes sont aussi présents chez les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC), mais ces derniers sont plus rares.

###### Autres méthodes de différenciation d'espèces utilisables si besoin

- **Le séquençage du gène *rpoB*** (codant pour la sous unité bêta de l'ARN polymérase) permet de vérifier l'appartenance des souches aux genres *E. coli*-*Shigella* ou de les classer avec les autres entérobactéries correspondantes grâce à la comparaison aux bases de données de l'Unité BPE.

##### b. Techniques d'identification des sérotypes de *E. coli*

###### Le sérotypage classique

Le **sérotypage partiel** est effectué avec les antisérums O1, O2, O18, O25, O26, O44, O55, O78, O86, O91, O103, O111, O114, O118, O119, O124, O125, O126, O127, O128, O142, O145, O157, O158, O164 et H7. Il est très difficile d'obtenir des sérums spécifiques de bonne qualité pour le sérotypage des *E. coli*. Les sérums utilisés proviennent de différents fournisseurs (Eurobio, Sifin). Chaque sérum subit un contrôle qualité à réception.

###### Le sérotypage moléculaire

L'agglutination des souches de *E. coli* est la technique de base, mais cette méthode immunologique est très souvent mise en défaut pour *E. coli* en raison d'un nombre de sérotypes très élevé (plus de 170 antigènes O et 50 antigènes H connus) et le schéma

antigénique n'est pas exhaustif (à la différence des *Salmonella*). Pour les *E. coli stx+* et *Shigella*, le sérotypage moléculaire est utile quand les souches ne sont pas sérotypables (nouveaux sérotypes en l'absence d'antisérums spécifiques ou quand les souches sont autoagglutinables [rough]).

- **Le sérotypage moléculaire O des *E. coli* et *Shigella* par *rfb*-RFLP**, mis au point dans l'Unité BPE (Pr P.A.D. Grimont) consiste en une analyse des profils de restriction obtenus par amplification de la région génétique *rfb* (antigène O, environ 20kb) puis restriction enzymatique avec *MboI*. Les profils de restriction ainsi obtenus sont comparés à une base de données dans le logiciel BioNumerics contenant 250 profils déterminés pour 148 sérogroupes O de *E. coli* et 35 sérotypes de *Shigella*. Les antigènes O déterminés de façon moléculaire sont notés R (et non « O »).

- **Le sérotypage moléculaire de l'antigène H par séquençage du gène *fliC***. Il permet de déterminer le « H » moléculaire (nommé « F ») par comparaison à la base de données de l'Unité BPE qui comprend les séquences de 92 sérotypes de *E. coli* et près de 40 sérotypes de *Shigella*.

#### c. Détection des gènes de pathogénicité par PCR

La panoplie des gènes de pathogénicité présents chez *E. coli* est imposante. La détection par PCR (multiplex ou simplex) de tous ces gènes s'effectue sur souches isolées ou directement sur les selles. Les gènes suivants sont recherchés en priorité :

- Les gènes *stx* (*vt*) codant pour les Shiga-toxines ou Verotoxines chez les *E. coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC ou EHEC) ou encore chez *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga-toxine 1).

Il nous est possible de sous-typer le gène *stx* en 6 variants par un système de PCR et restriction enzymatique.

- Le gène d'adhésion *eae* codant pour une adhésine « d'attachement et d'effacement aux cellules épithéliales, l'intimine responsable de la lésion ». Ce gène est reconnu comme facteur de pathogénicité important chez les STEC et les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC).

- Le gène *ehlyA* (*hlyA*) codant pour l'entérohémolysine. Ce gène est présent dans 90% des cas chez les STEC.

En fonction du contexte (suspicion d'épidémie liée à un des multiples pathovars entériques ou lors d'un tableau clinique sévère) plusieurs autres gènes de virulence peuvent être recherchés par PCR. Il s'agit des gènes de toxine *st* et *lt* des *E. coli* entérotoxinogènes (ETEC), des gènes *astA* et *aggR* des *E. coli* entéroaggrégants (EAgEC), des gènes codant pour les adhésines *PAP*, *SFA*, *AFA* chez des souches responsables de diarrhées ou uropathogènes (UPEC), des gènes *cnf1* et *aer* chez des souches responsables de septicémie.

#### d. Techniques de sous-typage des *E. coli*

L'électrophorèse en champ pulsé (PFGE) à l'aide de différentes endonucléases (méthode standardisée PulseNet). Méthode de référence à l'heure actuelle pour le sous-typage.

#### *e. Techniques d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des E. coli*

- L'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé de 16 à 32 antibiotiques testés (suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) et détermination de la CMI à tous les antibiotiques par la méthode E-test (BioMérieux),
- L'étude des mécanismes de résistance aux antibiotiques (caractérisation des gènes de résistance, de leur environnement génétique et de leur support).

#### *f. Sérodiagnostic lors des cas de syndrome hémolytique et urémique (SHU)*

Seule la recherche dans le sérum des patients d'anticorps anti-LPS (IgA et IgM) dirigés contre un panel de 23 sérogroupes de *E. coli* fréquemment associés à la survenue de SHU est effectuée dans un contexte d'aide à l'investigation

La technique utilisée est celle du « **line-blot** » avec 8 LPS purifiés (O26, O55, O91, O103, O111, O128, O145, O157 de *E. coli*) ou 24 LPS (O1, O2, O4, O14, O26, O29, O55, O91, O103, O104, O105, O111, O113, O115, O118, O127, O128, O136, O145, O153, O157, O163, O164 de *E. coli* et O30 de *Salmonella*) est utilisée. La recherche est effectuée sur 2 sérums : le 1<sup>er</sup> prélevé le plus tôt possible après le début du SHU (J0) et le 2<sup>ème</sup> prélevé environ 15 jours après (J15). Cette méthode, utile dans la surveillance des SHU quand la bactérie n'est plus retrouvée dans les selles, est arrêtée à partir du 1<sup>er</sup> avril 2017 du fait d'un manque de spécificité et de validation.

#### *g. séquençage complet du génome des STEC*

Cette technique est proposée par une plateforme (P2M) permettant l'extraction d'ADN à grand volume (MagNAPure 96, Roche) et le séquençage par la technologie Illumina (NextSeq500). Les analyses bio-informatiques sont issues du CNR-ESS et permettent de connaître le séquençotype MLST, l'opéron O et la séquence fliC (=sérotypage moléculaire), la détection de plus de 70 gènes de virulence (incluant les gènes classiquement recherchés par PCR et l'identification des variants) et le contenu en gènes de résistance aux antibiotiques.

#### 2.2.1.2 Techniques du LA-RD

Elles sont, pour la plupart identiques, à celles du CNR –ESS :

##### *a. Diagnostic/identification*

- Mise en culture sur milieux spécifiques : Mac Conkey Sorbitol Cefixime Tellurite (BioMérieux), Milieu chromogène pour entérobactéries et milieu de Drigalski
- Agglutination par des antisérums (BioRad et Sifin)
- Identification biochimique sur galerie API20E (BioMérieux)
- PCR spécifique des gènes de virulence : *stx1*, *stx2*, *eae*, *hlyA*
- Groupage phylogénétique

##### *b. Typage*

- Sérotypage par PCR multiplex permettant de détecter les sérotypes les plus fréquemment retrouvés dans les pathologies liées aux EHEC : O157, O26, O111,

O55, O91, O103, O145. Les sérotypes O104 et O121 ont été rajoutés à cette PCR multiplex

- RAPD, Rep -PCR
- PFGE
- Puces : 77 cibles et 11 sérotypes

### c. Sensibilité aux anti-infectieux

- étude par méthode de diffusion en milieu gélosé et méthode du E-test pour la détermination de la sensibilité à l'azithromycine

## 2.2.2 Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles

Lors d'investigations d'épidémies, la plupart des techniques exposées précédemment sont utilisables pour le suivi de l'épidémie. Pour *E. coli*, nous réalisons en priorité, le sérotypage (par agglutination ou moléculaire) et effectuons la recherche des gènes de virulence. Par la suite, l'analyse du séquençage complet du génome est effectuée.

Toutes les techniques décrites précédemment peuvent être utilisées en association comme marqueurs épidémiologiques.

## 2.2.3 Collection de souches

Au CNR-ESS, toutes les souches de *E. coli* et *Shigella* ont été conservées au laboratoire, sur milieu gélosé sans glucose, depuis plus de 30 ans, ce qui représente plusieurs dizaines de milliers de souches conservées avec leurs informations microbiologiques et cliniques (si disponible). Ceci permet des études rétrospectives sur l'évolution des types ou des résistances aux antibiotiques. Les souches importantes sont en plus conservées à  $-80^{\circ}\text{C}$ , parmi ces souches, on trouve :

- les souches de référence pour les gènes de pathogénicité de *E. coli*.
- les souches de référence des différents sérotypes O et H pour le typage moléculaire.
- toutes les souches du CNR possédant des gènes de pathogénicité, particulièrement les Shiga-toxines,

Pour les autres souches, elles sont ensemencées en gélose de conservation et une pièce climatisée est réservée aux collections de souches des CNR.

Au LA-RD à l'hôpital Robert Debré, les souches sont conservées à  $-80^{\circ}\text{C}$  dans une pièce dédiée. Plusieurs collections de souches humaines sont ainsi disponibles depuis 1987 :

- Les souches de *E. coli* responsables de SHU de l'enfant.
- Les souches de *E. coli* responsables de méningites néonatales.
- Les souches de *E. coli* responsables d'infections urinaires de l'enfant.

