

Rapport d'activité annuel 2019

Année d'exercice 2018



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 :

Tél : 01 45 68 83 39
Télécopie : 01 45 68 88 37

colishig@pasteur.fr
salmonella@pasteur.fr

François-Xavier WEILL
Sophie LEFÈVRE
Maria PARDOS DE LA GÁNDARA

Tél : 01 45 68 83 45
Tél : 01 45 68 83 44
Tél : 01 40 61 37 24

francois-xavier.weill@pasteur.fr
sophie.lefevre@pasteur.fr
maria.pardos-de-la-gandara@pasteur.fr

Laboratoire associé (HRD) :

Tél : 01 40 03 23 40
Télécopie : 01 40 03 24 50

e.coli@aphp.fr

Stéphane BONACORSI
Patricia MARIANI-KURKDJIAN

Tél : 01 40 03 57 92
Tél : 01 40 03 23 41

stephane.bonacorsi@rdb.aphp.fr
patricia.mariani@rdb.aphp.fr

Table des matières

RESUME ANALYTIQUE	1
ANALYTIC SUMMARY.....	2
1 MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR.....	3
1.1 CNR-ESS	3
1.2 LABORATOIRE ASSOCIE ROBERT DEBRE (LA-RD)	4
2 SALMONELLA	5
2.1 ACTIVITES D'EXPERTISE.....	5
2.1.1 Évolutions des techniques au cours de l'année	5
2.1.1.1 Liste des techniques développées.....	5
2.1.1.2 Liste des techniques en développement	6
2.1.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	6
2.1.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires.....	6
2.1.4 Collections de matériel biologique	6
2.1.5 Activités d'expertise <i>Salmonella</i>	7
2.1.5.1 Activité de surveillance de la résistance aux antimicrobiens	9
2.1.6 Activités de séquençage.....	9
2.1.6.1 Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?.....	9
2.1.6.2 Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?.....	9
2.1.6.3 Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?	10
2.1.6.4 Décrire les outils bio-informatiques et les analyses conduites	10
2.1.6.5 Nombre de séquences réalisées à des fins d'investigations d'épidémies	10
2.1.6.6 Nombre de séquences réalisées à des fins de surveillance	10
2.1.6.7 Où sont déposées les séquences brutes (fastaq files).....	10
2.2 ACTIVITES DE SURVEILLANCE.....	12
2.2.1 Description du réseau de partenaires	12
2.2.1.1 Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS	12
2.2.1.2 Définition de l'échantillon de souches isolées	13
2.2.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	14
2.2.2.1 Analyse de la distribution des différents sérotypes et analyse des tendances	14
2.2.2.1.1 Nombre annuel de <i>Salmonella</i> répertoriées au CNR-ESS.....	14
2.2.2.1.2 Répartition des 20 principaux sérotypes de <i>Salmonella</i>	15
2.2.2.1.3 Proportion de souches de <i>Salmonella</i> par rapport aux « fiches information »	16
2.2.2.1.4 Évolution de la répartition des principaux sérotypes en France.....	17
2.2.2.1.5 Répartition des <i>Salmonella</i> par sites de prélèvement	18
2.2.2.1.6 Distribution des <i>Salmonella</i> par classes d'âge	19
2.2.2.1.7 Origine géographique des souches de <i>Salmonella</i> reçues	19
2.2.2.1.8 Le sérotype Typhi.....	22
2.2.2.1.9 Le sérotype Paratyphi A	24
2.2.2.1.10 Le sérotype Paratyphi B	25
2.2.2.1.11 Foyers de cas groupés à <i>Salmonella</i>	26
2.2.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux.....	27
2.2.3.1 Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de <i>Salmonella</i>	27
2.2.3.2 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium : 1993 – 2018.....	28
2.2.3.3 Résistance aux antibiotiques du variant 1,4,[5],12:i:- (monophasique) : 2007 – 2018	29
2.2.3.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis : 1993 – 2018	30
2.2.3.5 Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky : 2001 – 2018	30
2.2.3.6 Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby : 2000 – 2018	31
2.2.3.7 Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis : 1997 – 2018.....	32
2.2.3.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport : 1997 – 2018	32
2.2.3.9 Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow : 1997 – 2018	33
2.2.3.10 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi : 1997 – 2018	34

2.2.3.11	Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A : 2005 – 2018	35
2.2.3.12	Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B : 2000 – 2018	35
2.2.3.13	Résistance aux antibiotiques d'autres sérotypes.....	36
2.2.3.14	Détection de gènes de résistance par séquençage du génome complet : « Résistome ».....	37
2.2.4	Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....	39
2.2.4.1	Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé Publique France	39
2.2.4.1.1	Relevés périodiques envoyés à Santé Publique France	39
2.2.4.1.2	Relevés annuels	40
2.2.4.1.3	Relevés ponctuels	40
2.2.4.2	Contribution aux réseaux de surveillance nationaux, humaine et vétérinaire	40
2.2.4.3	Contribution aux réseaux de surveillance internationaux.....	40
2.2.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	41
2.3	ALERTE	42
3	SHIGELLA.....	45
3.1	ACTIVITES D'EXPERTISE.....	45
3.1.1	Évolutions des techniques	45
3.1.2	Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et troussees	45
3.1.3	Techniques transférées vers d'autres laboratoires	45
3.1.4	Collections de matériel biologique	45
3.1.5	Activités d'expertise	46
3.1.6	Activités de séquençage.....	47
3.2	ACTIVITES DE SURVEILLANCE.....	49
3.2.1	Description du réseau de partenaires	49
3.2.1.1	Réseau partenaire	49
3.2.1.2	Distribution globale des cas de shigellose en France métropolitaine et outre-mer	49
3.2.2	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	52
3.2.2.1	Origine des prélèvements	52
3.2.2.2	Analyse de la distribution en France métropolitaine et analyse de tendances.....	52
3.2.2.2.1	Répartition par sérogroupes et par sérotypes.....	52
3.2.2.2.2	Répartition par sexe.....	55
3.2.2.2.3	Répartition par âge	56
3.2.2.2.4	Notion de voyage.....	58
3.2.2.3	Analyse de la distribution dans les outre-mer et analyse de tendances	61
3.2.2.3.1	Répartition par sérogroupes et par sérotypes.....	61
3.2.2.3.2	Répartition par sexe.....	62
3.2.2.3.3	Répartition par âge	63
3.2.2.3.4	Notion de voyage.....	64
3.2.2.4	Distribution des séquences types (ST)	64
3.2.3	Surveillance de la résistance des <i>Shigella</i> aux antibiotiques.....	66
3.2.3.1	Surveillance globale	66
3.2.3.2	Résistances émergentes chez <i>Shigella</i> spp.	69
3.2.3.2.1	Résistance à l'azithromycine	69
3.2.3.2.2	Résistance aux céphalosporines de 3 ^{ème} génération.....	71
3.2.3.2.3	Résistance aux quinolones.....	74
3.2.4	Interface avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....	77
3.2.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	77
3.3	ALERTE	78
4	ESCHERICHIA COLI.....	79
4.1	ACTIVITES D'EXPERTISE.....	79
4.1.1	Évolutions des techniques	79
4.1.2	Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et troussees.....	79
4.1.3	Techniques transférées vers d'autres laboratoires	79
4.1.4	Collections de matériel biologique	79
4.1.5	Activités d'expertise	79

4.1.5.1	Inventaire des prélèvements reçus pour la recherche d'EHEC en 2018.....	80
4.1.6	Activités de séquençage.....	81
4.2	ACTIVITES DE SURVEILLANCE.....	82
4.2.1	Description du réseau de partenaires	82
4.2.2	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	82
4.2.2.1	Analyse des caractéristiques épidémiologiques des EHEC.....	82
4.2.2.2	Résultats microbiologiques 2018 pour les cas de SHU pédiatriques	85
4.2.2.3	Résultats microbiologiques 2018 pour les cas de SHU/MAT adultes.....	86
4.2.2.4	Bilan des activités concernant les <i>E. coli</i> entéro-hémorragiques (EHEC)	86
4.2.2.4.1	Analyse de la répartition des symptômes donnant lieu à une analyse de selles, souches....	86
4.2.2.4.2	Résultats obtenus sur les prélèvements de selles en 2018	87
4.2.2.4.3	Souches de <i>E. coli</i> d'origine humaine productrices de Shiga-toxines isolées en 2018	88
4.2.2.4.3.1	Analyse sur des souches de <i>E. coli</i> d'origine humaine productrices de Shiga-toxines	88
4.2.2.4.3.2	Analyse des profils de virulence.....	91
4.2.2.4.3.3	Analyse des variants (ou sous types) des gènes <i>stx</i> par WGS.....	94
4.2.2.4.3.4	Analyse des variants des gènes <i>eae</i> par WGS	96
4.2.2.4.3.5	Autres facteurs de virulence	96
4.2.2.4.3.6	Analyse des MLST	98
4.2.2.4.3.7	Analyse des cgMLST HC5.....	98
4.2.2.4.4	Analyse des prélèvements (selles et/ou souches) dans l'entourage de patients présentant un SHU	100
4.2.2.5	Bilan des activités 2018 concernant les souches de <i>E. coli</i> extra intestinales (ExpEC).....	100
4.2.2.5.1	Étude des facteurs de pathogénicité des souches de <i>E. coli</i> responsables de méningites..	100
4.2.2.5.2	Étude des facteurs de pathogénicité des souches de <i>E. coli</i> extra-intestinales responsables de pathologies autres que les méningites.....	101
4.2.3	Surveillance de la résistance d'<i>Escherichia coli</i> aux anti-infectieux	103
4.2.3.1	Sensibilité aux antibiotiques des souches EHEC (LA-RD).....	103
4.2.3.2	Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>E. coli</i> responsables de pathologies extra intestinales (LA-RD)	104
4.2.4	Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....	104
4.2.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	104
4.3	ALERTE	105
4.3.1	ÉPIDEMIE A <i>E. COLI</i> O26 LIEE A LA CONSOMMATION DE REBLOCHON	105
4.3.2	DETECTION DES CAS PAR ANALYSE WGS.....	105
4.3.3	ANALYSE DU SEROGROUPE O145	106
5	ACTIVITES DE RETRO-INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL.....	107
5.1	CONSEIL ET EXPERTISE AUX PROFESSIONNELS DE SANTE.....	107
5.1.1	Enseignements et formations aux professionnels de santé.....	107
5.1.2	Accueil de stagiaires	107
5.1.2.1	Liste des stagiaires au CNR-ESS en 2018 :.....	107
5.1.2.2	Liste des stagiaires au LA-RD en 2018.....	108
5.1.3	Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion).....	108
5.1.4	Modalités et cibles de la diffusion des données de surveillance et des productions du CNR	108
5.1.5	Activités de conseil aux professionnels de santé	108
5.2	CONSEIL ET EXPERTISE AUX AUTORITES SANITAIRES	109
5.3	CONSEIL ET EXPERTISE POUR D'AUTRES CIBLES (MEDIAS, GRAND PUBLIC ...).....	109
6	TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR.....	111
6.1	ACTIVITES DE RECHERCHE EN COURS LORS DE L'ANNEE 2018, CONCERNANT UNIQUEMENT CELLES AYANT UN LIEN DIRECT AVEC LES MISSIONS ET ACTIVITES DU CNR.....	111
6.1.1	Pour le CNR-ESS.....	111
6.1.2	Pour LA-RD.....	113
6.1.2.1	<i>E. coli</i> intestinaux :.....	113

6.1.2.2	<i>E. coli</i> extra intestinaux (LA-RD) :	113
6.2	LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS DE L'ANNEE N, CONCERNANT UNIQUEMENT CELLES AYANT UN LIEN DIRECT AVEC LES MISSIONS ET ACTIVITES DU CNR	113
6.2.1	Publications nationales	113
6.2.2	Publications internationales	113
6.2.3	Communications nationales	115
6.2.4	Communications internationales	116
6.2.5	Conférences sur invitations	116
6.2.6	Organisations de Congrès	117
6.2.7	Distinctions	117
7	COOPERATION AVEC LES LABORATOIRES DE SANTE ANIMALE, D'HYGIENE ALIMENTAIRE, ENVIRONNEMENTAUX	119
7.1	<i>SALMONELLA</i>	119
7.2	<i>ESCHERICHIA COLI</i>	119
8	PROGRAMME D'ACTIVITE POUR LES ANNEES SUIVANTES	121
8.1	APPORTER UNE EXPERTISE MICROBIOLOGIQUE	121
8.1.1	Infections à <i>E. coli</i>	121
8.1.1.1	Infections à <i>E. coli</i> entéro-hémorragiques	121
8.1.1.2	<i>E. coli</i> responsables d'infections extra-intestinales (LA-RD)	121
8.1.1.3	Étude 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)	122
8.1.2	Infections à <i>Shigella</i>	122
8.1.3	Infections à <i>Salmonella</i>	123
8.2	CONTRIBUER A LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE, EN LIEN AVEC SANTE PUBLIQUE FRANCE	124
8.3	CONTRIBUER A L'ALERTE EN SIGNALANT A SANTE PUBLIQUE FRANCE, TOUT EVENEMENT INHABITUEL	126
	ANNEXE 1 : MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR	127
A1.1	MISSIONS ET OBJECTIFS DU CNR-ESS ET DE SON LABORATOIRE ASSOCIE A L'HOPITAL ROBERT DEBRE	127
A1.2	ORGANISATION DU CNR ET DE SON LABORATOIRE ASSOCIE A L'HOPITAL ROBERT DEBRE ...	129
A1.2.1	Le CNR-ESS : Effectif / Qualification du Personnel	129
A1.2.2	Le laboratoire associé (LA-RD): Effectif / Qualification du Personnel	131
A1.3	LES LOCAUX ET EQUIPEMENTS	131
A1.3.1	CNR-ESS (Institut Pasteur)	131
A1.3.2	LA-RD	133
A1.4	COLLECTION DE MATERIEL BIOLOGIQUE	135
A1.5	DEMARCHE QUALITE	135
A1.5.1	Démarche qualité du CNR-ESS	135
A1.5.2	Démarche qualité du LA-RD	137
	ANNEXE 2 : CAPACITES TECHNIQUES DU CNR	139
A2.1	POUR <i>SALMONELLA</i>	139
A2.1.1	Liste des techniques de référence	139
A2.1.1.1	Des techniques d'identification du genre, des espèces et des sous-espèces de <i>Salmonella</i>	139
A2.1.1.2	Des techniques d'identification des sérotypes	139
A2.1.1.3	Des techniques de sous-typage des <i>Salmonella</i> :	140
A2.1.1.4	Des techniques d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des <i>Salmonella</i>	140
A2.1.1.5	Des techniques de séquençage complet des génomes des <i>Salmonella</i>	140
A2.1.1.6	Des techniques de spectrométrie de masse :	140
A2.1.2	Liste des techniques recommandées par le CNR	141
A2.2	POUR <i>SHIGELLA</i>	141

A2.2.1	Liste des techniques de référence.....	141
A2.2.1.1	Techniques d'identification du genre, des espèces et des sous-espèces.....	141
A2.2.1.2	Techniques d'identification de <i>Shigella</i>.....	142
A2.2.1.4	Techniques de sous-typage des <i>Shigella</i>.....	143
A2.2.1.5	Techniques d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des <i>Shigella</i>	143
A2.2.1.6	Séquençage du génome entier des <i>Shigella</i>.....	143
A2.2.2	Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles.....	143
A2.2.3	Collection de souches.....	143
A2.2.4	Techniques recommandées par le CNR-ESS	144
A2.3	POUR <i>ESCHERICHIA COLI</i>	144
A2.3.1	Liste des techniques de référence.....	144
A2.3.1.1	au CNR-ESS.....	144
A2.3.1.2	Techniques du LA-RD	144
A2.3.2	Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles.....	145
A2.3.3	Collection de souches.....	145
A2.3.4	Techniques recommandées par le CNR-ESS ET LA-RD	145

SOMMAIRE DES FIGURES

Figure 1. Organigramme du CNR-ESS.....	3
Figure 2. Organigramme du LA-RD.....	4
Figure 3. Délai de rendu des typages de salmonelles, CNR-ESS 2018.....	8
Figure 4. Nombre annuel de souches de Salmonella d'origine humaine (total des souches reçues plus « fiches information »), CNR-ESS, 1983-2018.....	14
Figure 5. Répartition entre souches de Salmonella reçues et « fiches information », 2000-2018.....	14
Figure 6. Évolution des principaux sérotypes de Salmonella isolées chez l'homme, 1983-2018.....	18
Figure 7. Nombre de cas et incidence des salmonelloses par départements en 2018.....	21
Figure 8. Délai de rendu des résultats de sérotypage des Shigella/EIEC, 2018.....	47
Figure 9. Nombre annuel de Shigella (souches et « fiches information », France métropolitaine et DOM-TOM, 2005-2018).....	49
Figure 10. Nombre de cas et incidence des shigelloses par département en France en 2018.....	50
Figure 11. Répartition des cas de shigellose (souches et « fiches information », 2018).....	51
Figure 12. Évolution des principaux sérotypes de Shigella (souches, France métropolitaine, 2005-2018).....	54
Figure 13. Évolution des cas de shigellose par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2018).....	55
Figure 14. Patients âgés de 16-60 ans diagnostiqués avec S. sonnei ou S. flexneri 2a, sans notion de voyage hors de France, par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2018).....	55
Figure 15. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2018).....	56
Données sur la population générale de France métropolitaine publiées par l'INSEE 2019.....	57
Figure 16. Evolution des principaux sérotypes de Shigella (souches, DOM-TOM, 2005-2018).....	62
Figure 17. Principaux sérotypes de Shigella selon le sexe du patient (souches, DOM-TOM, 2018).....	62
Figure 18. Répartition des cas de shigellose par âge (souches et « fiches information », DOM, 2018).....	63
Figure 19. Principaux ST associés aux Shigella spp. (souches, France métropolitaine et DOM-TOM, 2018).....	64
Figure 20. Prévalence des Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2014-2018).....	69
Figure 21. CMI des Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2018).....	70
Figure 22. Patients (âge et sexe) infectés par Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2018).....	70
Figure 23. Pourcentage des Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2005-2018).....	71
Figure 24. CMI des Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2018).....	72
Figure 25. Patients (âge et sexe) infectés par Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2018).....	72
Figure 26. Gènes responsables de la résistance aux C3G chez Shigella (souches, France métropolitaine, 2018).....	73
Figure 27. Prévalence des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2005-2018).....	74
Figure 28. CMI des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2018).....	75
Figure 29. Patients (âge et sexe) infectés par Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2018).....	75
Figure 30. Mutations chromosomiques (QRDR) des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2018).....	76
Figure 31. Déterminants PMQR des Shigella CIP-S et CIP-R (souches, France métropolitaine, 2018).....	76
Figure 32. Classe d'âge et sexe des patients ayant une recherche de EHEC positive en 2018.....	83
Figure 33. Répartition départementale des souche de EHEC isolées en 2018 (n=309) sur le territoire.....	85
Figure 34. Répartition départementale des sérogroupes O26, O80 et O157 en 2018.....	85
Figure 35. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés toutes pathologies confondues en 2018.....	90
Figure 36. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés au cours des SHU tous âges confondus en 2018.....	90
Figure 37. Distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2018.....	91
Figure 38. Analyse MLVA des souches EHEC de sérogruppe O145 isolées en 2018.....	106

SOMMAIRE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Nombre de souches et de « fiches information » de salmonelles enregistrées au CNR-ESS : 2018... 8	8
Tableau 2 : 20 principaux sérotypes de Salmonella au cours des années 2005, 2010, 2016 à 2018, CNR-ESS.. 15	15
Tableau 3. Nombre d'isolements annuels des principaux sérotypes en France de 2014 à 2018..... 17	17
Tableau 4 : Répartition par sites de prélèvement de 2014 à 2018..... 18	18
Tableau 5 : Distribution par tranches d'âge de 2014 à 2018 19	19
Tableau 6 : Nombre de souches de Salmonella reçues par régions de 2014 à 2018 20	20
Tableau 7 : Origine géographique des souches de sérotype Typhi (une par patient) de 2014 à 2018 22	22
Tableau 8 : Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi A (une par patient) de 2014 à 2018..... 24	24
Tableau 9 : Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi B (dt-) (une par patient) de 2014 à 2018..... 25	25
Tableau 10 : Foyers de cas groupés de Salmonella de 2014 à 2018 26	26
Tableau 11 : Récapitulatif des différents foyers de cas groupés à Salmonella de 2014 à 2018 26	26
Tableau 12 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de Salmonella 27	27
Tableau 13 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhimurium..... 28	28
Tableau 14 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype <u>L</u> ,4,[5],12:i:- (monophasique).... 29	29
Tableau 15 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Enteritidis 30	30
Tableau 16 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Kentucky 30	30
Tableau 17 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Derby 31	31
Tableau 18 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Infantis 32	32
Tableau 19 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Newport 32	32
Tableau 20 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Virchow..... 33	33
Tableau 21 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhi 34	34
Tableau 22 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi A 35	35
Tableau 23 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi B 36	36
Tableau 24 : Résistances aux antibiotiques des souches cliniques d'autres sérotypes d'intérêt particulier..... 36	36
Tableau 25 : Salmonella contenant des gènes de BLSE..... 37	37
Tableau 26 : Salmonella contenant des gènes de céphalomycine 38	38
Tableau 27 : Salmonella contenant des gènes de carbapénémase..... 38	38
Tableau 28 : Salmonella contenant des gènes de résistance à l'azithromycine..... 39	39
Tableau 29 : Nombre de Shigella/EIEC enregistrés au CNR-ESS en 2018 (souches et «fiches information»).... 47	47
Tableau 30 : Nombre de séquences de Shigella/EIEC effectuées pour le CNR-ESS en 2018..... 48	48
Tableau 31 : Répartition des souches de Shigella spp. par site de prélèvement (souches et « fiches information ») 52	52
Tableau 32 : Distribution annuelle des différents sérotypes de Shigella (France métropolitaine, 2015-2018) ... 53	53
Tableau 33 : Répartition par classe d'âge des cas de shigellose (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2018)..... 57	57
Tableau 34 : Notion de voyage associée aux cas de shigellose (souches, France métropolitaine, 2018) 59	59
Tableau 35 : Notion de voyage associée aux cas de shigellose (« fiches information», France métropolitaine, 2018) 60	60
Tableau 36 : Distribution des différents sérotypes de Shigella spp. (souches et « fiches information», DOM-TOM, 2018)..... 61	61
Tableau 37 : Incidence des cas de shigellose (souches et « fiches information», DOM, 2018)..... 63	63
Tableau 38 : ST et sérotypes associés des Shigella spp. (souches, France métropolitaine et DOM-TOM, 2018) 65	65
Tableau 39 : Antibiotiques utilisés pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de Shigella spp. 66	66
Tableau 40 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de Shigella (souches, France métropolitaine, 2018) 67	67
Tableau 41 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de Shigella (souches, DOM-TOM, 2018) 67	67
Tableau 42 : Caractérisation des principaux gènes de résistance aux antibiotiques détectés par WGS (souches, France métropolitaine et DOM-TOM, 2018)..... 68	68
Tableau 43 : Sérotypes/biotypes des Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2018) 69	69
Tableau 44 : Sérotypes/biotypes des Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2018)..... 71	71
Tableau 45 : Sérotypes/biotypes des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2018)..... 74	74
Tableau 46 : Répartition des différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au LA-RD en 2018..... 80	80
Tableau 47 : Les différents types de prélèvements..... 81	81
Tableau 48 : Principal symptôme observé chez les patients ayant une recherche de EHEC positive (isolement d'une souche ou PCR positive) en 2018..... 82	82
Tableau 49 : Répartition des différents sérogroupes de EHEC (souches isolées) par classe d'âge et par sexe des patients en 2018 84	84

<i>Tableau 50 : Symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC (souches ou selles) en 2018</i>	87
<i>Tableau 51 : Sérotypage complet par WGS des souches isolées en 2018</i>	88
<i>Tableau 52 : Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les plus fréquemment isolés en 2018</i>	92
<i>Tableau 53 : Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les moins fréquemment isolés en 2018</i>	92
<i>Tableau 54 : Profil de virulence des EHEC non sérogroupables par méthode moléculaire WGS en 2018</i>	92
<i>Tableau 55 : Profil de virulence déterminé directement par PCR sur les selles sans isolement de souches en 2018</i>	93
<i>Tableau 56 : Résultats du sérogroupage par PCR directe sur selles sans souche isolée en 2018</i>	94
<i>Tableau 57 : Répartition globale des variants stx en 2018</i>	95
<i>Tableau 58 : Répartition des profils de variants stx en fonction des sérogroupes de EHEC les plus fréquents des souches isolées en 2018</i>	95
<i>Tableau 59 : Répartition des profils de variants stx en fonction des sérogroupes de EHEC les plus rares isolés en 2018</i>	95
<i>Tableau 60 : La répartition des variants du gène eae en fonction du séro groupe EHEC</i>	96
<i>Tableau 61 : Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène saa en 2018</i>	96
<i>Tableau 62 : Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène subA en 2018</i>	97
<i>Tableau 63 : La répartition des ST en fonction du séro groupe</i>	98
<i>Tableau 64 : Analyse des cgWGSHC5 des sérogroupes O26, O157 et O80 en 2018</i>	99
<i>Tableau 65 : Facteurs de virulence des E. coli responsables de méningites en 2018 (LA-RD)</i>	100
<i>Tableau 66 : Caractéristiques des souches de ExpEC hors méningites en 2018 LA-RD</i>	102
<i>Tableau 67 : Prévalence de la résistance (%) aux antibiotiques des souches EHEC en 2018 (LA-RD)</i>	103
<i>Tableau 68 : CMI à l'azithromycine des souches EHEC isolées en 2017 au LA-RD</i>	103
<i>Tableau 69 : Prévalence de la résistance (%) aux antibiotiques des souches EXPEC (2018, LA-RD)</i>	104

Résumé analytique

Depuis le 1^{er} avril 2017, date de début du nouveau mandat des CNR, l'Unité des Bactéries Pathogènes Entériques de l'Institut Pasteur héberge le CNR *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* (CNR-ESS). Le laboratoire de Bactériologie de l'hôpital Robert Debré, Paris (LA-RD) est le laboratoire associé au CNR-ESS pour les activités *E. coli*.

Salmonella

Au cours de l'année 2018, le CNR-ESS a enregistré **10 926** isollements de *Salmonella* spp. (contre 11 487 en 2017). Ceux-ci se répartissaient en **9 145** souches de *Salmonella* reçues et typées (contre 8 159 en 2017), et **1 781** « fiches information » (contre 1 728 en 2017). Au premier juillet 2018, le séquençage du génome entier (WGS) est devenu la technique de première intention pour la surveillance et l'investigation des épidémies à *Salmonella*. Ainsi en 2018, 6 942 souches ont été typées par WGS, soit 75,9 % de l'ensemble des souches annuelles typées (92,5 % au deuxième semestre). Les autres souches typées l'ont été par sérotypage.

Plusieurs épidémies ont été détectées et investiguées dont certaines avec une extension internationale comme pour l'épidémie de l'alerte UI-503 à *S. enterica* sérotype Newport ST118, avec 132 cas en France et 3 cas en Écosse, ou pour l'épidémie de l'alerte UI-483 à *S. enterica* sérotype 1,4,[5],12:i:- (monophasique) (« Cluster A »), avec des cas en Danemark et dont l'enquête se poursuit toujours en 2019.

Shigella

Durant l'année 2018, le CNR-ESS a étudié **1 352 souches** d'origine humaine envoyées comme appartenant au genre *Shigella*. Quatre-vingt-trois pour cent (1 117/1 352) des souches ont été confirmées comme des *Shigella* spp. (n = 1 113) ou des EIEC (n = 4). Les autres souches (235/1 352, 17 %) étaient des « bactéries autres que *Shigella*/EIEC ». De plus **301** cas de shigellose ont été signalés au CNR-ESS par l'intermédiaire de « **fiches information** ». En compilant les souches et les « fiches d'information reçues, un **total de 1 353 isollements de *Shigella*/EIEC, hors doublons**, ont été enregistrés au CNR-ESS au cours de l'année 2018, contre 1 211 en 2017).

L'année 2018 a été principalement marquée par une épidémie de *S. sonnei* g de profil de résistance AMP STR PEF CIP TET SMX TMP AZM. 130 cas ont été détectés en France métropolitaine et un cas dans les DOM-TOM (Guadeloupe).

E. coli

En 2018, un total de 1 432 prélèvements, dont 1 041 prélèvements de selles et 308 souches de *E. coli* ont été reçus au LA-RD. Le nombre de souches analysées est stable par rapport à 2017 (n = 304) contrairement au nombre de selles analysées qui augmente régulièrement depuis 2013 (1 041 versus 985 en 2017, 970 en 2016, 785 en 2015, 750 en 2014 et 736 en 2013). En 2018, 309 souches de EHEC ont été isolées et caractérisées par WGS. En France, toutes pathologies confondues, les sérogroupes majeurs de EHEC retrouvés sont : le séro groupe O26 (27.8 %), le séro groupe O157 (18.8 %) et le séro groupe O80 (15.2 %). Au cours des SHU, les sérogroupes majoritairement isolés en France en 2018, sont le séro groupe O26 (37,3 %), le séro groupe O80 (23,8 %) et le séro groupe O157 (11.1 %), confirmant ainsi la prédominance du séro groupe O26 en France au cours des SHU et la particularité française avec la prépondérance du séro groupe O80.

L'année 2018 a été marquée par une épidémie d'infections à EHEC O26 liée à la consommation de reblochon de février à mai 2018.

Analytic summary

Since April 1st 2017, the starting date of the new mandate for the National Reference Centres (NRCs), the Enteric Bacterial Pathogens Unit at the Institut Pasteur hosts the NRC for *E. coli*, *Shigella* and *Salmonella* (CNR-ESS). The Bacteriology Laboratory at hospital Robert Debré, in Paris (LA-RD) acts as the associated laboratory for the activities on *E. coli*.

Salmonella

In 2018, the CNR-ESS registered **10 926** *Salmonella* spp. isolates (*versus* 11 487 in 2017). Of those 10 926 isolates, **9 145** were received and typed (8 159 in 2017), and **1 781** notifications were received (*versus* 1 728 in 2017). Since the 1st of July 2018, whole-genome sequencing (WGS) has been used as the first intention technique for surveillance and outbreak investigation of *Salmonella* infections. Hence, **6 942** isolates were typed by WGS in 2018, representing 75,9 % of all typed isolates (92,5 % for the second semester). The remaining typed isolates were serotyped.

Several outbreaks have been detected and investigated, some of them with a certain international relevance. That is the case of the UI-503 outbreak caused by *Salmonella* Newport ST118, with 132 cases in France and 3 cases in Scotland, or the UI-483 outbreak by *S.* 1,4,[5],12:i:- (monophasic) (“Cluster A”), with several cases in Denmark, for which inquiries are still ongoing in 2019.

Shigella

In 2018, the CNR-ESS received **1 352 human isolates**, 1 117 of which were confirmed as *Shigella*/EIEC (1 113 *Shigella* spp. and four EIEC). The CNR-ESS also received **notifications of 301 cases** of shigellosis, that were typed by local laboratories. Altogether, a **total of 1 353 cases of shigellosis (one per patient)** was registered by the CNR-ESS in 2018, *versus* 1211 in 2017.

In 2018, the CNR-ESS detected an outbreak of *Shigella sonnei* g with the following combination of antibiotic resistance AMP STR PEF CIP TET SMX TMP AZM. 130 cases were observed in metropolitan France and one isolate in the overseas departments (Guadeloupe).

E. coli

In 2018, a total of 1 432 samples, including 1 041 stool specimens and 308 *E. coli* strains were received at LA-RD. The number of strains analyzed is stable compared to 2017 (n = 304), unlike the number of stools analyzed, which has increased steadily since 2013 (1 041 versus 985 in 2017, 970 in 2016, 785 in 2015, 750 in 2014 and 736 in 2013). In 2018, 309 EHEC strains were isolated and characterized by WGS. In France, all pathologies included, the major serogroups of EHEC found are: serogroup O26 (27.8 %), serogroup O157 (18.8 %) and serogroup O80 (15.2 %). In HUS patients, serogroups mostly isolated in France in 2018, are serogroup O26 (37.3 %), serogroup O80 (23.8 %) and serogroup O157 (11.1 %), thus confirming the predominance of serogroup O26 in France in HUS patients and French singularity with the preponderance of serogroup O80.

The year 2018 was marked by an epidemic of EHEC O26 infections linked to reblochon consumption from February to May 2018.

1 Missions et organisation du CNR

Le détail des missions et organisation du CNR sont présentées en annexe 1 du présent rapport.

1.1 CNR-ESS

María Pardos de la Gándara a été recrutée en janvier 2018 pour remplacer provisoirement Sophie Lefèvre (congé maternité), puis pour remplacer définitivement Simon Le Hello suite à son départ de l'Institut Pasteur le 31 août 2018.

Florence Juglas est arrivée le 21 mars 2018 pour succéder à Marie Lemesle.

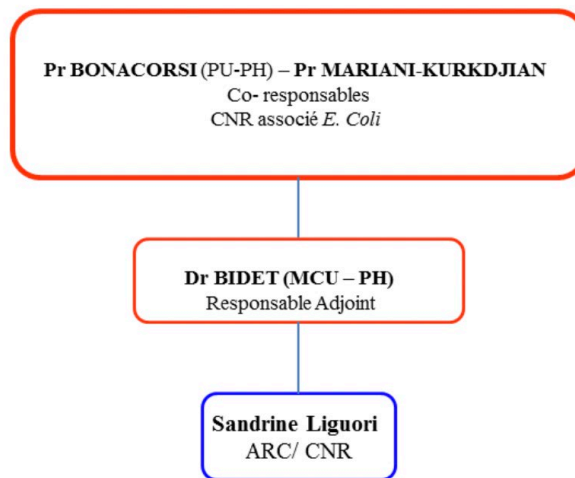
Figure 1. Organigramme du CNR-ESS



- @ Correspondant Hygiène et Sécurité
- * Correspondant Qualité du CNR
- # Correspondant Métrologie et Matériel du CNR

1.2 Laboratoire associé Robert Debré (LA-RD)

Figure 2. Organigramme du LA-RD



2 Salmonella

2.1 Activités d'expertise

En 2018,

- le séquençage du génome entier (WGS) est devenu la technique de première intention pour le typage des souches de *Salmonella* d'origine humaine reçues au CNR-ESS. Ainsi, 6 942 souches ont été typées par cette méthode.
- la méthode cgMLST (pour core genome MLST) permet, depuis octobre 2018, le sous-typage des sérotypes prévalents ayant une forte homogénéité génétique et les sérotypes impliqués dans des épidémies d'envergure. Cette approche a facilité la surveillance et l'échange des informations entre institutions nationales et internationales lors des alertes épidémiologiques.
- le sérotypage classique par agglutination reste la méthode de référence des *Salmonella* et a été utilisé pour 2 792 souches dans le contexte d'urgence, de nouveaux ST, d'échantillons reçus de plusieurs laboratoires pour un même patient, et suite à la demande de validation de sérotype sur des souches d'origine non-humaine par l'Anses et autres laboratoires.

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

2.1.1 Évolutions des techniques au cours de l'année

2.1.1.1 Liste des techniques développées

Le **sérotypage classique par agglutination** reste la méthode de typage de référence des *Salmonella* (ISO/TR 6579-3). Le sérotypage permet de différencier les souches de *Salmonella* en plus de 2 600 sérotypes (Issenhuth-Jeanjean *et al.* Res Microbiol 2014).

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), **le séquençage après PCR des gènes de flagellines *fliC* et *fliB*** et **l'analyse du polymorphisme des 2 régions CRISPR** (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) dont **une application CRISPOL**, méthode de sous-typage à haut débit de *S. enterica* sérotype Typhimurium et de ses variants monophasiques, avait été mise au point par le CNR-ESS (Fabre *et al.* PloS One 2012).