## 2.2.4 Techniques recommandées par le CNR-ESS ET LA-RD

Concernant le diagnostic des EHEC : un article a été rédigé en 2008 par Santé publique France et le CNR-ECS-LA (Espié E, Mariani-Kurkdjian P, Filliol I, Vaillant V et de Valk H. Infections humaines à *E. coli* producteurs de Shiga-toxines en France : Aspects cliniques, diagnostiques et épidémiologiques. Revue Francophone des Laboratoires. Mars 2008, n°400, p59-65). Cet article, toujours d'actualité permet aux laboratoires d'avoir toutes les informations et le schéma d'isolement concernant la détection des souches STEC.

Un autre article de référence est paru en janvier 2013 rédigé par le CNR-ESS (Gouali M et Weill FX) : Les *Escherichia coli* entérohémorragiques : des entérobactéries d'actualité. Jan 2013, Volume 42, N°1. 68-75). Cet article a l'avantage de rappeler les caractéristiques, la pathogénie, l'épidémiologie et les méthodes de diagnostic des infections à EHEC.

Désormais, l'expertise des *E. coli* nécessite une analyse du génome.

## 2.3 Pour *Shigella*

### 2.3.1 Liste des techniques de référence

a. Techniques d'identification du genre, des espèces et des sous-espèces

#### *Bactériologie classique*

- Possibilité de culture sur différents milieux (Drigalski, TSA, BCP, XLD, Hektoen, Kligler Hajna, Mannitol-Mobilité...)

- Tests biochimiques réalisés en macro-galerie :

Fermentation du Lactose, du Mannitol, du Dulcitol, du Rhamnose, du Xylose et du Glycérol. Production d'o-nitrophenyl-beta-D-galactopyranoside (ONPG), de Gaz/Glucose, de Gaz/Mannitol, de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S), et de la tétrathionate réductase (TTR). Activité Lysine décarboxylase (LDC), Ornithine décarboxylase (ODC), tryptophanase (indole) et bêta-glucuronidase. Possibilité de réalisation de micro-galerie (API 20E, BioMérieux).

#### Autres méthodes de différenciation d'espèces utilisées en routine

- La recherche par **PCR du gène *uidA*, codant pour la bêta-glucuronidase**, la présence de ce gène permet de valider l'identification *E. coli* –*Shigella*.

- **La détection par PCR des gènes codant pour l'invasivité (*ial* et *ipaH*)** pour différencier une souche déficiente de *E. coli* d'une *Shigella*. Ces gènes sont aussi présents chez les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC), mais ces derniers sont plus rares.

#### Autres méthodes de différenciation d'espèces utilisables si besoin

- **Le séquençage du gène *rpoB*** (codant pour la sous unité bêta de l'ARN polymérase) permet de vérifier l'appartenance des souches aux genres *E. coli*-*Shigella* ou de les classer avec les autres entérobactéries correspondantes grâce à la comparaison aux bases de données de l'Unité BPE.



## *b. Techniques d'identification de Shigella*

### Le sérotypage classique

#### **\* *Shigella***

Le **sérotypage complet** par agglutination permet d'identifier 20 sérotypes de *S. boydii*, 17 sérotypes de *S. dysenteriae* et 6 sérotypes de *S. flexneri*. Les souches de *S. sonnei* sont divisées en 5 biotypes en fonction des caractères biochimiques. Les sérums utilisés sont commercialisés par Eurobio ou Sifin, quelques sérums spécifiques sont fabriqués dans l'Unité BPE.

### Le sérotypage moléculaire

Celui-ci est utile quand les souches ne sont pas sérotypables (nouveaux sérotypes en l'absence d'antisérums spécifiques ou quand les souches sont autoagglutinables [rough]).

- **Le sérotypage moléculaire O des *E. coli* et *Shigella* par *rfb*-RFLP**, mis au point dans l'Unité BPE (Pr P.A.D. Grimont) consiste en une analyse des profils de restriction obtenus par amplification de la région génétique *rfb* (antigène O, environ 20kb) puis restriction enzymatique avec *Mbo*I. Les profils de restriction ainsi obtenus sont comparés à une base de données dans le logiciel BioNumerics contenant 250 profils déterminés pour 148 sérogroupes O de *E. coli* et 35 sérotypes de *Shigella*. Les antigènes O déterminés de façon moléculaire sont notés R (et non « O »).

- **Le sérotypage moléculaire de l'antigène H par séquençage du gène *fliC***. Il permet de déterminer le « H » moléculaire (nommé « F ») par comparaison à la base de données de l'Unité BPE qui comprend les séquences de 92 sérotypes de *E. coli* et près de 40 sérotypes de *Shigella*.

## *c. Détection des gènes de pathogénicité par PCR des Shigella*

- Les gènes *ial* et *ipaH*
- Le gène *stx* chez *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga-toxine 1).

## *d. Techniques de sous-typage des Shigella*

L'électrophorèse en champ pulsé (PFGE) à l'aide de différentes endonucléases (méthode standardisée PulseNet). Méthode de référence à l'heure actuelle pour le sous-typage.

## *e. Techniques d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des Shigella*

- L'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé de 16 à 32 antibiotiques testés (suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) et détermination de la CMI à tous les antibiotiques par la méthode en micro-dilution (Sensititre)
- L'étude des mécanismes de résistance aux antibiotiques (caractérisation des gènes de résistance, de leur environnement génétique et de leur support).

### g. séquençage complet du génome des *Shigella*

Cette technique est proposée par une plateforme (P2M) permettant l'extraction d'ADN à grand volume (MagNAPure 96, Roche) et le séquençage par la technologie Illumina (NextSeq500). Les analyses bio-informatiques sont issues du CNR-ESS et permettent de connaître le séquençotype MLST et le contenu en gènes de résistance aux antibiotiques.

### 2.3.2 Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles

Dans le cas de *Shigella*, le sérotypage est lui aussi essentiel pour vérifier que c'est bien le même sérotype et le PFGE peut aussi être utilisé pour vérifier la clonalité des souches mais la diversité est moins grande que celle observée chez *E. coli*. Il peut être très intéressant dans certains cas de se baser aussi sur le profil de sensibilité aux antibiotiques.

Désormais l'analyse du génome des *Shigella* prédomine l'expertise et les investigations microbiologiques à mener.

### 2.3.3 Collection de souches

Au CNR-ESS, toutes les souches de *Shigella* ont été conservées au laboratoire, sur milieu gélosé sans glucose, depuis plus de 30 ans, ce qui représente plusieurs dizaines de milliers de souches conservées avec leurs informations microbiologiques et cliniques (si disponible). Ceci permet des études rétrospectives sur l'évolution des types ou des résistances aux antibiotiques. Les souches importantes sont en plus conservées à  $-80^{\circ}\text{C}$ , parmi ces souches, on trouve :

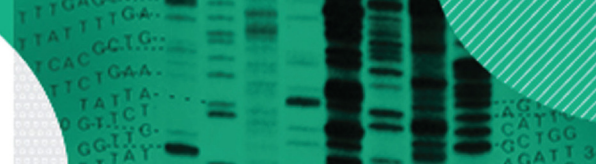
- les souches de référence pour les gènes de pathogénicité de *Shigella*.
- les souches de référence des différents sérotypes O et H pour le typage moléculaire.
- toutes les souches du CNR possédant des gènes de pathogénicité, particulièrement les Shiga-toxines.
- les souches de *S. dysenteriae* de type 1.
- les souches de *Shigella* présentant une résistance particulière aux antibiotiques.

Pour les autres souches, elles sont ensemencées en gélose de conservation et une pièce climatisée est réservée aux collections de souches des CNR.

### 2.3.4 Techniques recommandées par le CNR-ESS

Concernant les *Shigella*, la caractérisation biochimique suivie de la séroagglutination reste la seule méthode diagnostique utilisable en laboratoire en routine. Le CNR-ESS peut séquencer les souches afin d'extraire les données utiles à une expertise.

## **2.4 Sélection de dix publications représentatives de l'année 2016**



## Research Paper

**Genomic analysis of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi A during an outbreak in Cambodia, 2013–2015**

Laura Maria Francisca Kuijpers,<sup>1,2†</sup> Simon Le Hello,<sup>3†</sup> Nizar Fawal,<sup>3</sup> Laetitia Fabre,<sup>3</sup> Mathieu Tourdjman,<sup>4</sup> Muriel Dufour,<sup>5</sup> Dara Sar,<sup>6</sup> Chun Kham,<sup>6</sup> Thong Phe,<sup>6</sup> Erika Vlieghe,<sup>1,7</sup> Christiane Bouchier,<sup>8</sup> Jan Jacobs<sup>1,2</sup> and François-Xavier Weill<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Sciences, Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgium

<sup>2</sup>Department of Microbiology and Immunology, KU Leuven, Leuven, Belgium

<sup>3</sup>Institut Pasteur, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Centre National de Référence des Escherichia coli, Shigella et Salmonella, Paris, France

<sup>4</sup>Santé Publique France, Direction des Maladies Infectieuses, Saint-Maurice, France

<sup>5</sup>Institute of Environmental Science and Research Limited, NCBID, Wallaceville, New Zealand

<sup>6</sup>Sihanouk Hospital Centre of HOPE, Phnom Penh, Cambodia

<sup>7</sup>Department of Tropical Diseases, University Hospital Antwerp, Antwerp, Belgium

<sup>8</sup>Institut Pasteur, Plate-forme Génomique (PF1), Paris, France

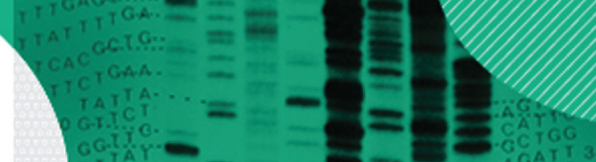
Correspondence: François-Xavier Weill (francois-xavier.weill@pasteur.fr)

DOI: 10.1099/mgen.0.000092

In 2013, an unusual increase in the number of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi A (*Salmonella* Paratyphi A) infections was reported in patients in Phnom Penh, Cambodia, and in European, American and Japanese travellers returning from Cambodia. Epidemiological investigations did not identify a common source of exposure. To analyse the population structure and genetic diversity of these *Salmonella* Paratyphi A isolates, we used whole-genome sequencing on 65 isolates collected from 1999 to 2014: 55 from infections acquired in Cambodia and 10 from infections acquired in other countries in Asia, Africa and Europe. Short-read sequences from 80 published genomes from around the world and from 13 published genomes associated with an outbreak in China were also included. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) was performed on a subset of isolates. Genomic analyses were found to provide much more accurate information for tracking the individual strains than PFGE. All but 2 of the 36 isolates acquired in Cambodia during 2013–2014 belonged to the same clade, C5, of lineage C. This clade has been isolated in Cambodia since at least 1999. The Chinese outbreak isolates belonged to a different clade (C4) and were resistant to nalidixic acid, whereas the Cambodian outbreak isolates displayed pan-susceptibility to antibiotics. Since 2014, the total number of cases has decreased, but there has been an increase in the frequency with which nalidixic acid-resistant C5 isolates are isolated. The frequency of these isolates should be monitored over time, because they display decreased susceptibility to ciprofloxacin, the first-choice antibiotic for treating paratyphoid fever.

Received 7 July 2016; Accepted 05 October 2016

†These authors contributed equally to this work.



## Research Paper

**Genome-scale rates of evolutionary change in bacteria**

Sebastian Duchêne,<sup>1,2,3</sup> Kathryn E. Holt,<sup>2,3</sup> François-Xavier Weill,<sup>4</sup> Simon Le Hello,<sup>4</sup> Jane Hawkey,<sup>2,3</sup> David J. Edwards,<sup>2,3</sup> Mathieu Fourment<sup>1</sup> and Edward C. Holmes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Marie Bashir Institute of Infectious Diseases and Biosecurity, Charles Perkins Centre, School of Life and Environmental Sciences and Sydney Medical School, The University of Sydney, Sydney, NSW 2006, Australia

<sup>2</sup>Centre for Systems Genomics, The University of Melbourne, Melbourne, VIC 3010, Australia

<sup>3</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, Bio21 Molecular Science and Biotechnology Institute, The University of Melbourne, Melbourne, VIC 3010, Australia

<sup>4</sup>Institut Pasteur, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Paris 75015, France

Correspondence: Edward C. Holmes (edward.holmes@sydney.edu.au)

DOI: 10.1099/mgen.0.000094

Estimating the rates at which bacterial genomes evolve is critical to understanding major evolutionary and ecological processes such as disease emergence, long-term host–pathogen associations and short-term transmission patterns. The surge in bacterial genomic data sets provides a new opportunity to estimate these rates and reveal the factors that shape bacterial evolutionary dynamics. For many organisms estimates of evolutionary rate display an inverse association with the time-scale over which the data are sampled. However, this relationship remains unexplored in bacteria due to the difficulty in estimating genome-wide evolutionary rates, which are impacted by the extent of temporal structure in the data and the prevalence of recombination. We collected 36 whole genome sequence data sets from 16 species of bacterial pathogens to systematically estimate and compare their evolutionary rates and assess the extent of temporal structure in the absence of recombination. The majority (28/36) of data sets possessed sufficient clock-like structure to robustly estimate evolutionary rates. However, in some species reliable estimates were not possible even with ‘ancient DNA’ data sampled over many centuries, suggesting that they evolve very slowly or that they display extensive rate variation among lineages. The robustly estimated evolutionary rates spanned several orders of magnitude, from approximately  $10^{-5}$  to  $10^{-8}$  nucleotide substitutions per site year<sup>-1</sup>. This variation was negatively associated with sampling time, with this relationship best described by an exponential decay curve. To avoid potential estimation biases, such time-dependency should be considered when inferring evolutionary time-scales in bacteria.

**Keywords:** evolution; bacteria; phylogeny; substitution rates; time-dependency; molecular clock.

**Abbreviations:** HPD, 95% highest posterior density; ML, maximum-likelihood.

**Data statement:** All supporting data, code and protocols have been provided within the article or through supplementary data files.

**Data Summary**

This study consists of nucleotide sequence alignments, all of which are available online (<http://zenodo.org/record/45951#.Vr1M-JN95E4>).

**Introduction**

Estimating the rate of molecular evolution is critical for understanding a variety of evolutionary and epidemiological processes. Rates of molecular evolution are the product of the number of mutations that arise per replication event, the frequency of replication events per unit time and the probability of mutational fixation. These rates are determined by a variety of factors including background mutation rate, the direction and strength of natural selection, generation time and

Received 16 September 2016; Accepted 24 October 2016

# Around the World in 1,475 *Salmonella* Geo-serotypes

Céline M. Gossner,<sup>1</sup> Simon Le Hello,<sup>1</sup> Birgitta de Jong, Per Rolfhamre, Daniel Faensen, François-Xavier Weill, Johan Giesecke

It's easy to remember *Salmonella* serotypes names, isn't it? Surely, this is because the naming system of *Salmonella* serotypes is by far the most scientist friendly. Traditionally, most *Salmonella* serotypes have been named after geographic locations. We decided to explore the geographic locations to which *Salmonella* serotypes refer and describe some unexpected twists in the naming scheme. We found that 93% (n = 1,475) of the 1,585 serotypes could be categorized as geo-serotypes; that is, the name refers to a geographic location. The 3 countries with the most geo-serotypes are Germany, the United Kingdom, and the United States. Other serotype names refer to the name of a person, animal, tribe, or food item or are a composite of symptoms and host. The *Salmonella* serotypes naming scheme has had a valuable effect on public health microbiology, and in the current era of fast development of whole-genome sequencing, it should remain a reference.

What do the cities of Paris, Pisa, and Toronto have in common? Yes, all 3 are famous for their towers but what else? You don't know? Let's see if this will help you: what do the states of Colorado, Florida, and Ohio in the United States have in common with the 3 cities above? No idea? If we tell you *Salmonella* serotypes.... If you still don't know, by the end of this essay you will, without a doubt, be able to answer these questions.

*Salmonella* was first isolated from a human sample in 1884 by bacteriologist Georg Gaffky and later identified as *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotype Typhi. The following year, the veterinary surgeon Daniel Elmer Salmon (whose name was later given to the *Salmonella* genus) and microbiologist Theobald Smith isolated *S. enterica* ser. Choleraesuis from a swine sample, while searching for the agent causing cholera in hogs (1). Since then, a plethora of *Salmonella* names was given to strains with

new serotypes; that is, new combinations of flagellar (H) and/or somatic (O) antigens. In 1934, a first list of 44 validated *Salmonella* serotypes, called the Kauffmann-White scheme, was published (2).

The naming scheme of serotypes (also called serovars) evolved over time. At the beginning of the 20th century, serotype names referred to clinical syndromes either in humans (e.g., *enteritidis*, *typhi*, *paratyphi*) or in animals (e.g., *abortus-ovis*, *abortus-equi*, *typhi-murium*, *cholerae-suis*). The host specificity was correct for some serotypes (e.g., *abortus-ovis*, *abortus-equi*) but proved to be wrong for many others (e.g., *typhi-murium*, *cholerae-suis*) (2).

By the mid-1930s, Fritz Kauffmann was heading the World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella* at the Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark. While there, he began to name new serotypes according to the geographic origin of the isolated strain. After Kauffmann's retirement in 1965, Léon Le Minor became director of the World Health Organization Collaborating Centre at the Institut Pasteur, Paris, France (3), and he perpetuated the serotype naming scheme established by Kauffmann.

Kauffmann considered each serotype as a species and, consequently, in the old literature, the serotype names were italicized (e.g., *typhi*). DNA-DNA hybridization, which arrived in the 1980s, showed otherwise: only 2 species (*S. enterica* and *S. bongori*) were found to be in the genus *Salmonella*. This discovery led to a long-standing debate until, in 2005, the Judicial Commission of the International Committee for Systematics of Prokaryotes made the decision to recognize the new nomenclature (4). Consequently, the serotype names must no longer be italicized and the first letter must be capitalized (e.g., Typhi). Names are only given to subspecies *enterica* serotypes, which represent 99.5% of all *Salmonella* strains. The remaining *Salmonella* strains are named after their antigenic formula (2).

Currently, >2,500 *Salmonella* serotypes have been described and listed in the "bible" of *Salmonella* serovars: the White-Kauffmann-Le Minor (WKL) scheme (2). Last revised in January 2007, WKL has since been completed, with 1 supplement published in 2010 (5) and another in 2014 (6). Listed in the WKL scheme are 1,585 serotypes of *S. enterica* subsp. *enterica*.