En juillet 2018, le typage par séquençage de génome entier (whole-genome sequencing ou WGS) a définitivement remplacé le sérotypage classique par agglutination comme technique de première intention pour le typage de *Salmonella* reçues au CNR-ESS.

Depuis octobre 2018, les sérotypes prévalents ayant une forte homogénéité génétique (Monophasique-ST34, Enteritidis-ST11) et les sérotypes impliqués dans des épidémies d'envergure (Agona-ST13, Dublin-ST10, Newport-ST118) sont sous-typés en temps réel par la méthode cgMLST (pour core genome MLST) développée par l'équipe du Professeur Mark Achtman, avec qui nous avons collaboré sur de nombreux projets, au sein du site Enterobase (<https://enterobase.warwick.ac.uk>). Cette méthode consiste à déterminer la séquence de 3 002 gènes non dupliqués et présents chez la très grande majorité des *Salmonella* et pour lesquels il n'y a pas de phénomène de recombinaison génétique. Chaque séquence de gène définira un allèle et la combinaison des 3 002 allèles définira un type cgMLST. Grâce à des techniques comme le 'hierarchical clustering' (HC), les souches sont regroupées ensemble si elles sont

apparentées génétiquement, par exemple celles qui vont ne se différencier que par moins de 5 allèles sur les 3 002 du schéma de cgMLST (HC5). Cela permet de classer chaque souche suivant une nomenclature (code numérique de 1 jusqu'à l'infini ; ex HC5-14775) standardisée et unique. Plusieurs autres seuils peuvent être également utilisés comme HC0, HC2, HC10, HC20, HC50, HC100, ... et pour chaque seuil une nomenclature est disponible. Pour chaque souche de *Salmonella* sous-typée par cgMLST (5200 depuis septembre 2018) les résultats HC5 et HC10 sont communiqués hebdomadairement à Santé publique France. Cette approche a facilité la surveillance et l'échange des informations entre institutions nationales (Institut Pasteur, Santé publique France et Anses) et avec les institutions internationales (ECDC, Public Health England, ...) dans le cadre des alertes européennes.

En cas d'un excès de cas liés à un même cluster cgMLST, une confirmation est toujours réalisée par une deuxième approche qui est une analyse de la distance génétique basée sur les mutations ponctuelles de l'ADN ou SNP (pour single nucleotide polymorphisms) des souches bactériennes. Cette analyse des SNP peut être réalisée sur Enterobase ou par des outils développés au CNR-ESS.

2.1.1.2 Liste des techniques en développement

Le sérotypage des salmonelles, basé sur la détection des antigènes somatique (« O ») et flagellaires (« H1 » et « H2 ») reste encore la technique mondiale de référence.

Le typage WGS doit donc rester compatible avec le sérotypage (pour ne pas perdre les données de sérotypage accumulées durant des décennies avant le passage au WGS ou pour maintenir le lien avec les laboratoires ne faisant pas de WGS). Pour cela, il faut avoir à disposition une base de données la plus complète possible (c'est-à-dire avec une diversité génétique maximale) regroupant des souches sérotypées par la méthode de référence mais aussi séquencées (en particulier pour les cibles MLST, les gènes du cluster *rfb* ou *fliC* et *fljB* codant les flagellines), de façon à pouvoir inférer le sérotype à partir d'une séquence génomique de n'importe quelle souche de *Salmonella* reçue au CNR-ESS. Il est donc important d'alimenter régulièrement cette base de données avec des souches moins fréquentes dont le sérotype a été déterminé par la méthode de référence.

2.1.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousseaux

Le CNR-ESS a réalisé une enquête pour évaluer l'impact sur la surveillance des *Salmonella* et des *Shigella* et STEC des kits syndromiques de plus en plus utilisés par les laboratoires de biologie médicale.

L'enquête a eu lieu en juillet-septembre 2018 et l'analyse des résultats est en cours.

2.1.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

La validation de la méthode cgMLST d'Enterobase par le CNR-ESS puis son utilisation en routine a permis une meilleure interaction avec nos collègues de l'Anses dans le cadre des investigations nationales. Le CNR-ESS est également en train de promouvoir cette méthode au niveau européen lors des alertes internationales.

2.1.4 Collections de matériel biologique

L'organisation, les conditions de stockage et de mise à disposition des collections de matériel biologique sont présentées en annexe 1 du présent rapport.

2.1.5 Activités d'expertise *Salmonella*

Depuis le nouveau mandat (effectif depuis le 1er avril 2017), la surveillance microbiologique des *Salmonella* s'effectue progressivement par WGS. Depuis juillet 2018, le CNR-ESS a opté pour le typage par WGS comme technique de première ligne pour toutes les souches de *Salmonella* reçues des laboratoires collaborateurs de son réseau national. Le sérotypage classique par agglutination reste cependant parfois nécessaire dans des situations particulières : a) lors de la phase initiale de l'investigation d'une épidémie quand un résultat rapide permet l'interrogatoire précoce des nouveaux cas confirmés ; l'agglutination permettant d'identifier le sérotype en 2 à 5 jours, puis le WGS permet le sous-typage en 15 à 21 jours, b) quand une souche possède un nouveau profil MLST ou présente des résultats discordants entre les cibles utilisées et donc qu'il n'est pas possible d'inférer le sérotype, c) lorsque plusieurs souches sont reçues pour un même patient, de plusieurs laboratoires expéditeurs dans un intervalle de 60 jours, d) pour certaines souches reçues de l'Anses et autres laboratoires dans le cadre d'une validation du sérotype.

En 2018, le CNR-ESS a enregistré **10 926** isollements de *Salmonella* d'origine humaine (contre 11 487 en 2017). Ceux-ci se répartissaient en **9 145** souches de *Salmonella* qui ont été reçues et typées au CNR-ESS (contre 8 159 en 2017) et **1 781** « fiches information » (1 728 en 2017) (Tableau 1). En 2018, toutes les souches reçues au CNR-ESS répondant aux critères d'inclusion dans la surveillance nationale ont été typées par WGS et/ou sérotypage (contrairement à 2017 au cours de laquelle 1 600 souches n'avaient pas été typées).

Le CNR-ESS a par ailleurs reçu 304 souches qui ont été exclues des analyses dès leur réception : 138 souches étaient non analysables (tubes cassés, etc.) et 166 ont été identifiées comme des doublons. En effet, depuis le 1^{er} septembre 2015, les souches redondantes (ou « doublons-souches »), c'est-à-dire issues d'un même patient, d'un même type prélèvement et d'un même laboratoire sur une période de moins de 8 semaines ne sont plus analysées. Selon la même méthode, 55 doublons « « fiches information » » ont également été exclues de l'analyse (même patient, même laboratoire expéditeur, même sérotype dans un intervalle de temps inférieur à 8 semaines). Ainsi 1.8 % des souches et 3 % des « fiches information » ont été considérées comme des doublons (contre 2,1 % et 9,9 % en 2017). Enfin pour 201 cas déclarés par « fiche information » une souche a également été reçue au CNR-ESS. Ces cas n'ont donc été comptabilisés qu'une seule fois (en tant que souche reçue au CNR-ESS et non plus comme « fiche information »).

Il est à noter que 64 souches envoyées pour sérotypage de *Salmonella* se sont avérées être des bactéries autres que *Salmonella*.

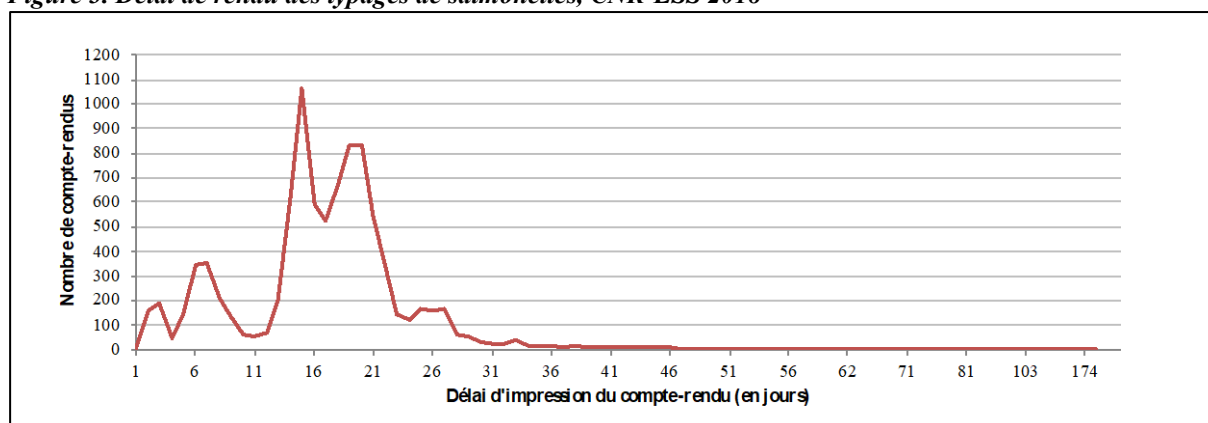
Le CNR-ESS a également réalisé le sérotypage de 63 souches non humaines isolées chez l'animal, dans des aliments ou dans l'environnement, en France et à l'étranger. Les souches ont été envoyées principalement par le laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses Maisons-Alfort et d'autres laboratoires vétérinaires (publics et privés). Enfin le CNR-ESS a analysé 69 souches dans le cadre d'études nationales ou internationales.

Tableau 1 : Nombre de souches et de « fiches information » de salmonelles enregistrées au CNR-ESS : 2018

Type d'enregistrement (humain dans le cadre de l'activité CNR)	N
Nombre total de souches typées au CNR-ESS	9 145
par agglutination	2 203
par WGS	6 353
par agglutination et WGS	589
Nombre de souches reçues non analysables (exclues)	304
dont souches reçues en doublon	166
Nombre de souches reçues de « bactéries autres que <i>Salmonella</i> » (exclues)	64
Nombre total de souches reçues	9 513
Nombre de souches déclarées en ligne (« Fiches information »)	1 781
Nombre total d'enregistrements	2 037
Déclarées en doublon sur le site	55
Doublon de souches reçues au CNR	201
Nombre total de salmonelles annuelles (souches + « fiches information »)	10 926

Délai de restitution des résultats :

Le délai moyen de restitution des résultats de typage du CNR-ESS aux laboratoires est de 17 jours (médiane de 17 jours également, versus 24,2 jours en moyenne et 24 jours en médiane en 2017) avec des extrêmes entre 1 et 316 jours. Ce délai de restitution dépend de la technique utilisée avec 2 pics principaux, le premier entre 2 et 7 jours (versus 6 à 10 jours en 2017) et le second entre 15 et 22 jours (versus 21 à 25 jours en 2017) (Figure 3). Le premier pic correspondait aux résultats de sérotypage par agglutination. Il est à noter qu'en cas de sérotype rare voire nouveau, ce délai peut être très important (nécessité de confirmation par le CCOMS et par deux autres laboratoires internationaux). Le second pic correspondait aux résultats de typage par WGS.

Figure 3. Délai de rendu des typages de salmonelles, CNR-ESS 2018

2.1.5.1 Activité de surveillance de la résistance aux antimicrobiens

Cette activité régulière permet de suivre les profils de résistance aux antibiotiques parmi une sélection d'isolats cliniques de *Salmonella*. En 2018, **1 027 souches de *Salmonella* ont été testées pour leur sensibilité aux antibiotiques**, par détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par une approche semi-automatisée (Sensititre, Trek) en suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM_EUCAST ; communiqué 2018). L'étude de la résistance aux antibiotiques par antibiogrammes classiques sur milieu gélosé a été réalisée pour toutes les souches (n = 183, une par patient) des sérotypes majeurs, tels Typhi, Paratyphi A et Paratyphi B dt-. Les résultats font l'objet d'un chapitre spécifique (**paragraphe 2.2.3**).

2.1.6 Activités de séquençage

2.1.6.1 Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?

L'Institut Pasteur est doté d'une plateforme dite Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M), qui est ouverte à l'ensemble des CNR ainsi qu'aux laboratoires de référence dans le Réseau International des Instituts Pasteur et instituts associés. Dans un esprit de mutualisation technologique, P2M regroupe les demandes et permet ainsi l'utilisation en routine du WGS.

La technologie utilisée par P2M est la suivante : les ADN sont extraits par le système MagNAPure 96 (Roche Diagnostics), les banques sont ensuite préparées avec le kit Nextera XT (Illumina) puis séquencées sur un appareil NextSeq 500 d'Illumina. Une série de matériels est également utilisée pour réaliser les contrôles de qualité tout au long du processus de fabrication de séquence. Des robots pipeteurs et extracteurs permettent d'homogénéiser et de normaliser les ADN et amplicons avant d'entrer dans le pipeline de production.

2.1.6.2 Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?

Les CNR ont à l'heure actuelle la possibilité de faire appel à une expertise bio-informatique, en sollicitant les services supports en interne à l'Institut Pasteur. Ils ont actuellement accès aux bioinformaticiens du Centre de Bio-informatique, Bio-statistique et Biologie Intégrative (C3BI), qui qualifient et réalisent une analyse de premier niveau (contaminations, qualité, assemblage) sur les données sortantes. Ces bioinformaticiens peuvent également apporter leur aide aux CNR, pour le développement de méthodes de génotypage et d'autres pipelines d'analyses des séquences, y compris en cas d'épidémie.

Concernant le CNR-ESS, une ingénieure de recherche (Laëtitia Fabre) est dédiée à 50 % afin de faire le lien entre la Plate-forme pour la phase pré- et post-analytique (organisation pour la préparation des échantillons, vérification de la qualité des séquences, écriture de scripts automatiques, formation de l'équipe du CNR-ESS, phylogénies).

Les analyses de génotypage en routine sont réalisées par BLAST contre des banques de données internes (*fliC*, *fliB*, CRISPOL) ou publiques (MLST7, cgMLST d'Enterobase – <http://enterobase.warwick.ac.uk> –, résistome, virulome du Center for Genomic Epidemiology – <http://www.genomicepidemiology.org/>). Ces génotypes sont obtenus à l'aide de scripts écrits en interne et automatisés au sein d'un pipeline propre au CNR-ESS. Quand le profil MLST rend un nouveau ST qui n'existe pas dans notre base de données, la séquence est soumise sur Enterobase, qui déterminera un nouveau profil. Depuis octobre 2018, tous les génomes des souches appartenant aux sérotypes prévalents ayant une forte homogénéité génétique (Monophasique-ST34, Enteritidis-ST11) ou aux sérotypes impliqués dans des épidémies d'envergure (Agona-ST13, Dublin-ST10, Newport-ST118) sont déposés dans Enterobase pour déterminer le cgMLST.

2.1.6.3 Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?

Le séquençage par WGS est devenu la technique de première intention au CNR-ESS. Les données sont utilisées tant dans les investigations d'épidémies que pour la surveillance. Le CNR-ESS a proposé son expertise pour les laboratoires vétérinaires et/ou étrangers lors d'investigations d'épidémies nationales ou internationales (voir le chapitre 2.3).

2.1.6.4 Décrire les outils bio-informatiques et les analyses conduites

En plus du génotypage de routine, des méthodes de 'mapping' via Enterobase ou via les outils disponibles au CNR-ESS (utilisant des logiciels disponibles sur le cluster de l'Institut Pasteur comme bowtie2, samtools, RAxML, IQ-tree, Gubbins) et/ou de cgMLST (Enterobase) sont utilisées pour analyser les séquences génomiques.

2.1.6.5 Nombre de séquences réalisées à des fins d'investigations d'épidémies

Depuis juillet 2018, toutes les souches sont séquencées en première intention sauf dans certains cas très particuliers décrits dans le paragraphe 2.1.1.1. Toutes les souches impliquées dans une épidémie sont donc maintenant séquencées. Exceptionnellement, pour certaines épidémies, avec un grand nombre de cas et une source connue (telle l'épidémie d'octobre 2018 causée par des œufs contaminés par *S. enterica* sérotype Enteritidis HC5-149885 dans une ferme locale du département 09), un sérotypage traditionnel a été réalisé sur une partie des souches dans le but d'économiser un certain nombre de séquences.

2.1.6.6 Nombre de séquences réalisées à des fins de surveillance

En 2018 le CNR-ESS a réalisé **6 942** séquences de *Salmonella* à des fins de surveillance, soit 75,9 % des souches analysées.

Pendant le premier semestre 2018 une activité de sérotypage par agglutination a été maintenue en parallèle au WGS. A partir du 1er juillet 2018, le typage par WGS a été la technique de première intention pour l'ensemble des souches. Ainsi la proportion de souches typées par WGS est passée de 50,4 % à 92,5 % entre le premier et le second semestre ($p < 10^{-4}$) alors que la proportion de souches bénéficiant des 2 méthodes (WGS et agglutination) n'a pas varié significativement entre le premier et le second semestre (6,8 % au premier semestre versus 6,2 % au second, $p = 0,23$). La proportion des souches typées uniquement par WGS a significativement augmenté passant de 43,6 % lors du premier semestre à 86,3 % lors du deuxième semestre ($p < 10^{-4}$).

2.1.6.7 Où sont déposées les séquences brutes (fastaq files)

Toutes les séquences brutes sont stockées au CNR-ESS. En coordination avec SpF, la séquence d'au moins une souche représentative de chaque épidémie est déclarée sur le site du ECDC (pour European Centre for Diseases Control) dédié au partage des alertes épidémiques sur des pathogènes d'origine alimentaire et animale, avec un accès restreint à certains laboratoires et services épidémiologiques (Anses, CNR et SpF en France), l'EPIS-FWD (pour Epidemic Intelligence Information System—Food- and Waterborne Diseases and Zoonoses : <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/epidemic-intelligence-information-system-epis>).

Une ou plusieurs séquences représentatives de chaque épidémie sont également déposées dans la banque de données européenne pour short-reads, l'European Nucleotide Archive (ENA) (<https://www.ebi.ac.uk/ena>).

Toutes les séquences de souches ayant fait l'objet de publications scientifiques sont également déposées dans ENA.

Plusieurs milliers de génomes sont déposés en temps réel dans Enterobase au cours de l'année.

2.2 Activités de surveillance

En 2018 :

- depuis le mois de juillet de 2018, le séquençage du génome complet (WGS) est la technique de première ligne utilisée par le CNR-ESS pour la surveillance et l'investigation des épidémies à *Salmonella* : 6 942 séquences ont été produites, soit 75,9 % des souches analysées (92,5 % au cours du deuxième semestre).
- les laboratoires ont un accès à une plateforme web Voozadoo leur permettant de déclarer les « fiches information » (<https://epidemio.pasteur.fr/salm-shig>).
- la diminution de l'incidence du sérotype Typhimurium comme responsable de salmonelloses humaines est confirmée, laissant la place à son variant monophasique et à Enteritidis.

2.2.1 Description du réseau de partenaires

2.2.1.1 Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS

L'Unité des Entérobactéries à l'Institut Pasteur (Paris) a été renommée en 2001 « Unité de Biodiversité des Bactéries Pathogènes Émergentes » (BBPE) puis « Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques » (LBPE) le 1^{er} janvier 2008 et, depuis le 1^{er} 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 pour plusieurs raisons :

- son ancienneté (depuis l'après-guerre),
- le nombre important et stable de LBM participants,
- 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 (« fiches information »), ou déclaration sur le portail Voozadoo.

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 LBM (bibliographie, données épidémiologiques...).

En 2018, **859** LBM de France métropolitaine et des outre-mer (contre 1 097 en 2017 et 1 185 en 2016) ont adressé 9 144 souches de *Salmonella* qui ont été typées au CNR-ESS (une souche a été envoyée de Belgique dans le cadre de l'investigation d'une TIAC française). Ils se répartissaient en **332** laboratoires de centres hospitaliers (contre 398 en 2017) ayant adressé 3 263 souches (contre 3 351 en 2017) et **527** LBM privés (contre 699 en 2018 et 788 en 2016) ayant adressé 5 881 souches (contre 6 408 en 2017).

Le nombre de laboratoires du réseau a diminué en 2018 pour les centres hospitaliers et pour les LBM privés. Cette tendance est observée depuis plusieurs années pour les LBM privés et attribuée au regroupement d'activité des laboratoires. Cet événement, qui s'est amplifié ces dernières années sous forme de plateformes de biologie a pour conséquence une diminution des LBM en France. En revanche la diminution du nombre de laboratoires hospitaliers est un élément nouveau en 2018. Cette moindre participation peut avoir plusieurs causes, telles une démotivation des laboratoires concernés suite au non typage de 1 600 souches en 2017 et/ou une augmentation des télé-déclarations via le portail Voozadoo en 2018 sans envoi ultérieur de la souche.

2.2.1.2 Définition de l'échantillon de souches isolées

Le CNR-ESS participe à la surveillance des salmonelloses en typant les souches de *Salmonella* envoyées par les laboratoires collaborateurs, en collectant les informations sur les souches dont le sérotype a été déterminé par le laboratoire correspondant et transmis au CNR-ESS via des « fiches information » et/ou Voozadoo.

Les souches sont adressées au CNR-ESS par les laboratoires collaborateurs après isolement et identification d'une *Salmonella*. Celles-ci doivent impérativement être accompagnées d'une fiche de renseignements précisant les caractéristiques épidémiologiques et cliniques de l'isolement. Si nécessaire le CNR-ESS recontacte le laboratoire collaborateur pour obtenir les informations manquantes, soit immédiatement par téléphone soit par courrier ou par email. En 2018, le CNR-ESS a édité 2 289 non-conformités dont 1 452 étaient en rapport avec des informations épidémiologiques ou administratives manquantes ou erronées (soit 15 % des souches reçues). Jusqu'à trois non-conformités différentes peuvent être enregistrées pour un même dossier.

La collecte des informations sur les souches non envoyées au CNR-ESS se fait soit à l'aide d'une « fiche information » renseignée par les laboratoires correspondants et adressée au CNR par fax, e-mail ou voie postale, soit par déclaration en ligne sur le portail Voozadoo (<https://epidemiopasteur.fr/salm-shig>). Les laboratoires correspondants ont été encouragés depuis 2017 à déclarer leurs souches en ligne.

En 2018, 2 037 isollements ont été déclarés par l'intermédiaire de « fiches information » saisies en ligne, ou envoyées par voie postale. Sur ces 2 037 isollements, 55 ont été saisis en double et pour 201 d'entre eux, une souche a été également envoyée au CNR-ESS. Ainsi, pour l'année 2018, 1 781 isollements ont été notifiés exclusivement par ce système des « fiches information » (tableau 1).

En 2017, il avait été nécessaire de réaliser une sélection des souches à typer, principalement pendant la période estivale, afin de respecter le budget alloué. Ainsi, 1 600 souches, soit, 16,4 % des souches reçues, avaient été écartées de tout typage. En 2018, le CNR-ESS a repris le typage exhaustif de l'ensemble des souches reçues, à l'exception des souches reçues en double (même patient, même laboratoire, même type de prélèvement et datant de moins de 2 mois).

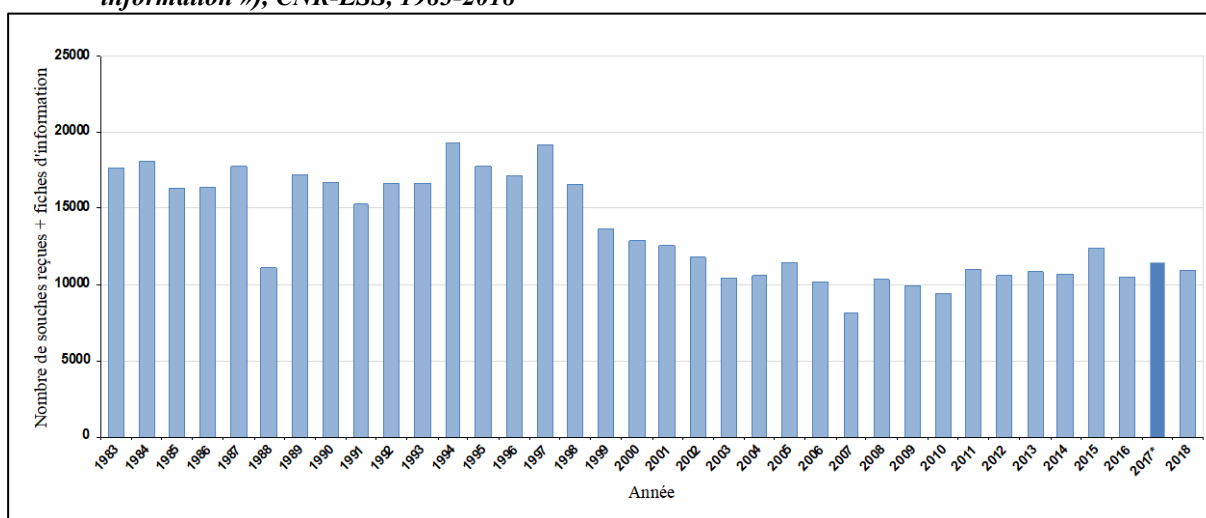
2.2.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

2.2.2.1 Analyse de la distribution des différents sérotypes et analyse des tendances

En **2018**, le CNR-ESS a enregistré **10 926** isollements de *Salmonella* en France métropolitaine, dans les outre-mer et à Monaco. Parmi ces **10 926** isollements, **9 145** ont été des souches reçues au CNR-ESS, et **1 781** provenaient de « fiches information » adressées au CNR-ESS par les laboratoires collaborateurs.

2.2.2.1.1 Nombre annuel de *Salmonella* répertoriées au CNR-ESS

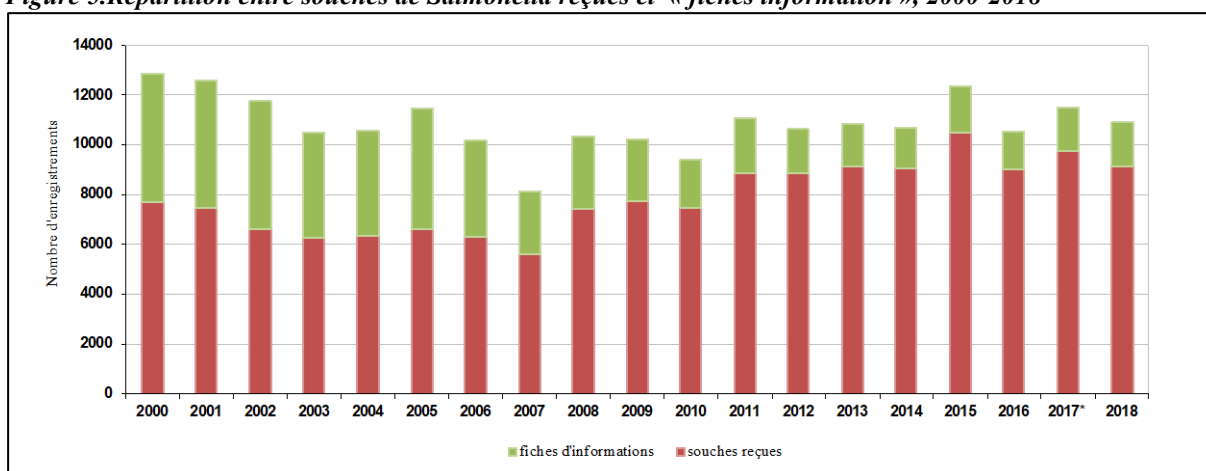
Figure 4. Nombre annuel de souches de *Salmonella* d'origine humaine (total des souches reçues plus « fiches information »), CNR-ESS, 1983-2018



* en 2017, 1 600 souches reçues et non typées au CNR-ESS sont comptabilisées dans l'activité. Pour toutes les autres années, toutes les souches reçues ont été typées

Depuis 2003, le nombre d'enregistrements de *Salmonella* au CNR-ESS est stable, autour de 10 000 chaque année, avec une forte proportion de souches reçues (environ 85 %).

Figure 5. Répartition entre souches de *Salmonella* reçues et « fiches information », 2000-2018



* en 2017, 1 600 souches reçues et non typées au CNR-ESS sont comptabilisées dans l'activité. Pour toutes les autres années, toutes les souches reçues ont été typées

2.2.2.1.2 Répartition des 20 principaux sérotypes de *Salmonella***Tableau 2 : 20 principaux sérotypes de *Salmonella* au cours des années 2005, 2010, 2016 à 2018, CNR-ESS**

Rang	Distribution des sérotypes (n) par année				
	2005*	2010*	2016*	2017**	2018*
1	Typhimurium (3 992)	Typhimurium (3 027)	Enteritidis (2 651)	Enteritidis (2 109)	Enteritidis (2 486)
2	Enteritidis (3 638)	Enteritidis (1 711)	Typhimurium (2 071)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (2 101)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (2 251)
3	Agona (274)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1 098)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1 958)	Typhimurium (1 919)	Typhimurium (1 933)
4	Infantis (210)	Kentucky (208)	Infantis (251)	Infantis (212)	Newport (296)
5	Typhi (187)	Newport (191)	Panama (174)	Typhi (159)	Infantis (266)
6	Derby (158)	Typhi (181)	Kentucky (170)	Newport (154)	Kentucky (177)
7	Hadar (147)	Derby (167)	Newport (158)	Kentucky (136)	Napoli (165)
8	Virchow (142)	Panama (148)	Typhi (157)	Derby (130)	Typhi (159)
9	Newport (133)	Infantis (128)	Dublin (143)	Chester (98)	Chester (157)
10	Panama (124)	Napoli (100)	Chester (113)	Panama (100)	Derby (135)
			Derby (113)		
11	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (101)	Dublin (81)		Dublin (98)	Panama (117)
12	Manhattan (95)	Hadar (76)	Saintpaul (104)	Agona (97)	Dublin (94)
13	Napoli (93)	Corvallis (70)	Paratyphi B Java (90)	Saintpaul (81)	Virchow (69)
14	Indiana (86)	Kottbus (66)	Napoli (82)	Weltevreden (78)	Bredeney (64)
		Virchow (66)			
15	Brandenburg (82)		Poona (81)	Napoli (76)	48:z4,z23:- (58)
16	Dublin (73)	Saintpaul (64)	Hadar (76)	Virchow (62)	Livingstone (57)
17	Manhattan (62)	Montevideo (61)	Weltevreden (73)	Kottbus (54)	Saintpaul (55)
				Stanley (54)	
18	Worthington (55)	Rissen (60)	Agona (68)		Agona (53)
19	Kentucky (48)	Bovismorbificans (59)	Virchow (60)	Javiana (53)	Bovimorbificans (52)
20	Dublin (45)	Brandenburg (56)	Paratyphi A (58)	Poona (52)	Stanley (51)
				Rissen (52)	

* Données incluant les souches adressées au CNR-ESS et les « fiches information »

** En 2017, 1 600 souches reçues au CNR-ESS et non sérotypées n'ont pas été prises en compte

De 2005 à 2015, le sérotype prédominant était Typhimurium alors que le sérotype Enteritidis était en baisse constante pour n'occuper que la 3^{ème} place en 2011. Depuis 2016, le sérotype Enteritidis a repris la 1^{ère} place des sérotypes responsables des salmonelloses humaines, cela est principalement dû à une diminution du sérotype Typhimurium. Cette diminution reste inexplicée ; elle n'est pas en lien avec les régions d'isolement, le sexe ou l'âge des cas. Le sérotype de formule antigénique 1,4,[5],12:i:- (variant monophasique de Typhimurium) a pris une place prépondérante parmi les isolements de *Salmonella* en France, en constante augmentation d'année en année depuis 2008 (principalement dû à la dissémination internationale d'un clone ST34 multirésistant aux antibiotiques). Le sérotype Kentucky est aussi un sérotype émergent, associé à des souches hautement résistantes aux fluoroquinolones. D'autres sérotypes correspondent à une source connue pour lesquelles des mesures ne sont pas encore efficaces, comme Chester (filiale aviaire au Maroc), Dublin (filiale bovine), Derby (filiale porcine). Le sérotype Newport voit son effectif doubler, passant de 154 souches en 2017 à 296 en 2018, ainsi que le sérotype Napoli passant de 76 souches en 2017 à 165 souches en 2018.

Ces fluctuations peuvent en partie être imputées aux 1 600 souches reçues et non sérotypées en 2017 mais pas totalement. L'augmentation du sérotype Newport est dû quant à lui à une épidémie de 132 cas après consommation de fromage au lait cru de chèvre du type Pélardon en 2018 (cf. chapitre « 2.3 Alerte »).

2.2.2.1.3 Proportion de souches de *Salmonella* par rapport aux « fiches information »

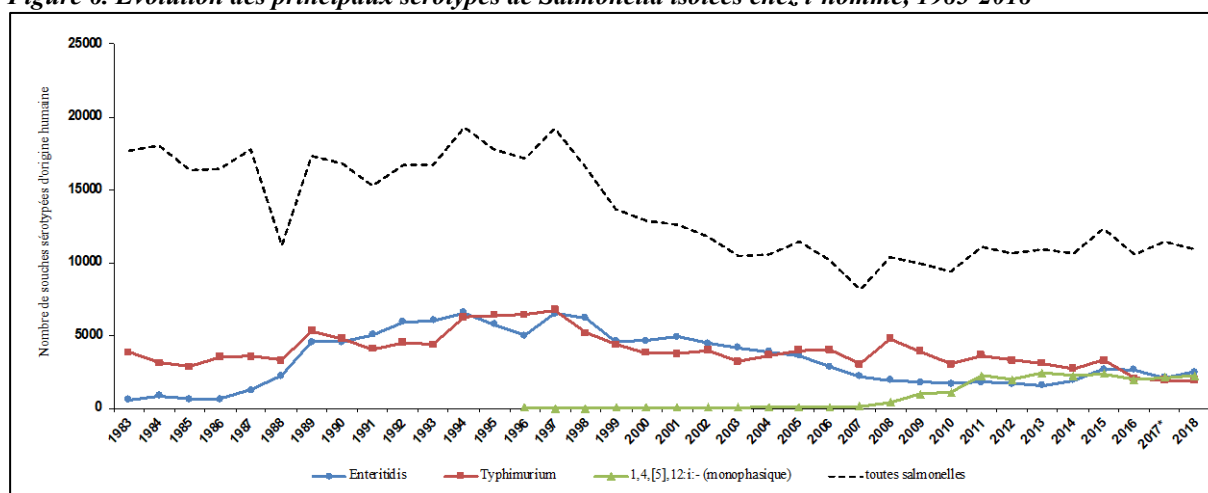
La part représentée par les « fiches information » (ou comptes rendus de sérotypage, soit envoyés au CNR-ESS soit déclaré en ligne sur la plate-forme internet du CNR-ESS) dans le total des isollements de *Salmonella* enregistrés au CNR-ESS a diminué depuis 2005, mais une légère remontée est observée depuis 2016. En 2018, elle représente 16 % des enregistrements (tous sérotypes confondus) alors qu'elle était supérieure à 40 % avant 2005. Les sérotypes Typhimurium et Enteritidis représentent à eux seuls 82 % des « fiches information » reçues au CNR-ESS. En 2018, une augmentation importante du nombre de souches identifiées uniquement comme *Salmonella* spp. ou partiellement sérotypées a été constatée. Cette tendance est vraisemblablement en rapport avec la difficulté de poursuivre une activité de sérotypage dans le cadre de l'accréditation ISO-15189 des laboratoires d'analyses médicales.