Author affiliation: Maastricht University Medical Centre, Maastricht, the Netherlands (C.M. Gossner); European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm, Sweden (C.M. Gossner, B. de Jong, P. Rolfhamre, D. Faensen, J. Giesecke); Institut Pasteur–World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Paris, France (S. Le Hello, F.-X. Weill)

DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2107.141678>

<sup>1</sup>These authors contributed equally to this article.

# Global phylogeography and evolutionary history of *Shigella dysenteriae* type 1

François-Xavier Weill *et al.*\*

**Together with plague, smallpox and typhus, epidemics of dysentery have been a major scourge of human populations for centuries<sup>1</sup>. A previous genomic study concluded that *Shigella dysenteriae* type 1 (Sd1), the epidemic dysentery bacillus, emerged and spread worldwide after the First World War, with no clear pattern of transmission<sup>2</sup>. This is not consistent with the massive cyclic dysentery epidemics reported in Europe during the eighteenth and nineteenth centuries<sup>1,3,4</sup> and the first isolation of Sd1 in Japan in 1897<sup>5</sup>. Here, we report a whole-genome analysis of 331 Sd1 isolates from around the world, collected between 1915 and 2011, providing us with unprecedented insight into the historical spread of this pathogen. We show here that Sd1 has existed since at least the eighteenth century and that it swept the globe at the end of the nineteenth century, diversifying into distinct lineages associated with the First World War, Second World War and various conflicts or natural disasters across Africa, Asia and Central America. We also provide a unique historical perspective on the evolution of antibiotic resistance over a 100-year period, beginning decades before the antibiotic era, and identify a prevalent multiple antibiotic-resistant lineage in South Asia that was transmitted in several waves to Africa, where it caused severe outbreaks of disease.**

January 2016 marks one hundred years since the invasion force from Britain, Australia, New Zealand and France withdrew from the Dardanelles, in the then Ottoman Empire, only eight months after landing. Most of the more than 120,000 casualties evacuated from the Gallipoli Peninsula were suffering from epidemic bacillary dysentery<sup>6</sup>, caused by *Shigella dysenteriae* type 1<sup>7,8</sup> (Sd1), a bacterium producing the powerful Shiga toxin. This human-adapted clone of *Escherichia coli*<sup>9</sup> was isolated for the first time by Kiyoshi Shiga during a dysentery outbreak in Japan, during which 90,000 cases and 20,000 deaths occurred in the last six months of 1897 alone<sup>5</sup>. In the second half of the twentieth century, large outbreaks of disease due to Sd1 were still being reported in Central America, with estimates of more than 500,000 cases and 20,000 deaths for the 1969–1973 epidemic<sup>10,11</sup>, in Africa, where there were an estimated 100,000 cases and 5,000–10,000 deaths in the 1979 epidemic<sup>12</sup>, and in Asia<sup>13,14</sup>.

Very little is known about the origins, evolution and spread of this important human pathogen, including, in particular, the strains involved in the major outbreaks and the genetic relationships between them. We carried out a whole-genome sequence analysis on a set of Sd1 isolates selected from more than 35 international strain collections, representing the widest possible temporal and geographic distribution of available isolates, to obtain a phylogenetic framework that was robust over time and space and to infer transmission dynamics. This unique collection included 325 isolates from 66 countries spanning four continents, collected between 1915 and 2011. Sixty-seven historical isolates collected between

1915 and 1960, including 14 isolates obtained during the First World War<sup>15,16</sup>, were included in the collection, together with several isolates from each major outbreak reported since the 1960s. Short-read sequences from six Sd1 published genomes<sup>2</sup> were also included, with *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. sonnei* and *E. coli* genomes used as outgroups.

Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) were detected by mapping short-read sequences against Sd1 reference genomes: Sd197 (ref. 17), which was isolated during an outbreak in China in the 1950s, and Sd1617 (ref. 18), which was isolated in Guatemala during the 1968–1969 epidemic. Maximum likelihood (ML) phylogenetic analysis was performed on 14,677 (mapping against Sd197) and 15,752 (mapping against Sd1617) chromosomal SNPs, which were randomly distributed over the non-repetitive non-recombinant core genome (85.6% of the Sd197 chromosome, Supplementary Discussion Section ‘SNP variation in *S. dysenteriae* type 1’ and Supplementary Fig. 12). Four genetic lineages (Fig. 1a and Supplementary Discussion Section ‘SNP variation in *S. dysenteriae* type 1’ and Supplementary Figs 9–11) were identified. Lineage I contained only M115, which was isolated from a case in England in 1926. Lineage II contained mostly isolates collected in Europe between 1915 and 1958. Lineage III contained isolates from around the world and could be split into four sublineages with strong geographical affinities: IIIa in eastern and southeastern Asia (with isolates collected between 1927 and 1971), IIIb in Central America (1955–1992), IIIc in West Africa (1954–2006) and IIId in southern Asia and eastern Africa (1956–1977) and then in West Africa (1979–1998). Finally, lineage IV contained most of the Sd1 isolates obtained from the Indian subcontinent and Africa in the last few decades.

Ten of the 14 isolates (71%) amassed by Captain E.G.D. Murray during the First World War belonged to the European lineage, lineage II, and most were isolated at the second Western General Hospital, Manchester, which received many of the soldiers evacuated during the Gallipoli campaign (Supplementary Fig. 1). The other four isolates belonged to three of the four sublineages of the global lineage, lineage III. None of the First World War isolates belonged to sublineage IIId, which gave rise to the modern lineage, lineage IV.

The two candidate vaccine strains developed so far are derived from lineage III parental isolates: IIIb for parental strain Sd1617 of vaccine strain WRSd1 (ref. 19) and IIId for parental strain 7–87 of vaccine strain SC-599 (ref. 20).

ML phylogenetic analysis revealed a strong correlation between root-to-tip branch lengths and the known years of isolation for the sequenced Sd1 isolates, indicating a clock-like evolution (Supplementary Fig. 2). We therefore used a Bayesian phylogenetic approach to provide estimates of the nucleotide substitution rates and divergence times of the different lineages for a spatially and temporally representative subset of 125 isolates (Fig. 2). We estimated the genome-wide substitution rate at  $8.7 \times 10^{-7}$  substitutions site<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>

\*A full list of authors and their affiliations appears at the end of the paper.

# Outbreak of *Salmonella* Enteritidis linked to the consumption of frozen beefburgers received from a food bank and originating from Poland: northern France, December 2014 to April 2015

G Jones<sup>1</sup>, N Pihier<sup>2</sup>, C Vanbockstael<sup>1</sup>, S Le Hello<sup>3</sup>, S Cadel Six<sup>4</sup>, N Fournet<sup>5</sup>, N Jourdan-da Silva<sup>5</sup>

1. Santé publique France (the French public health agency), Picardy regional office, Amiens, France
2. French General Directorate for Food, Paris, France
3. Institut Pasteur, French National Reference Centre for Escherichia coli, Shigella and Salmonella, Paris, France
4. Université PARIS-EST, French Agency for Food, Environmental and Occupational Health and Safety, Laboratory for Food Safety, Maisons Alfort, France
5. Santé publique France (the French public health agency), Saint-Maurice, France

Correspondence: Gabrielle Jones (gabrielle.jones@ars.sante.fr)

## Citation style for this article:

Jones G, Pihier N, Vanbockstael C, Le Hello S, Cadel Six S, Fournet N, Jourdan-da Silva N. Outbreak of *Salmonella* Enteritidis linked to the consumption of frozen beefburgers received from a food bank and originating from Poland: northern France, December 2014 to April 2015. *Euro Surveill.* 2016;21(40):pii=30363. DOI: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.40.30363>

Article submitted on 11 September 2015 / accepted on 28 February 2016 / published on 06 October 2016

A prolonged outbreak of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis occurred in northern France between December 2014 and April 2015. Epidemiological investigations following the initial notification on 30 December 2014 of five cases of salmonellosis (two confirmed *S. Enteritidis*) in young children residing in the Somme department revealed that all cases frequented the same food bank A. Further epidemiological, microbiological and food trace-back investigations indicated frozen beefburgers as the source of the outbreak and the suspected lot originating from Poland was recalled on 22 January 2015. On 2 March 2015 a second notification of *S. Enteritidis* cases in the Somme reinitiated investigations that confirmed a link with food bank A and with consumption of frozen beefburgers from the same Polish producer. In the face of a possible persistent source of contamination, all frozen beefburgers distributed by food bank A and from the same origin were blocked on 3 March 2015. Microbiological analyses confirmed contamination by *S. Enteritidis* of frozen beefburgers from a second lot remaining in cases' homes. A second recall was initiated on 6 March 2015 and all frozen beefburgers from the Polish producer remain blocked after analyses identified additional contaminated lots over several months of production.

## Introduction

While targeted control measures implemented in food production in France in the 1990s, notably in poultry, cattle and milk production, were shown to reduce the number of human *Salmonella* cases, *Salmonella* remains an important source of food-borne outbreaks in France

[1]. In France, notification of food-borne disease outbreaks (FBDO) to the regional health agency (ARS) is mandatory for health professionals, clinical microbiologists and institutional catering services. Notifications can be made by telephone, email or fax using a standardised notification form. The ARS is responsible for case investigations while the Departmental Direction for the Protection of Populations (DDPP) is responsible for food safety investigations. The ARS then transmits the results of the outbreak investigations to Santé publique France (SpFrance), the French public health agency, which is responsible for epidemiological surveillance of FBDOs. In 2012, the notification rate for confirmed *Salmonella* cases in France was 13.3 per 100 000 population [2].