2.2.2.1.4 Évolution de la répartition des principaux sérotypes en France

Tableau 3. Nombre d'isolements annuels des principaux sérotypes en France de 2014 à 2018

	Tous sérotypes	Enteritidis	Typhimurium	<u>1</u> , 4,[5],12:i:-	Typhi
Souches de <i>Salmonella</i> reçues et (séro)typées en :					
2014	9 077	1 507	1 575	2 235	15
2015	10 481	2 159	2 017	2 338	129
2016	9 045	2 099	1 192	1 942	150
2017	8 159	1 570	953	2 049	149
2018	9 145	1 950	997	2 245	157
Total 2014-2018	45 907	9 285	6 734	10 809	600
Comptes-rendus (« Fiches information ») reçus en :					
2014	1 603	402	1 145	5	3
2015	1 876	537	1 271	32	0
2016	1 500	552	879	16	7
2017	1 728	539	966	52	10
2018	1 781	536	936	6	2
Total 2014-2018	8 488	2 566	5 197	111	22
Total souches (séro)typées :					
2014	10 680	1 909	2 720	2 240	153
2015	12 357	2 696	3 288	2 370	129
2016	10 545	2 651	2 071	1 958	157
2017*	9 887	2 109	1 919	2 101	159
2018	10 926	2 486	1 933	2 251	159
Total 2014-2018	54 395	11 851	11 931	10 920	757
Proportion comptes-rendus de sérotypage/total des souches (séro)typées (%) en :					
2014	15	21,1	42,1	0,2	2
2015	15,2	19,9	38,6	1,6	0
2016	14,2	20,8	42,4	0,8	4,4
2017	17,5	25,6	50,3	2,5	6,3
2018	16,3	21,6	48,4	0,3	1,3

* En 2017, 1 600 souches reçues n'ont pas été (séro)typées. Le nombre total de souches enregistrées en 2017 était donc de 11 487

Figure 6. Évolution des principaux sérotypes de *Salmonella* isolées chez l'homme, 1983-2018

* En 2017, 1 600 souches reçues et non typées au CNR-ESS sont comptabilisées dans l'activité. Pour toutes les autres années, toutes les souches reçues ont été typées

2.2.2.1.5 Répartition des *Salmonella* par sites de prélèvement

Tableau 4 : Répartition par sites de prélèvement de 2014 à 2018

Sites de prélèvement*	2014	2015	2016	2017	2018
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Selles	8 203 (90,4)	9 509 (90,7)	7 915 (87,5)	7 095 (86,9)	8 046 (88,0)
Sang	411 (4,5) ¹	499 (4,8) ²	616 (6,8) ³	628 (7,7) ⁴	648 (7,1) ⁵
Urines	329 (3,6)	320 (3,1)	380 (4,2)	327 (4,0)	348 (3,8)
Pus	6 (< 0,1)	28 (0,3)	9 (0,1)	3 (0,1)	9 (0,1)
Bile	5 (< 0,1)	8 (0,1)	9 (0,1)	8 (0,1)	5 (0,05)
LCR	4 (< 0,1)	3 (< 0,1)	3 (< 0,1)	1 (< 0,1)	2 (0,02)
Autres	93 (1,0)	93 (0,9)	100 (1,1)	96 (1,2)	83 (0,9)
Inconnu	26 (0,3)	21 (0,2)	13 (0,1)	1 (< 0,1)	4 (0,1)

* Souches reçues et (séro)typées au CNR-ESS

^{1,2,3,4,5} Le pourcentage tient compte des souches de (séro)types Typhi et Paratyphi A.

¹ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 3,2.

² Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 3,7.

³ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,2.

⁴ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 6,0.

⁵ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,4.

2.2.2.1.6 Distribution des *Salmonella* par classes d'âge

Tableau 5 : Distribution par tranches d'âge de 2014 à 2018

	2014	2015	2016	2017	2018
Classes d'âge*	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<1 an	527 (5,8)	605 (5,8)	498 (5,5)	514 (6,3)	612 (6,7)
1-5 ans	2 194 (24,2)	2 493 (23,8)	1 976 (21,9)	1 939 (23,8)	1 826 (20,0)
6-14 ans	1 268 (14,0)	1 481 (14,1)	1 143 (12,6)	974 (11,9)	1 177 (12,9)
15-64 ans	3 558 (39,2)	4 118 (39,3)	3 749 (41,5)	3 226 (39,5)	3 798 (41,5)
≥65 ans	1 524 (16,8)	1 763 (16,8)	1 671 (18,5)	1 506 (18,5)	1 731 (18,9)
Inconnu	6 (< 0,1)	21 (0,2)	8 (< 0,1)	0	1 (< 0,1)

* Souches reçues et (séro)typées au CNR-ESS

2.2.2.1.7 Origine géographique des souches de *Salmonella* reçues

La donnée « code postal du patient » est présente pour 7 471 souches de *Salmonella* reçues et sérotypées au CNR-ESS en 2018 (soit 81,7 % versus 78,5 % en 2017). Pour les 1 674 souches non renseignées, le code postal du laboratoire expéditeur a été pris par défaut.

En 2018, le CNR-ESS a typé 8 552 souches en provenance de France métropolitaine (soit 93,5 % des souches reçues et typées) et 592 des départements et territoires d'outre-mer. Une souche a été reçue de Belgique dans le cadre de l'investigation d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) ayant eu lieu en France (Tableau 6).

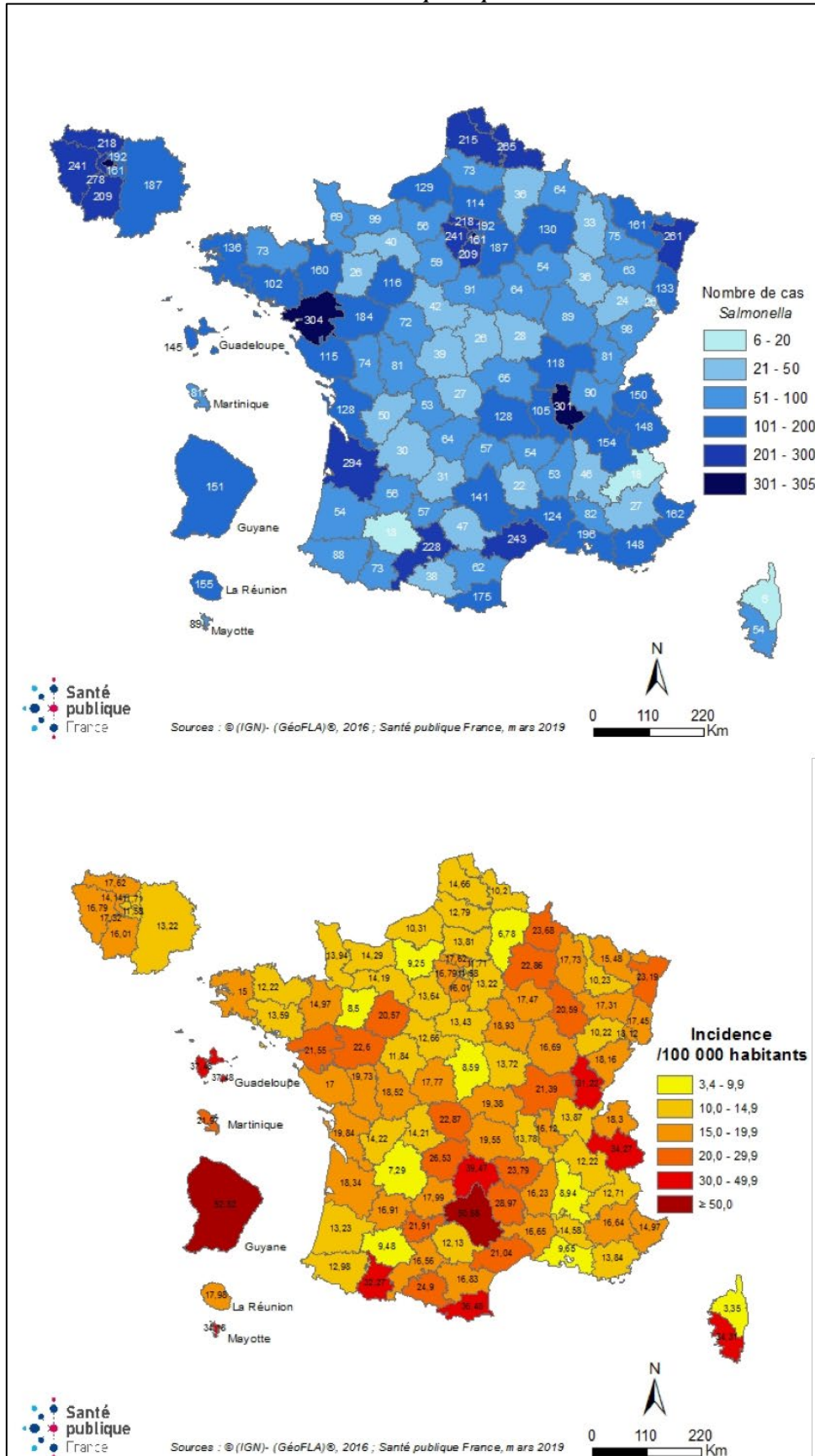
Tableau 6 : Nombre de souches de Salmonella reçues par régions de 2014 à 2018

	2014* N(nBio)	2015* N(nBio)	2016** N [%]	2017** N [%]	2018** N [%]
Auvergne-Rhône-Alpes 01-03-07-15-26-38-42-43-63-69-73-74	1 236 (363)	1 432 (67)	1 182 [13,1]	959 [11,8]	979 [10,71]
Bourgogne-Franche-Comté 21-25-39-58-70-71-89-90	365 (18)	444 (2)	387 [4,3]	293 [3,6]	421 [4,6]
Bretagne 22-29-35-56	224 (4)	239 (0)	250 [2,8]	292 [3,6]	348 [3,8]
Centre-Val de Loire 18-28-36-37-41-45	220 (1)	273 (0)	238 [2,6]	245 [3,0]	241 [2,6]
Corse 2A-2B	56 (1)	57 (6)	64 [0,7]	4 [0,5]	60 [0,7]
Ile-de-France 75-77-78-91-92-93-94-95	1 611 (6)	1 845 (7)	1 661 [18,4]	1 538 [18,9]	1 566 [17,1]
Grand-Est (Alsace + Champagne-Ardennes + Lorraine) 67-68-08-10-51-52-54-55-57-88	799 (12)	930 (6)	791 [8,8]	670 [8,2]	869 [9,5]
Hauts-de-France (Nord-Pas-de-Calais + Picardie) 02-60-80-59-62	652 (8)	768 (5)	549 [6,1]	575 [7,1]	574 [6,3]
Normandie (Haute + Basse Normandie) 14-27-50-61-76	412 (22)	439 (8)	371 [4,1]	377 [4,6]	295 [3,2]
Nouvelle-Aquitaine (Aquitaine + Poitou-Charentes + Limousin) 16-17-19-23-24-33-40-47-64-79-86-87	794 (3)	879 (1)	831 [9,2]	741 [9,1]	883 [9,7]
Occitanie (Languedoc-Roussillon + Midi-Pyrénées) 09-11-12-30-31-32-34-46-48-65-66-81-82	1 148 (8)	1 309 (5)	934 [10,3]	751 [9,2]	1 005 [11]
Pays de la Loire 44-49-53-72-85	520 (5)	546 (0)	546 [6,0]	548 [6,7]	700 [7,7]
Provence-Alpes-Côte d'Azur 04-05-06-13-83-84	468 (18)	668 (2)	526 [5,8]	501 [6,1]	611 [6,7]
TOTAL Métropole	8 505	9 829	8 330	7 533	8 552
Monaco	7 (0)	11 (0)	8[0,1]	9 [0,1]	8 [0,1]
Guadeloupe	74 (3)	92 (0)	141[1,6]	102 [1,3]	145 [1,6]
Martinique	103 (12)	98 (0)	87[1,0]	59 [0,7]	81 [0,9]
Guyane	228 (0)	251 (0)	276[3,1]	242 [3,0]	151 [1,7]
La Réunion	81 (0)	100 (0)	99[1,1]	103 [1,3]	93 [1]
Mayotte	41 (0)	73 (0)	62[0,7]	77 [0,9]	89 [1]
Polynésie française	22 (0)	21 (0)	27[0,3]	26 [0,3]	22 [0,2]
St Pierre et Miquelon	0	1 (0)	2[0,02]	0	0
Nouvelle-Calédonie	16 (0)	5 (0)	13[0,1]	8 [0,1]	3 [0,03]
Belgique					1

* Total des souches reçues (souches envoyées par Biomnis)

** Total des souches reçues [%]

Figure 7. Nombre de cas et incidence des salmonelloses par départements en 2018



(Cartes réalisées par Santé publique France, à partir des données du CNR-ESS, mars 2019, Edith Laurent)

2.2.2.1.8 Le sérotype Typhi

En 2018, 157 souches de *S. enterica* sérotype Typhi isolées chez **149** patients ont été répertoriées au CNR-ESS. Le tableau 7 précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignements, le lieu de la contamination probable des cas entre 2014 et 2018.

Tableau 7 : Origine géographique des souches de sérotype Typhi (une par patient) de 2014 à 2018

Pays de contamination	Nombre de patients				
	2014	2015	2016	2017	2018
<i>Afrique</i>	26	14	28	22	23
Afrique (sans précision)		1	3		2
Afrique du Sud					1
Algérie			3		1
Angola	3				
Bénin				1	
Burkina Faso	1				1
Cameroun		1	1		
Cap-Vert					
Comores	2		1		3
Congo					
Côte d'Ivoire	2		1		1
Egypte					1
Ghana	1				
Guinée			2	2	3
Madagascar			2	3	2
Mali	2	3	5	3	3
Maghreb (sans précision)		1			
Maroc	11	7	3	6	4
Mozambique		1			
Niger			1		
République Centrafricaine	1		1		1
Sénégal	3		3	4	
Sierra Leone				1	
Tchad			1	1	
Togo			1		
Tunisie				1	
<i>Asie</i>	43	18	30	30	40
Asie (sans précision)				2	1
Bangladesh	2		3	5	2
Chine				1	
Inde	28	12	21	17	14
Indonésie	3		1		
Irak					1
Liban	1				
Népal				1	
<i>(continue sur la page suivante)</i>					

<i>(suite)</i>					
Pays de contamination	Nombre de patients				
	2014	2015	2016	2017	2018
Pakistan	8	5	4	2	19
Qatar					1
Syrie					1
Sri Lanka	1	1		1	1
Thaïlande				1	
Viêt-Nam			1		
<i>Amériques</i>		5	3	7	11
Amériques (sans précision)					1
Bésil					3
États Unis		1			
Haïti		2		2	
Mexique		2	2	5	7
Pérou			1		
<i>Europe</i>	1	4	3	2	1
Allemagne			1		
Bulgarie				1	
Chypre	1				
Espagne		1	1		
Italie		1		1	
Pays-Bas		1			
Pologne		1			
Portugal			1		
Royaume-Uni					1
<i>DOM-TOM</i>	34	58	43	49	52
Guadeloupe	1				
Guyane	6	9	7	8	2
Martinique					1
Mayotte	25	41	33	40	47
Nouvelle-Calédonie		1			
La Réunion	2	7	3	1	2
<i>France métropolitaine</i>					3
<i>Pays de contamination non précisé</i>	35	28	36	27	19
TOTAL	139	127	143	137	149

En 2018, le CNR-ESS a observé une augmentation importante du nombre de souches de *S. enterica* sérotype Typhi reçues avec notion de voyage au Pakistan.

2.2.2.1.9 Le sérotype Paratyphi A

En 2018, 37 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi A ont été répertoriées au CNR-ESS pour 35 patients. Le tableau 8 précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignements, le lieu de la contamination pour les cas entre 2014 et 2018.

Tableau 8 : Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi A (une par patient) de 2014 à 2018

Pays de contamination	Nombre de patients				
	2014	2015	2016	2017	2018
<i>Afrique</i>	2	2	8	3	4
Égypte	1				
Madagascar			1		
Mali				1	2
Maroc				1	
Maurice					1
Mauritanie			1		
Sénégal	1	2	5	1	1
Tchad			1		
<i>Asie</i>	31	16	28	16	23
Asie (sans précision)		1	2		1
Afghanistan	1				
Bangladesh		1	1	1	1
Cambodge	14	3	4	3	9
Chine			1		
Hong-Kong				1	
Inde	4	5	13	9	10
Indonésie		1			
Laos	1		1		
Myanmar		2	3		
Népal	1				
Pakistan	1		3		1
Sri Lanka	1			1	1
Thaïlande	8	3		1	
<i>Pays de contamination non précisé</i>	13	9	12	7	8
TOTAL	46	27	48	26	35

Une augmentation importante de cas de fièvres paratyphoïdes à *S. enterica* sérotype Paratyphi A avait été notée chez des touristes français de retour du Cambodge en 2013 et 2014 (Tourdjman *et al.* Euro Surveill 2013, Vlieghe *et al.* Euro Surveill 2013, Kuijpers *et al.* Microb Genom 2016, Kuijpers *et al.* PLoS Negl Top Dis 2017). En 2018, une augmentation du nombre de cas (n = 9) a été observée de nouveau.

2.2.2.1.10 Le sérotype Paratyphi B

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). Les souches de sérotype Paratyphi B (dt-) sont associées à une pathologie de type fièvre paratyphoïde et celles de sérotype Paratyphi B biotype Java (dt+) sont associées à de simples diarrhées. Actuellement, le WGS permet de différencier les souches dt- des souches dt+. Pour les souches analysées par la méthode phénotypique, la détermination du caractère dt- ou dt+ nécessite jusqu'à sept jours d'analyse.

En 2018, 15 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi B (dt-) ont été répertoriées au CNR-ESS pour 14 patients, et 39 souches de sérotype Paratyphi B biotype Java (dt+) pour 35 patients.

Le tableau 10 précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignements, le lieu de la contamination pour les cas de Paratyphi B (dt-) identifiés entre 2014 et 2018.

Tableau 9 : Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi B (dt-) (une par patient) de 2014 à 2018

Pays de contamination	Nombre de patients				
	2014	2015	2016	2017	2018
<i>Afrique</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>1</i>
Maroc	1		1		1
Tunisie				1	
<i>Asie</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>3</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
Indonésie			1		
Irak					1
Bangladesh					1
Turquie		1	2	2	1
<i>Amérique</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>4</i>
Amérique (sans précision)			1		
Argentine				1	
Bolivie				3	1
Pérou	1	1	2		3
<i>Pays de contamination non précisé</i>	<i>7</i>	<i>7</i>	<i>7</i>	<i>7</i>	<i>6</i>
TOTAL	9	9	14	14	14

2.2.2.1.11 Foyers de cas groupés à *Salmonella*

En 2018, 422 épisodes de cas groupés ont été identifiés. Les épisodes de cas groupés (foyers) concernaient un minimum de 829 cas (316 pour 572 cas en 2017). Une souche a été reçue pour 624 cas des 422 foyers. Le nombre de cas impliqués était un minimum car le nombre de cas par foyer n'était pas précisé pour 248 des 422 foyers signalés au CNR-ESS. Tous les cas d'un foyer n'ont donc pas forcément eu une souche envoyée au CNR-ESS. Pour compter le nombre de cas impliqués dans les foyers, le CNR-ESS retient le chiffre indiqué sur la « fiche information ».

Nombre de sérotypes de *Salmonella* impliqués : 62

Tableau 10 : Foyers de cas groupés de *Salmonella* de 2014 à 2018

	Foyers de cas groupés signalés à <i>Salmonella</i> au CNR-ESS en :				
	2014	2015	2016	2017	2018
Nombre total de foyers	224	272	255	316	422
Sérotype causal :					
Enteritidis	65	80	80	92	105
Typhimurium	47	74	43	32	56
1,4,[5],12:i:-	64	64	57	86	113

Les 422 épisodes de cas groupés ont été observés dans différents contextes :

Foyers hospitaliers : 20 (> 3 cas, 19 foyers sans nombre de cas précisés)

Foyers familiaux : 276 (> 524 cas)

Écoles : 11 (> 69 cas)

Crèches : 5 (> 9 cas)

Colonie de vacances : 1 (nombre de cas non précisé)

Autre (sans précision) : 48 (> 91 cas)

TIAC : 61 (> 135 cas)

Tableau 11 : Récapitulatif des différents foyers de cas groupés à *Salmonella* de 2014 à 2018

Types de foyers de cas groupés	2014 n épisodes (n cas)	2015 n épisodes (n cas)	2016 n épisodes (n cas)	2017 n épisodes (n cas)	2018 n épisodes (n cas)
Foyers familiaux	190 (782)	219 (711)	206 (686)	193(> 444)	276 (> 524)
Collectivité	2 (5)	7 (41)	3 (23)	2 (n inconnu)	-
Travail		3 (9)		2 (> 12)	-
Écoles	3 (0)	1 (3)	5 (28)	9 (> 24)	11 (> 69)
Crèches		1 (5)		9 (> 17)	5 (> 9)
Foyers hospitaliers	4 (12)	3 (9)	7 (17)	7 (> 11)	20 (> 3)
Autres*	16 (76)	35 (347)	34 (147)	94 (> 214)	110 (> 227)
Nombre de sérotypes de <i>Salmonella</i> impliqués	42	37	40	57	62
Nombre total d'épisodes notifiés	224	272	255	31	422
Nombre de cas appartenant à des épisodes de cas groupés	944	1142	901	> 572	> 829

* Le laboratoire déclarant a indiqué : « autres groupes de cas », « TIAC », ou « colonie de vacances »

2.2.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

Cette activité régulière permet de suivre les profils de résistance aux antibiotiques parmi une sélection d'isolats cliniques de *Salmonella*. Pour 2018, 1 027 souches (soit 11 % des souches reçues au CNR-ESS, en considérant une seule souche par patient), ont été analysées par microdilution en plaque (CMI-Sensititre). La sélection a été réalisée par tirage au sort pour les sérotypes non étudiés exhaustivement. Une analyse a été effectuée chez :

- 5 % des souches des sérotypes les plus fréquents : **Enteritidis** (n = 95) ; **1,4,[5],12:i:-** (n = 112)
- 10 % des souches du sérotype **Typhimurium** (n = 95)
- 50 % des souches des sérotypes suivants : **Newport** (n=142) ; **Infantis** (n = 127) ; **Derby** (n = 66) ; **Dublin** (n = 44) ; **Virchow** (n = 32) ; **Livingstone** (n = 27) ; **Hadar** (n = 25) ; **Montevideo** (n = 22) ; **Oranienburg** (n = 18) ; **Anatum** (n = 9) ; **Teitelkebir** (n = 9) ; **Senftenberg** (n = 8) ; **Eboko** (n = 6)
- 100 % des souches pour certains sérotypes comme : **Kentucky** (n = 177) et **Paratyphi B biotype Java** (n = 35)

L'étude de la résistance aux antibiotiques par antibiogrammes classiques sur milieu gélosé a été réalisée pour toutes les souches (une par patient) des sérotypes **Typhi** (n = 135), **Paratyphi A** (n = 34) et **Paratyphi B (dt-)** (n = 14).

2.2.3.1 Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de *Salmonella*

Les Abréviations utilisées dans ce rapport sont : AMP, ampicilline ; CTX, céfotaxime ; CAZ, ceftazidime ; FEP, céfépime ; FOX, ceftoxime ; IMI, imipénème ; EPM, ertapénème ; MER, méropénème ; STR, streptomycine ; GEN, gentamicine ; NAL, acide nalidixique ; CIP, ciprofloxacine ; SMX, sulfamides ; TMP, triméthoprimé ; CHL, chloramphénicol ; TET, tétracycline ; AZI, azithromycine ; COL, colistine. Les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM-EUCAST ; communiqué 2018) ont été suivies.

Tableau 12 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de *Salmonella*

Antibiotique	% de souches résistantes	
	2017 (n = 986) (N = 9 759)	2018 (n = 1 210) (N = 9 145)
Ampicilline	33,9	26,3
Cefotaxime	1,1	1,4
Méropénème	0	0
Gentamicine	2,2	9
Acide nalidixique	14,7	25,8
Ciprofloxacine	14,7	8,3 (27,5)*
Azithromycine	0,1	0,6
Chloramphénicol	8,6	5,5
Sulfamides	39,2	30
Triméthoprimé	6,4	6,0
Tétracycline	37,0	31
Colistine	4,9	8,5

n : Nombre de souches étudiées

N : Nombre de souches reçues au CNR-ESS (une seule par patient).

* : 13,6 % des souches ont une CMI > 0,5 mg/L ; 27,4 % des souches ont une CMI > 0,06 mg/L

Le CA-SFM, en intégrant les recommandations européennes de l'EUCAST, considère, chez les *Salmonella*, la catégorie « résistant » pour les souches présentant une CMI de la ciprofloxacine $> 0,06$ mg/L. Cela regroupe les anciennes catégorisations CIP_{SD} (à sensibilité diminuée à la ciprofloxacine, $0,06 < \text{CMI} \leq 0,5$) et CIP_R (résistante, ≥ 1 mg/L). Nous souhaitons pouvoir toujours faire la distinction et utiliserons le terme de « sensibilité diminuée » (CIP_{SD}) pour une CMI de la ciprofloxacine comprise dans l'intervalle suivant ($0,06 < \text{CMI} \leq 0,5$) et « résistance de haut niveau » (CIP_{HN}) pour $\text{CMI} \geq 1$ mg/L.

Concernant la résistance à la colistine, ($\text{CMI} \geq 4$ mg/L), elle a été observée principalement chez deux sérotypes — Enteritidis (25/95, 26 % des souches Enteritidis testées), Dublin (39/44, 89 %) —, mais aussi chez quatre souches du sérotype Typhimurium (4/95, 4,2 %), quatre souches du variant monophasique (4/11, 3,6 %), quatre souches du sérotype Newport (4/142, 2,8 %), quatre souches du sérotype Virchow (4/32, 12,5 %), deux souches du sérotype Kentucky (2/163, 1,2 %), deux souches du sérotype Oranienburg (2/18, 11,1 %), une souche du sérotype Montevideo (1/22, 4,5 %), une souche du sérotype Anatum (1/9, 11,1 %) et une souche du sérotype Telelkebir (1/9, 11,1 %). Cependant, aucun gène de résistance connu n'a été pour l'instant identifié, à l'exception du gène *mcr-1* chez une souche du sérotype Kentucky ($\text{CMI} = 4$ mg/L) et une souche du variant monophasique de Typhimurium ($\text{CMI} = 8$ mg/L).

Les données globales de la résistance sont indiquées dans le tableau 12. Il est à noter que les données 2017 sont issues d'une analyse de 986 souches sélectionnées au hasard sur la totalité des souches de l'année, alors qu'en 2018 la sélection s'est effectuée sur des sérotypes déterminés.

2.2.3.2 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium : 1993 – 2018

Tableau 13 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhimurium

Antibiotique	% de souches résistantes							
	1993 (n=297) (N=1 593)	1997 (n=250) (N=2 801)	2002 (n=320) (N=1 756)	2005 (n=100) (N=1 767)	2008 (n=102) (N=2 714)	2010 (n=100) (N=1 714)	2016 (n=141) (N=1 192)	2018 (n=95) (N=978)
Aminopénicillines ¹	55,2	68,4	64,5	60	61,8	70	49,6	87,5
C3G ²	0	0	0,3	1	2	6	3,5	4,2
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	0	0	0	0
Gentamicine	0,3	0,7	0,3	0	1	4	0,7	3,2
Acide nalidixique	3	3,6	4	8	0	15	9,9	9,5
Ciprofloxacine	0	0	0,3	0	0	0	0	1,1 (13,7) ³
Sulfamides	58,9	70	68	61	57,8	71	60,3	59,0
Triméthoprime	0	6	5,3	10	7,8	11	17,0	10,5
Chloramphénicol	44,1	61,2	57	42	39,2	54	30,5	27,4
Tétracycline	69,6	83,2	71	65	60,8	75	51,1	52,6
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	0	1,4	1,1
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0,7	4,2

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

¹ : Amoxicilline jusqu'en 2016, ampicilline à partir de 2017

² : Céphalosporines de 3ème génération (ceftriaxone jusqu'en 2016, céfotaxime à partir de 2017)

³ : CMI $> 0,5$ mg/L (CMI $> 0,06$ mg/L)

En 2018, trois souches de sérotype Typhimurium produisaient des béta-lactamases de spectre étendu (BLSE) : une souche contenait le gène *bla*_{CTX-M-1} (profil complet AMP-CTX-CAZ-FEP-SMX-TET, sans notion de voyage) ; deux souches avaient le gène *bla*_{CTX-M-9} (une souche AMP-CTX-CIP_{SD}-SMX-TMP-TET sans notion de voyage, et une souche AMP-CTX-CIP_{SD}-SMX-C-TET avec notion de voyage au Maroc). Une souche produisait une céphalosporinase et contenait le gène *bla*_{CMY-4} (AMP-CTX-CAZ-FOX).

Parmi les 12 souches de sérotype Typhimurium ayant une résistance à bas niveau à la ciprofloxacine (CIP_{SD}), une mutation ponctuelle sur *gyrA* a été trouvée chez 7 souches, des gènes de type *qnr* chez 3 souches (*qnrA1*, *qnrS1*), et une mutation de *gyrA* et la présence du gène *qnrB19* chez une souche.

Aucune souche de sérotype Typhimurium n'était résistante aux carbapénèmes, à l'azithromycine ou à la colistine.

2.2.3.3 Résistance aux antibiotiques du variant 1,4,[5],12:i:- (monophasique) : 2007 – 2018

Tableau 14 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype 1,4,[5],12:i:- (monophasique)

Antibiotique	% de souches résistantes							
	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)	2018 (n=112) (N=2196)
Aminopénicillines ¹	64	83,6	89,1	89,5	89,9	86,7	87,2	87,5
C3G ²	0	1,8	3	0	0	0	2,5	0
Carbapénèmes	0	0	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	2	3,6	7,9	0	0	0	2,5	2
Acide nalidixique	0	1,8	1	0	0,9	0	5,1	2,7
Ciprofloxacine	0	0	1	0	0	0	0	0,9 (2,7) ³
Sulfamides	40	81,8	87,1	91,4	89,9	83,8	91,3	86,6
Triméthoprime	16	25,5	19,8	3,8	2,7	6,7	12,2	5,4
Chloramphénicol	20	10,9	8,9	2,9	0,9	3,8	6,6	3,6
Tétracycline	90	90,9	92,1	93,4	95,4	86,7	84,7	91
Azithromycine	nt	nt	0	0	0	0	1,5	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	0	4,1	3,6

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

¹ : Amoxicilline jusqu'en 2016, ampicilline à partir de 2017

² : Céphalosporines de 3ème génération (ceftriaxone jusqu'en 2016, céfotaxime à partir de 2017)

³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2018, 98 souches sur les 112 analysées (87,5 %) étaient résistantes à l'ampicilline, et parmi elles, 95 avaient le profil de multirésistance AMP-SMX-TET (présence des gènes *bla*_{TEM-1B}, *sul2* et *tet(B)*). Il s'agit du profil retrouvé parmi les souches des trois principales épidémies à *Salmonella* 1,4,[5],12:i:- (monophasique) recensées en France en 2018 : « UI-483 – Cluster A », « UI-484 – Cluster B », « UI-532 » en Occitanie.

Quatre souches de ce sérotype étaient résistantes à la colistine (CMI ≥ 4 mg/L) mais seulement une (CMI = 8 mg/L) possédait le gène *mcr-1*. Elle était par ailleurs multirésistante aux antibiotiques, avec le profil AMP-GEN-SMX-TMP-TET-COL (aucune notion de voyage).

Aucune souche du sérotype 1,4,[5],12:i:- n'était résistante à l'azithromycine.

2.2.3.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis : 1993 – 2018

Tableau 15 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Enteritidis

Antibiotique	% de souches résistantes							
	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)	2016 (n=284) (N=2099)	2018 (n=95) (N=1917)
Aminopénicillines ¹	0	6,8	6,1	12	2	6,2	4,2	7,4
C3G ²	0	0	0	0	0	1	0,3	0
Carbapénèmes	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	16,5	18,9
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	0	1,1 (22,1) ³
Sulfamides	0	3,9	0	2	1	0	11,3	5,3
Triméthoprim	0	2,3	0	2	0	0	0,7	1,1
Chloramphénicol	0	0,7	0	0	0	0	0,7	1,1
Tétracycline	2,8	3,4	3	1	0	2,1	2,8	6
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	0	0	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	18,6	26,3

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

¹ : Amoxicilline jusqu'en 2016, ampicilline à partir de 2017² : Céphalosporines de 3ème génération (ceftriaxone jusqu'en 2016, céfotaxime à partir de 2017)³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

Il est à noter le pourcentage élevé de souches résistantes à la colistine, sans qu'il ne soit possible d'identifier des gènes de résistance de type *mcr*.

2.2.3.5 Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky : 2001 – 2018

Tableau 16 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Kentucky

Antibiotique	% de souches résistantes								
	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)	2016 (n=164) (N=167)	2018 (n=163) (N=166)
Aminopénicillines ¹	21,4	22,6	21,9	25,5	57,1	69,4	66	79,3	70,6
C3G ²	0	0	0	0	0	4,2	1,6	1,8	3,7
Carbapénèmes	0	0	0	0	0	0	0	0	1,2
Gentamicine	21,4	25,8	18,8	16,4	47,3	59,6	49,7	50,6	56,4
Acide nalidixique	21,4	25,8	25	32,7	77,7	84,5	83,7	89,6	69,9
Ciprofloxacine	0	3,2	15,6	30,9	74,6	85,1	82,7	89,0	88,3 (89,0) ³
Sulfamides	31,8	29	28,1	20	51,6	68,4	54,6	76,8	73,0
Triméthoprim	3,6	3,2	15,6	3,6	4	9,8	8,1	12,2	14,1
Chloramphénicol	0	3,2	9,4	1,8	9,5	5,7	2,1	6,7	6,1
Tétracycline	31,8	35,5	25	23,6	53,2	68,4	62,7	79,9	80,4
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	1,1	3,2	1,8	2,5
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	1,2

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

¹ : Amoxicilline jusqu'en 2016, ampicilline à partir de 2017² : Céphalosporines de 3ème génération (ceftriaxone jusqu'en 2016, céfotaxime à partir de 2017)³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

Le sérotype Kentucky a été étudié en détail au CNR-ESS depuis plus de 10 ans du fait de l'identification au début des années 2000 d'un clone (ST198-X1) multirésistant aux antibiotiques, dont la ciprofloxacine. Différentes études (Weill *et al.* Emerg Infect Dis 2006, Le Hello *et al.* J Infect Dis 2011, Le Hello *et al.* Lancet Infect Dis 2013, Hawkey *et al.* Microb Genomics, in press) ont pu documenter la propagation mondiale et rapide de ce clone à partir de l'Égypte et identifier la volaille comme réservoir de ce clone multirésistant aux antibiotiques.

En 2018, six souches de sérotype Kentucky étaient résistantes aux C3G. Trois souches produisaient une BLSE (la seule souche séquencée sur les trois contenait *bla_{SHV-12}*), une produisait une céphamycine (codée par *bla_{CMY-2}*), et une souche produisait une carbapénèmase (codée par le gène *bla_{OXA-48}*). Cette dernière était résistante à l'ertapénème (CMI = 1 mg) et à la témocilline (CMI > 128 mg/L).

En 2018, deux souches de sérotype Kentucky étaient résistantes à la colistine, et pour l'une d'elles, le gène *mcr-1* a été identifié.