In addition to mandatory notification of FBDOs, private and hospital laboratories send *Salmonella* isolates on a voluntary basis to the dedicated French National Reference Centre (NRC) for serotyping and microbiological surveillance. In 2014, of 9,077 isolates received and analysed at the NRC, *Salmonella enterica* serotype Enteritidis (*S. Enteritidis*) was the third most frequently isolated serotype behind *S. Typhimurium* and monophasic variant 1,4,[5],12:i:- [3]. The same year, 1,380 food-borne outbreaks were notified to SpFrance, with *Salmonella* spp. representing the most common source in outbreaks with confirmed aetiology (110 of 254 FBDO (43%)) [4]. A recent study of the community incidence of salmonellosis in France from 2008 to 2013 estimated an annual community incidence rate of 307 cases per 100 000 population and 4,305 hospitalisations annually [5].



# Travel- and Community-Based Transmission of Multidrug-Resistant *Shigella sonnei* Lineage among International Orthodox Jewish Communities

Kate S. Baker, Timothy J. Dallman, Adi Behar, François-Xavier Weill, Malika Gouali, Jeremy Sobel, Maria Fookes, Lea Valinsky, Ohad Gal-Mor, Thomas R. Connor, Israel Nissan, Sophie Bertrand, Julian Parkhill, Claire Jenkins, Dani Cohen, Nicholas R. Thomson

Shigellae are sensitive indicator species for studying trends in the international transmission of antimicrobial-resistant *Enterobacteriaceae*. Orthodox Jewish communities (OJCs) are a known risk group for shigellosis; *Shigella sonnei* is cyclically epidemic in OJCs in Israel, and sporadic outbreaks occur in OJCs elsewhere. We generated whole-genome sequences for 437 isolates of *S. sonnei* from OJCs and non-OJCs collected over 22 years in Europe (the United Kingdom, France, and Belgium), the United States, Canada, and Israel and analyzed these within a known global genomic context. Through phylogenetic and genomic analysis, we showed that strains from outbreaks in OJCs outside of Israel are distinct from strains in the general population and relate to a single multidrug-resistant sublineage of *S. sonnei* that prevails in Israel. Further Bayesian phylogenetic analysis showed that this strain emerged approximately 30 years ago, demonstrating the speed at which antimicrobial drug-resistant pathogens can spread widely through geographically dispersed, but internationally connected, communities.

Antimicrobial-resistant (AMR) *Enterobacteriaceae* are recognized as a global public health threat (1,2). Understanding the emergence of these pathogens and

Author affiliations: University of Liverpool, Liverpool, UK (K.S. Baker); Wellcome Trust Sanger Institute, Hinxton, UK (K.S. Baker, M. Fookes, J. Parkhill, N.R. Thomson); Public Health England, London, UK (T.J. Dallman, C. Jenkins); Kimron Veterinary Institute, Bet Dagan, Israel (A. Behar); Institut Pasteur, Paris, France (F.X. Weill, M. Gouali); Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA (J. Sobel); Ministry of Health, Tel Aviv, Israel (L. Valinsky, I. Nissan); Tel Aviv University, Tel Aviv (O. Gal-Mor, D. Cohen); Cardiff University, Cardiff, UK (T.R. Connor); Scientific Institute of Public Health, Brussels, Belgium (S. Bertrand); The London School of Hygiene and Tropical Medicine, London (N.R. Thomson)

DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2209.151953>

tracking transmission across international borders is vital for informing public health surveillance, intervention, and management (3). *Shigella* spp. are *Enterobacteriaceae* that cause severe, acute diarrhea resulting in mortality rates second only to rotaviruses as known agents of diarrheal disease (4). Shigellae cause disease in both low- and high-income nations (5), and  $\geq 10$  organisms can initiate disease (6). Shigellae are also increasingly resistant to antimicrobial drugs (7–10). Because of the large global burden of shigellosis, the low infective dose, highly visible disease syndrome, and ability to acquire AMR, shigellae are a relevant and sensitive indicator species for studying trends in the global transmission and emergence of AMR enteric bacteria.

Of the recognized *Shigella* spp., the distribution of *S. sonnei* makes it particularly relevant for studying international transmission because it is the most commonly isolated species in middle- to high-income nations (5) and causes a substantial disease incidence in low-income nations; for example, 23.7% of all documented shigellosis cases causing moderate to severe diarrhea in children <5 years of age in Africa and Asia (11). Moreover, *S. sonnei* prevalence increases as nations develop economically (12–15). To examine the underlying processes of such broad epidemiologic phenomena over medium- to long-term scales in bacterial populations, robust, high-resolution molecular subtyping is used. Subtyping of *S. sonnei* by using whole-genome sequencing has defined a global population structure that is divided into 4 lineages; the third lineage, global III, disseminated globally after acquiring multidrug resistance (MDR) (16). This advanced subtyping and established global context was used to show that the rise of *S. sonnei* in Vietnam was attributable to the point introduction and subsequent expansion of a single sublineage in the 1980s (17), demonstrating the effectiveness of this approach for characterizing epidemiologic phenomena.

# Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Hybrid Pathotype O80:H2 as a New Therapeutic Challenge

Nurcan Soysal, Patricia Mariani-Kurkdjian, Yasmine Smail, Sandrine Liguori, Malika Gouali, Estelle Loukiadis, Patrick Fach, Mathias Bruyand, Jorge Blanco, Philippe Bidet, Stéphane Bonacorsi

We describe the epidemiology, clinical features, and molecular characterization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infections caused by the singular hybrid pathotype O80:H2, and we examine the influence of antibiotics on Shiga toxin production. In France, during 2005–2014, a total of 54 patients were infected with EHEC O80:H2; 91% had hemolytic uremic syndrome. Two patients had invasive infections, and 2 died. All strains carried *stx2* (variants *stx2a*, *2c*, or *2d*); the rare intimin gene (*eae-ξ*); and at least 4 genes characteristic of pS88, a plasmid associated with extraintestinal virulence. Similar strains were found in Spain. All isolates belonged to the same clonal group. At subinhibitory concentrations, azithromycin decreased Shiga toxin production significantly, ciprofloxacin increased it substantially, and ceftriaxone had no major effect. Antibiotic combinations that included azithromycin also were tested. EHEC O80:H2, which can induce hemolytic uremic syndrome complicated by bacteremia, is emerging in France. However, azithromycin might effectively combat these infections.

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) are a subset of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) that cause diarrhea and hemorrhagic colitis; illness can progress to hemolytic uremic syndrome (HUS) in 5%–10% of cases (1,2). HUS is the most frequent etiology of pediatric acute renal failure, and its lethality is 3%–5% worldwide (1,3) and 1% in France (4). Long-term renal injuries occur in 20%–30% of HUS patients (1,3,5).

Author affiliations: Centre Hospitalo-Universitaire Robert-Debré (AP-HP), Paris, France (N. Soysal, P. Mariani-Kurkdjian, Y. Smail, S. Liguori, P. Bidet, S. Bonacorsi); Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Paris (N. Soysal, P. Mariani-Kurkdjian, P. Bidet, S. Bonacorsi); Université Paris Diderot, Paris (N. Soysal, P. Mariani-Kurkdjian, P. Bidet, S. Bonacorsi); Institut Pasteur, Paris (M. Gouali); Laboratoire National de Référence pour les *Escherichia coli*, Marcy l'Etoile, France (E. Loukiadis); ANSES, Maisons-Alfort, France (P. Fach); Institut de Veille Sanitaire, Saint Maurice, France (M. Bruyand); Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, Spain (J. Blanco)

DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2209.160304>

EHEC serotype O157:H7 accounts for ≈60% of HUS cases worldwide (6,7). Other well-known serogroups associated with HUS include O26, O111, O145, O55, O103, O121, and O91. EHEC O80:H2 strains are rarely reported in the literature but have been detected in France. In 2013, an EHEC O80:H2 strain was responsible for a severe case of HUS with relapse associated with bacteremia (8). We identified several genetic traits in this isolate, such as a rare variant of the intimin gene (*eae-ξ*) and genetic determinants related to the pS88 plasmid associated with extraintestinal-virulence pathogenic *E. coli* (ExPEC) (9). This plasmid, mainly found in avian pathogenic *E. coli* and *E. coli* strains that cause neonatal meningitis, may partly explain the bacteremia observed, which has been reported in patients with HUS.

The occurrence of bacteremia during EHEC infections warrants antibiotic treatment for those infections. However, antibiotics usually are not recommended for EHEC infection because of the risk for worsening HUS, notably by induction of synthesis or secretion of Shiga toxin (Stx) (1,10–12). Therefore, bacteremia during EHEC infection represents a new therapeutic challenge. However, a 2011 outbreak in Germany linked to EHEC O104:H4 (13) underscored the potential benefit of certain antibiotics when HUS occurs (14,15). Thus, the use of antibiotics during EHEC infections remains a source of debate (2,16).

Our study aimed to determine the incidence rate of HUS cases associated with the singular EHEC O80:H2, describe their clinical features, and examine the molecular characteristics of the strains. In addition, we assessed the effects of different antibiotics on Stx production in representative strains.

## Materials and Methods

### Clinical Data

For this study, we considered all *E. coli* O80:H2 isolates received during January 2005–October 2014 by the Centre National de Référence Associé *Escherichia coli* (Paris, France). We then collected demographic and clinical data from patients' medical records (e.g., age, sex, location); presence of diarrhea (with or without blood); possible

## ESBL-producing *Escherichia coli* ST131 versus non-ST131: evolution and risk factors of carriage among French children in the community between 2010 and 2015

André Birgy<sup>1–3</sup>, Corinne Levy<sup>4–6</sup>, Philippe Bidet<sup>1–3</sup>, Franck Thollot<sup>4,7</sup>, Véronique Derkx<sup>4</sup>, Stéphane Béchet<sup>4</sup>, Patricia Mariani-Kurkdjian<sup>3</sup>, Robert Cohen<sup>4–6,8</sup> and Stéphane Bonacorsi<sup>1–3\*</sup>

<sup>1</sup>IAME, UMR 1137, INSERM, F-75018 Paris, France; <sup>2</sup>IAME, UMR 1137, Univ Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, F-75018 Paris, France; <sup>3</sup>AP-HP, Laboratoire de Microbiologie, Centre National de Référence associé *Escherichia coli*, Hôpital Robert-Debré, F-75019 Paris, France; <sup>4</sup>Association Clinique Thérapeutique Infantile du Val de Marne (ACTIV), Saint Maur des Fossés, France; <sup>5</sup>Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique (GPIP), Paris, France; <sup>6</sup>Centre de Recherche Clinique du Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France; <sup>7</sup>Association Française de Pédiatrie Ambulatoire (AFPA), Paris, France; <sup>8</sup>Unité Court Séjour, Petits Nourrisson, Service de Néonatalogie, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France

\*Corresponding author. E-mail: stephane.bonacorsi@aphp.fr

Received 18 January 2016; returned 20 March 2016; revised 27 April 2016; accepted 11 May 2016

**Objectives:** The objective of this study was to evaluate the evolution and risk factors of ESBL-producing Enterobacteriaceae (ESBL-E) carriage in children in the community for a long period distinguishing ST131 and non-ST131 *Escherichia coli*.

**Patients and methods:** In this prospective study, rectal samples were obtained from children aged 6–24 months by community paediatricians between 2010 and 2015. Demographic characteristics and risk factors for ESBL-E carriage were collected. Distribution of  $\beta$ -lactamase genes, phylogenetic groups, ST131 and virulence factors of resistant *E. coli* was determined.

**Results:** We enrolled 1886 children; 144 (7.6%) harboured ESBL-E, and this rate increased from 4.8% to 10.2% between 2010 and 2015. Risk factors for ESBL-E carriage were being cared for at home [adjusted OR (aOR)=1.8, 95% CI=1.1–2.9], recent antibiotic use (aOR=1.5, 95% CI=1.0–2.1) and travel history (aOR=1.7, 95% CI=1.1–2.6). Among patients carrying ESBL, *E. coli* (98%) and CTX-M type (90%) predominated and PapGII adhesin, characteristic of pyelonephritogenic *E. coli* strains, was rare (7%). In 2015, *E. coli* isolates frequently belonged to the phylogenetic group B2 (48%), and 37% were ST131 compared with 5% in 2010. Compared with non-ESBL-producing strains, ST131 carriage was associated with hospitalization in the last 6 months (aOR=3.5, 95% CI=1.4–8.8).

**Conclusions:** Between 2010 and 2015, the carriage of ESBL-E in community children doubled because of the massive expansion of the *E. coli* ST131 clonal group. The risk for carrying ST131 was associated with previous hospitalization, but not, contrary to the counterpart, antibiotic treatment, daycare attendance or travel history.

### Introduction

In the past decade, the emergence of ESBL-producing Enterobacteriaceae (ESBL-E), both in nosocomial and community settings, has been one of the most concerning epidemiologic changes in infectious diseases. Carriage of ESBL-producing isolates in the gut flora may serve as a reservoir of resistance genes and has been associated with a high risk for infection caused by ESBL producers.<sup>1</sup> Among Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* is becoming the most important species implicated in both community-onset and hospital-associated infections on a global scale.<sup>2,3</sup>

ESBL genes are spreading rapidly due to the combined expansion of mobile genetic elements and clonal dissemination. They

are frequently accompanied by genes encoding resistance to various antibiotic groups, such as aminoglycosides, fluoroquinolones or sulphonamides, which leaves few treatment options. The best example of antibiotic resistance spread is *E. coli* ST131, an MDR clonal group disseminated worldwide. This clonal group has contributed to the dissemination of highly efficient resistance to third-generation cephalosporins because of the *bla*<sub>CTX-M-15</sub> gene and is associated with fluoroquinolone resistance, which explains in part the rapid increase in prevalence of antimicrobial resistance in *E. coli*.<sup>4,5</sup>

The rate of faecal carriage of ESBL-E has mainly been investigated in nosocomial outbreaks, in traveller adult patients or in children attending daycare centres; few studies have evaluated

## Susceptibility of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* to azithromycin in France and analysis of resistance mechanisms

Christelle Jost<sup>1-3</sup>, Philippe Bidet<sup>1-3</sup>, Thibault Carrère<sup>1</sup>, Patricia Mariani-Kurkdjian<sup>1</sup> and Stéphane Bonacorsi<sup>1-3\*</sup>

<sup>1</sup>Service de Microbiologie, Centre National de Référence associé, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France; <sup>2</sup>Univ Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France; <sup>3</sup>INSERM, IAME, UMR 1137, F-75018 Paris, France

\*Corresponding author. Service de Microbiologie, Hôpital Robert-Debré, 48 Boulevard Sérurier, 75019 Paris, France. Tel: +33140032340; Fax: +33140032450; E-mail: stephane.bonacorsi@aphp.fr

Received 28 October 2015; returned 27 November 2015; revised 11 December 2015; accepted 14 December 2015

**Objectives:** Antibiotic therapy is not recommended during enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infection. However, the potential benefit of azithromycin has recently been described. This study was conducted to evaluate the macrolide susceptibility of EHEC isolates from France and to analyse the mechanisms of resistance to azithromycin in EHEC.

**Methods:** Strains from patients with EHEC infections were collected by the associated French National Reference Laboratory for *E. coli* from 2004 to 2014. Antimicrobial susceptibility testing was performed by disc diffusion and Etest methods. For strains presenting macrolide resistance, antibiotic resistance genes were searched for by PCR. Genetic transfer was performed by conjugation and plasmid analysis was done by Southern-blot hybridization after PFGE.

**Results:** We tested 508 isolates of EHEC. Azithromycin MICs ranged between 0.25 and 16 mg/L (median = 3 mg/L), except for two atypical strains, 34396 and 36493, for which MICs were >256 mg/L. Plasmid transferability of macrolide resistance was demonstrated. Strain 34396, of serotype O106:H18, harboured two macrolide resistance genes [*mph*(A) and *erm*(B)] and two other antimicrobial resistance genes (*bla*<sub>DHA-1</sub> for β-lactam resistance and *qnrB4* for quinolone resistance). *mph*(A), *bla*<sub>DHA-1</sub> and *qnrB4* were localized on the same plasmid. Strain 36493 belonging to the highly virulent O26:H11 EHEC clonal group harboured a plasmid containing *mph*(A).

**Conclusions:** For the first time we describe plasmid-borne macrolide resistance genes in EHEC strains. Dissemination of such plasmids may threaten the potential benefit of azithromycin during the management of patients infected or colonized with EHEC. Determination of azithromycin MICs should be considered prior to its therapeutic use and 16 mg/L may be used as the epidemiological cut-off value.

### Introduction

Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) has emerged as a serious public health concern being responsible for a large number of foodborne-associated outbreaks of bloody diarrhoea, which may be complicated by the potentially lethal haemolytic uraemic syndrome (HUS). Between 2007 and 2010, 13545 confirmed human EHEC infections were reported in Europe with 777 HUS cases (5.7%).<sup>1</sup> The main virulence factor of EHEC is the Shiga toxin (Stx), which may be of two types, Stx1 or Stx2. Antimicrobial therapy is not recommended during EHEC infection<sup>2</sup> due to the increased risk of developing HUS<sup>3</sup> particularly by inducing production and/or release of Stx.<sup>4,5</sup> However, this recommendation is a matter of debate. Several experimental and clinical studies have recently reported on the potential benefit of certain antibiotics, in some conditions, to treat patients that are infected or colonized with EHEC.<sup>6</sup> During the outbreak of O104:H4 EHEC in Germany, azithromycin

was found to eliminate successfully the EHEC from stools of patients without side effects.<sup>7</sup> Although azithromycin has a modest potency against Enterobacteriaceae, antibiotic concentrations in the colon are sufficient to eradicate *Salmonella enterica* or *Shigella*.<sup>8,9</sup> EUCAST has defined a critical concentration of 16 mg/L for both of these pathogens (www.eucast.org). However, a high level of macrolide resistance in *Shigella* has been associated with failure of azithromycin treatment for shigellosis in France.<sup>10</sup> Azithromycin activity against EHEC is not well documented. Bidet *et al.*<sup>11</sup> reported that azithromycin MICs for *E. coli* O157:H7 causing HUS in France ranged from 3 to 12 mg/L. To our knowledge, no study has been previously conducted on a large clinical collection of EHEC to determine their macrolide susceptibility. Acquired resistance to macrolides by Enterobacteriaceae may result from a variety of resistance mechanisms: target site modification by methylases encoded by *erm* genes [in particular, *erm*(A) and *erm*(B)]; inactivation by enzymes such as esterases encoded by *ere*(A) and *ere*(B)



## Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from dairy products – Genetic diversity and virulence gene profiles