2.2.3.6 Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby : 2000 – 2018

Tableau 17 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Derby

Antibiotique	% de souches résistantes						
	2000 (n=40) (N=142)	2006 (n=50) (N=137)	2009 (n=53) (N=158)	2010 (n=132) (N=166)	2013 (n=81) (N=168)	2014 (n=43) (N=118)	2018 (n=66) (N=131)
Aminopénicillines ¹	2,5	2	13,2	3,8	9,9	4,7	3,0
C3G ²	0	0	11,3	0,8	1,2	0	1,5
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Gentamicine	0	2	3,8	0,8	0	0	3,0
Acide nalidixique	0	2	3,8	6,8	2,5	0	1,5
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	1,5 (4,5) ³
Sulfamides	57,5	76	58,5	56,8	61,7	60,5	42,4
Triméthoprime	5	8	22,6	3,8	7,4	4,7	1,5
Chloramphénicol	2,5	0	5,7	2,3	1,2	7,0	6,1
Tétracycline	55	80	58,5	62,9	61,7	60,5	42,4
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Colistine	55	80	58,5	62,9	61,7	60,5	0

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

¹ : Amoxicilline jusqu'en 2016, ampicilline à partir de 2017

² : Céphalosporines de 3ème génération (ceftriaxone jusqu'en 2016, céfotaxime à partir de 2017)

³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2018, une souche de sérotype Derby produisait une BLSE (codée par *bla_{CTX-M-14}*). Aucune souche n'était résistante aux carbapénèmes, à l'azithromycine ou à la colistine.

2.2.3.7 Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis : 1997 – 2018

Tableau 18 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Infantis

Antibiotique	% de souches résistantes						
	1997 (n=40) (N=179)	2000 (n=40) (N=151)	2006 (n=58) (N=105)	2008 (n=50) (N=92)	2011 (n=58) (N=165)	2014 (n=88) (N=248)	2018 (n=127) (N=259)
Aminopénicillines ¹	2,5	2,5	0	10	3,4	3,4	3,1
C3G ²	0	0	0	0	0	1,1	0,8
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Gentamicine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Acide nalidixique	0	2,5	1,7	8	6,9	17,0	11,0
Ciprofloxacine	0	0	0	2	0	0	0 (11,0) ³
Sulfamides	5	5	0	12	8,6	19,3	12,6
Triméthoprime	5	2,5	0	14	5,2	5,7	1,6
Chloramphénicol	2,5	2,5	1,7	2	0	3,4	3,1
Tétracycline	35	2,5	5,2	20	6,9	18,2	12,6
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	1,6
Colistine	35	2,5	5,2	20	6,9	18,2	0

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

¹ : Amoxicilline jusqu'en 2016, ampicilline à partir de 2017² : Céphalosporines de 3ème génération (ceftriaxone jusqu'en 2016, céfotaxime à partir de 2017)³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2018, une souche de sérotype Infantis produisait une BLSE (codée par *bla*_{CTX-M-32}). Aucune souche n'était résistante aux carbapénèmes ou à la colistine.

2.2.3.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport : 1997 – 2018

Tableau 19 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Newport

Antibiotique	% de souches résistantes							
	1997 (n=40) (N=170)	2000 (n=100) (N=109)	2003 (n=126) (N=138)	2006 (n=88) (N=91)	2008 (n=118) (N=120)	2012 (n=40) (N=118)	2014 (n=53) (N=163)	2018 (n=142) (N=290)
Aminopénicillines ¹	27,5	27	19,8	10,2	6,8	5	5,7	2,8
C3G ²	0	15	17,5	8	4,2	5	0	0,7
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Gentamicine	2,5	4	1,6	0	0,8	0	0	1,4
Acide nalidixique	15	23	1,6	1,1	3,4	2,5	5,7	1,4
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	0	2,1 (4,2) ³
Sulfamides	27,5	29	19,8	11,4	7,6	5	7,5	2,1
Triméthoprime	27,5	10	1,6	3,4	1,7	2,5	3,8	1,4
Chloramphénicol	25	25	15,9	9,1	5,9	2,5	0	0,7
Tétracycline	45	27	19	12,5	9,3	2,5	7,5	2,1
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	2,8

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

¹ : Amoxicilline jusqu'en 2016, ampicilline à partir de 2017² : Céphalosporines de 3ème génération (ceftriaxone jusqu'en 2016, céfotaxime à partir de 2017)³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2018, une épidémie causée par une souche de sérotype Newport sensible à tous les antibiotiques testés a eu lieu en France (132 cas). Ce qui a pour conséquence une diminution apparente de la résistance aux antibiotiques de ce sérotype cette année là.

En 2018, une souche de sérotype Newport produisait une BLSE (souche non séquencée). Elle était par ailleurs résistante à d'autres antibiotiques dont la ciprofloxacine. Quatre souches avaient une CMI ≥ 4 mg/L pour la colistine, mais aucun gène de type *mcr* n'a été mis en évidence dans les génomes.

Aucune souche de sérotype Newport n'était résistante aux carbapénèmes ou à l'azithromycine.

2.2.3.9 Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow : 1997 – 2018

Tableau 20 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Virchow

Antibiotique	% de souches résistantes							
	1997 (n=50) (N=501)	2000 (n=50) (N=239)	2003 (n=100) (N=157)	2004 (n=77) (N=88)	2007 (n=74) (N=79)	2010 (n=57) (N=63)	2014 (n=48) (N=52)	2018 (n=32) (N=67)
Aminopénicillines ¹	26	6	14	20,8	20,3	5,3	12,5	18,8
C3G ²	0	0	3	6,5	4	1,8	0	0
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Gentamicine	0	0	1	2,6	1,4	3,5	6,3	18,8
Acide nalidixique	24	48	35	41,6	43,2	33,3	39,6	50,0
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	0	6,3 (50,0) ³
Sulfamides	12	4	17	31,2	29,7	17,5	18,8	0
Triméthoprine	20	2,4	18	29,9	29,7	8,8	18,8	21,9
Chloramphénicol	6	6	2	5,2	16,2	0	0	0
Tétracycline	24	10	16	23,4	25,7	14	27,1	25,0
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	12,5

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

¹ : Amoxicilline jusqu'en 2016, ampicilline à partir de 2017

² : Céphalosporines de 3ème génération (ceftriaxone jusqu'en 2016, céfotaxime à partir de 2017)

³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2018, la résistance à l'acide nalidixique et la sensibilité diminuée à la ciprofloxacine concernaient 50 % des souches humaines du sérotype Virchow. Quatre souches avaient une CMI à 4 mg/L pour la colistine mais aucun gène de type *mcr* n'a été mis en évidence dans les génomes. Aucune souche n'était résistante aux C3G, aux carbapénèmes ou à l'azithromycine.

2.2.3.10 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi : 1997 – 2018

Tableau 21 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhi

Antibiotique	% de souches résistantes						
	1997 (n=40) (N=170)	2002 (n=40) (N=133)	2005* (n=63) (N=116)	2010* (n=108) (N=109)	2014* (n=99) (N=108)	2016* (n=100) (N=108)	2018 (n=135) (N=149)
Aminopénicillines ¹	0	2,5	8,1	15,7	4,0	17,0	6,7
C3G ²	0	0	0	0	0	0	2,2
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Gentamicine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Acide nalidixique	0	7,5	17,8	38,9	44,4	35,0	38,5
Ciprofloxacine	0	0	0	2,7	8,1	5,0	5,9 (38,5) ³
Cotrimoxazole	5	7,5	7,9	20,4	8,1	15,0	8,1
Chloramphénicol	7,5	7,5	5,9	16,7	6,1	11,0	8,1
Tétracycline	5	7,5	5,9	10,2	2,0	10,0	0,7
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

¹ : Amoxicilline jusqu'en 2016, ampicilline à partir de 2017² : Céphalosporines de 3ème génération (ceftriaxone jusqu'en 2016, céfotaxime à partir de 2017)³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2018, nous avons observé pour la première fois des souches de sérotype Typhi résistantes aux C3G. Il s'agissait de trois souches de génotype 4.3.1 (anciennement H58) productrices de la BLSE CTX-M-15. Deux de ces souches étaient associées avec un séjour au Pakistan et une avec un séjour en Irak. Les deux souches en lien avec le Pakistan correspondaient à celles du clone épidémique décrit dans ce pays depuis 2016 (Klemm *et al.* Mbio 2018).

Sur les neuf souches résistantes à haut niveau à la ciprofloxacine, sept étaient associées à une notion de séjour en Asie (Inde, Pakistan ou Sri Lanka). Pour les deux autres, l'information géographique était manquante. Sur les 42 souches résistantes à l'acide nalidixique et avec sensibilité diminuée à la ciprofloxacine, 32 avaient une notion de séjour à l'étranger, dont 25 en Asie (treize au Pakistan, six en Inde, deux au Bangladesh, une en Irak, une au Qatar, une en Syrie et une dans un pays asiatique non précisé), quatre en Amérique (dont trois au Mexique) ; trois en Afrique (Maroc, Mali et République Centrafricaine)

Sur les 56 souches en provenance des DOM-TOM, seules 6 (10,7 %), toutes de Mayotte, étaient résistantes à l'acide nalidixique (avec sensibilité diminuée à la ciprofloxacine).

Aucune souche de sérotype Typhi n'était résistante aux carbapénèmes, à l'azithromycine ou à la colistine.

2.2.3.11 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A : 2005 – 2018

Tableau 22 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi A

Antibiotique	% de souches résistantes						
	2005 (n=21) (N=33)	2008 (n=41) (N=41)	2010 (n=30) (N=30)	2012 (n=39) (N=39)	2014 (n=43) (N=46)	2016 (n=53) (N=58)	2018 (n=33) (N=34)
Aminopénicillines ¹	0	2,4	0	0	0	3,8	0
C3G ²	0	0	0	0	0	0	0
Carbapénèmes	0	0	0	0	nt	0	0
Gentamicine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Acide nalidixique	71,4	61,9	76,7	64,1	27,9	90,6	78,8
Ciprofloxacine	0	0	3,3	0	0	1,9	0 (78,8) ³
Cotrimoxazole	0	0	0	0	0	1,9	0
Chloramphénicol	0	2,4	0	0	0	1,9	0
Tétracycline	0	2,4	3,3	0	0	1,9	0
Azithromycine	0	nt	0	0	0	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

¹ : Amoxicilline jusqu'en 2016, ampicilline à partir de 2017² : Céphalosporines de 3ème génération (ceftriaxone jusqu'en 2016, céfotaxime à partir de 2017)³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2018, sur les 33 souches de sérotype Paratyphi A analysées, 26 étaient résistantes à l'acide nalidixique et avec sensibilité diminuée à la ciprofloxacine. Pour 17 de ces souches, une notion de séjour à l'étranger précédant les symptômes, était indiquée. Il s'agissait de séjour en Asie pour 14 souches (Inde, n = 7 ; Cambodge, n = 3 ; Pakistan, n = 1 ; Sri Lanka, n = 1 ; Bangladesh, n = 1 ; non précisé, n = 1), en Afrique pour une souche (Sénégal) et dans l'Océan Indien pour deux souches (Comores et Île Maurice). Une souche avec ce phénotype provenait également de l'Île de la Réunion.

Aucune souche de sérotype Paratyphi A n'était résistante aux autres antibiotiques.

2.2.3.12 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B : 2000 – 2018

Les souches du sérotype Paratyphi B sont divisées en deux groupes par le test de fermentation du d-tartrate (dt) : les souches de sérotype Paratyphi B associées à un tableau de fièvre paratyphoïde, dont le test sera négatif (dt-) et les souches de sérotype Paratyphi B biotype Java, associées à un tableau de gastroentérite, dont le test sera positif (dt+).

Tableau 23 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi B

Antibiotique	% de souches résistantes							
	2000 (n=68) (N=75)	2002 (n=78) (N=78)	2006 (n=35) (N=51)	2008 (n=47) (N=51)	2014 (n=41) (N=48)	2016 (n=100) (N=106)	2018 (dt-) (n=14) (N=14)	2018 Java-(dt+) (n=27) (N=35)
Aminopénicillines ¹	5,1	28,2	8,6	8,5	12,2	8,0	0	22,2
C3G ²	0	0	0	0	0	0	0	0
Carbapénèmes	0	0	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	1,5	0	2,9	4,3	4,9	7,0	42,9	0
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	0 (42,9) ³	0 (3,7) ³
Cotrimoxazole	5,1	29,5	8,6	8,5	22,0	11,0	0	3,7
Chloramphénicol	0	7,7	0	2,1	9,8	5,0	0	11,1
Tétracycline	5,1	24,4	8,6	8,5	4,9	3,0	0	14,8
Azithromycine	7,4	25,6	8,6	12,7	4,9	6,0	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

¹ : Amoxicilline jusqu'en 2016, ampicilline à partir de 2017² : Céphalosporines de 3ème génération (ceftriaxone jusqu'en 2016, céfotaxime à partir de 2017)³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2018, six souches de sérotype Paratyphi B (dt-) étaient résistantes à l'acide nalidixique avec sensibilité diminuée à la ciprofloxacine. Pour trois souches une notion de séjour était mentionnée (Pérou pour deux et Maroc pour une). Une autre souche provenait de Martinique et pour une souche de France métropolitaine il était indiqué une absence de voyage.

Aucune souche de sérotype Paratyphi B (dt-) n'était résistante aux autres antibiotiques.

En 2018, la résistance dominante des souches humaines du sérotype Paratyphi B biotype Java (dt+) était celle à l'ampicilline (6 souches, 22 %). Cependant aucune souche n'était résistante aux C3G, aux carbapénèmes, aux aminosides, à l'azithromycine ou à la colistine.

2.2.3.13 Résistance aux antibiotiques d'autres sérotypes

En 2018, des souches de certains sérotypes plus rares (Anatum, Eboko, Hadar, Livingstone, Montevideo, Oranienburg, Senftenberg et Telelkebir) ont été également analysées.

Tableau 24 : Résistances aux antibiotiques des souches cliniques d'autres sérotypes d'intérêt particulier

Antibiotique	% de souches résistantes								
	Anatum (n=9) (N=20)	Dublin (n=44) (N=94)	Eboko (n=6) (N=11)	Hadar (n=25) (N=49)	Livingstone (n=27) (N=57)	Montevideo (n=22) (N=46)	Oranienburg (n=18) (N=37)	Senftenberg (n=8) (N=16)	Telelkebir (n=9) (N=17)
Aminopénicillines ¹	11,1	4,5	0	12,0	3,7	4,5	5,6	0	0
C3G ²	0	0	0	0	3,7	0	0	0	0
Carbapénèmes	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	0	0	0	5,6	0	0
Acide nalidixique	11,1	0	0	80,0	0	4,5	5,6	0	0
Ciprofloxacine	0 (11,1) ³	0 (2,3) ³	0 (0) ³	4 (80,0) ³	0 (3,7) ³	0 (4,5) ³	5,6 (5,6) ³	0 (0) ³	0 (0) ³
Sulfamides	22,2	0	0	4,0	7,4	4,5	5,6	0	11,1
Triméthoprim	0	0	0	4,0	0	0	0	0	0
Chloramphénicol	0	0	0	0	7,4	0	0	0	0
Tétracycline	11,1	6,8	0	72,0	7,4	0	5,6	12,5	0
Azithromycine	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Colistine	11,1	0	0	0	0	4,5	11,1	0	11,1

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

¹ : Amoxicilline jusqu'en 2016, ampicilline à partir de 2017² : Céphalosporines de 3ème génération (ceftriaxone jusqu'en 2016, céfotaxime à partir de 2017)³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

Les différents sérotypes sont globalement relativement sensibles aux antibiotiques, à l'exception du sérotype Hadar, avec un pourcentage élevé de résistance à l'acide nalidixique et à la tétracycline. À noter une souche de sérotype Livingstone productrice de la BLSE CTX-M-14. Cette souche, associée à un séjour en Thaïlande, était également multirésistante avec le profil AMP-CTX-CAZ-FEP-SMX-CHL-TET-CIP_{SD}, dont le séquençage a mis en évidence les gènes : *bla*_{CTX-M-14}, *sul2*, *floR*, *tet(A)* et *qnrS1*.

2.2.3.14 Détection de gènes de résistance par séquençage du génome complet : « Résistome »

Depuis juillet 2018 le séquençage par WGS est devenu la technique de première intention pour le typage des *Salmonella*. La détection directe des gènes de résistance aux antibiotiques est donc possible. Cependant, la présence d'un gène n'implique pas forcément l'expression phénotypique de cette résistance. Ainsi, les informations suivantes sont des indications sur les la distribution et les tendances évolutives des principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les *Salmonella*.

Tableau 25 : Salmonella contenant des gènes de BLSE

Gènes	Sérotypes (n)	
	2017	2018
<i>bla</i> _{CTX-M-1}	4,[5],12:i:- (1) Corvallis (1) Derby (1) Goldcoast (1) Infantis (1)	Typhimurium (1) London (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-3}	Agbeni (1) Derby (1) Mbandaka (1)	Telelkebir (1) Agama (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-9}	Rissen (1) Typhimurium (24)	Typhimurium (13)
<i>bla</i> _{CTX-M-14}	4,[5],12:i:- (3) Kottbus (1) Strathcona (1)	4,[5],12:i:- (1) Typhimurium (1) Derby (1) Livingstone (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-15}	0	Typhi (3) Typhimurium (3) Rissen (2) Agona (1) Hessarek (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-32}	0	Newport (1) Infantis (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-55}	4,[5],12:i:- (2) Give (1) Kentucky (1) Newport (2)	4,[5],12:i:- (1) Meleagridis (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-65}	Infantis (2)	Infantis (3)
<i>bla</i> _{SHV-12}	4,[5],12:i:- (1)	Napoli (1) Kentucky (1)
<i>bla</i> _{TEM-52}	Derby (1)	0

Tableau 26 : Salmonella contenant des gènes de céphalomycinase

Gènes	Sérotypes (n)	
	2017	2018
<i>bla</i> _{AAC-3}	Enteritidis (1)	Typhimurium (1)
<i>bla</i> _{CMY-2}	Typhimurium (2) Derby (1) Kentucky (2) Miami (1) Minnesota (1) Stanley (1)	Typhimurium (2) 63:-:- (1)
<i>bla</i> _{CMY-4}	Typhimurium (2)	Typhimurium (1)
<i>bla</i> _{CMY-48}	0	Typhimurium (1)
<i>bla</i> _{CMY-74}	Derby (1) Typhimurium (1)	0
<i>bla</i> _{DHA-1}	4,[5],12:i:- (1) Kentucky (1)	4,[5],12:i:- (1) Anatum (2) Chester (1)
<i>bla</i> _{DHA-2}	0	Weltevreden (1)
<i>bla</i> _{DHA-4}	0	Sandiego (1)
<i>bla</i> _{DHA-13}	0	Kentucky (1)

Tableau 27 : Salmonella contenant des gènes de carbapénèmase

Gènes	Sérotypes (n)	
	2017	2018
<i>bla</i> _{OXA-48}	Kentucky (3) Poona (1) Postdam (1) Saintpaul (1)	4,[5],12:i:- (1) 48:Z ₄ ,Z ₂₃ :- (1) Derby (1) Enteritidis (2) Kentucky (1) Napoli (1) Typhi (1)
<i>bla</i> _{VIM-1}	0	Typhimurium (1)
<i>bla</i> _{VIM-2}	Kentucky (5)	0
<i>bla</i> _{NDM-1}	Westhampton (1)	0
<i>bla</i> _{NDM-2}	Kentucky (1)	0

Tableau 28 : Salmonella contenant des gènes de résistance à l'azithromycine

Gènes	Sérotypes (n)	
	2017	2018
<i>mph(A)</i>	4,[5],12:i:- (5) Bareilly (1) Blockley (2) Bredeney (1) Enteritidis (2) Indiana (1) Kentucky (2) Newport (2) Rissen (2) Saintpaul (1) Typhimurium (1)	4,[5],12:i:- (2) Blockley (1) Bovismorbificans (1) Brancaster (1) Derby (1) Goldcoast (8) Indiana (2) Infantis (1) Kentucky (5) London (1) Panama (1) Rissen (3) Stanley (1) Typhimurium (4)

Tableau 29 : Salmonella contenant des gènes de résistance à la colistine

Gènes	Sérotypes (n)	
	2017	2018
<i>mcr-1</i>	4,[5],12:i:- (14)	4,[5],12:i:- (7) Kentucky (1) Typhimurium (1)
<i>mcr-3</i>	4,[5],12:i:- (4) Typhimurium (1)	4,[5],12:i:- (2)
<i>mcr-5</i>	0	Typhimurium (1)

2.2.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

2.2.4.1 Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé Publique France

Le CNR-ESS travaille en étroite collaboration avec le département des maladies infectieuses de Santé publique France. Plusieurs types de relevés sont produits :

2.2.4.1.1 Relevés périodiques envoyés à Santé Publique France

Les événements signalés sur les relevés hebdomadaires et déclaration obligatoire en 2018 ont concerné :

- **422 Foyers de cas groupés** d'infections à *Salmonella* signalés par les laboratoires correspondants en 2018 (**316 cas groupés** déclarés en 2017),
- Des 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,
- Des comptes-rendus hebdomadaires suite aux analyses à l'aide d'un algorithme R permettant la détection d'événements épidémiques.

2.2.4.1.2 Relevés annuels

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

2.2.4.1.3 Relevés ponctuels

- Réponses du CNR-ESS à des demandes d'information émanant de Santé Publique France (extraction par sérotype, classe d'âge, localisation géographique...),
- Au cours d'une épidémie, expertise microbiologique, notamment pour l'inclusion de cas dans le groupement épidémique.

2.2.4.2 Contribution aux réseaux de surveillance nationaux, humaine et vétérinaire

Le CNR-ESS collabore 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.

Le CNR-ESS collabore avec des laboratoires scientifiques vétérinaires nationaux tels que l'INRA.

2.2.4.3 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.

L'Unité de Recherche et d'Expertise des Bactéries Pathogènes Entériques a été désignée le 30 novembre 2018 comme Centre Collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé (CCOMS) pour le typage et la résistance aux antibiotiques de *Salmonella*, sous la responsabilité de F.-X. Weill.

Toutes 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 CCOMS.

En 2018, le CNR-ESS a adressé au CCOMS les nouveaux sérotypes, ou nouveaux variants, putatifs suivants :

- Le nouveau sérotype (nom en cours d'homologation) de sous-espèce *enterica* de formule antigénique le nouveau sérotype (nom en cours d'homologation) de sous-espèce *enterica* de formule antigénique 50:z:1,5
- Le nouveau sérotype (nom en cours d'homologation) de sous-espèce *enterica* de formule antigénique 17:y:1,5
- Le nouveau sérotype (nom en cours d'homologation) de sous-espèce *enterica* de formule antigénique 4,12:l,z₁₃:1,5
- Le nouveau sérotype (nom en cours d'homologation) de sous-espèce *enterica* de formule antigénique 6,8:z₄,z₂₃:-
- Le nouveau sérotype (nom en cours d'homologation) de sous-espèce *enterica* de formule antigénique 6,7:z₄,z₂₃:-
- Le nouveau sérotype (nom en cours d'homologation) de sous-espèce *enterica* de formule 16:z:l,w.

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 :

<https://www.pasteur.fr/fr/file/3184/download?token=5-WekyPv>

2.2.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

En 2018, le CNR-ESS a réalisé une enquête sur l'utilisation des kits syndromiques de détection par PCR dans les laboratoires de biologie médicale en France. Le but de l'étude est de mieux comprendre l'évolution des méthodes dans les laboratoires, par rapport à la coproculture comme méthode de référence, et de savoir si le diagnostic par PCR directement sur le produit biologique influe sur la réalisation des coprocultures, et donc *in fine* sur la surveillance microbiologique des salmonelloses humaines. La participation était de 26,4 % des laboratoires interrogés. L'analyse des données est en cours.

2.3 Alerte

Contribution à l'alerte et à l'investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux

En 2018, Santé publique France, en étroite collaboration avec le CNR-ESS a lancé les alertes européennes suivantes :

⇒ *S. enterica* sérotype Agona et poudres de lait infantile (06/12/2017, UI-450)

En 2018, le CNR-ESS a reçu deux souches de *S. enterica* sérotype Agona appartenant au cluster génomique HC10-85289, celui de la souche épidémique du lait infantile de la marque Lactalis de 2017. Une souche était issue d'un nouvel isolement d'un cas déjà connu et pour l'autre souche, il s'agissait d'un nouveau cas mais dont l'isolement de la souche datait de novembre 2017 mais cette souche n'avait alors pas été envoyée au CNR-ESS.

⇒ *S. enterica* sérotype Enteritidis et viande de cheval belge (16/04/2018, UI-470)

En avril 2018, un groupement de neuf cas d'infections à *S. enterica* sérotype Enteritidis ST4641 a été identifié dans le nord de la France. Il s'agissait de deux enfants et sept adultes et l'aliment incriminé était de la viande de cheval contaminée en provenance d'un abattoir en Belgique. Une souche d'origine humaine isolée en Belgique a également été envoyée au CNR-ESS pour comparaison, ce qui a permis de lier des cas humains en Belgique au groupement identifié en France.

Au total, treize cas ont été identifiés en France, avec le dernier cas isolé en novembre 2018 en Hauts-de-France.

⇒ *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:- dit « Cluster A » (05/06/2018, UI-483)

Depuis le début de l'année 2018, une épidémie à *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:- ST34 HC5-111251 est en cours (176 cas en 2018). Elle se poursuit toujours au moment de la rédaction de ce rapport d'activité (avril 2019). La source alimentaire n'est pas encore connue, malgré l'analyse de plusieurs échantillons suspects par l'Anses.

⇒ *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:- dit « Cluster B » (06/06/2018, UI-484)

En 2018, une épidémie à *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:- ST34 a été identifiée. Elle concernait 41 cas (dernier cas en octobre 2018) et la source de contamination était un type de saucisse sèche fabriquée en Espagne (« fuet »), mais commercialisée uniquement dans le sud de la France. Trois échantillons alimentaires ont été analysés par WGS au CNR-ESS, ce qui a permis de confirmer leur similarité avec les souches d'origine humaine.

⇒ *S. enterica* sérotype Newport et fromage de type Pélardon (23/08/2018, UI-503)

En 2018, plusieurs TIAC familiales survenues pendant le mois d'août 2018 ont été associées à la consommation de fromage au lait cru de chèvre de type Pélardon. Au total, 132 cas français, plus trois cas en Écosse étaient causés par la souche épidémique, *S. enterica* sérotype Newport ST118 HC5-133068. La dernière souche française de cet épisode a été isolée dans la première semaine de septembre 2018.

⇒ *S. enterica* sérotype Enteritidis et fromage de type Reblochon (25/11/2018, UI-527)

Un regroupement de souches de *S. enterica* sérotype Enteritidis ST11, HC5-147767 a été identifié par le CNR-ESS entre septembre et octobre 2018. Les enquêtes épidémiologiques ont permis d'incriminer du fromage de type Reblochon. Un total de 103 cas a été documenté en 2018 et de très rares cas sont toujours observés en début d'année 2019.

⇒ *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:- et région Occitanie (04/01/2019, UI-532)

Ce regroupement de cas dus à *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:- ST34 HC5-157729 a concerné 27 cas (âgés entre 3 et 90 ans), principalement localisés en Occitanie, entre novembre 2018 et janvier 2019. La source de cette épidémie n'a pas pu être identifiée.

En 2018, le CNR-ESS a participé de l'investigation de certaines TIAC d'importance en France :

⇒ *S. enterica* sérotype Typhimurium ST19 CT230, Dpt. 67

Une TIAC comprenant huit personnes suite à de la consommation de mousse au chocolat faite maison a été détectée dans le Dpt. 67 en juillet 2018. Six souches ont été reçues au CNR-ESS. Il s'agissait de *S. enterica* sérotype Typhimurium ST19 CRISPOL type (CT) 230.

⇒ *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:- ST19 CT1, Régions Nouvelle-Aquitaine et Occitanie

Deux TIAC familiales suite à de la consommation de cochon de lait rôti ont eu lieu en Gironde (10 cas) et en Aveyron (6 cas) pendant le mois d'août 2018. Dix souches ont été reçues au CNR-ESS. Il s'agissait de *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:- ST19 CT1.

⇒ *S. enterica* sérotype Enteritidis ST11 HC5-149885, Dpt. 09

Une TIAC en restauration scolaire dans le Dpt. 09 (environ 60 cas) liée à la consommation d'œufs contaminés a été notifiée en octobre 2018. Dix-huit souches ont été reçues au CNR-ESS. Il s'agissait de *S. enterica* sérotype Enteritidis ST11 HC5-149885. Les œufs étaient issus d'une production locale. Bien que l'analyse environnementale ait mis en évidence *Salmonella* spp., le CNR-ESS n'a pas reçu ces souches pour réaliser une comparaison avec les souches d'origine humaine.

En 2018, Santé publique France, en liaison étroite avec le CNR-ESS a répondu aux alertes européennes suivantes :

⇒ *S. enterica* sérotype Enteritidis, Royaume-Uni (25/08/2016, UI-367)

Suite à des nouveaux cas en lien avec des œufs d'origine polonaise, le Royaume-Uni a relancé l'alerte de 2016. L'analyse cgMLST a permis une comparaison rapide des séquences françaises avec celles fournies par Public Health England (*S. enterica* sérotype Enteritidis ST11 HC5-2002 et *S. enterica* sérotype Enteritidis ST11 HC5-2037). En 2018, nous avons identifié 15 souches françaises de *S. enterica* sérotype Enteritidis ST11 HC5-2002 et deux souches françaises de *S. enterica* sérotype Enteritidis ST11 HC5-2037. Les derniers cas ont été isolés en septembre 2018. Aucun nouveau cas n'a été identifié après.

⇒ *S. enterica* sérotype Enteritidis, Norvège (05/09/2018, UI-507)

Trois souches françaises étaient similaires à la souche représentative norvégienne, *S. enterica* sérotype Enteritidis ST11 HC5-2127. Il s'agissait de trois adultes résidant dans l'est de la France. Les souches ont été isolées entre mai et octobre 2018, sans qu'aucune information d'exposition alimentaire ne soit disponible.

⇒ *S. enterica* sérotype Typhimurium, Royaume-Uni (31/10/2018, UI-519)

Le Royaume-Uni a lancé une alerte européenne suite à la détection d'une épidémie causée par de la viande de mouton contaminée par *S. enterica* sérotype Typhimurium ST19 de profil MLVA 2-15-8-7-212 en octobre 2018.

Le CNR-ESS avait préalablement identifié un regroupement de 15 cas d'infections à *S. enterica* sérotype Typhimurium ST19 CT188 dans la région Rhône-Alpes fin août-début septembre 2018. Les investigations épidémiologiques avaient également convergé vers la consommation de viande de mouton et ce lors d'une fête religieuse (Aïd). L'analyse des souches françaises et anglaises par cgMLST (HC5-147648 pour les souches françaises et HC5-72323 pour les souches anglaises) et par analyse SNP avait mis en évidence qu'elles n'étaient pas reliées génétiquement et donc que les deux épidémies en lien avec l'Aïd, n'étaient pas interconnectées.

En 2018, le CNR-ESS a n'a pas mis en évidence de cas français pour les alertes suivantes :

⇒ *S. enterica* sérotype Saintpaul, États-Unis (05/07/2018, UI-493)

⇒ *S. enterica* sérotype Mikawasima, Suède (22/08/2018, UI-502)

⇒ *S. enterica* sérotype Kottbus, Danemark (03/09/2018, UI-505)

⇒ *S. enterica* sérotype Infantis, Lettonie (05/10/2018, UI-513)

⇒ *S. enterica* sérotype Goldcoast, Pays-Bas (20/10/2018, UI-514)

⇒ *S. enterica* sérotype Brandenburg, Italie (12/11/2018, UI-520)

⇒ *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:-, Danemark (16/11/2018, UI-522)

⇒ *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:-, Danemark (20/11/2018, UI-524)

3 Shigella

3.1 Activités d'expertise

Dans ce présent paragraphe sont présentées les données des **souches de *Shigella*/EIEC réceptionnées en 2018** au CNR-ESS.

En 2018, le CNR-ESS a étudié 1 352 souches d'origine humaine envoyées comme appartenant au genre *Shigella*. Il a également collecté 301 « fiches information » sur des souches de *Shigella* non transmises.

3.1.1 Évolutions des techniques

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

La technique de l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), qui était la méthode de référence, n'est plus réalisée par le CNR-ESS. Depuis 2017, toutes les souches de *Shigella* spp. reçues au CNR-ESS sont analysées par séquençage du génome entier (WGS).

3.1.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Les Laboratoires de Biologie Médicale (LBM) utilisent depuis quelques années la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - Time Of Flight) pour l'identification en routine des bactéries. Cependant, les performances de cette technologie dépendent des bases de données (BDD) des différents fournisseurs. A ce jour, il n'existe pas de BDD capable de différencier *Shigella* spp. de *Escherichia coli*. Une étudiante en Licence professionnelle de l'École Nationale de Chimie Physique et Biologie (ENCPB) a réalisé entre octobre 2016 et septembre 2017 un stage d'apprentissage au CNR-ESS ayant pour objectif de développer une approche innovante pour différencier *E. coli* de *Shigella* spp par MALDI-TOF. Deux approches ont été utilisées : la création d'une BDD contenant l'ensemble des différents sérotypes de *Shigella* avec l'outil MBT Compass Explorer (Bruker®), et une approche par 'machine learning' en collaboration avec le C3BI de l'Institut Pasteur, Paris. Ce travail est toujours en cours de finalisation.

En 2018, les kits syndromiques de PCR multiplex se sont largement répandus dans les LBM. Une étude des performances du kit BD Max[®] pour la détection des souches de *Shigella*/EIEC dans les prélèvements humains de selles, en collaboration avec le laboratoire Schuh de Strasbourg, est en cours. Les résultats seront présentés au congrès de la Société Française de Microbiologie en 2019.

3.1.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Aucune.

3.1.4 Collections de matériel biologique

Au CNR-ESS, toutes les souches de *Shigella* ont été conservées sur milieu gélosé sans glucose, depuis plus de 30 ans, ce qui représente plusieurs dizaines de milliers de souches conservées dans une pièce climatisée 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°C, parmi celles-ci, il y a :
- 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.
 - les souches possédant des gènes de pathogénicité, particulièrement les Shiga-toxines.
 - les souches de *Shigella dysenteriae* de type 1.
 - les souches de *Shigella* présentant une résistance particulière aux antibiotiques.

3.1.5 Activités d'expertise

Le CNR-ESS a réalisé l'identification biochimique, le sérotypage classique par agglutination, l'étude phénotypique de la sensibilité aux antibiotiques et l'analyse par WGS de la totalité des souches de *Shigella*/EIEC **reçues en 2018**. Une analyse par biologie moléculaire (PCR des gènes de virulence) a été également effectuée en cas de résultats peu évocateurs d'une souche bactérienne de *Shigella*/EIEC par les techniques phénotypiques.

Durant l'année 2018, le CNR-ESS a étudié 1 352 souches d'origine humaine envoyées comme appartenant au genre *Shigella*. Ces 1 352 souches ont été réceptionnées en 2018 avec des dates d'isolement situées entre le 05/11/2017 et le 26/12/2018. Quatre-vingt-trois pour cent (1 117/1 352) des souches ont été confirmées comme des ***Shigella* spp. (n = 1 113) ou des EIEC (n = 4)**. Les autres souches (235/1 352, 17 %) étaient des « bactéries autres que *Shigella*/EIEC ». Le pourcentage de mauvaise identification des *Shigella* par les LBM est en progression constante d'année en année et ce depuis 2011. Ceci est probablement attribuable au développement de l'utilisation de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF qui ne différencie pas *Shigella* de *E. coli*. A ce phénomène s'ajoute l'arrêt progressif de l'utilisation des techniques de référence pour l'identification des *Shigella* (tests biochimiques et tests d'agglutination) en raison des contraintes d'accréditation par le COFRAC.

Au cours de l'année 2018, **le CNR a également reçu 301 « fiches information »** par voie postale, fax, e-mail ou directement sur le portail web dédié Voozadoo. Ce système permet de collecter des informations sur les souches de *Shigella* identifiées dans des laboratoires collaborateurs mais non transmises au CNR-ESS.

Parmi ces 1 117 + 301 = 1 418 isollements, **65 correspondaient à des doublons** (dates de prélèvement pour un même patient situées dans un intervalle de moins de 2 mois). Nous recherchons désormais les doublons de souches de *Shigella* dès réception afin de ne plus les analyser.

Ainsi en compilant les souches et les « fiches information » reçues, **un total de 1 353 isollements de *Shigella*/EIEC, hors doublons, ont été enregistrés** au CNR-ESS au cours de l'année 2018.

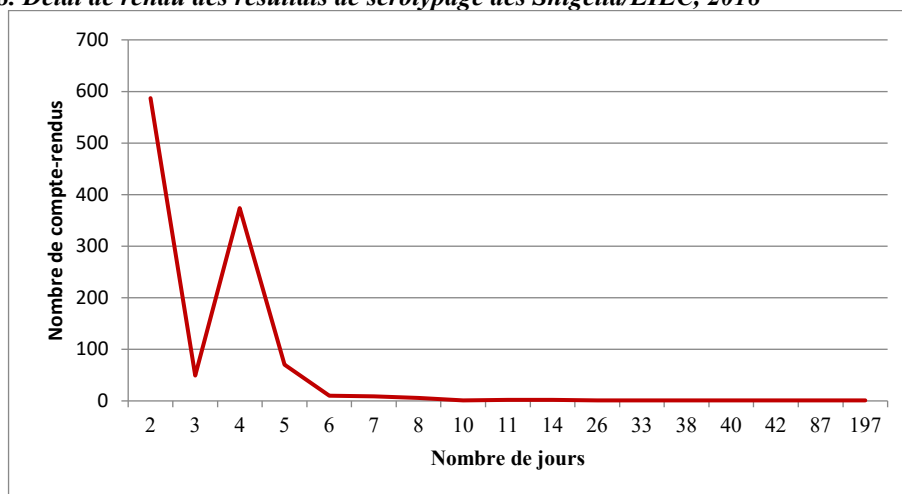
Quarante-quatre échantillons humains supplémentaires (selles ou souches) ont été analysés dans le cadre d'une étude sur les performances du kit de PCR multiplex BD Max en partenariat avec le laboratoire Schuh de Strasbourg.

Aucune souche de *Shigella* spp. en provenance de l'étranger ni aucune souche d'origine animale n'ont été reçues en 2018.

Tableau 29 : Nombre de *Shigella*/EIEC enregistrés au CNR-ESS en 2018 (souches et «fiches information»)

Souches	N
Souches analysées par le CNR-ESS	1 352
souches identifiées comme <i>Shigella</i> /EIEC (dont doublons)	1117 (13)
souches identifiées comme « bactéries autres que <i>Shigella</i> /EIEC »	235
Souches déclarées en ligne sur Voozadoo («fiches information»)	301
Nombre de souches déclarées en doublon ou transmises en parallèle	52
Nombre final d'isollements de <i>Shigella</i>/EIEC enregistrés en 2018, hors doublons	1 353

Le délai moyen de restitution des résultats pour les demandes d'analyse de *Shigella*/EIEC a été de **3,5 jours (médiane à 2 jours)**. Les résultats du sérotypage des *Shigella* sont rendus en 2 jours tandis que 2-4 jours supplémentaires sont nécessaires pour la réalisation des PCR permettant d'identifier un EIEC ou d'infirmer une *Shigella*/EIEC. Les résultats du séquençage ne sont pas transmis à ce jour aux laboratoires expéditeurs. Ils servent à la détection et au suivi des épidémies et sont communiqués à SpF et aux institutions européennes ou internationales en fonction du contexte.

Figure 8. Délai de rendu des résultats de sérotypage des *Shigella*/EIEC, 2018

3.1.6 Activités de séquençage

En complément des techniques phénotypiques et des PCR, le CNR-ESS a effectué une analyse par WGS pour la totalité des 1 104 souches reçues en 2018 et identifiées comme *Shigella* spp. ou EIEC, hors doublons.

Le séquençage a été réalisé à la Plateforme mutualisée (P2M) de PIBnet (Pasteur International Bioresources Network) par la technique Illumina NextSeq 500® (voir l'annexe 2, paragraphe « A2.2.1.6. Séquençage du génome entier des *Shigella* »).

Parmi les 1 104 séquences obtenues, 19 étaient inexploitable en raison d'une contamination poly microbienne de l'échantillon ou d'une séquence de mauvaise qualité. Un deuxième séquençage a été effectué pour les 19 souches correspondantes.

Tableau 30 : Nombre de séquences de *Shigella*/EIEC effectuées pour le CNR-ESS en 2018

WGS	N
Nombre de souches de <i>Shigella</i> /EIEC séquencées pour le CNR-ESS	1 104
Nombre de souches re-séquencées	19
Nombre total de séquences pour le CNR-ESS	1 123

A partir des séquences obtenues nous avons étudié le profil MLST, les gènes de virulence les plus communs chez *Shigella* spp. et le résistome.

La technique du MLST ('multilocus sequence typing') permet de grouper les souches de *E. coli* en fonction des séquences de sept gènes ("gènes de ménage") : *adk*, *fumC*, *gyrB*, *icd*, *mdh*, *purA*, *recA*, selon le protocole développé par M. Achtman (University of Warwick, Royaume Uni). Nous sommes en cours de validation d'une base de données de MLST pour l'ensemble des sérotypes connus de *Shigella* au CNR-ESS.

Certains sequence types (ST) pouvant correspondre à plusieurs sérotypes de *Shigella*, le géosérototype ne peut pas être déduit de ce seul paramètre. Nous travaillons sur des cibles supplémentaires comme la région *rfb* codant pour l'antigène de surface O, la région CRISPR et différents bactériophages pour inférer de manière robuste un géosérototype à partir des séquences WGS. Nous espérons passer en 2019 au géosérotypage exclusif des souches de *Shigella*/EIEC et abandonner les techniques d'identification par tests biochimiques et agglutination en routine.

La répartition des différents ST et des principaux gènes de résistance obtenus par analyse des séquences WGS est présentée ci-après dans le paragraphe « 3. Activités de surveillance ».

3.2 Activités de surveillance

A la différence des données d'expertise du paragraphe précédent (3.1), les données de surveillance présentées ci-après concernent les souches de *Shigella*/EIEC avec une **date de prélèvement en 2018** (entre le 1^{er} janvier et le 31 décembre 2018) :

1 136 souches confirmées au CNR-ESS (1 091 souches reçues en 2018 + 45 souches reçues du 01/01 au 02/04/2019) et 249 déclarations par des «fiches information»

Soit un **total de 1385 souches** (1381 souches de *Shigella* et 4 souches de EIEC).

*Chiffres obtenus après dédoublement des souches isolées d'un même patient au cours d'un intervalle de temps inférieur à 2 mois.

3.2.1 Description du réseau de partenaires

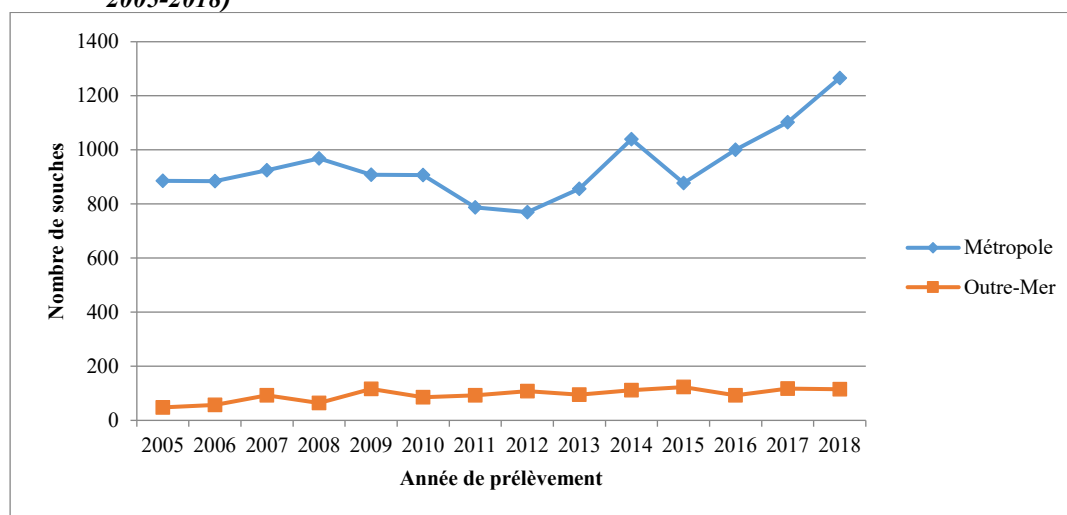
3.2.1.1 Réseau partenaire

Le CNR-ESS collabore depuis de nombreuses années avec un réseau de 1 200 laboratoires (laboratoires privés, laboratoires hospitaliers, centres de santé, Instituts et Écoles vétérinaires...), adressant sur la base du volontariat les souches bactériennes et les informations nécessaires à la surveillance nationale de ces infections.

3.2.1.2 Distribution globale des cas de shigellose en France métropolitaine et outre-mer

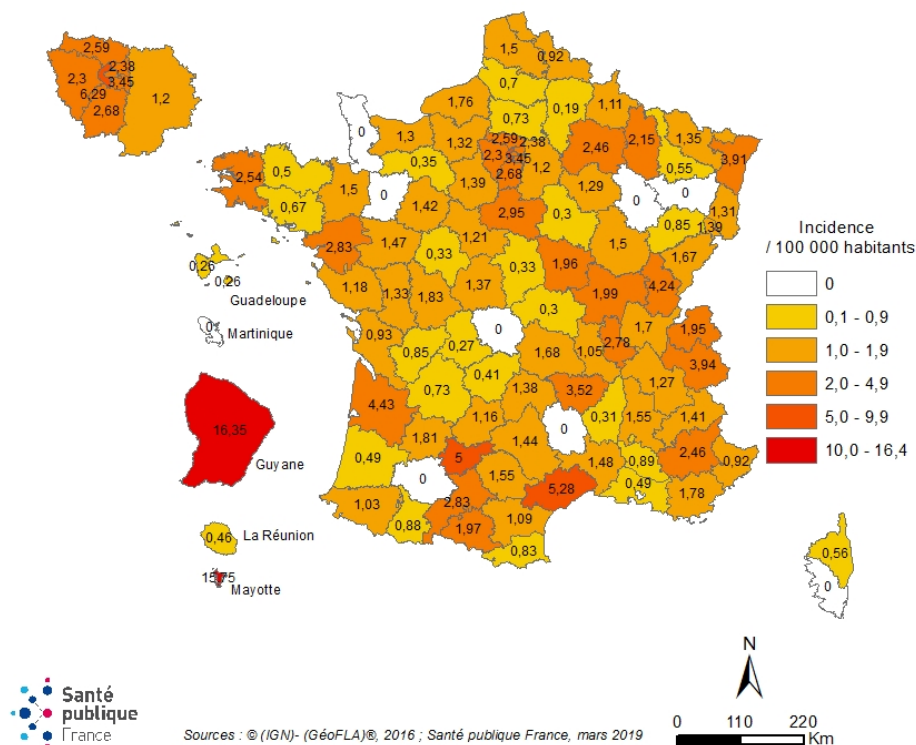
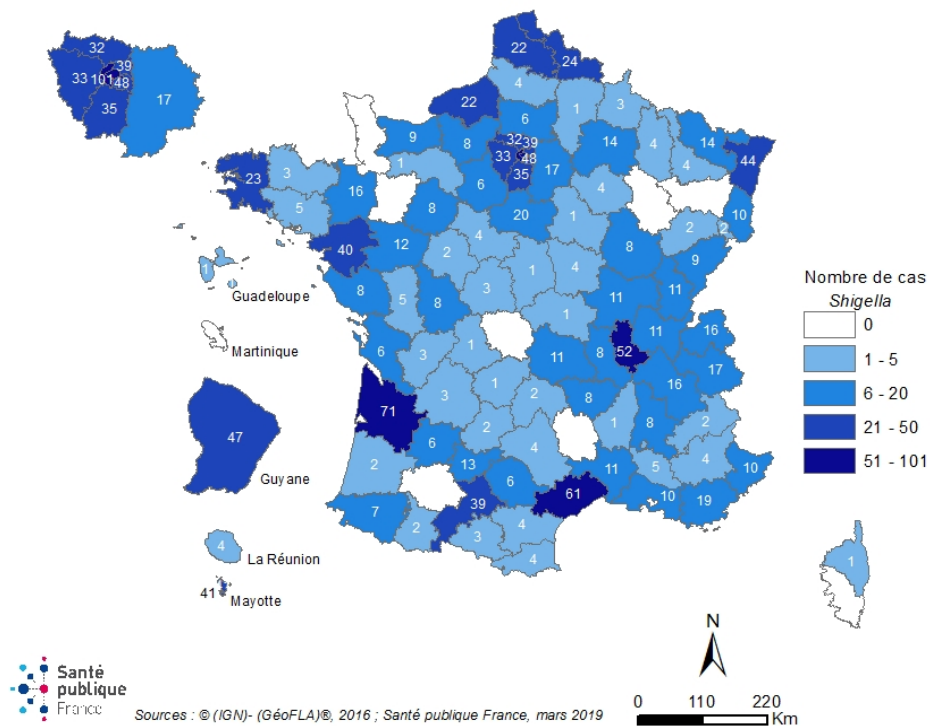
Le nombre global de cas enregistrés dans les outre-mer est constant depuis 2005. En métropole, il est par contre en constante augmentation depuis 2014 (**Figure 9**).

Figure 9. Nombre annuel de *Shigella* (souches et « fiches information », France métropolitaine et outre-mer, 2005-2018)



En 2018, les 1 385 souches enregistrées au CNR-ESS (souches et « fiches information ») correspondaient à 1 385 cas de shigellose observés sur tout le territoire (métropole et outre-mer). En 2018, les cas de shigellose humaine provenaient de **88 départements de France métropolitaine** et de **quatre territoires outre-mer** (Guadeloupe, Guyane, La Réunion et Mayotte) (**Figure 10**). Aucune souche ou fiche n'a été envoyée depuis les 8 autres territoires outre-mer.

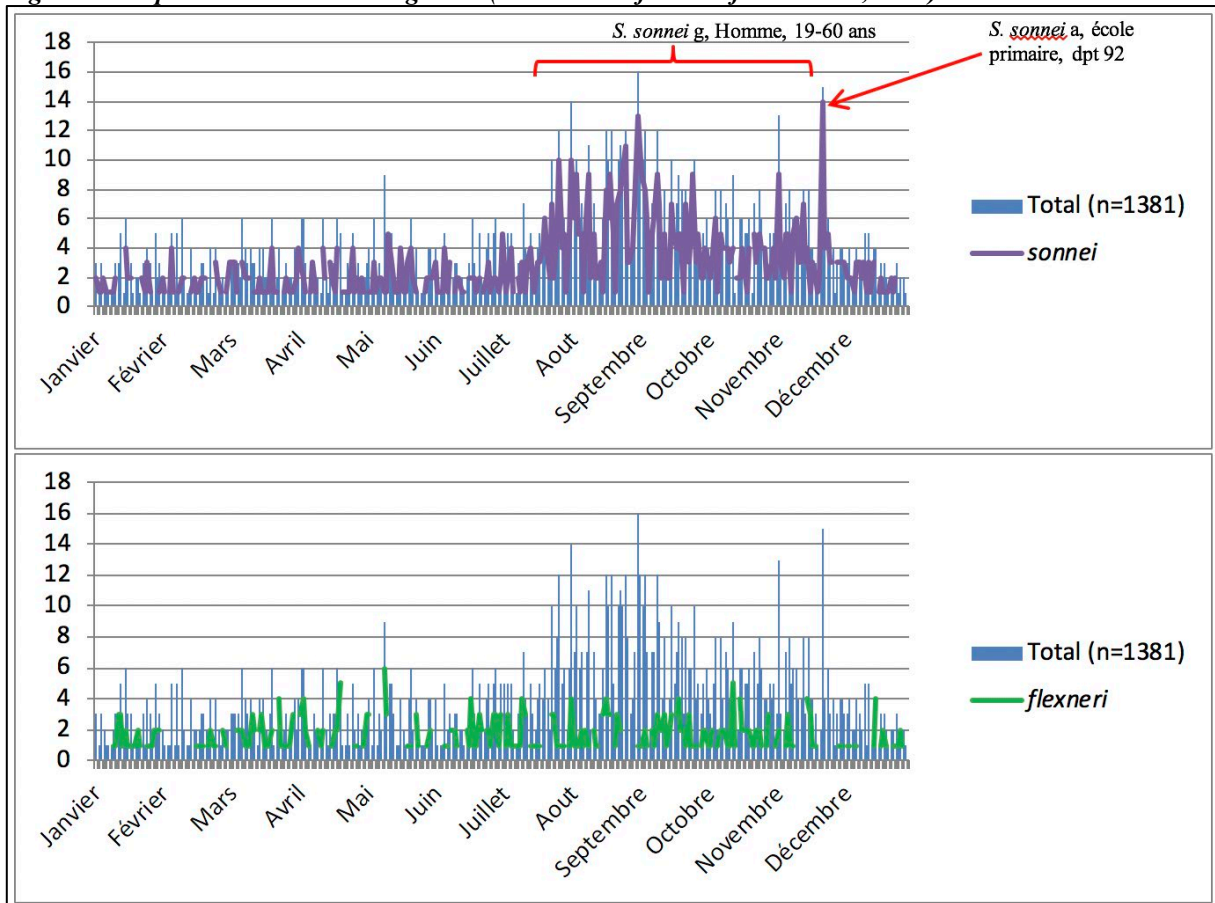
Figure 10. Nombre de cas et incidence des shigelloses par département en France en 2018



(Cartes réalisées par Santé publique France à partir des données du CNR-ESS, avril 2019, Edith Laurent)

La **figure 11** présente la répartition des cas de shigellose signalés en France en 2018 pour les sérogroupes principaux, *S. sonnei* et *S. flexneri*.

Figure 11. Répartition des cas de shigellose (souches et « fiches information », 2018)



Une répartition constante du nombre de cas d'infection à *S. flexneri* signalés tout au long de l'année 2018 est observée. Le nombre de cas de ***S. sonnei*** a quant à lui **augmenté entre le 30 juillet et le 30 novembre** : 535 souches de *S. sonnei* ont été enregistrées pendant cette période de 4 mois, soit 60 % (535 / 887) du nombre annuel. Deux épisodes épidémiques correspondants à cette période sont décrits ci-après dans le paragraphe « 4. Alerte » ».

Les 4 souches de EIEC correspondaient à des épisodes isolés avec des dates de prélèvement espacées au cours de l'année 2018.

3.2.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

3.2.2.1 Origine des prélèvements

La répartition des 1 381 souches de *Shigella* spp. isolées en 2018 (souches transmises + «fiches information»), en fonction de leur site de prélèvement, est présentée dans le **tableau 31**. La très grande majorité des isolements (1360 / 1381, 98 %) est d'origine intestinale. Les bactériémies ainsi que les infections urinaires à *Shigella* spp. restent exceptionnelles.

Tableau 31 : Répartition des souches de *Shigella* spp. par site de prélèvement (souches et « fiches information »)

	France métropolitaine	Outre-Mer	Total
Selles/Ecouvillon rectal	1 247	110	1 357
Urines	7	2	9
Sang	6	3	9
Biopsie anale/intestinale	3	0	3
Inconnu	3	0	3
Total	1266	115	1381

Les 4 souches de EIEC ont été isolées de prélèvement de selles.

3.2.2.2 Analyse de la distribution en France métropolitaine et analyse de tendances

Parmi les 1385 souches de *Shigella*/EIEC isolées en 2018 (souches transmises + « fiches information »), 1 270 (1 266 *Shigella* et les 4 EIEC) provenaient de France métropolitaine. Aucun patient n'a présenté plusieurs épisodes de shigellose au cours de l'année 2018.

3.2.2.2.1 Répartition par sérogroupes et par sérotypes

La répartition des différents sérogroupes et sérotypes des 1 385 souches de *Shigella*/EIEC enregistrées en France métropolitaine en 2018 est présentée dans le **tableau 32**.

Tableau 32 : Distribution annuelle des différents sérotypes de Shigella (France métropolitaine, 2015-2018)

Sérototype	Année	2015	2016	2017	2018
<i>Shigella boydii</i>		41	37	34	42 [50]
1		2	3	1	1
2		11	9	14	20
4		16	5	1	5
5		–	–	–	1
9		–	1	–	–
10		4	2	2	3
11		–	5	10	3
12		1	1	–	–
13		1	3	–	1
14		2	1	3	1
18		1	–	–	1
19		–	1	1	3
20		2	6	2	3
<i>Shigella dysenteriae</i>		11	14	15	14 [15]
2		4	2	5	2
3		3	6	1	4
4		–	–	1	–
5		–	–	1	–
6		–	1	–	–
9		–	1	1	–
12		1	1	2	1
sérototype provisoire 97-10607 (96-204)		3	3	2	4
sérototype provisoire Sh111		–	–	2	–
rough ou NST (ST148)		NR	NR	NR	3
<i>Shigella flexneri</i>		240	276	267	328 [354]
1		2	–	1	1
1a		2	2	2	3
1b		43	43	39	69
<u>2a</u>		<u>96</u>	<u>136</u>	<u>109</u>	<u>108</u>
2b		7	11	5	10
3a		34	23	28	43
3b		4	8	2	3
4		5	8	7	–
4 (mannitol-)		–	1	2	–
4 (mannitol-, indole+)		–	–	3	–
4a		1	–	–	4
4av		NR	NR	NR	8
4c		11	3	7	3
6 Boyd 88		15	18	27	34
6 Hertfordshire		2	3	1	4
6 Manchester		–	–	–	1
X		–	3	2	1
Xv		NR	NR	NR	1
Y		2	1	3	4
Yv		NR	NR	NR	4
sérototype provisoire 1c		16	16	29	27
<i>Shigella sonnei</i>		381	411	530	635 [842]
a		11	11	13	34
a (mannitol-)		1	–	–	–
a (ODC-)		–	2	–	–
e		–	2	5	4
f		1	–	–	–
<u>g</u>		<u>221</u>	<u>255</u>	<u>346</u>	<u>397</u>
<u>g (mannitol-)</u>		<u>82</u>	<u>90</u>	<u>79</u>	<u>127</u>
g (mannitol- et ODC-)		1	–	–	–
g (mannitol- et ONPG-)		2	1	–	–
g (ONPG-)		61	50	<u>85</u>	72
g (ODC-)		1	–	2	–
rough (ST152)		NR	NR	NR	1
<i>Shigella spp.</i>		–	1	–	– [5]
Total Shigella		673	739	846	1 019 [1266]
<i>E. coli</i> entéroinvasif (EIEC)		NR	NR	1	4
Total Shigella/EIEC		673	739	847	1 023 [1270]

Nombre de souches confirmées au CNR, hors doublons. NR : non recherché. NST : non sérotypable.

Pour 2018, les chiffres entre crochets [] correspondent au total du nombre de souches + «fiches information».

Les chiffres soulignés correspondent aux 3 sérotypes majoritaires de l'année.

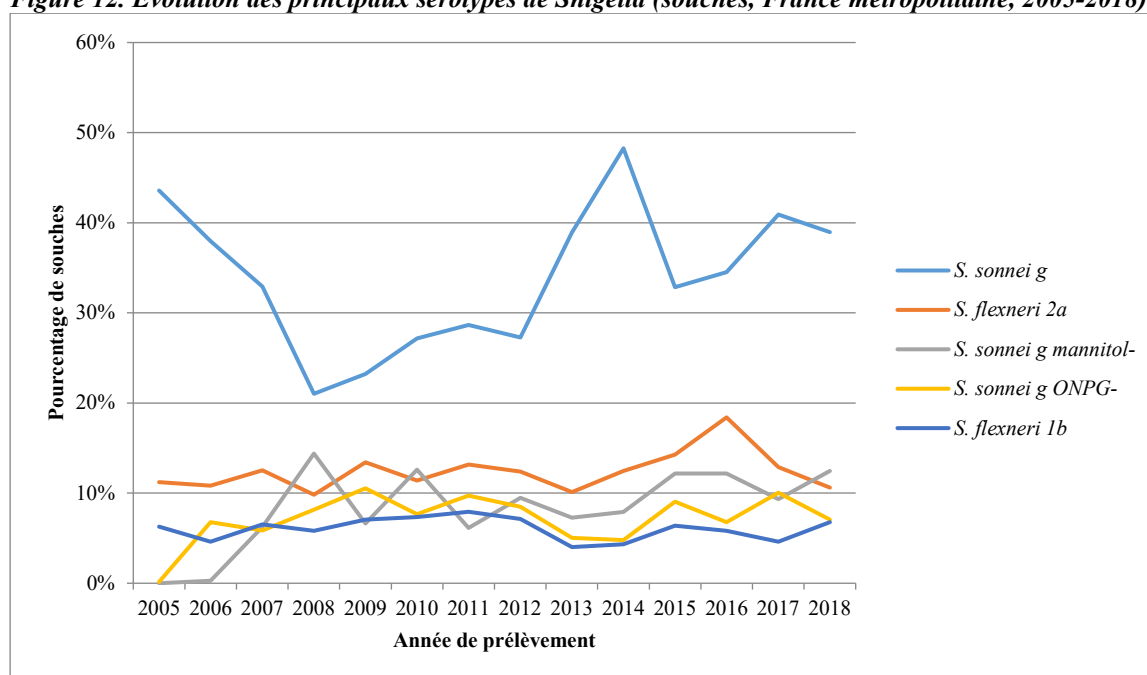
De façon habituelle, *S. sonnei* (842/1266, 67 %) et *S. flexneri* (354/1266, 28 %) ont été les sérogroupes les plus fréquemment isolés en métropole en 2018. *S. boydii* (50/1266, 4 %) et *S. dysenteriae* (15/1266, 1 %) restent faiblement représentés.

S. sonnei g reste le sérotype majoritaire (397/1019, 39 %) en France métropolitaine en 2018.

Le variant *S. sonnei* g (mannitol-) était le 2^{ème} type de *Shigella* détecté au CNR-ESS en 2018 (127/1019, 12 %). Les souches étaient toutes de provenance métropolitaine (aucune souche en provenance des outre-mer). Parmi les 56 cas dont l'item sur la notion de voyage était renseigné, 55 % (31/56) étaient associés à un voyage au Maroc et 18 % (10/31) ne déclaraient aucun voyage.

S. flexneri 2a était le 3^{ème} type de *Shigella* détecté en France métropolitaine en 2018 (108/1019, 11 %). Parmi les souches de *S. flexneri*, le sérotype 2a reste le plus fréquent (108/328, 33 %), suivi des sérotypes 1b (69/328, 21 %), 3a (43/328, 13 %) et 6 Boyd 88 (34/328, 10 %).

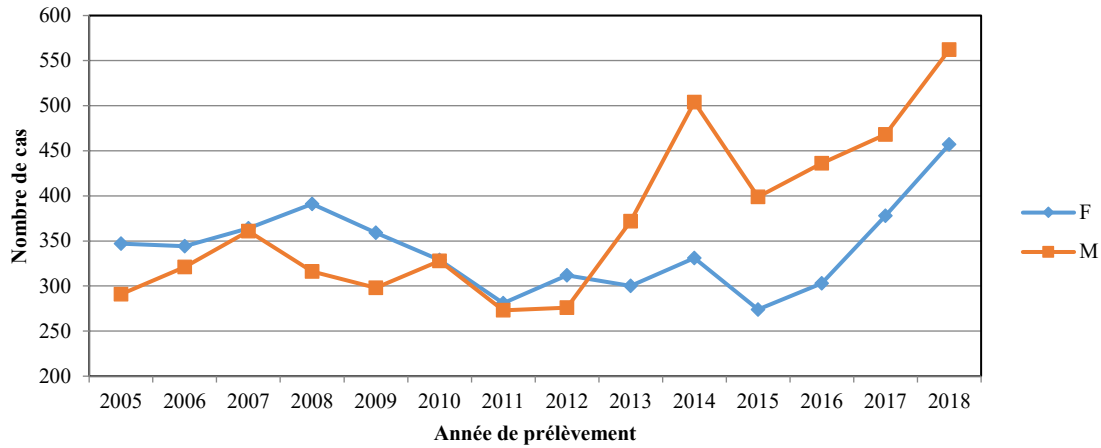
Figure 12. Évolution des principaux sérotypes de *Shigella* (souches, France métropolitaine, 2005-2018)



3.2.2.2 Répartition par sexe

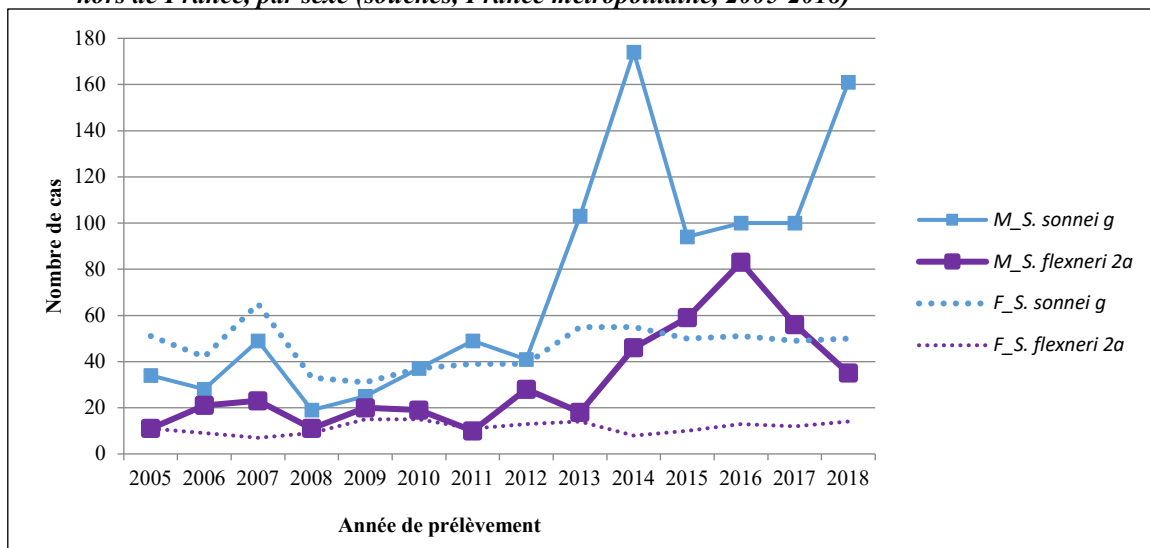
Depuis 2013, le nombre de cas de shigellose détectés en France métropolitaine est en constante augmentation et le nombre de cas masculins est systématiquement supérieur à celui des femmes (**Figure 13**).

Figure 13. Évolution des cas de shigellose par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2018)



Un phénomène est notable parmi les souches de *S. sonnei* g et de *S. flexneri* 2a. Depuis 2013 un déséquilibre significatif entre les hommes et les femmes âgés de 16-60 ans et sans notion de voyage est observé pour ces 2 sérotypes. Dans cette population le nombre de cas féminin reste constant tandis qu'il ne cesse d'augmenter chez les hommes (**Figure 14**).

Figure 14. Patients âgés de 16-60 ans diagnostiqués avec *S. sonnei* g ou *S. flexneri* 2a, sans notion de voyage hors de France, par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2018)



Cette même situation a été décrite dans un rapport de surveillance du Royaume-Uni (Euro Surveill 2015;20(15):pii=21097) dans lequel un lien avec la communauté homosexuelle masculine est établi. Nos données vont en ce sens sans que nous puissions conclure car l'orientation sexuelle des patients n'est pas un paramètre demandé dans la fiche épidémiologique d'accompagnement des souches de *Shigella* ou les «fiches information».

3.2.2.2.3 Répartition par âge

La **figure 15** ainsi que le **tableau 33** montrent le détail de la répartition des cas de shigellose par classe d'âge en France métropolitaine en 2018. Nous avons observé deux pics d'incidence principaux chez les 0-9 ans et chez les 20-49 ans. L'incidence la plus basse est retrouvée dans la population des 65 ans et plus.

Figure 15. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2018)

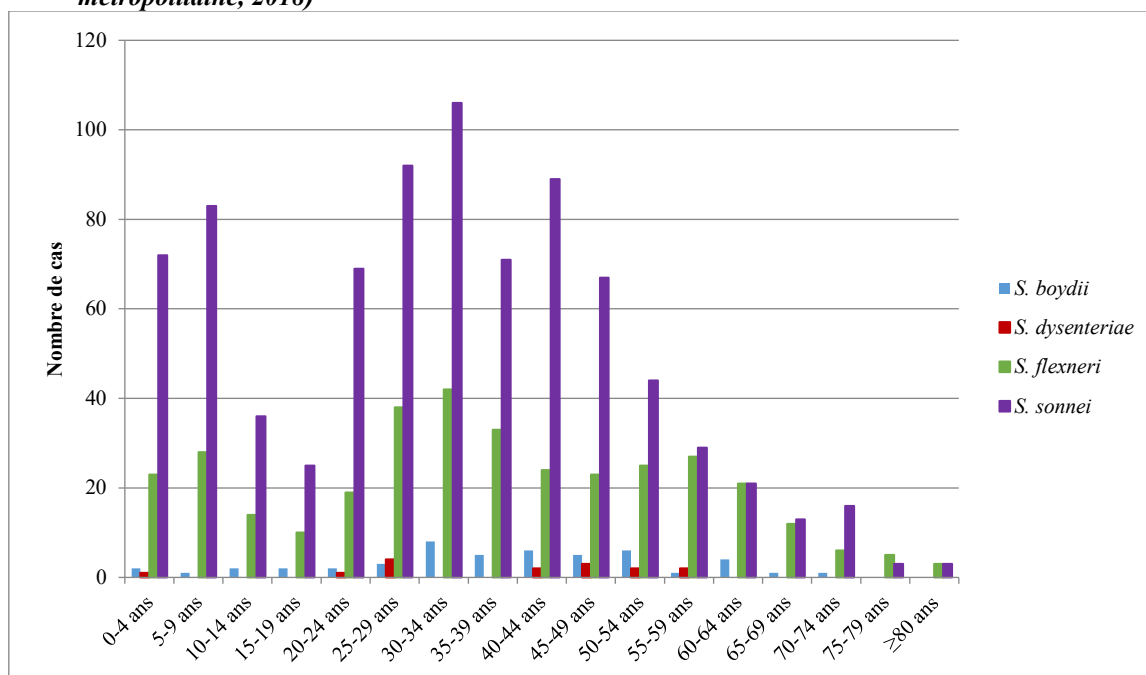


Tableau 33 : Répartition par classe d'âge des cas de shigellose (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2018)

	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>Shigella</i> spp.	Total	<i>Incidence</i> (pour 100 000 hab.)
0-4 ans	2 (4 %)	1 (7 %)	23 (7 %)	72 (9 %)	0	97 (8 %)	2,73
5-9 ans	1 (2 %)	0	28 (8 %)	83 (10 %)	0	111 (9 %)	2,82
10-14 ans	2 (4 %)	0	14 (4 %)	36 (4 %)	0	52 (4 %)	1,30
15-19 ans	2 (4 %)	0	10 (3 %)	25 (3 %)	0	37 (3 %)	0,93
20-24 ans	2 (4 %)	1 (7 %)	19 (5 %)	69 (8 %)	1 (11 %)	90 (7 %)	2,48
25-29 ans	3 (6 %)	4 (27 %)	38 (10 %)	92 (11 %)	0	133 (11 %)	3,62
30-34 ans	8 (17 %)	0	42 (11 %)	106 (13 %)	2 (23 %)	154 (12 %)	3,91
35-39 ans	5 (11 %)	0	33 (10 %)	71 (8 %)	1 (11 %)	108 (9 %)	2,88
40-44 ans	6 (13 %)	2 (13 %)	24 (7 %)	89 (10 %)	0	119 (10 %)	3,28
45-49 ans	5 (9 %)	3 (20 %)	23 (7 %)	67 (8 %)	0	96 (8 %)	2,17
50-54 ans	6 (11 %)	2 (13 %)	25 (7 %)	44 (5 %)	0	74 (7 %)	1,71
55-59 ans	1 (2 %)	2 (13 %)	27 (8 %)	29 (4 %)	0	58 (5 %)	1,38
60-64 ans	4 (9 %)	0	21 (6 %)	21 (3 %)	0	46 (4 %)	1,16
65-69 ans	1 (2 %)	0	12 (4 %)	13 (1 %)	1 (11 %)	26 (2 %)	0,68
70-74 ans	1 (2 %)	0	6 (2 %)	16 (2 %)	0	23 (2 %)	0,72
75-79 ans	0	0	5 (1 %)	3 (0,5 %)	0	8 (0,6 %)	0,38
≥80 ans	0	0	3 (1 %)	3 (0,5 %)	0	6 (0,4 %)	0,15
Age inconnu	1	0	1	3	0	5	-
Total	50 (100 %)	15 (100 %)	354 (100 %)	842 (100 %)	5 (100 %)	1 266 (100 %)	2,05

Les 4 souches de EIEC ont été isolées chez des patients de 33 à 59 ans.