T. Douëllou<sup>a,b</sup>, S. Delannoy<sup>c</sup>, S. Ganet<sup>b,d</sup>, P. Mariani-Kurkdjian<sup>e</sup>, P. Fach<sup>c</sup>, E. Loukiadis<sup>b,d</sup>,  
Mc. Montel<sup>a</sup>, D. Thevenot-Sergentet<sup>b,d,\*</sup>

<sup>a</sup> INRA UR Fromagères 545, 20 Cote de Reyne, 15000 Aurillac, France

<sup>b</sup> Université de Lyon, “Bacterial Opportunistic Pathogens and Environment” Research Group, UMR5557 Ecologie Microbienne Lyon, Université Lyon 1, CNRS, VetAgro Sup, 69280 Marcy l’Etoile, France

<sup>c</sup> Université Paris-Est, ANSES, Laboratoire de Sécurité des Aliments, Plateforme IdentityPath, 14 rue Pierre et Marie Curie, 94701 Maisons-Alfort, France

<sup>d</sup> Université de Lyon, VetAgro Sup Campus Vétérinaire, Laboratoire d’études des Microorganismes Alimentaires Pathogènes, French National Reference Laboratory for *Escherichia coli* including Shiga-like toxin-producing *E. coli* (NRL-STECC), 69280 Marcy-l’Etoile, France

<sup>e</sup> Centre National de Référence Associé des *Escherichia coli*, AP-HP, Service de Microbiologie, Hôpital Robert-Debré, 75019 Paris, France

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 28 October 2015

Received in revised form 27 April 2016

Accepted 29 April 2016

Available online 2 May 2016

#### Keywords:

STEC

Genetic

Biodiversity

Dairy products

### ABSTRACT

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) are widely recognized as pathogens causing food borne disease. Here we evaluate the genetic diversity of 197 strains, mainly STEC, from serotypes O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8 and O145:28 and compared strains recovered in dairy products against strains from human, meat and environment cases. For this purpose, we characterized a set of reference-collection STEC isolates from dairy products by PFGE DNA fingerprinting and a subset of these by virulence-gene profiling. PFGE profiles of restricted STEC total DNA showed high genomic variability (0.9976 on Simpson’s discriminatory index), enabling all dairy isolates to be differentiated. High-throughput real-time PCR screening of STEC virulence genes were applied on the O157:H7 and O26:H11 STEC isolates from dairy products and human cases. The virulence gene profiles of dairy and human STEC strains were similar. Nevertheless, frequency-wise, *stx1* was more prevalent among dairy O26:H11 isolates than in human cases ones (87% vs. 44%) while *stx2* was more prevalent among O26:H11 human isolates (23% vs. 81%). For O157:H7 isolates, *stx1* (0% vs. 39%), *nleF* (40% vs 94%) and Z6065 (40% vs 100%) were more prevalent among human than dairy strains. Our data point to differences between human and dairy strains but these differences were not sufficient to associate PFGE and virulence gene profiles to a putative lower pathogenicity of dairy strains based on their lower incidence in disease. Further comparison of whole-genome expression and virulence gene profiles should be investigated in cheese and intestinal tract samples.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) are widely recognized as potential pathogens that can cause diarrhea, hemorrhagic colitis and hemolytic-uremic syndrome (HUS) in humans and ultimately lead to death. Ruminants, particularly cattle and sheep (Gyles, 2007), are natural STEC reservoirs, which creates a risk of human disease through ingestion of contaminated meat and dairy products (Caprioli et al., 2005). The prevalence of STEC in raw milk has not changed over the last ten years, and is typically between 0% and 13.6% (Farrokh et al., 2013). In 2009, official monitoring plans in France evaluated the prevalence of STEC as 0.3% in raw ground beef and 0.9% in cheese (Loukiadis et al., 2012). Nevertheless, physiological states of STEC and food

microbiota can impact these data and lead to underestimated occurrence figures (Auvray et al., 2009; Farrokh et al., 2013; Madic et al., 2011). Certain types of experimentally-contaminated raw milk cheeses have been shown to favor growth of O157, O26, O103 and O145 STEC cells (Miszczycha et al., 2013). Due to this increased rate, the infectious dose may be reached from a single initial STEC cell contamination (Nataro and Kaper, 1998). In France, despite high consumption of raw-milk cheese (2.8 kg/year/inhabitant; CNIEL, 2014), STEC outbreaks or isolated infectious cases due to consumption of dairy products remain rare (Espíe et al., 2006, 2008; Loukiadis et al., 2012).

There are very few datasets on the diversity of dairy STEC isolates. PFGE fingerprinting of O157 and non-O157 STEC isolates from human, animal and food found high genetic diversity with Simpson discriminatory indices of between 0.97 and 1 (0 < D index < 1; Hunter and Gaston, 1988; Ribot et al., 2006; Izumiya et al., 2010; Jenke et al., 2011; Verstraete et al., 2013). Interestingly, even though dairy products have been implicated in outbreaks, few studies have focused on the genetic diversity of dairy STEC isolates. Differences in the key virulence

\* Corresponding author at: Université de Lyon, “Bacterial Opportunistic Pathogens and Environment” Research Group, UMR5557 Ecologie Microbienne Lyon, Université Lyon 1, CNRS, VetAgro Sup, 69280 Marcy l’Etoile, France.

E-mail address: [delphine.sergentet@vetagro-sup.fr](mailto:delphine.sergentet@vetagro-sup.fr) (D. Thevenot-Sergentet).



Fiche de renseignement devant accompagner chaque envoi (téléchargeable à partir de notre site internet : <http://www.pasteur.fr/sites/www.pasteur.fr/files/ficheinfosalmonella2016.pdf>)

<p><b>Laboratoire :</b> (Une seule adresse complète et lisible du laboratoire expéditeur)</p> <p>Nom complet ou Cachet du laboratoire :</p> <p>N° et rue :</p> <p>Code postal :  _ _ _   _ _ _  Ville :</p> <p>E-mail : ..... TEL : .....</p> <div style="border: 1px solid black; text-align: center; padding: 5px; margin: 10px 0;"> <p><b>SALMONELLA</b></p> </div> <p><b>Examen demandé</b> (cocher les cases choisies)</p> <p><input type="checkbox"/> Aucune demande (<b>information seulement, aucune souche envoyée</b>).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sérotype trouvé : .....</li> <li>• <b>Merci de joindre une copie de l'antibiogramme</b> (souches humaines)</li> </ul> <p><input type="checkbox"/> <b>Identification antigénique</b> complète d'une <b>Salmonella d'origine humaine</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Agglutinations minimales réalisées par le laboratoire expéditeur :</li> </ul> <p><input type="checkbox"/> non effectuées      <input type="checkbox"/> effectuées : résultats.....</p> <p><input type="checkbox"/> <b>Identification antigénique</b> complète d'une <b>Salmonella d'origine non humaine</b> (<b>facturation</b> sauf pour les souches responsables de salmonelloses humaines)</p> <p><input type="checkbox"/> <b>Demande particulière**</b> (p.ex. sous-typage moléculaire, mécanisme particulier de résistance aux antibiotiques,....)</p> <p>.....</p> <p><small>** examens réalisés après entente préalable avec les responsables par téléphone (01 45 68 83 39) ou par courrier électronique (<a href="mailto:francois-xavier.weill@pasteur.fr">francois-xavier.weill@pasteur.fr</a>/<a href="mailto:simon.le-hello@pasteur.fr">simon.le-hello@pasteur.fr</a>)</small></p>	<p align="center"><b>Renseignements épidémiologiques essentiels</b></p> <p>• <b>Prélèvement humain</b></p> <p>Nom, prénom du patient ou Réf. ....</p> <p>Date de naissance  _ _ _ _ _ _ _ _  Sexe : F / M</p> <p>Code postal (domicile du patient)  _ _ _ _ _ </p> <p>Statut :      Malade <input type="checkbox"/>    Porteur <input type="checkbox"/>    inconnu <input type="checkbox"/></p> <p>Origine :      Sang <input type="checkbox"/>      Selles <input type="checkbox"/>      Urines <input type="checkbox"/>      Autre <input type="checkbox"/> : .....</p> <p>Date d'isolement :  _ _ _   _ _ _   _ _ _  et précisions : .....</p> <p>Cas isolé : <input type="checkbox"/> Voyage récent (pays, date) : .....</p> <p>Cas groupés : <input type="checkbox"/> Nombre de cas : .....</p> <p style="padding-left: 20px;">Familiaux <input type="checkbox"/> Hôpital <input type="checkbox"/> Ecole <input type="checkbox"/> Crèche <input type="checkbox"/> Autres : .....</p> <p style="padding-left: 20px;">Lors d'un voyage (pays, date) : .....</p> <p style="padding-left: 20px;">T.I.A.C. <input type="checkbox"/> Aliment suspecté : .....</p> <p><b>Présence de nouveaux animaux de compagnie à domicile (NAC) :</b> <input type="checkbox"/></p> <p>Si oui, le(s)quel(s) : reptiles (lézard, tortue,...), rongeurs : .....</p> <p align="center"><b>Merci de joindre une copie de l'antibiogramme</b></p> <p>• <b>Prélèvement non humain</b> (Informations téléphoniques au 01 45 68 83 39)</p> <p>Référence de la souche : .....</p> <p align="center">Date d'isolement :  _ _ _   _ _ _   _ _ _ </p> <p><b>Nature exacte du prélèvement :</b></p> <p>Vétérinaire : .....</p> <p>Alimentaire : .....</p> <p>Environnement : .....</p> <p><b>Origine géographique du prélèvement</b> (département) : .....</p> <hr/> <p align="center"><small>(*) : Pour toute demande concernant le suivi des dossiers, nous vous prions de nous contacter par fax (01 45 68 88 37) ou par E-mail (<a href="mailto:salmonella@pasteur.fr">salmonella@pasteur.fr</a>).</small></p> <p align="center"><small>Merci de votre compréhension.</small></p> <p align="center"><b>Nous vous remercions pour votre collaboration à la surveillance épidémiologique des infections dues aux <i>Salmonella</i>.</b></p>
---	---



Fiche de renseignement devant accompagner chaque envoi (téléchargeable à partir de notre site internet : <http://www.pasteur.fr/sites/www.pasteur.fr/files/ficheinfoshigella2016.pdf>)

**Laboratoire :** (Une seule adresse complète et lisible du laboratoire expéditeur)

Nom complet ou Cachet du laboratoire :

N° et rue :

Code postal : |\_|\_|\_|\_| Ville :

E-mail : ..... TEL : .....