3.2.2.2.4 Notion de voyage

Le tableau 34 présente les notions de voyage associées aux 1 019 souches de *Shigella* transmises au CNR-ESS, en provenance de France métropolitaine en 2018.

Parmi les 51 % des cas (518/1019) dont l'item sur la notion de voyage était renseigné, **71 %** mentionnaient un **voyage à l'étranger** (62 % pour *S. boydii*, 50 % pour *S. dysenteriae*, 34 % pour *S. flexneri* et 35 % pour *S. sonnei*) et **29 %** ne déclaraient **aucun voyage**.

Les pays les plus fréquemment mentionnés étaient **le Maroc (71 cas) et l'Inde (44 cas)** puis Madagascar (19 cas), l'Egypte et l'Algérie (15 cas chacun), le Sénégal et l'Espagne (12 cas chacun).

Shigella

Tableau 34 : Notion de voyage associée aux cas de shigellose (souches, France métropolitaine, 2018)

Sérogroupe/Sérotype	Nbre de cas	Notion de voyage*	Aucun voyage
<i>Shigella boydii</i>	42	26 (62 %)	3 (7 %)
1	1	1 Autre	-
2	20	1 Autre ; 1 Mali ; 6 Maroc ; 1 Pays Du Maghreb	2
4	5	1 Congo ; 1 Inde ; 1 Madagascar ; 1 Maroc	-
5	1	1 Togo	-
10	3	2 Maroc ; 1 Sénégal	-
11	3	-	1
13	1	-	-
14	1	1 Madagascar	-
18	1	1 Inde	-
19	3	1 Afrique ; 1 Inde ; 1 Népal	-
20	3	1 Brésil ; 1 Inde ; 1 Tchad	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	14	7 (50 %)	0 (0 %)
2	2	1 Congo	-
3	4	1 Inde	-
12	1	1 Burkina Faso	-
séro. prov. 97-10607 (96-204)	4	1 Ghana ; 1 Israël ; 1 Madagascar	-
rough/NST (ST148)	3	1 Maroc	-
<i>Shigella flexneri</i>	328	113 (34 %)	46 (14 %)
1	1	-	-
1a	3	1 Tchad	-
1b	69	1 Autre ; 2 Brésil ; 1 Cameroun ; 1 Cap-Vert ; 1 Colombie ; 1 Côte d'Ivoire ; 1 Gabon ; 3 Madagascar ; 9 Maroc ; 2 Mayotte ; 1 Roumanie ; 1 Sénégal ; 1 Togo	13
2a	108	2 Afrique ; 1 Arabie Saoudite ; 1 Argentine ; 2 Cap-Vert ; 1 Egypte ; 4 Espagne ; 1 Etats-Unis ; 7 Inde ; 2 Madagascar ; 2 Mali ; 3 Maroc ; 1 Mayotte ; 2 Mexique ; 1 Niger ; 1 Pakistan ; 1 Philippines ; 2 Sénégal ; 1 Sri Lanka ; 2 Tunisie	15
2b	10	1 Afrique ; 1 Asie ; 1 Madagascar	2
3a	43	1 Afrique ; 1 Bénin ; 1 Guadeloupe ; 1 Guinée ; 2 Madagascar ; 1 Maroc ; 1 Togo	8
3b	3	-	-
4a	4	1 Burkina Faso	-
4av	8	1 Congo ; 1 Côte d'Ivoire ; 2 Madagascar ; 1 Sénégal	-
4c	3	1 Afrique ; 1 Tchad	-
6 Boyd 88	34	2 Afrique ; 1 Algérie ; 1 Burkina Faso ; 1 Cameroun ; 1 Côte d'Ivoire ; 1 Espagne ; 1 Guinée ; 9 Maroc ; 1 Sénégal ; 1 Sri Lanka ; 1 Togo	1
6 Herfordshire	4	1 Congo ; 1 Maroc ; 1 Namibie	-
6 Manchester « variant »	1	-	1
X/Xv	2	-	-
Y	4	-	1
Yv	4	1 Egypte ; 1 Inde ; 1 Madagascar	1
séro. prov. 1c (7,8+)	27	1 Brésil ; 1 Côte d'Ivoire ; 1 Espagne ; 1 Ghana ; 1 Guinée	4
<i>Shigella sonnei</i>	635	221 (35 %)	102 (16 %)
a	34	1 Amérique ; 2 Brésil ; 4 Colombie ; 2 Maroc ; 1 Mayotte ; 1 Philippines ; 1 Tanzanie	3
e	4	-	-
g	397	2 Autre ; 1 Afrique ; 1 Albanie ; 5 Algérie ; 1 Amérique ; 1 Antilles ; 1 Arabie Saoudite ; 1 Argentine ; 1 Asie ; 2 Bénin ; 3 Bolivie ; 1 Brésil ; 1 Bulgarie ; 1 Burkina Faso ; 1 Cambodge ; 1 Cameroun ; 2 Colombie ; 2 Côte d'Ivoire ; 2 Cuba ; 12 Egypte ; 5 Espagne ; 1 Haïti ; 30 Inde ; 4 Indonésie ; 2 Israël ; 1 Italie ; 1 Jordanie ; 5 Maroc ; 6 Mexique ; 1 Myanmar ; 1 Norvège ; 1 Pakistan ; 3 Pays-Bas ; 5 Pérou ; 2 Portugal ; 5 République Dominicaine ; 1 Royaume-Uni ; 1 Russie ; 2 Sénégal ; 3 Sri Lanka ; 2 Thaïlande ; 2 Togo ; 4 Tunisie ; 1 Turquie ; 2 Viêt Nam	79
g (mannitol-)	127	2 Autre ; 1 Afrique ; 1 Canada ; 1 Cuba ; 1 Espagne ; 5 Madagascar ; 31 Maroc ; 1 Portugal ; 1 République Dominicaine	12
g (ONPG-)	72	2 Afrique ; 9 Algérie ; 1 Bénin ; 1 Cameroun ; 7 Cap-Vert ; 1 Egypte ; 1 Inde ; 4 Sénégal ; 1 Tchad ; 3 Togo	8
rough (ST152)	1	1 Côte d'Ivoire	-
TOTAL	1 019	367 (36 %)	151 (15 %)

Le pays est présenté en **gras et souligné** si ≥ 5 cas. Séro. prov. : sérotype provisoire non validé par le CDC Atlanta (CCOMS *Shigella*).

Le **tableau 35** présente quant à lui les notions de voyage associées aux 247 souches de *Shigella* pour lesquelles nous n'avons reçu qu'une « **fiche information** » **sans transmission de souche**. Les données sont présentées par séro groupe (rares sérotypes renseignés par les laboratoires expéditeurs). Des voyages ont été rapportés pour 78 cas (78/247, 32 %). Le **Maroc (18 cas)** et l'**Inde (8 cas)** étaient également les pays les plus notifiés.

Tableau 35 : Notion de voyage associée aux cas de shigellose (« fiches information », France métropolitaine, 2018)

Sérogroupe	Nbre de cas	Notion de voyage*	Aucun voyage
<i>Shigella boydii</i>	8	1 Cameroun 2 Maroc	NR
<i>Shigella dysenteriae</i>	1	1 Tchad	NR
<i>Shigella flexneri</i>	26	1 Côte d'Ivoire 1 Egypte 1 Mali 2 Maroc 1 Martinique 1 Mauritanie 3 Sénégal 1 Thaïlande	NR
<i>Shigella sonnei</i>	207	4 Algérie 3 Bali 2 Burkina Faso 1 Canaries 1 Cap-Vert, Portugal 1 Colombie 1 Côte d'Ivoire 1 Cuba 1 Dubaï 2 Espagne 1 Guatémala 1 Guinée 1 Haïti 8 Inde 1 Inde, Japon, Allemagne, Thaïlande 1 Indonésie 2 Mali 14 Maroc 1 Maroc, Grèce 1 Mauritanie 1 Mayotte, La Réunion 1 Nicaragua 1 Oman 1 République Dominicaine 1 Sénégal 1 Sénégal, Bénin 1 Sénégal, Guinée-Bissau 1 Sri Lanka 1 Togo 4 Tunisie	NR
<i>Shigella spp.</i>	5	1 Sénégal	NR
Total	247	78 (32 %)	NR

Le pays est présenté en **gras et souligné** si ≥ 5 cas. NR : Non Renseigné.

3.2.2.3 Analyse de la distribution dans les outre-mer et analyse de tendances

Parmi les 1385 souches de *Shigella*/EIEC isolées en 2018, 115 *Shigella* spp (et aucun EIEC) provenaient de la France d'outre-mer. Parmi ces dernières, 69 souches étaient envoyées de Guyane, 44 souches de Mayotte, 4 souches de La Réunion et une de Guadeloupe. Deux cas de shigelloses supplémentaires ont été déclarés par un laboratoire de La Réunion via une « fiche information ».

3.2.2.3.1 Répartition par sérogroupes et par sérotypes

La répartition des différents sérogroupes et sérotypes de *Shigella* isolées en 2018 dans les outre-mer est présentée dans le **tableau 36**.

Tableau 36 : Distribution des différents sérotypes de *Shigella* spp. (souches et « fiches information », outre-mer, 2018)

Sérotype	Guyane française	Mayotte	La Réunion	Guadeloupe	Total
<i>Shigella dysenteriae</i>	–	1	1	–	2 [2]
Sérotype provisoire 97-10607 (96-204)	–	1	1	–	2
<i>Shigella flexneri</i>	<u>41</u>	<u>26</u>	–	–	<u>67</u> [67]
1b	4	8	–	–	12
2	1	–	–	–	1
<u>2a</u>	<u>33</u>	6	–	–	39
3a	2	–	–	–	2
4a	–	3	–	–	3
4av	–	6	–	–	6
6 Boyd 88	–	1	–	–	1
Y	1	–	–	–	1
Yv	–	2	–	–	2
<i>Shigella sonnei</i>	<u>28</u>	<u>14</u>	<u>1</u> (2)	<u>1</u>	<u>44</u> [45]
<u>a</u>	–	<u>12</u>	1	–	13
<u>g</u>	<u>28</u>	2	–	1	31
g (mannitol–)	–	–	–	–	–
g (ONPG–)	–	–	–	–	–
<i>Shigella</i> spp.	–	–	– (1)	–	– [1]
Total <i>Shigella</i>	69	41	2 (4)	1	113 [115]

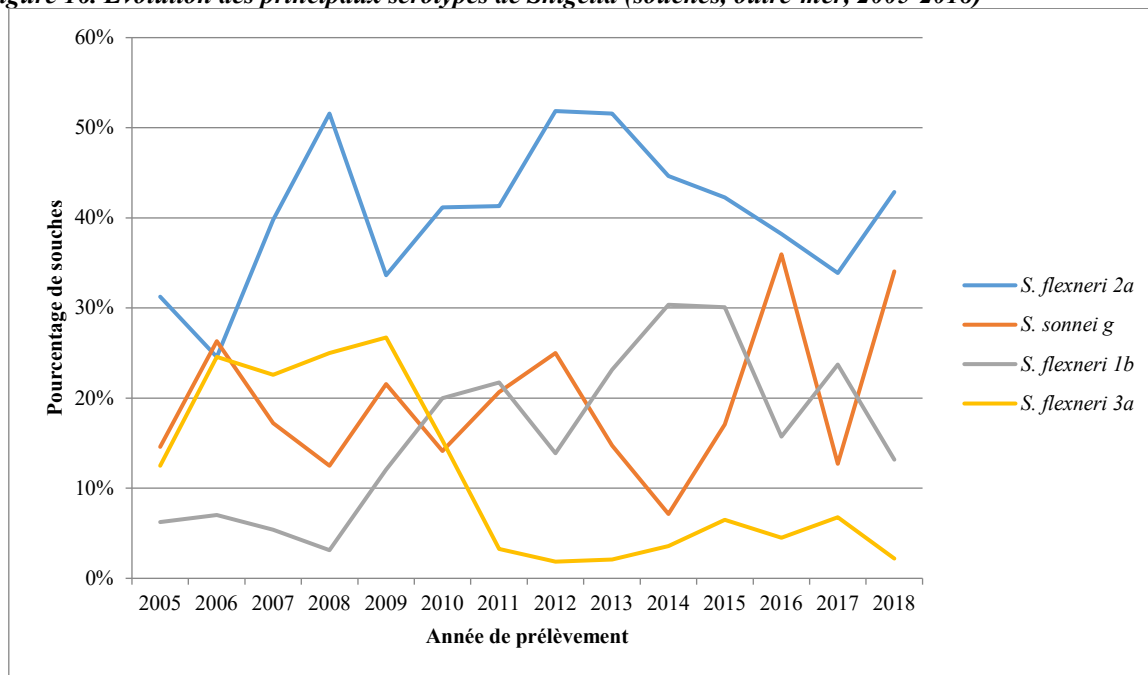
Nombre de souches confirmées au CNR, hors doublons. Les chiffres soulignés correspondent aux 3 sérotypes majoritaires de l'année. Pour 2018, les chiffres entre crochets [] correspondent au total des souches + « fiches information ».

Comme chaque année, *S. flexneri* (67/115, 58 %) est le sérotype prédominant parmi les souches transmises par les outre-mer. Il est suivi par *S. sonnei* (45/115, 39 %). Deux souches de *S. dysenteriae* d'un sérotype encore provisoire (97-10607/96-204) ont été également confirmées mais aucune *S. boydii*.

Il est important de noter que la distribution par sérotype n'est pas similaire en métropole et dans les outre-mer. Alors que *S. sonnei* est le sérotype le plus fréquemment isolé en France métropolitaine, *S. flexneri* est le sérotype majoritaire dans les outre-mer.

L'évolution des principaux sérotypes de *Shigella* enregistrés au CNR-ESS depuis 2005 dans les outre-mer est présentée dans la **figure 16**. Il est important de préciser que le nombre de laboratoires d'outre-mer participants à la surveillance fluctue chaque année ainsi que l'effectif des souches transmises. Ceci influe donc sur la représentativité de ces données. Cependant, une diminution constante des souches de *S. flexneri 2a* transmises depuis 2014 et une diminution des *S. flexneri 3a* depuis 2010 sont observées. *S. sonnei g* et *S. flexneri 1b* se sont maintenues en 2ème et 3ème position depuis 2010.

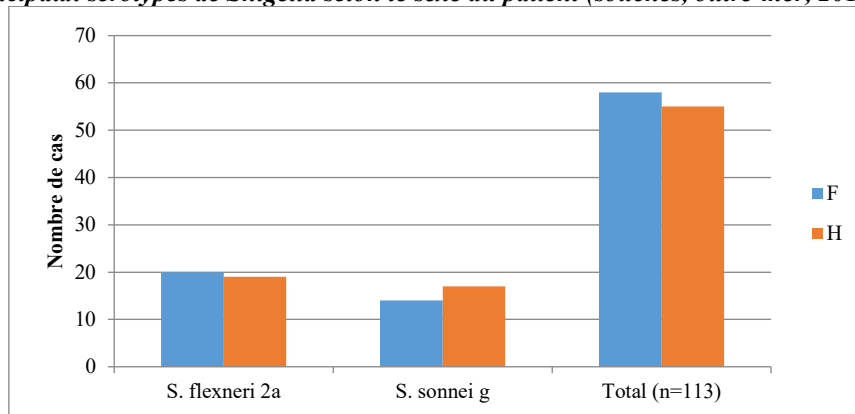
Figure 16. Evolution des principaux sérotypes de *Shigella* (souches, outre-mer, 2005-2018)



3.2.2.3.2 Répartition par sexe

Contrairement à ce qui a été observé en France métropolitaine, les cas de shigellose dans les outre-mer ont montré une prédominance chez les femmes (sexe ratio_{H/F} = 1,05). Parmi les cas d'infection à *S. flexneri 2a* et à *S. sonnei g* nous n'avons pas observé de déséquilibre entre les hommes et les femmes comme en métropole (**Figure 17**).

Figure 17. Principaux sérotypes de *Shigella* selon le sexe du patient (souches, outre-mer, 2018)



3.2.2.3.3 Répartition par âge

La **figure 18** ainsi que le **tableau 37** montrent le détail de la répartition des cas de shigellose par classe d'âge dans les outre-mer (Guadeloupe, Martinique, Guyane, La Réunion et Mayotte) en 2018. La majorité des cas est observée chez les 0-4 ans puis chez les 5-9 ans, avec une incidence maximale de 6,46/100 000 habitants pour les 0-19 ans. L'incidence des jeunes adultes de 20-39 ans est élevée (6,01/100 000 habitants) mais n'est pas supérieure à celle des jeunes enfants comme observé en métropole. L'incidence la plus basse est retrouvée dans la population des 40-59 ans.

Figure 18. Répartition des cas de shigellose par âge (souches et « fiches information », outre-mer, 2018)

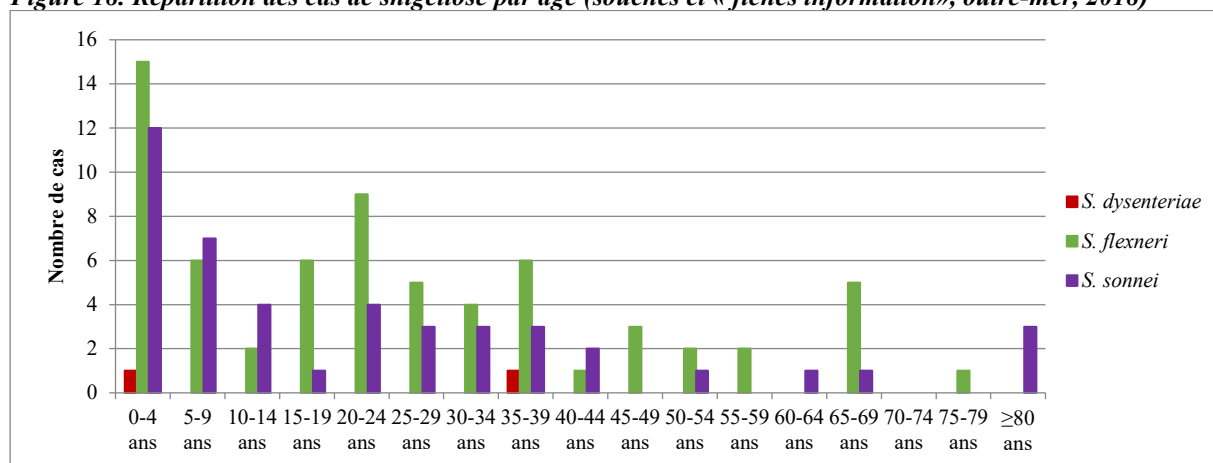


Tableau 37 : Incidence des cas de shigellose (souches et « fiches information », outre-mer, 2018)

	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>Shigella</i> spp.	Total	Incidence (pour 100 000 hab.)
0-4 ans	1 (50 %)	15 (22 %)	12 (26,5 %)		28 (24 %)	6,46
5-9 ans		6 (9 %)	7 (13 %)	1	14 (12 %)	
10-14 ans		2 (3 %)	4 (8 %)		6 (5 %)	
15-19 ans		6 (9 %)	1 (2,6 %)		7 (6 %)	
20-24 ans		9 (13 %)	4 (10,5 %)		13 (11 %)	6,01
25-29 ans		5 (7 %)	3 (8 %)		8 (7 %)	
30-34 ans		4 (6 %)	3 (8 %)		7 (6 %)	
35-39 ans	1 (50 %)	6 (9 %)	3 (5 %)		10 (9 %)	
40-44 ans		1 (1 %)	2 (2,6 %)		3 (3 %)	1,22
45-49 ans		3 (4 %)			3 (3 %)	
50-54 ans		2 (3 %)	1 (2,6 %)		3 (3 %)	
55-59 ans		2 (3 %)			2 (2 %)	
60-64 ans			1 (2,6 %)		1 (1 %)	2,62
65-69 ans		5 (7 %)	1 (2,6 %)		6 (5 %)	
70-74 ans					0 (0 %)	
75-79 ans		1 (1 %)			1 (1 %)	2,62
≥80 ans			3 (8 %)		3 (3 %)	
Total	2 (100 %)	67 (100 %)	45 (100 %)	1	115 (100 %)	4,29

Données INSEE 2019 DOM : Guadeloupe, Martinique, Guyane, La Réunion et Mayotte.

3.2.2.3.4 Notion de voyage

Parmi les 113 souches de *Shigella* spp. transmises des outre-mer, aucun renseignement n'indiquait de séjour à l'étranger.

Parmi les « fiches information », deux cas de shigelloses ont été déclarés par un laboratoire de La Réunion. Il s'agissait d'une *S. sonnei* avec voyage à Madagascar et d'une *Shigella* spp. sans renseignement associé.

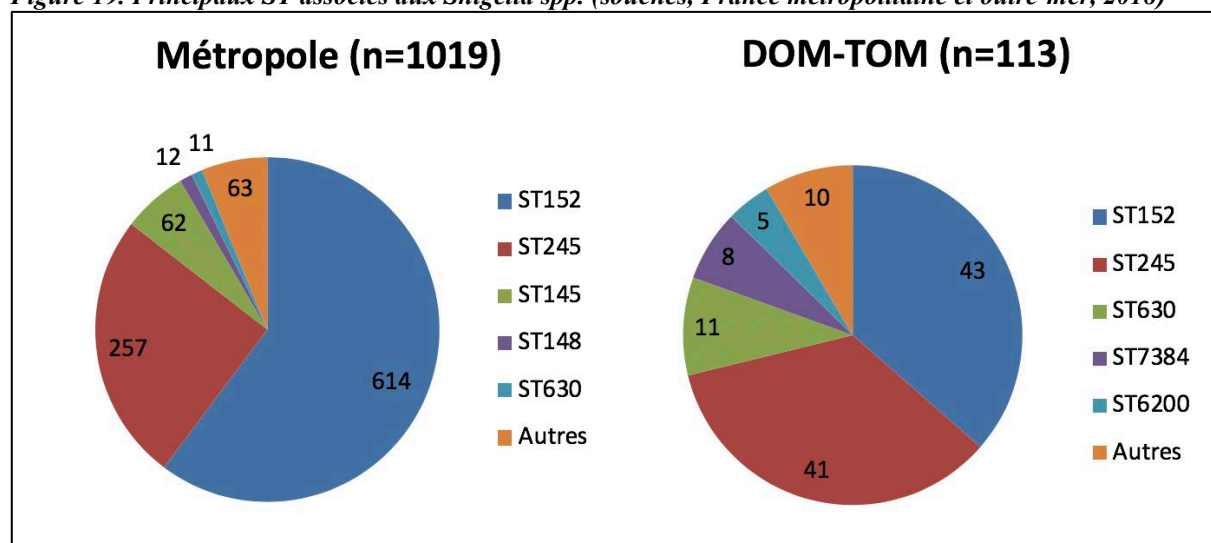
3.2.2.4 Distribution des séquences types (ST)

Les quatre EIEC isolés en 2018 étaient associés aux ST suivants :

N° CNR	ST
201802840	270
201805972	6
201806068	4267
201810205	311

Les principaux ST des 1 132 souches de *Shigella* spp isolées au CNR-ESS en 2018 sont présentés dans **la figure 19 et le tableau 38**.

Figure 19. Principaux ST associés aux *Shigella* spp. (souches, France métropolitaine et outre-mer, 2018)



Shigella

Tableau 38 : ST et sérotypes associés des *Shigella* spp. (souches, France métropolitaine et outre-mer, 2018)

	Métropole	Outre-mer
ST145	62	1
<i>S. boydii</i> 2	20	
<i>S. boydii</i> 4	5	
<i>S. flexneri</i> 6 Boyd 88	32	1
<i>S. flexneri</i> 6 Herfordshire	4	
<i>S. flexneri</i> 6 Manchester "variant"	1	
ST148	12	2
<i>S. dysenteriae</i> 3	4	
<i>S. dysenteriae</i> 12	1	
<i>S. dysenteriae</i> sérotype provisoire 97-10607 (96-204)	4	2
<i>Shigella</i> spp. rough	2	
<i>Shigella</i> spp. non sérotypable	1	
ST152	614	43
<i>S. sonnei</i> a	33	12
<i>S. sonnei</i> g	386	31
<i>S. sonnei</i> g (mannitol-)	123	
<i>S. sonnei</i> g (ONPG-)	71	
<i>Shigella</i> spp. non sérotypable	1	
ST243	9	0
<i>S. boydii</i> 1	1	
<i>S. boydii</i> 10	3	
<i>S. boydii</i> 18	1	
<i>S. boydii</i> 19	3	
<i>S. boydii</i> 20	1	
ST245	257	41
<i>S. flexneri</i> 1	1	
<i>S. flexneri</i> 1a	2	
<i>S. flexneri</i> 1b	65	4
<i>S. flexneri</i> 2		1
<i>S. flexneri</i> 2a	105	33
<i>S. flexneri</i> 2b	9	
<i>S. flexneri</i> 3a	35	2
<i>S. flexneri</i> 3b	3	
<i>S. flexneri</i> 4av	1	
<i>S. flexneri</i> 4c	3	
<i>S. flexneri</i> X	1	
<i>S. flexneri</i> Xv	1	
<i>S. flexneri</i> Y	4	1
<i>S. flexneri</i> sérotype provisoire 1c (7,8+)	27	
ST628	6	0
<i>S. flexneri</i> 3a	4	
<i>S. flexneri</i> Yv	2	
ST630	11	11
<i>S. flexneri</i> 4av	6	6
<i>S. flexneri</i> 4a	4	3
<i>S. flexneri</i> Yv	1	2
ST1502	4	1
<i>S. sonnei</i> a	1	1
<i>S. sonnei</i> e	3	
ST1503	3	0
<i>S. sonnei</i> g	3	
ST5517	4	0
<i>S. sonnei</i> g	2	
<i>S. sonnei</i> g (mannitol-)	2	
ST7384	3	8
<i>S. flexneri</i> 1b	3	8

Seuls les ST observés chez plus de trois souches sont indiqués dans ce tableau.

3.2.3 Surveillance de la résistance des *Shigella* aux antibiotiques

3.2.3.1 Surveillance globale

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été effectuée sur toutes les souches de *Shigella* spp. isolées en 2018 et transmises au CNR-ESS (n = 1 132).

Nous avons réalisé un antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon le référentiel CASFM/EUCAST 2018. Les antibiotiques testés (BioRad, Marnes-la-Coquette, France) étaient ceux détaillés dans le **tableau 39**.

En cas de résultats intermédiaires ou résistants à l'acide nalidixique, péfloxacin, ciprofloxacine, ceftazidime, céfotaxime ou azithromycine, les CMI étaient déterminées par bandelettes E-test (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France).

Tableau 39 : Antibiotiques utilisés pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de *Shigella* spp.

Antibiotique	Abréviation
Ampicilline 10µg	AMP
Ceftazidime 10 µg	CAZ
Céfotaxime 5µg	CTX
Ertapénème 10µg	ETP
Streptomycine 10 µg	STR
Amikacine 30µg	AKN
Gentamicine 10µg	GEN
Acide nalidixique 30µg	NAL
Péfloxacin 5µg	PEF
Ciprofloxacine 5µg	CIP
Tétracycline 30µg	TET
Tigécycline 15µg	TIG
Chloramphénicol 30µg	CHL
Sulfamides 200µg	SMX
Triméthoprim 5µg	TMP
Azithromycine 15µg	AZM

En France métropolitaine, 5 % (56/1019) des souches étaient sensibles à tous les antibiotiques testés, dont 80 % (45/56) de *S. flexneri*. Le **tableau 40** donne le pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches de France métropolitaine en 2018.

Tableau 40 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de Shigella (souches, France métropolitaine, 2018)

	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	Moyenne
Souches testées	42	14	328	635	Total=1 019
Sensibles	10 %	0 %	14 %	1 %	5 %
AMP	62 %	64 %	74 %	37 %	51 %
CTX	0 %	0 %	2 %	8 %	6 %
STR	67 %	93 %	78 %	90 %	85 %
AKN	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
GEN	0 %	0 %	0 %	0,5 %	0,3 %
TMP	81 %	86 %	63 %	98 %	86 %
SMX	71 %	79 %	56 %	84 %	74 %
CHL	2 %	57 %	52 %	3 %	19 %
TET	74 %	93 %	80 %	77 %	78 %
CIP	5 %	0 %	9 %	33 %	23 %
AZM	0 %	0 %	20 %	29 %	24 %

En gras, les valeurs >50 %.

Dans les outre-mer, 14 % (16/113) des souches étaient sensibles à tous les antibiotiques testés dont 81 % (13/16) de *S. sonnei*. Le **tableau 41** présente le pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches des outre-mer en 2018.

Tableau 41 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de Shigella (souches, outre-mer, 2018)

	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	Moyenne
Souches testées	0	2	67	44	Total=113
Sensibles	-	0 %	4 %	27 %	13 %
AMP	-	100 %	85 %	52 %	73 %
CTX	-	0 %	9 %*	0 %	5 %*
STR	-	100 %	96 %	73 %	87 %
AKN	-	0 %	0 %	0 %	0 %
GEN	-	0 %	0 %	0 %	0 %
TMP	-	50 %	81 %	66 %	74 %
SMX	-	100 %	33 %	66 %	47 %
CHL	-	100 %	75 %	50 %	65 %
TET	-	100 %	93 %	68 %	83 %
CIP	-	0 %	0 %	2 %**	1 %
AZM	-	0 %	0 %	2 %**	1 %

En gras, les valeurs >50 % pour un nombre de souches testées >10.

*La première souche des outre-mer présentant une résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération enregistrée au CNR-ESS date de 2017.

**Première souche des outre-mer enregistrée au CNR-ESS présentant une résistance à la ciprofloxacine ou à l'azithromycine. Voir les paragraphes correspondants suivants.

Le séquençage du génome entier a été réalisé sur la totalité des souches de *Shigella* spp., hors doublons (n = 1 087). Cette nouvelle technique nous a permis de déterminer les gènes de résistance aux antibiotiques suivants (**tableau 42**) :

Tableau 42 : Caractérisation des principaux gènes de résistance aux antibiotiques détectés par WGS (souches, France métropolitaine et outre-mer, 2018)

Résistance à	<i>S. boydii</i> (n = 40)	<i>S. dysenteriae</i> (n = 16)	<i>S. flexneri</i> (n = 371)	<i>S. sonnei</i> (n = 660)
β-LAC	<i>bla</i> _{TEM-1B} (25) <i>bla</i> _{OXA-1} (1)	<i>bla</i> _{OXA-1} (10) <i>bla</i> _{TEM-1B} (3)	<i>bla</i> _{OXA-1} (229) <i>bla</i> _{TEM-1B} (106) <i>bla</i> _{TEM-1A} (1) <i>bla</i> _{TEM-1C} (2) <i>bla</i> _{TEM-1D} (3)	<i>bla</i> _{TEM-1B} (169) <i>bla</i> _{OXA-1} (37) <i>bla</i> _{TEM-1A} (1) <i>bla</i> _{TEM-1C} (7)
AMI	<i>strA/aph(3'')-Ib</i> (26) <i>strB/aph(6)-Id</i> (15) <i>aadA1/ant(3'')-Ia</i> (8)	<i>strA/aph(3'')-Ib</i> (14) <i>strB/aph(6)-Id</i> (13) <i>aadA1/ant(3'')-Ia</i> (11)	<i>aadA1/ant(3'')-Ia</i> (247) <i>strA/aph(3'')-Ib</i> (165) <i>strB/aph(6)-Id</i> (164) <i>aadA5</i> (32) <i>aadA2</i> (4) <i>aac(6')-Iaa</i> (1)	<i>strA/aph(3'')-Ib</i> (517) <i>strB/aph(6)-Id</i> (496) <i>aadA1/ant(3'')-Ia</i> (244) <i>aadA5</i> (152) <i>aac(3)-IId</i> (3) <i>aadA2</i> (2) <i>aac(6')-Ib-cr</i> (1) <i>aadA16</i> (1)
COL	0	0	0	0
PHEN	<i>catA1</i> (1)	<i>catA1</i> (9) <i>catA2</i> (1)	<i>catA1</i> (210)	<i>catA1</i> (31) <i>floR</i> (2) <i>cmlA1</i> (1)
SUL	<i>sul2</i> (26) <i>sul1</i> (19) <i>sul3</i> (1)	<i>sul2</i> (14) <i>sul1</i> (1)	<i>sul2</i> (168) <i>sul1</i> (41) <i>sul3</i> (1)	<i>sul2</i> (528) <i>sul1</i> (150) <i>sul3</i> (1)
TET	<i>tet(A)</i> (24) <i>tet(B)</i> (5)	<i>tet(B)</i> (14) <i>tet(A)</i> (3)	<i>tet(B)</i> (261) <i>tet(A)</i> (44)	<i>tet(A)</i> (451) <i>tet(B)</i> (54)
TMP	<i>dfrA7</i> (18) <i>dfrA14</i> (9) <i>dfrA1</i> (6) <i>dfrA5</i> (1)	<i>dfrA1</i> (9) <i>dfrA14</i> (6) <i>dfrA7</i> (1)	<i>dfrA1</i> (106) <i>dfrA14</i> (108) <i>dfrA17</i> (30) <i>dfrA7</i> (5) <i>dfrA12</i> (4) <i>dfrA5</i> (3) <i>dfrA8</i> (3)	<i>dfrA1</i> (601) <i>dfrA17</i> (146) <i>dfrA7</i> (24) <i>dfrA14</i> (33) <i>dfrA5</i> (4) <i>dfrA8</i> (2) <i>dfrA12</i> (1)

β-LAC : β-lactamines ; AMI : aminosides ; COL : colistine ; PHEN : phénicolés, notamment chloramphénicol. SUL : sulfamides, TET : tétracycline, TMP : triméthoprim.

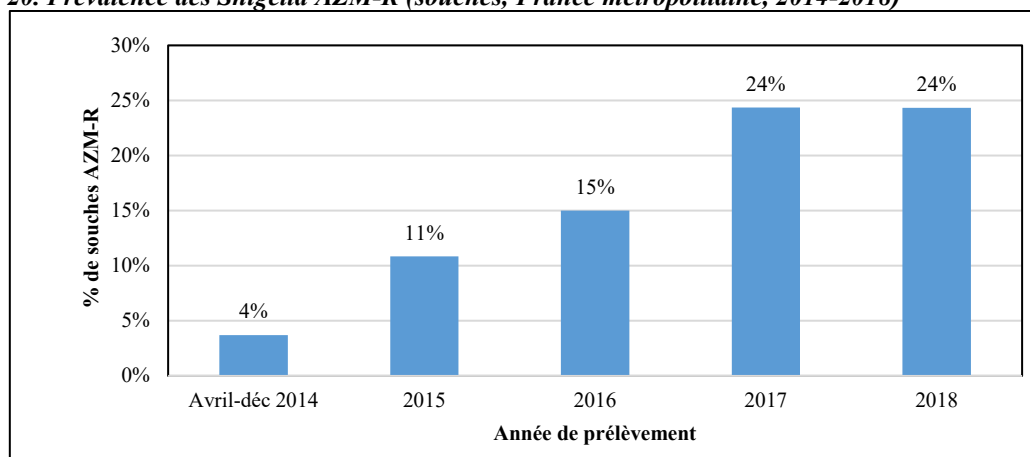
Les gènes de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération, à l'azithromycine et aux fluoroquinolones sont décrits ci-après dans le paragraphe « 3.3.2 Résistances émergentes chez *Shigella* spp. ».

3.2.3.2 Résistances émergentes chez *Shigella* spp.

3.2.3.2.1 Résistance à l'azithromycine

L'azithromycine est testée en routine au CNR depuis avril 2014. Depuis cette date, le nombre de **souches résistantes à l'azithromycine (AZM-R) (CMI > 16 mg/L et présence du gène *mph(A)*)** a augmenté chaque année : 25 souches isolées de avril à décembre 2014, 73 en 2015, 111 en 2016 et 206 en 2017. En 2018, 24 % (n=248/1019) des souches en provenance de France métropolitaine présentaient une résistance à l'azithromycine. (**Figure 20**).

Figure 20. Prévalence des *Shigella* AZM-R (souches, France métropolitaine, 2014-2018)



En 2018, nous avons détecté une épidémie de *S. sonnei* g de profil de résistance AMP STR PEF CIP TET SMX TMP AZM. Cent-trente cas en métropole et un cas chez un habitant de Guadeloupe. Il s'agit de **la première souche de *Shigella* AZM-R** en provenance des **outre-mer** confirmée au CNR-ESS (voir le paragraphe « 4. Alertes »).

Parmi les 248 souches de *Shigella* spp. AZM-R de métropole, nous avons identifié 73 % (182/248) de *S. sonnei* et 27 % (66/248) de *S. flexneri*. Les différents sérotypes/biotypes sont décrits dans le **tableau 43**.

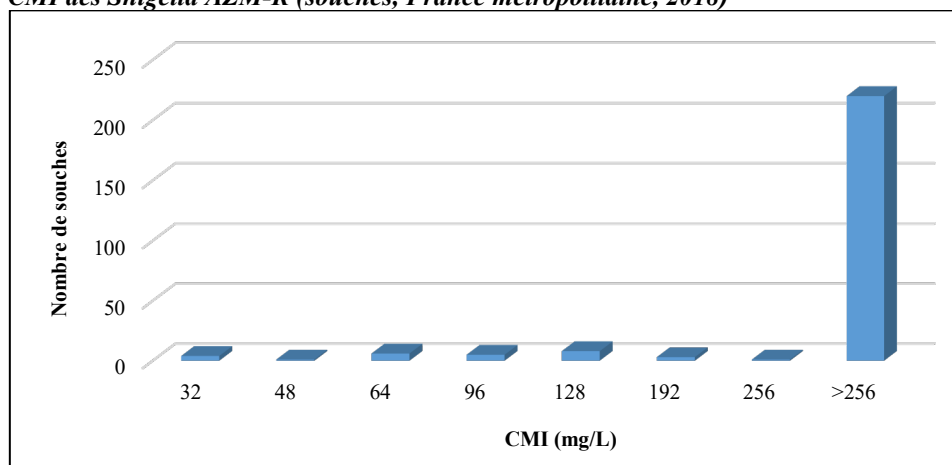
Tableau 43 : Sérotypes/biotypes des *Shigella* AZM-R (souches, France métropolitaine, 2018)

Sérotypes/Biotypes	n
<i>Shigella sonnei</i>	182
a	1
<u>g</u>	<u>179</u>
g (mannitol-)	1
g (ONPG-)	1
<i>Shigella flexneri</i>	66
1a	1
1b	5
<u>2a</u>	<u>22</u>
<u>3a</u>	<u>17</u>
3b	2
4c	2
Y	1
sérotipe provisoire 1c (7,8+)	16
Total	248

Les chiffres soulignés correspondent aux 3 sérotypes majoritaires de l'année.

Les CMI de l'azithromycine pour les *Shigella* AZM-R étaient comprises entre 32 et > 256 mg/L (**Figure 21**).

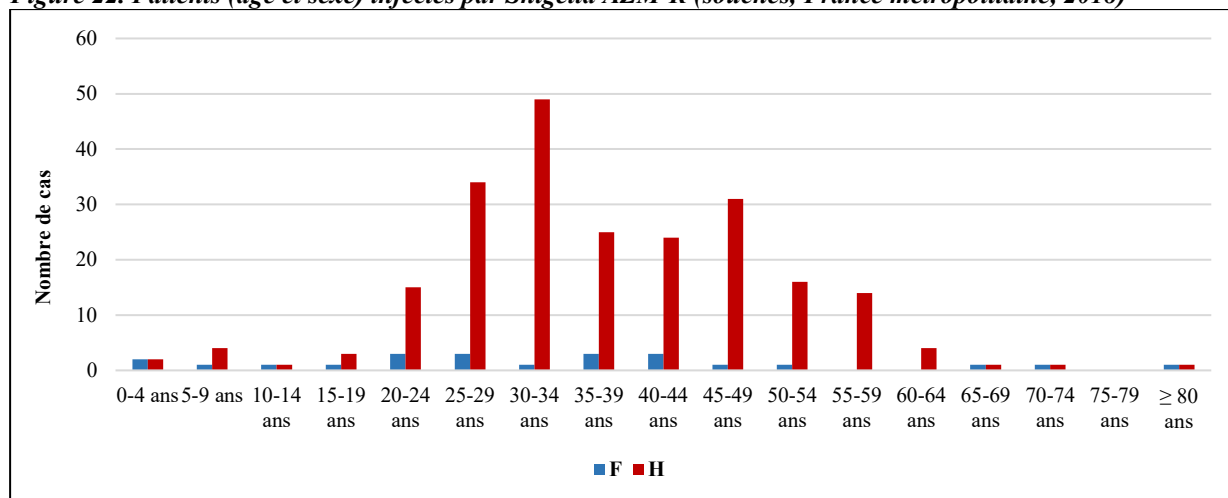
Figure 21. CMI des *Shigella* AZM-R (souches, France métropolitaine, 2018)



Le gène *mph(A)* a été détecté dans toutes les séquences (248/248, 100 %) de *Shigella* AZM-R (CMI_{AZM} > 16 mg/L). Aucune souche avec une CMI_{AZM} ≤ 16 mg/L ne contenait le gène *mph(A)*.

Comme chaque année, les souches de *Shigella* AZM-R de 2018 étaient majoritairement isolées chez des hommes de 20-59 ans (208/248, 84 %) (**Figure 22**).

Figure 22. Patients (âge et sexe) infectés par *Shigella* AZM-R (souches, France métropolitaine, 2018)

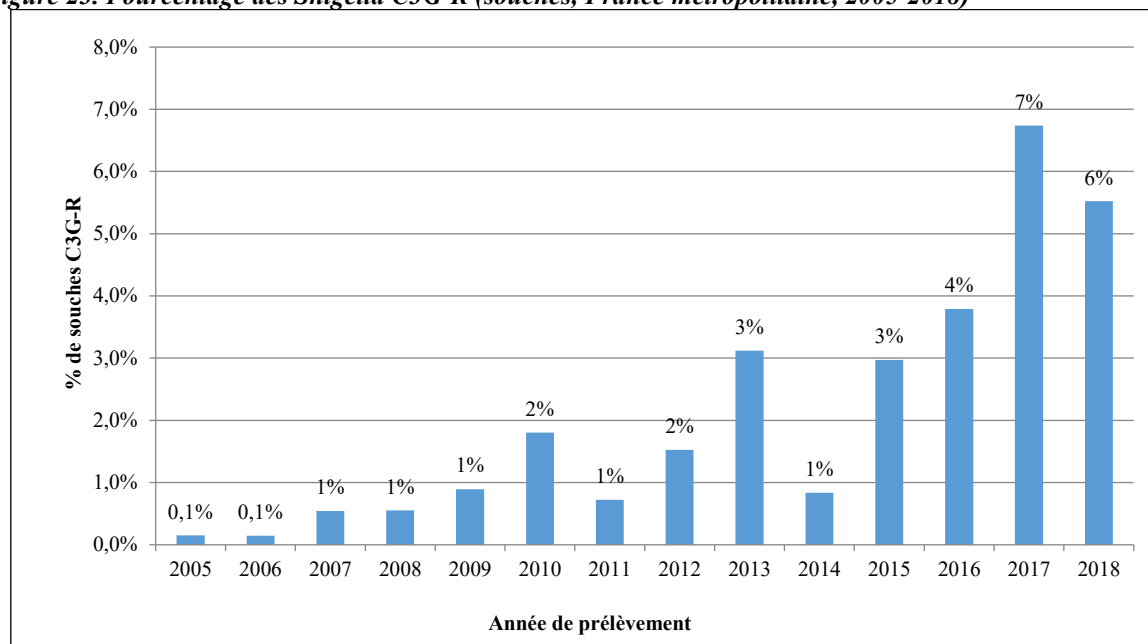


Parmi les 104 cas pour lesquels l'item sur la notion de voyage était renseigné, 70 % (73/104) précisait une absence de voyage hors de France métropolitaine, 13 % (14/104) un voyage en Europe (dont 5 cas en Espagne), 8 % (8/104) en Asie, et les 9 % restants (9/104) un voyage en Afrique, en Amérique ou dans les Antilles françaises.

3.2.3.2.2 Résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération

En 2018, 6 % (57/1019) des souches de *Shigella* en provenance de métropole présentaient une résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G-R). L'évolution du pourcentage des souches C3G-R en métropole de 2005 à 2018 est présentée dans la **figure 23**.

Figure 23. Pourcentage des *Shigella* C3G-R (souches, France métropolitaine, 2005-2018)



Parmi les 57 souches de *Shigella* C3G-R de métropole, 89 % (51/57) étaient des *S. sonnei* et 11 % (6/57) des *S. flexneri*. Les différents sérotypes/biotypes sont décrits dans le **tableau 44**.

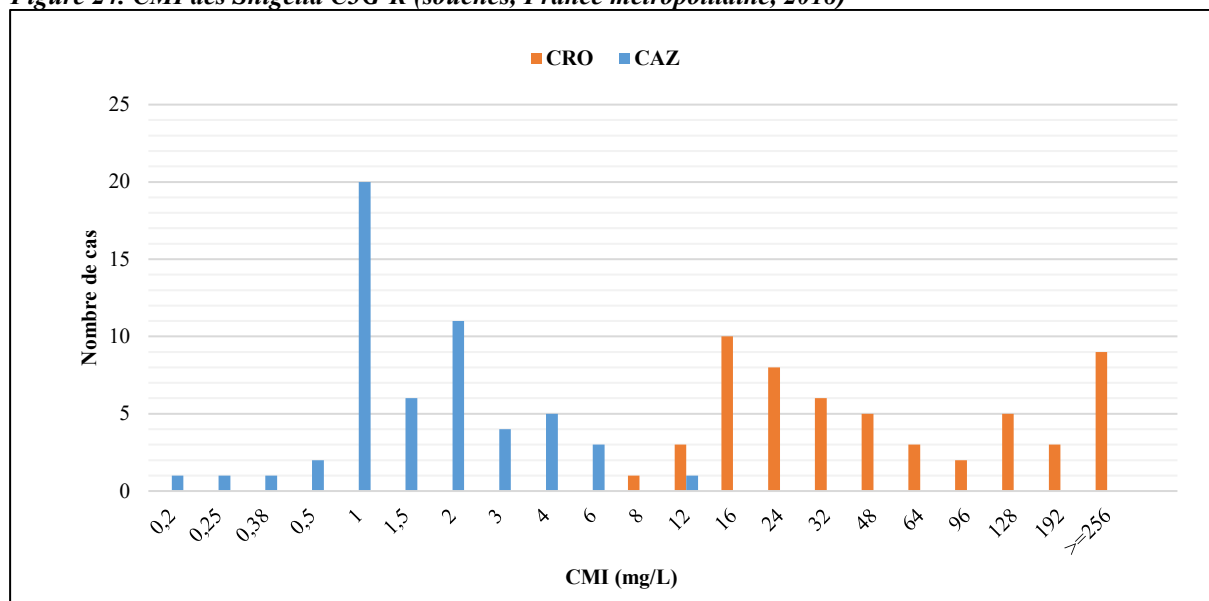
Tableau 44 : Sérotypes/biotypes des *Shigella* C3G-R (souches, France métropolitaine, 2018)

Sérotypes/Biotypes	n
<i>Shigella sonnei</i>	51
<u>g</u>	<u>48</u>
g (ONPG-)	3
<i>Shigella flexneri</i>	6
2a	4
1b	1
Y	1
Total	57

Les chiffres soulignés correspondent aux sérotypes majoritaires de l'année.

Dans les outre-mer, 6 souches C3G-R ont été enregistrées en 2018 : il s'agissait de souches de *S. flexneri* de sérotypes 4a, 4av ou Y, toutes isolées de patients de Mayotte. La première souche C3G-R des outre-mer enregistrée au CNR-ESS date de 2017. Il s'agissait également d'une *S. flexneri* 4av isolée à Mayotte.

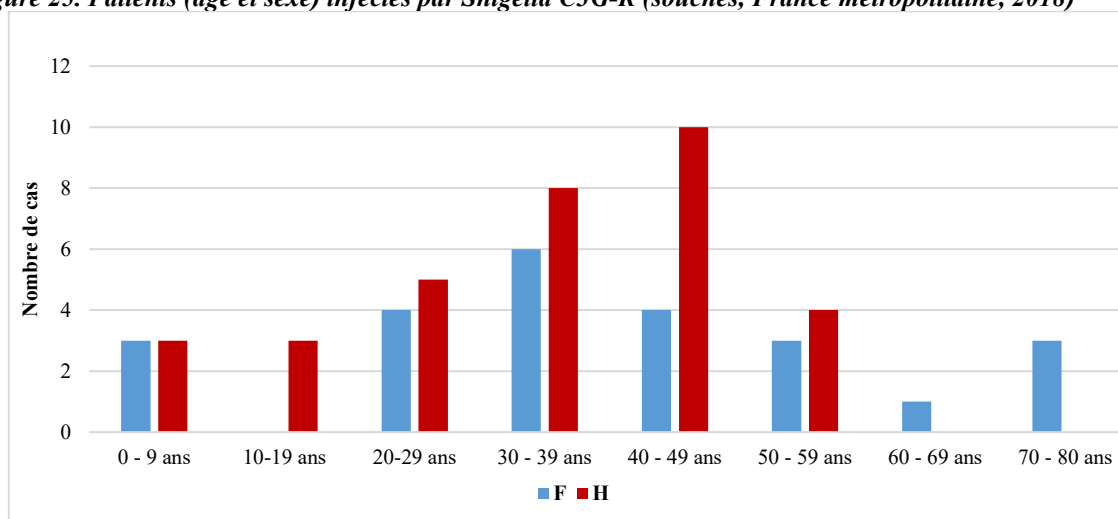
Les CMI de la ceftazidime (CAZ) et de la ceftriaxone (CRO) pour les souches C3G-R étaient respectivement comprises entre 0,2 - 12 mg/L et 8 - \geq 256 mg/L. La répartition des CMI des souches de France métropolitaine est présentée dans la **figure 24**.

Figure 24. CMI des *Shigella* C3G-R (souches, France métropolitaine, 2018)

Les 6 souches de *S. flexneri* des outre-mer avaient une $CMI_{CAZ} = 3-6$ mg/L et une $CMI_{CRO} = 48 - 128$ mg/L.

La notion de voyage était renseignée chez 72 % (41/57) des cas de shigellose C3G-R de métropole. Vingt-neuf pour cent (12/41) mentionnaient un **voyage en Egypte**, 17 % (7/41) un voyage en **Inde** et 24 % (10/41) l'**absence de voyage** en dehors de France métropolitaine. Aucune notion de voyage n'était mentionnée pour les souches C3G-R des outre-mer (Mayotte).

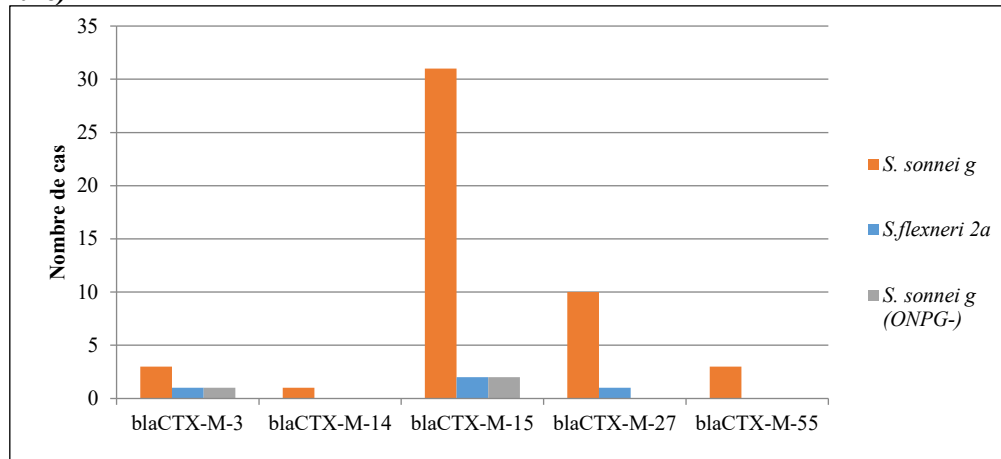
Un léger déséquilibre entre les sexes a été observé parmi les cas infectés par des souches C3G-R (33 hommes *versus* 24 femmes) de métropole. La répartition des âges montre une majorité des cas entre 20 et 49 ans (38/57, 67 %). Ce phénomène est lié à une **épidémie à *S. sonnei* productrice de CTX-M-27** impliquant 10 cas strictement masculins, âgés de 29 à 53 ans. Cet épisode correspondait à une alerte signalée sur la plateforme EPIS-FWD par Public Health England (voir ci-après le paragraphe « 4. Alerte ») (Figure 25).

Figure 25. Patients (âge et sexe) infectés par *Shigella* C3G-R (souches, France métropolitaine, 2018)

Les six souches des outre-mer étaient, quant à elles, isolées chez deux hommes et quatre femmes d'âges compris entre 8 et 69 ans.

Grâce au WGS, les gènes de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération ont été systématiquement recherchés. Chez les *Shigella* isolées en 2018, ces gènes appartenaient tous à la **famille des bla_{CTX-M}** et sont représentés dans la **figure 26**.

Figure 26. Gènes responsables de la résistance aux C3G chez *Shigella* (souches, France métropolitaine, 2018)



En métropole, le gène *bla_{CTX-M-15}* était le plus fréquemment retrouvé chez les *Shigella* C3G-R. Le pic de 10 souches de *S. sonnei* g productrices de CTX-M-27 correspondait à l'épisode épidémique décrit précédemment et ci-après dans le paragraphe « 4. Alerte ».

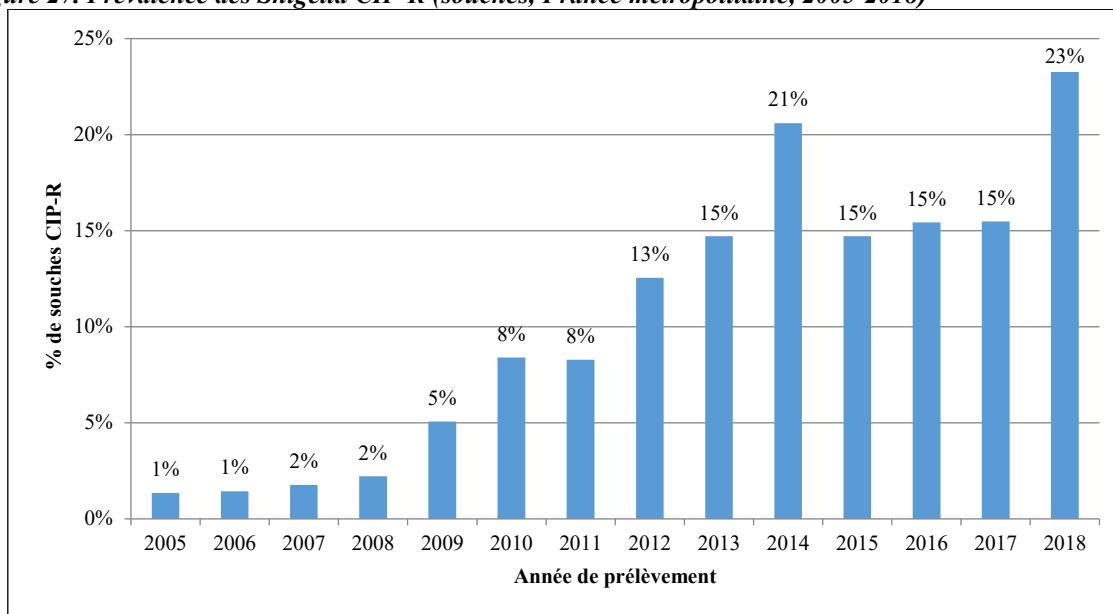
Dans les outre-mer (Mayotte), les six souches de *S. flexneri* C3G-R avaient le profil de résistance suivant AMP CAZ CRO STR PEF TET SMX TMP et étaient productrices de CTX-M-15.

Enfin, parmi les quatre souches de **EIEC** isolées en 2018, une souche ST311 avec un profil de résistance AMP CAZ CRO STR SMX ($CMI_{CAZ} = 2 \text{ mg/L}$; $CMI_{CRO} = 2 \text{ mg/L}$) était porteuse du gène *bla_{CMY-4}*.

3.2.3.2.3 Résistance aux quinolones

La résistance à la ciprofloxacine (CMI > 0,5 mg/L) parmi les souches de *Shigella* spp. de France métropolitaine augmente de manière inquiétante depuis 2009 (Figure 27).

Figure 27. Prévalence des *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2005-2018)



En 2018, 23 % (237/1019) des souches en provenance de France métropolitaine présentaient une résistance à la ciprofloxacine. Cette augmentation soudaine est liée à l'épidémie de *Shigella sonnei* g de profil de résistance AMP STR NAL PEF CIP TET SMX TMP AZM décrite dans le paragraphe « 4. Alertes » de ce rapport.

En 2018, le CNR-ESS a enregistré la première souche de *Shigella* CIP-R en provenance des outre-mer : il s'agissait d'une souche de *S. sonnei* g isolée d'un habitant de Guadeloupe dont le profil de résistance était identique à celui de l'épidémie métropolitaine citée ci-dessus.

Parmi les 237 souches de *Shigella* CIP-R de métropole, 87 % (207/237) étaient des *S. sonnei*, 12 % (28/237) des *S. flexneri* et moins de 1 % (2/237) des *S. boydii*. Les différents sérotypes/biotypes sont décrits dans le tableau 45.

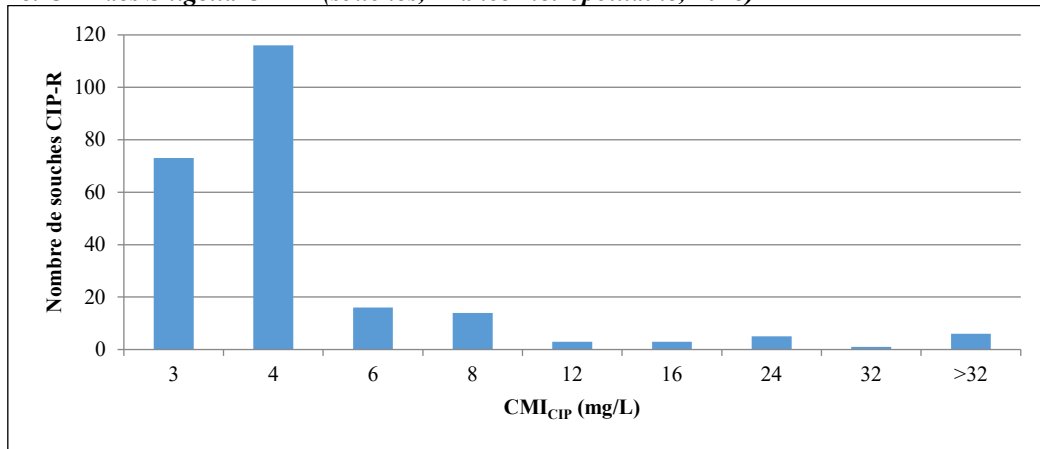
Tableau 45 : Sérotypes/biotypes des *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2018)

Sérotypes/Biotypes	n
<i>Shigella sonnei</i>	207
<u>g</u>	<u>203</u>
g (mannitol-)	1
a	1
g (ONPG-)	2
<i>Shigella flexneri</i>	28
<u>2a</u>	<u>23</u>
3a	2
Yv	2
1b	1
<i>Shigella boydii</i>	2
19	2
Total	237

Les chiffres soulignés correspondent aux sérotypes majoritaires de l'année.

Les CMI de la ciprofloxacine pour les *Shigella* CIP-R étaient comprises entre 3 et > 32 mg/L (Figure 28).

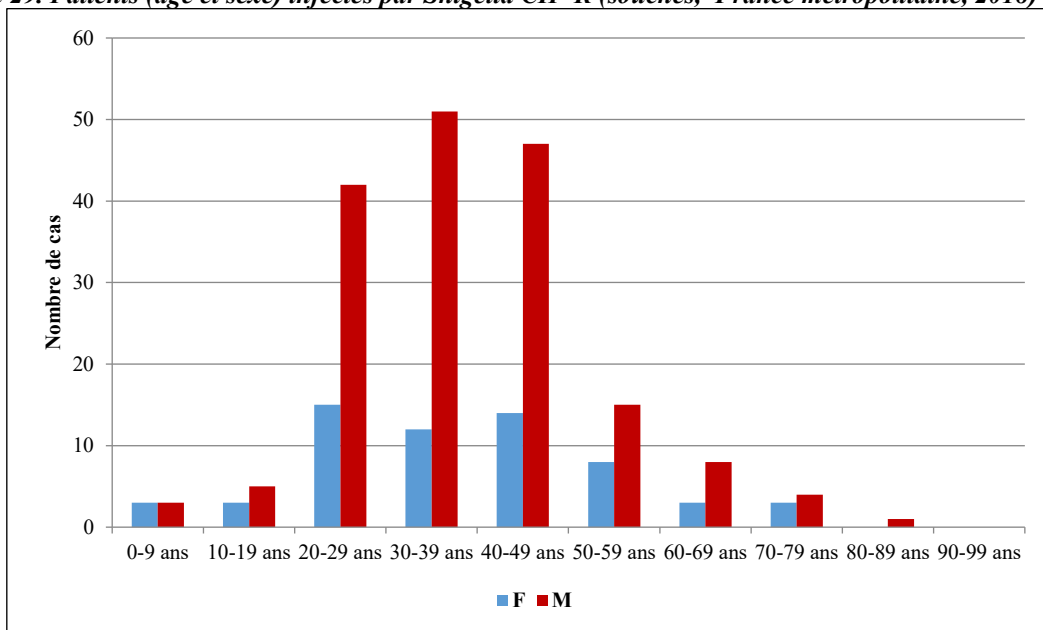
Figure 28. CMI des *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2018)



La notion de voyage était renseignée chez 53 % (126/237) des cas de shigellose CIP-R. Parmi ces derniers, 32 % (40/126) mentionnaient un **voyage en Inde**, et pour 47 % l'**absence de séjour à l'étranger** était signalée.

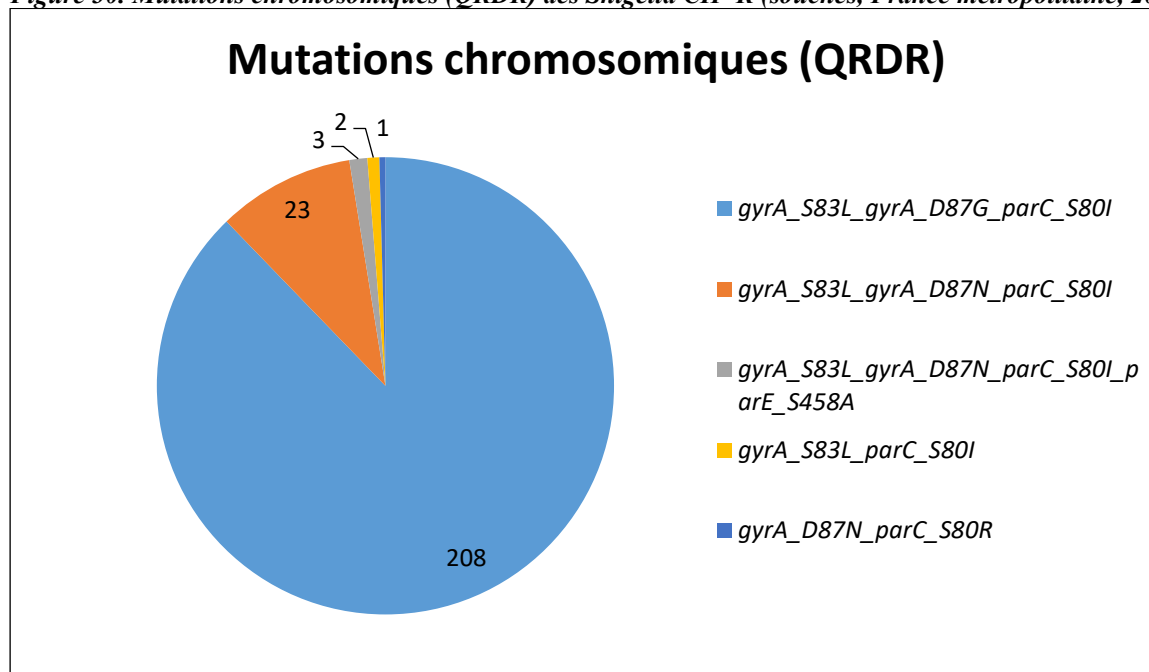
Alors que les souches CIP-R étaient originellement strictement associées à un voyage, ces dernières semblent circuler désormais localement sur le territoire métropolitain, et tout particulièrement parmi les **hommes de 20-49 ans** (140/237, 59 %) (Figure 29).

Figure 29. Patients (âge et sexe) infectés par *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2018)



Grâce au WGS, nous avons étudié les **mutations** de la région chromosomique impliquée dans la résistance aux quinolones (**QRDR**). Ces dernières étaient présentes dans la totalité des 237 souches de *Shigella* CIP-R de métropole (**Figure 30**).

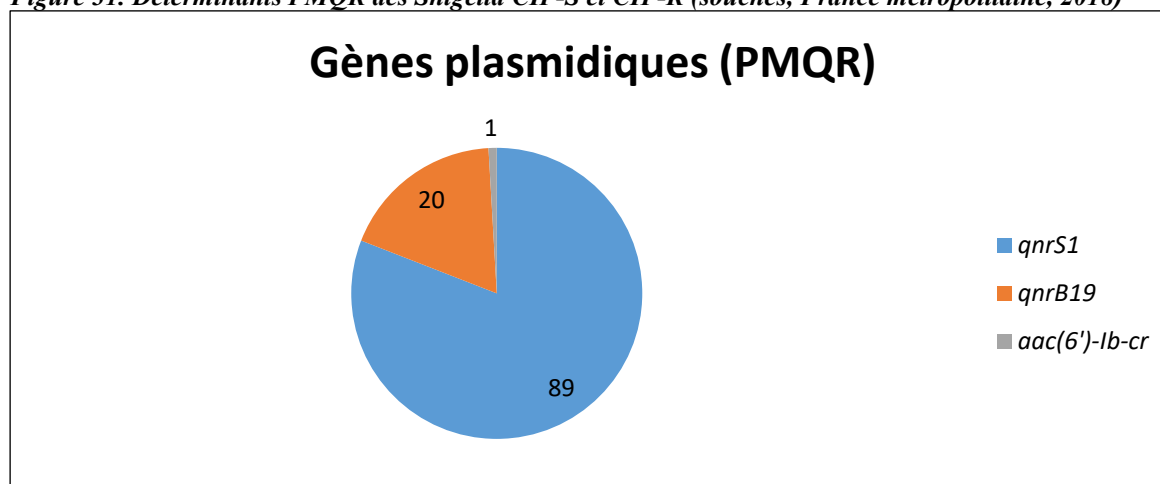
Figure 30. Mutations chromosomiques (QRDR) des *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2018)



La souche de *Shigella sonnei* g CIP-R en provenance des outre-mer présentait une triple mutation QRDR de type *gyrA_S83L*, *gyrA_D87G* et *parC_S80I*.

Nous avons également détecté des gènes de résistance aux quinolones médiés par des plasmides (PMQR) chez un total de 110 souches de *Shigella* CIP-S ou CIP-R de métropole (**Figure 31**).

Figure 31. Déterminants PMQR des *Shigella* CIP-S et CIP-R (souches, France métropolitaine, 2018)



Six souches de *S. flexneri* 4a, 4av et Y en provenance de Mayotte étaient également porteuses d'un gène *qnrS1*. Il s'agit des souches de profil de résistance AMP CAZ CRO STR PEF TET SMX TMP et porteuses de la BLSE de type CTX-M-15. Aucune autre souche des outre-mer ne contenait de gènes de type PMQR.

3.2.4 Interface avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France (SpF) : échange des données via une fiche de renseignements spécifique au CNR-ESS qui accompagne chaque souche reçue. 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 transmises sans souches (« fiches information ») et le signalement de la même façon des épidémies potentielles.

Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens (ECDC): le CNR-ESS répond à toutes les alertes déposées sur la plateforme EPIS-FWD de l'ECDC. Cette plateforme connecte les épidémiologistes et les microbiologistes de 52 pays : 28 états membres de l'UE, 3 pays de l'European Economic Area (EEA) - Iceland, Norway and Liechtenstein – et 21 pays hors UE.

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

3.2.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

- Étude de la distribution des sérotypes de *Shigella* et de l'émergence des résistances aux antibiotiques en France de 2005 à 2016. Cette étude a nécessité un nettoyage des bases de données du CNR-ESS et la création d'une base de données unique. Une étude statistique a été effectuée en partenariat avec l'unité d'épidémiologie des maladies émergentes de l'Institut Pasteur, Paris. La rédaction d'un article est en cours de finalisation pour soumission en 2019.
- Étude de l'émergence d'un clone de *Shigella sonnei* g de profil de résistance AMP STR PEF CIP TET SMX TMP AZM dans la région bordelaise en 2018. Il s'agit d'un travail en collaboration avec le service des maladies infectieuses du CHU de Bordeaux. Un article est en cours de rédaction avec les données du CNR-ESS.
- Étude de l'émergence de clones de *Shigella* multirésistants aux antibiotiques parmi la communauté homosexuelle en France métropolitaine de 2014 à 2018. Il s'agit d'un travail en collaboration avec Santé publique France. Un article est en cours de rédaction avec les données du CNR-ESS.
- Étude des différents clusters génomiques des souches de *Shigella* multirésistantes aux antibiotiques en France métropolitaine. Cette étude est en cours de réalisation au sein de l'unité.