**SHIGELLA**

**SOUCHE de *Shigella*,**

Méthode d'identification :

**Galerie API, Spectrométrie de masse, autre**

**Identification antigénique :** oui  non

Si oui, séro groupe :

• **INFORMATION pour *Shigella sonnei*** seulement  (aucune souche envoyée)

préciser +, -, pour les tests biochimiques suivants :

ONPG  Xylose  Mannitol

**Prière de joindre une copie de l'ANTIBIOGRAMME**

**▲ Prélèvement non humain (facturé)**

- **Référence de la souche:**.....

- **Date d'isolement :** |\_|\_| |\_|\_| |\_|\_|

- **Nature exacte du prélèvement :**

Alimentaire : ..... Environnement .....

- **Origine géographique du prélèvement (département) :** .....

**Renseignements épidémiologiques ESSENTIELS**

**▲ Prélèvement humain**

- **Nom, prénom du patient ou Réf.** .....

**Date de naissance** |\_|\_|\_|\_|\_|\_| **Sexe :** F/M

Code postal du domicile du patient |\_|\_|\_|\_|\_|\_|

**Statut :** Malade  Porteur  inconnu

- **Origine :** Selles  Autre.....

- **Date d'isolement :** |\_|\_| |\_|\_| |\_|\_| et précisions : .....

- **Manifestations cliniques :** Diarrhée  Diarrhée sanglante

**Asymptomatique**  inconnu  autre .....

- **Date de début :** |\_|\_| |\_|\_| |\_|\_| et précisions : .....

- **Cas isolé**  **Voyage récent (pays, date)**<sup>1</sup>.....

- **Cas groupés :**  Nombre de cas :

Hôpital  Familial  Ecole  Crèche  Autres : .....

**Lors d'un voyage (pays, date)**<sup>\*1</sup> : .....

T.I.A.C.  **Aliment suspecté :** .....

<sup>1</sup> : Information épidémiologique importante

(\*)Pour toute demande concernant le suivi des dossiers, nous vous prions de nous contacter : par fax (01 45 68 88 37) ou par E-mail ([colishig@pasteur.fr](mailto:colishig@pasteur.fr)). Merci de votre compréhension  
 Nous vous remercions pour votre collaboration à la surveillance épidémiologique des infections dues aux *Shigella*  
 Le CNR étant informatisé et n'ayant pas de contact direct avec les patients, nous vous remercions d'informer ceux-ci de leur droit d'accès et de rectification des informations les concernant (Loi N°78-17 du 06 janvier 1978)

# CNR ASSOCIE *ESCHERICHIA COLI*

Responsable *E. coli* producteur de Shigatoxines : Dr Patricia Mariani-Kurkdjian  
Responsable *E. coli* Infections materno-foetales et méningites : Pr Stéphane Bonacorsi  
Hôpital Robert Debré, 48 Boulevard Sérurier, 75019 Paris

Service de Microbiologie, Tél. : (33) 1 40 03 23 40, Fax : (33) 1 40 03 24 50

Adresse mail : [e.coli@aphp.fr](mailto:e.coli@aphp.fr)

Site internet : <http://cnr-escherichiacoli-robertdebre.aphp.fr>

## Fiche de renseignements pour l'envoi de souches de : *E. coli* extra-intestinaux

**Adresse complète du laboratoire expéditeur  
(cadre utilisé pour l'envoi des résultats)**

**Biologiste expéditeur**

**A REMPLIR OBLIGATOIREMENT**

Nom : \_\_\_\_\_

Tel : \_\_\_\_\_

Fax : \_\_\_\_\_

e-mail : \_\_\_\_\_

Date d'envoi : \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

**Médecin prescripteur :**

Nom : \_\_\_\_\_

Service : \_\_\_\_\_

**Tél obligatoire :** \_\_\_\_\_

- Infection materno-fœtale (Bactériémie et/ou méningite chez le nouveau né avant 72h de vie)
- Bactériémie maternelle avec chorio-amnionite
- Méningite après la 72<sup>ème</sup> heure de vie
- Autres syndromes infectieux particuliers (**uniquement après accord téléphonique avec le CNR**)

### PATIENT

NOM : \_\_\_\_\_ Prénom : \_\_\_\_\_

Hôpital (si différent du laboratoire) : .....

Service d'hospitalisation : .....

Date de naissance : \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

Sexe : M / F

Evolution à 3 jours : décès oui/non

Commentaires éventuels : .....

Pour le Nouveau-né :

Né dans cet hôpital : oui / non

Terme de naissance : ..... semaines et ..... jours

Poids de naissance : .....

**SOUCHE (votre référence) n°** .....

Isolée de l'hémoculture  du LCR

Autre site (précisez) : .....

Date du prélèvement : \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

Commentaires : .....

**SOUCHE (votre référence) n°** .....

Isolée de l'hémoculture  du LCR

Autre site (précisez) : .....

Date du prélèvement : \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

Commentaires : .....

**SOUCHE (votre référence) n°** .....

Isolée de l'hémoculture  du LCR

Autre site (précisez) : .....

Date du prélèvement : \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

Commentaires : .....

**MODE DE TRANSPORT :**  
**Repiquage gélose profonde et sous  
emballage hermétique conforme.**

**N. B : Pour chaque souche, joindre une copie  
de l'antibiogramme et un compte rendu  
d'hospitalisation si possible.**



# CNR ASSOCIE *ESCHERICHIA COLI*

Responsable *E. coli* producteur de Shigatoxines : Dr Patricia Mariani-Kurkdjian  
Responsable *E. coli* Infections materno-foetales et méningites : Pr Stéphane Bonacorsi

Hôpital Robert Debré, 48 Boulevard Sérurier, 75019 Paris

Service de Microbiologie, Tél. : (33) 1 40 03 23 40, Fax : (33) 1 40 03 24 50

Adresse mail : [e.coli@aphp.fr](mailto:e.coli@aphp.fr)

Site internet : <http://cnr-escherichiacoli-robertdebre.aphp.fr>

## Fiche de renseignements pour la recherche de : *E. coli* entérohémorragique (EHEC/STEC)

**Adresse complète du laboratoire expéditeur  
(cadre utilisé pour l'envoi des résultats)**

### Biologiste expéditeur

**A REMPLIR OBLIGATOIREMENT**

Nom : \_\_\_\_\_

Tel : \_\_\_\_\_

Fax : \_\_\_\_\_

e-mail : \_\_\_\_\_

Date d'envoi : \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

### Médecin prescripteur :

Nom : \_\_\_\_\_

Service : \_\_\_\_\_

Tél obligatoire : \_\_\_\_\_

**IMPORTANT** : La recherche de EHEC/STEC est indiquée en cas de syndrome hémolytique et urémique ou de diarrhée sanglante. En dehors de ces contextes un accord préalable avec le CNR est indispensable.

#### RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LE PATIENT (Etiquette identité si possible)

Nom : .....

Prénom : .....

Date de naissance : \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_ ou Age : .....

Sexe : M / F

Département d'origine : .....

Hôpital (si différent du laboratoire) : .....

#### Renseignements cliniques **INDISPENSABLES** (Examen non réalisé en leur absence)

Statut : Malade  Contact

Diarrhée  Diarrhée Glairo-Sanglante ou sanglante

Date de début \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

SHU  Date de début \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

Traitement antibiotique  Date de début \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

Si oui lequel : .....

#### Renseignements épidémiologiques si connus

Cas isolé

Cas groupés  Nombre de cas : .....

- Famille

- Ecole  Crèche

- Autre .....

Aliment suspecté : .....

Contact avec des animaux : .....

Diarrhée dans l'entourage : .....

Voyage récent : .....

#### RENSEIGNEMENTS CONCERNANT L'ECHANTILLON

→ Selles (votre référence) n° .....

Date du prélèvement : \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

→ Écouvillon rectal (votre réf.) n° .....

Date du prélèvement : \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

→ Primoculture de la selle sur gélose pour  
Entérobactéries (votre réf.) n° .....

Date du prélèvement : \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

→ SOUCHE (votre référence) n° .....

Isolée de :  selles  écouvillon rectal

Autre site (précisez) : .....

Date du prélèvement : \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

Commentaires : .....

→ ADN (votre référence) n° .....

Type de prélèvement : .....

Date du prélèvement : \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

#### Conditions de transport

- selles  
- écouvillon rectal  
- ADN  
- Primoculture de selles  
- souche : tube de conservation

} Acheminement rapide à + 4°C

} Acheminement à température ambiante