3.3 Alerte

En 2018, deux épidémies nationales à *S. sonnei* ont été détectées au CNR-ESS et ont été notifiées à Santé publique France:

- **Une épidémie à *S. sonnei* biotype « g » avec un profil de résistance AMP STR PEF CIP TET SMX TMP AZM.** Pour cette épidémie, 130 cas ont été détectés en métropole, dont 88 % (115/130) d'hommes âgés de 19 à 60 ans. Parmi ces derniers, l'item sur la notion de voyage avaient été renseigné chez 50 cas: 78 % (39/50) indiquaient l'absence de voyage à l'étranger, 12 % (6/50) indiquaient un voyage en Espagne, Italie ou Portugal, 6 % (3/50) un voyage en Asie et un cas un voyage aux Antilles. Parmi les souches transmises des outre-mer, un cas unique d'un homme de 21 ans a été détecté en Guadeloupe sans renseignement de voyage associé.
- **Une épidémie à *S. sonnei* biotype « a » avec un profil de résistance STR SMX TMP.** Cette épidémie concernait treize cas d'enfants âgés de 4, 5 et 7 ans et deux adultes et était en lien avec une école du département 92.

En 2018, le CNR-ESS a répondu, en liaison avec SpF, à trois alertes européennes concernant des cas groupés à *Shigella* spp déposées sur la plateforme EPIS-FWD de l'ECDC :

- UI-486 (Royaume-Uni, 18/06/2018) : Public Health England a notifié une augmentation de cas d'infection à *S. sonnei* chez des hommes âgés de 20 à 65 ans. Quatre hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes ont rapporté avoir participé à une Gaypride « the Maspalomas Pride event » ayant eu lieu du 3 au 13 mai 2018, aux Canaries, Espagne. La souche est décrite avec le même résistome que les souches de notre épidémie à *S. sonnei* g AMP STR NAL PEF CIP TET SMX TMP AZM.
- UI-523 (Irlande, 19/11/2018) : cluster de 6 cas de *S. sonnei* avec une date de début des symptômes du 7 au 12 octobre 2018. En France, aucun cas avec une notion de voyage en Irlande n'a été identifié.
- UI-530 (Royaume-Uni, 20/12/2018) : cluster de 17 cas de *S. sonnei* multirésistant aux antibiotiques (CTX-M-27). Nous avons détecté 10 souches métropolitaines avec cette BLSE : voir le paragraphe « 3.2.3.2.2 Résistances aux Céphalosporines de troisième génération ».

4 Escherichia coli

4.1 Activités d'expertise

La description des techniques disponibles au CNR (telle que décrite dans le dossier de candidature déposé en début de mandat ou dans le rapport précédent) est présentée en annexe 2.

En 2018, un total de 1 432 prélèvements, dont 1041 prélèvements de selles et 308 souches de *E. coli* ont été reçus au LA-RD. Le nombre de souches analysées est stable par rapport à 2017 (n = 304) contrairement au nombre de selles analysées qui augmente régulièrement depuis 2013 (1 041 versus 985 en 2017, 970 en 2016, 785 en 2015, 750 en 2014, 736 en 2013).

En 2018, 309 souches d'EHEC ont été isolées et caractérisées par WGS. En France, toutes pathologies confondues, les sérogroupes majeurs d'EHEC retrouvés sont : le séro groupe O26 (27.8 %), le séro groupe O157 (18.8 %) et le séro groupe O80 (15.2 %). Au cours des SHU, les sérogroupes majoritairement isolés en France en 2018, sont le séro groupe O26 (37,3 %), le séro groupe O80 (23,8 %) et le séro groupe O157 (11.1 %), confirmant ainsi la prédominance du séro groupe O26 en France au cours des SHU et le singularisme français avec la prépondérance du séro groupe O80.

L'année 2018 a été marquée par une épidémie d'infections à EHEC O26 liée à la consommation de reblochon de février-mai 2018.

4.1.1 Évolutions des techniques

- Le CNR-ESS : cgWGS HC5
- Le LA-RD met au point une PCR spécifique du clone O80 dans le but d'identifier le réservoir O80 :H2 humain ou animal.

4.1.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Le LA-RD évalue les différents kits diagnostiques de PCR multiplex pour les bactéries enteropathogènes dont les EHEC. Ces kits de PCR multiplex proposés par différents industriels (BD, Quiagen, Biomérieux et Mobidiag) se sont multipliés ces dernières années Leur évaluation par un laboratoire de référence apparaît nécessaire.

4.1.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Aucune pour le LA-RD

4.1.4 Collections de matériel biologique

L'organisation, les conditions de stockage et de mise à disposition des collections de matériel biologique du CNR figurent dans l'annexe 1.

En 2018, 309 souches d'EHEC ont été isolées au LA-RD. Elles sont conservées dans la collection du LA-RD et sont acheminées régulièrement au CNR-ESS en vue de leur séquençage.

4.1.5 Activités d'expertise

En 2018, un total de 1 432 prélèvements, dont 1041 prélèvements de selles, 308 souches de *E.coli* ont été reçus au LA-RD.

La répartition des différents types de prélèvements, leur origine et leur nombre sont résumés dans le **tableau 46**.

Tableau 46 : Répartition des différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au LA-RD en 2018

Inventaire des prélèvements	N
Prélèvements humains	
Selles	1041
Primoculture / Selles	67
Biopsie intestinale	6
ADN/ Biospie colique	1
ADN / Selles	10
Souches humaines isolées de :	
Selles	170
Hémoculture	63
Urines	31
LCR	18
Liquide gastrique	4
Pus profond	3
Aspiration bronchique	2
Liquide articulaire	2
Prélèvement vaginal	2
Biopsie intestinale	2
Liquide péritonéal	1
Placenta	1
Bile	1
Souches animales isolées de :	
Lait	7
TOTAL	1432

4.1.5.1 Inventaire des prélèvements reçus pour la recherche d'EHEC en 2018

Concernant l'activité d'expertise EHEC, le LA-RD a reçu 1341 prélèvements dont 1 041 selles, 170 souches isolées de selles. Le détail des différents types de prélèvements est répertorié dans le **tableau 47**.

Tableau 47 : Les différents types de prélèvements

Prélèvements	N
Selles	1041
Souche/selles	170
Primoculture/selles	67
Souche/ Hémoculture	23
Souche / Urines	18
ADN /Selles	10
Biopsie intestinale	6
Souche/ Biospie colique	2
ADN/ Biospie colique	1
Souche/Liquide gastrique	1
Souche/Bile	1
Souche / Prlvt vaginal	1
Total général	1341

Ces prélèvements concernaient 1 211 patients suivis par des services hospitaliers (159 services hospitaliers dont 2 hors métropoles) ou des structures de biologie privées (n=226).

4.1.6 Activités de séquençage

Toutes les souches d'*Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines isolées par le LA-RD sont transmises en temps réel au CNR-ESS de l'Institut Pasteur, Paris, pour séquençage complet du génome (voir « 2.1.6.1 Activités de séquençage »).

4.2 Activités de surveillance

4.2.1 Description du réseau de partenaires

Le CNR-ESS et le LA-RD collaborent afin d'échanger leurs données permettant la validation des résultats des analyses (PCR versus WGS)). 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 Écoles vétérinaires...).

4.2.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

4.2.2.1 Analyse des caractéristiques épidémiologiques des EHEC

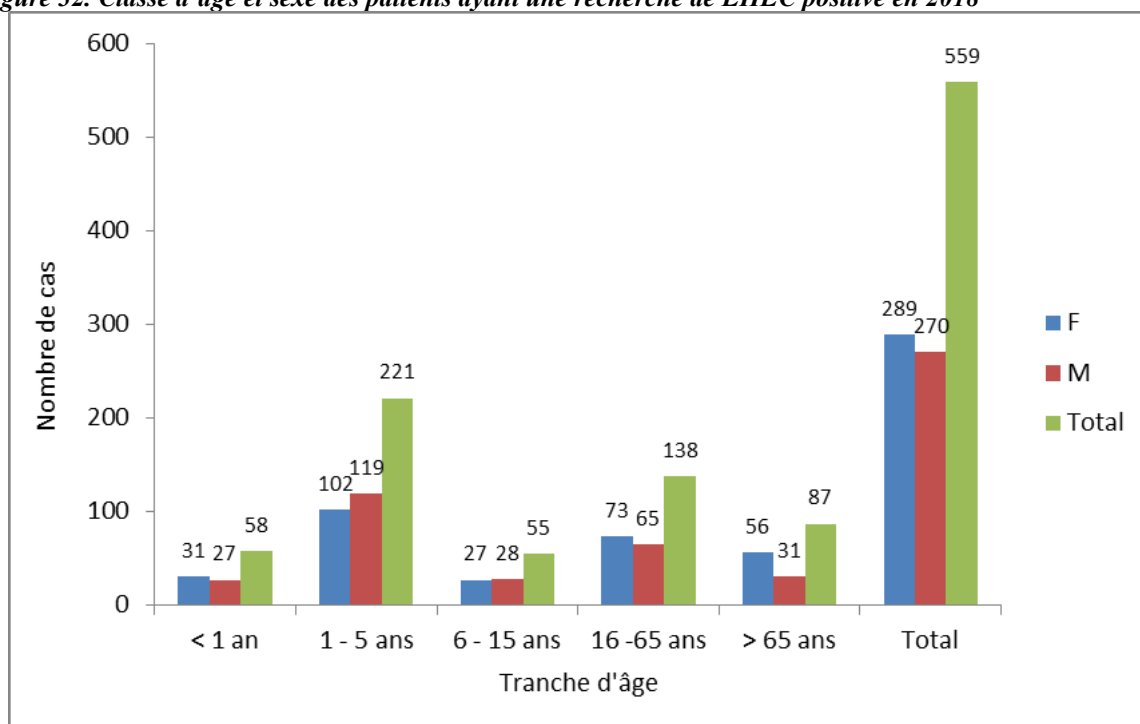
En 2018, **559 patients** ont eu une **recherche de EHEC positive** (isolement de souche ou PCR positive sur les selles). (309 patients avec souches isolées et 250 patients n'ayant qu'une PCR positive sur les selles) Nous observons une augmentation depuis 2015 (246, 304,250 patients positifs respectivement en 2015, 2016, 2017) liée à l'augmentation du nombre de demandes engendrées par les contrôles systématiques des PCR multiplex entériques réalisées par de nombreux LBM depuis 2016. Le tableau 48 montre les principaux symptômes des patients ayant une recherche EHEC positive.

Tableau 48 : Principal symptôme observé chez les patients ayant une recherche de EHEC positive (isolement d'une souche ou PCR positive) en 2018

Symptômes	Total	%
SHU/MAT	165	29,52
DGS	168	30,05
Diarrhée simple	179	32,02
Diarrhée chronique	14	2,50
Entourage SHU	8	1,43
Douleur abdominale	7	1,25
Diarrhée de retour	5	0,89
Colite	2	0,36
Inconnu	11	1,97
Total général	559	

La prévalence des EHEC la plus importante est retrouvée chez les enfants de moins de 15 ans (334 cas soit 59.7 %) et principalement dans la tranche d'âge de 1 à 5 ans (221 cas, soit 39.5 %) avec un sex-ratio (H/F) de 0,93 tout âge confondu et de 1,16 pour les 1 à 5 ans. (**Figure 32**). En 2018, une diarrhée liée à un EHEC O157 a été observée chez un enfant âgé de 11 jours sans évolution vers un SHU.

Figure 32. Classe d'âge et sexe des patients ayant une recherche de EHEC positive en 2018



Concernant les souches, dans la tranche d'âge la plus atteinte (tranche d'âge 1 à 5 ans avec 150 souches isolées), les souches de EHEC retrouvées appartenaient majoritairement aux sérogroupes :

- O26 (58 cas soit 38,7 %)
- O80 (25 cas soit 16,7 %)
- O157 (23 cas soit 15,3 %)

A noter que les sérogroupes rares (n = 1) prédominent chez les plus de 65 ans

Tous les résultats sont représentés dans le **tableau 49**.

Tableau 49 : Répartition des différents sérogroupes de EHEC (souches isolées) par classe d'âge et par sexe des patients en 2018

Sérogroupes	Tranche d'âge								Total serogroupes
	< 1 an		1 - 5 ans		6 à 15 ans		> 65 ans		
	F	M	F	M	F	M	F	M	
O26	8	6	33	25	1	3	6	4	86
O157	1	2	12	11	8	5	13	6	58
O80	5	4	10	15	1	2	5	5	47
O145	2	2	6	5	1	3		3	22
O103	1		5	4	1		1	3	15
O146				2		1	4	5	12
O177	1	1	2	5				1	10
O121	2	1	2	2	1				8
O111	2	1	1	1			2		7
O91				1		1	2	2	6
ND						1	3		4
O166		1						2	3
O174	1					1	1		3
O5			1	1			1		3
O128ab		1						1	2
O128ac			1	1					2
O156							1	1	2
O27					2				2
O55	1			1					2
O98			1				1		2
O113								1	1
O128			1						1
O130							1		1
O134							1		1
O148							1		1
O171							1		1
O181							1		1
O76							1		1
O78							1		1
O8			1						1
O84								1	1
O88							1		1
O9					1				1
Total général	24	19	76	74	16	17	48	35	309

La répartition géographique des souches isolées en 2018 est indiquée sur la **figure 33** ci-dessous. La répartition géographique des principaux sérogroupes confirme ce qui avait été observé en 2016 concernant le sérotype O80. En effet, ce sérotype s'étend à d'autres départements et perd sa spécificité régionale. En effet, jusqu'en 2015 il était essentiellement isolé dans les départements de l'Est de la France et plus particulièrement ceux de la région Rhône-Alpes (**figure 34**).

Figure 33. Répartition départementale des souche de EHEC isolées en 2018 (n=309) sur le territoire

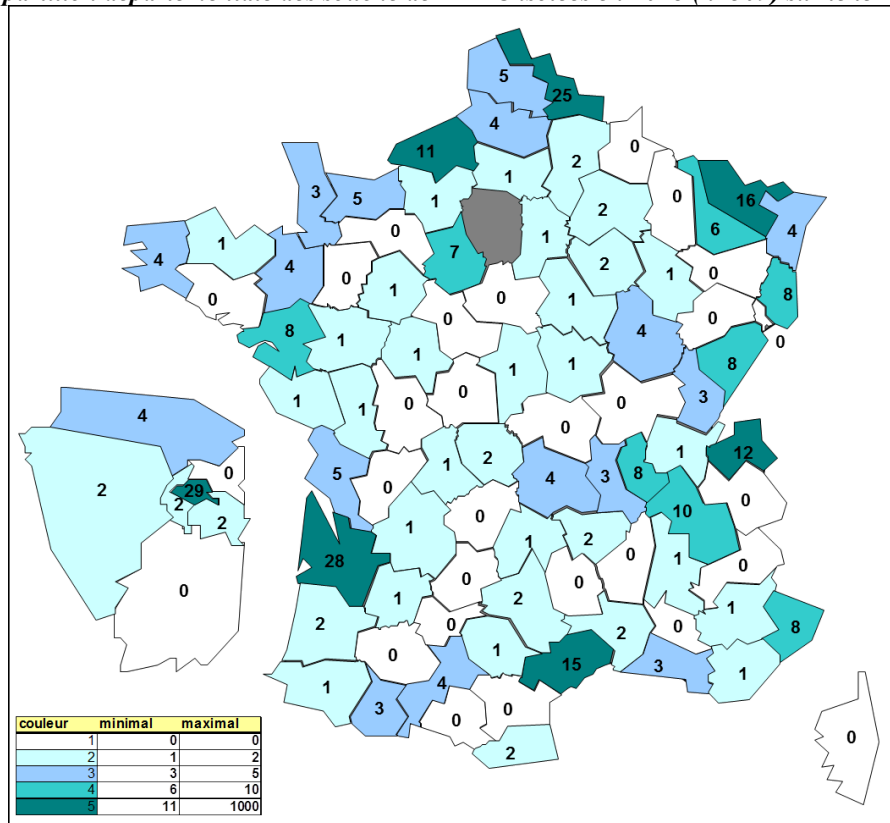
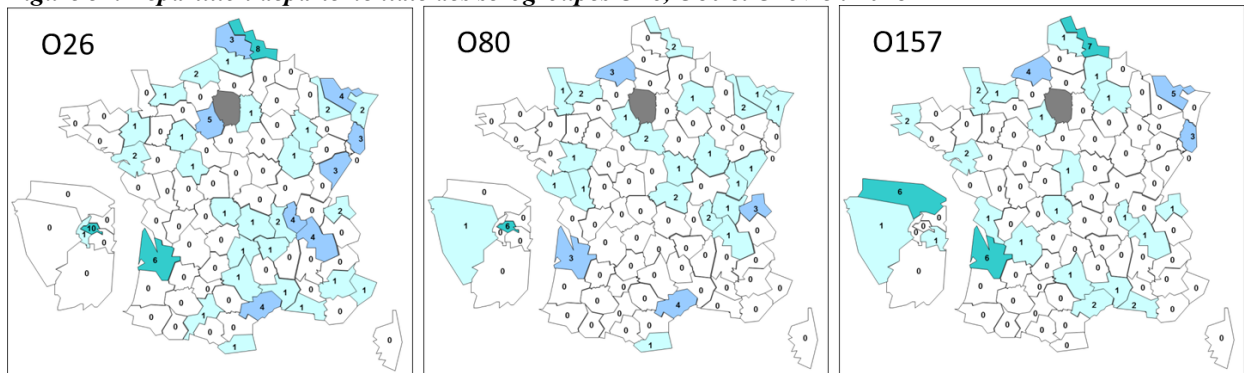


Figure 34. Répartition départementale des sérogroupes O26, O80 et O157 en 2018



4.2.2.2 Résultats microbiologiques 2018 pour les cas de SHU pédiatriques

Parmi les **135 cas de SHU chez des patients de moins de 15 ans en 2018** l'étude microbiologique a donné les résultats suivants :

- Pour **104 enfants** de moins de 15 ans, **une souche de EHEC a été isolée** appartenant principalement aux sérogroupes suivants :
 - O26 n = 44
 - O80 n = 22
 - O157 n = 12
 - O145 n = 9

Les patients étaient âgés en moyenne de 2,6 ans avec un sex- ratio de 0.68.

- Pour **31 patients**, la **PCR était positive dans les selles sans isolement de souches** avec une PCR sérogroupage positive dans les selles permettant pour 7 cas d'incriminer les sérogroupes suivants : EHEC O80 (n = 2), EHEC O26 (n = 1), EHEC O157 (n = 2), EHEC O55 (n = 1), EHEC O145 (n = 1).

4.2.2.3 Résultats microbiologiques 2018 pour les cas de SHU/MAT adultes

Depuis l'épidémie de 2011, les services hospitaliers d'adultes recherchent les EHEC dans les cas de SHU/MAT. Le nombre de demandes est en nette augmentation depuis 2016 (42 % vs 34 % des demandes adultes).

En 2018, 22 souches de EHEC ont été isolées chez des patients adultes âgés en moyenne de 59.8 ans et avec un sex- ratio de 0,83.

Les souches appartenaient majoritaires aux sérogroupes suivants :

- O80 (n = 8)
- O26 (n = 3)
- O157 (n = 2)

Le sérotype O80 apparaît être prédominant dans les SHU de l'adulte. La surveillance épidémiologique des SHU de l'adulte paraît être de plus en plus nécessaire.

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

4.2.2.4.1 Analyse de la répartition des symptômes donnant lieu à une analyse de selles, souches

Les prélèvements de selles et/ou souches ont été reçus pour 1189 patients. Les symptômes ayant motivé une recherche de *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC) ont été précisés pour 90.5 % des patients en ce qui concerne les selles et/ou les souches. Ils sont répertoriés dans le **tableau 50**.

Tableau 50 : Symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC (souches ou selles) en 2018

Symptômes	N patients	% patients
Diarrhée Glairo-sanglante ou sanglante	336	28,3
SHU ou suspicion de SHU	291	24,5
Diarrhée simple	264	22,2
Microangiopathie thrombotique (MAT)	50	4,2
Entourage de SHU	47	4,0
Choc septique	23	1,9
Inconnu	22	1,9
Contrôle post-azythromycine	20	1,7
Diarrhée chronique	20	1,7
Donneur de microbiote fécal	19	1,6
Diarrhée de retour	13	1,1
Aucun symptôme	11	0,9
TIAC	11	0,9
Diarrhée post antibiothérapie	9	0,8
Diarrhée + douleurs abdominales + vomissements	9	0,8
DGS chronique	6	0,5
Maladie de Crohn	6	0,5
Douleurs abdominales	5	0,4
Diarrhée/greffe rénale	4	0,3
Rectocolite hémorragique	4	0,3
Anémie hémolytique	3	0,3
Colite grave	3	0,3
Diarrhée avec insuffisance rénale	3	0,3
Pancolite	3	0,3
Diarrhée aqueuse	2	0,2
Angiocholite	1	0,1
Décès inexpliqué	1	0,1
Diarrhée avec troubles neurologiques	1	0,1
Maladie de Caroli	1	0,1
Transplanté pulmonaire - insuffisance rénale	1	0,1
Total général	1189	100

4.2.2.4.2 Résultats obtenus sur les prélèvements de selles en 2018

Sur les 1041 prélèvements de selles reçus, la **recherche directe** des gènes de Shiga-toxines par amplification génique *in vitro* (PCR) a été positive pour **559 patients, soit 53,7 %** des patients pour lesquels des selles ont été reçues.

Dans 76 % des cas, les résultats de la PCR directe sur les selles après enrichissement ont été corrélés aux résultats obtenus après culture de celles-ci. Pour 250 patients (24 %) la recherche directe des gènes de Shiga-toxines sur les selles était positive sans qu'aucune souche EHEC ait pu être isolée.

4.2.2.4.3 Souches de *E. coli* d'origine humaine productrices de Shiga-toxines isolées en 20184.2.2.4.3.1 Analyse sur des souches de *E. coli* d'origine humaine productrices de Shiga-toxines

Au LA-RD, 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. Le sérogroupage moléculaire a également été réalisé sur toutes les souches EHEC. Au total, en 2018, **309 souches EHEC ont été caractérisées par le LA-RD**

Le CNR-ESS a séquencé le génome des 309 souches de EHEC isolées des selles ou reçues au LA-RD. Les analyses mises en place permettent d'identifier le sérotype, le MLST-7 gènes, un panel de gènes de virulence et de gènes de résistance à l'aide du site public du Center for Genomic Epidemiology-CGE. (<http://www.genomicepidemiology.org/>) et le cgMLST des souches O26, O80 et O157 à l'aide d'Enterobase (<https://enterobase.warwick.ac.uk/>).

Le sérotypage complet par WGS est représenté dans le **tableau 51** suivant.

Tableau 51 : Sérotypage complet par WGS des souches isolées en 2018

WGSO	WGS															Total	
	H2	H4	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H14	H16	H19	H21	H25	H28	H30		H38
O26								86									86
O157				58													58
O80	47																47
O145													2	20			22
O103	15																15
O146												10		2			12
O177								1					9				10
O121											8						8
O111					7												7
O91							1		5								6
ND			1	2								1					4
O166														3			3
O174	1				1							1					3
O5							3										3
O128ab	2																2
O128ac	2																2
O156													2				2
O27															2		2
O55							2										2
O98												2					2
O113		1															1
O128	1																1
O130								1									1
O134																1	1
O148					1												1
O171													1				1
O181										1							1
O76											1						1
O78		1															1
O8					1												1
O84	1																1
O88													1				1
O9								1									1
Total	69	2	1	60	10	5	2	88	5	1	9	14	15	25	2	1	309

Ces souches ont été isolées chez 309 patients patients présentant les symptômes suivants :

- SHU (n = 120)
- DGS (n = 86)
- Diarrhée (n = 77)
- MAT (n = 7)
- Diarrhée chronique (n = 6)
- Entourage SHU (n = 5)
- Douleur abdominale (n = 4)
- Diarrhée de retour (n = 2)
- Inconnu (n = 2)

Toutes pathologies confondues, les sérogroupes majoritairement isolés (>10 %) en France en 2018 étaient :

- **O26** : 86 souches isolées soit **27,8 %**
- **O157** : 58 souches isolées soit **18,8 %**
- **O80** : 47 souches isolées soit **15,2 %**

Pour les SHU/MAT typiques (n=126), les sérogroupes majoritairement isolés, tous âges confondus, en France en 2018 étaient :

- **O26** : 47 souches isolées soit **37.3 %**
- **O80** : 30 souches isolées soit **23.2 %**
- **O157** : 14 souches isolées soit **11,1 %**
- **O145** : 10 souches isolées soit **7.9 %**

La répartition des sérogroupes d'EHEC est représentée dans les figures suivantes :

- **figure 35** : toutes pathologies confondues
- **figure 36** : SHU/MAT tous âges confondus

En 2018, on observe une augmentation du nombre de souches de EHEC du séro groupe O145 cette année par rapport aux années antérieures.

- en 2016, sur 179 souches de STEC caractérisées, 5 appartenait au séro groupe O145 (2.8 %)
- en 2017, sur 250 souches caractérisées au CNR, 6 appartenait au séro groupe O145 - en 2018, sur 309 souches caractérisées au CNR, 22 appartenait au séro groupe O145 (7.1 %)

Figure 35. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés toutes pathologies confondues en 2018

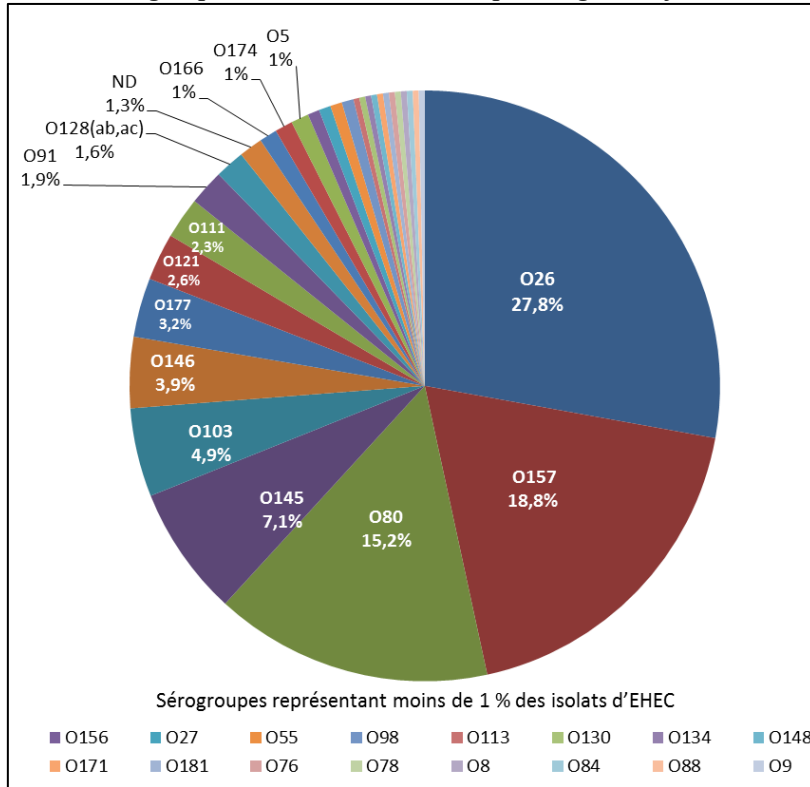
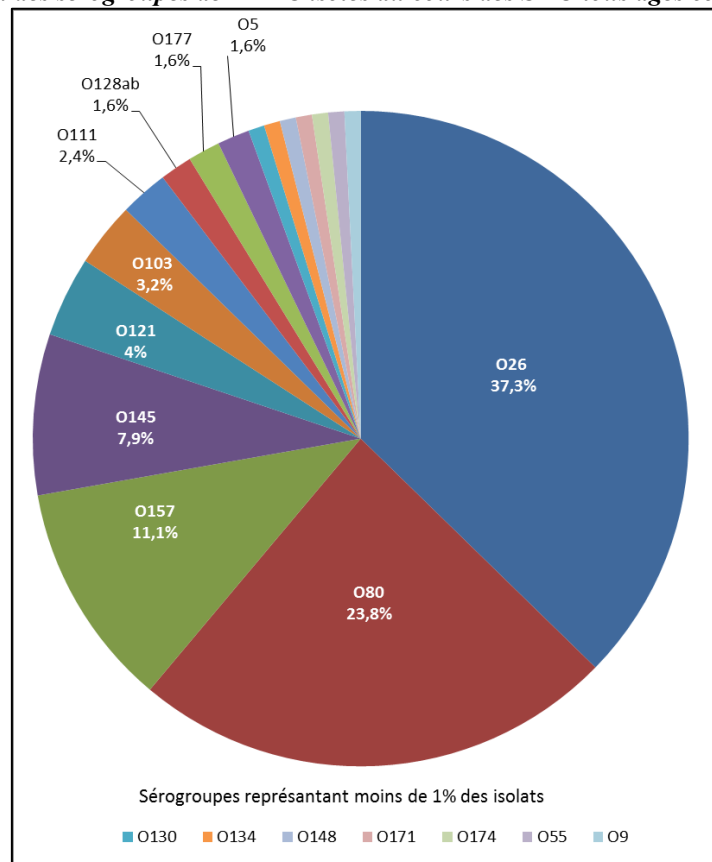


Figure 36. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés au cours des SHU tous âges confondus en 2018

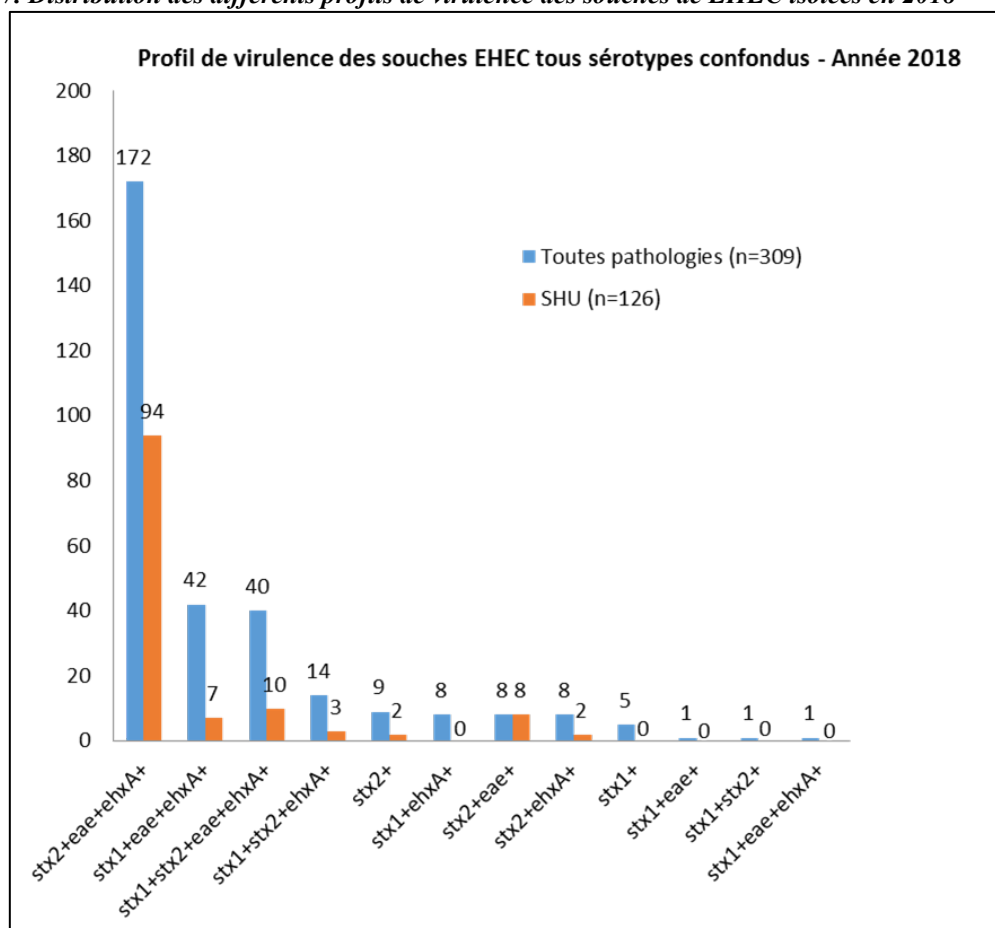


4.2.2.4.3.2 Analyse des profils de virulence

En 2018, le profil le plus souvent retrouvé est le **profil *stx2+eae+ehxA*** avec **55.7 %** des souches, tous sérotypes confondus et toutes pathologies confondues ; Il est retrouvé dans **75 %** des souches isolées au cours des SHU/MAT. Le gène *stx2* est associé à un SHU/MAT quel que soit le profil de virulence associé, contrairement au gène *stx1* associé à un SHU/MAT uniquement s'il est en présence du gène *eae* et *ehxA*

La distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2018 est indiquée dans la **figure 37**.

Figure 37. Distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2018



La répartition des **profils de virulence des souches de EHEC** (n = 309) en fonction du sérotype est représentée respectivement dans :

- le **tableau 52**: souches de EHEC appartenant aux sérotypes les plus fréquemment incriminés dans les infections à EHEC (\geq trois souches isolées en 2018) et regroupant un total de 280 souches.
- le **tableau 53**: souches de EHEC appartenant aux sérotypes les moins fréquemment rencontrés ($<$ trois souches isolées en 2018) et regroupant un total de 25 souches.
- le **tableau 54**: souches de EHEC non sérotypables par méthode moléculaire WGS (4 souches) ; aucune de ces souches n'a été responsable de SHU

Le profil *stx2+eae+ehxA* est retrouvé chez 94 % des souches de sérotype O80. Il est majoritaire dans le sérotype O157 (53 % des souches) et le sérotype O26 (60 % des souches).

Tableau 52 : Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les plus fréquemment isolés en 2018

Profil de virulence	Sérogroupes EHEC													Total
	O26	O157	O80	O145	O103	O146	O177	O121	O111	O91	O166	O174	O5	
stx2+eae+ehxA+	52	31	44	21	2		10	8						168
stx1+stx2+eae+ehxA+	3	27			5				5					40
stx1+eae+ehxA+	27		1	1	7								3	39
stx1+stx2+ehxA+						5				3	1	1		10
stx2+						1				1		2		4
stx1+ehxA+						3				1	2			6
stx2+eae+	4		1						2					7
stx2+ehxA+						3				1				4
stx1+eae+					1									1
stx1+eae+ehxA+			1											1
Total	86	58	47	22	15	12	10	8	7	6	3	3	3	280

Tableau 53 : Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les moins fréquemment isolés en 2018

Profil de virulence	Sérogroupes EHEC																	Total		
	O128ab	O128ac	O156	O27	O55	O98	O113	O128	O130	O134	O148	O171	O181	O76	O78	O8	O84		O88	O9
stx2+eae+ehxA+			2		2															4
stx1+eae+ehxA+						2											1			3
stx1+stx2+eae+ehxA+																				0
stx1+stx2+ehxA+							1		1	1				1						4
stx2+				2							1									4
stx1+ehxA+													1		1					2
stx2+eae+	1																			1
stx2+ehxA+	1	1					1					1								4
stx1+																1		1		2
stx1+stx2+		1																		1
Total	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	25

Tableau 54 : Profil de virulence des EHEC non sérogroupables par méthode moléculaire WGS en 2018

WGSO	fliC	stx1	stx2
ND	fliC_H6	-	+
ND	fliC_H7	+	-
ND	fliC_H7	+	-
ND	fliC_H21	+	-

Pour 250 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. Parmi ces 250 patients, 38 présentaient un SHU/MAT.

Parmi les selles de ces 250 patients, 93 selles avec une PCR positive provenaient de LBM utilisant une PCR multiplex entérique automatisée 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 temps réel 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.

Pour 130 patients, la PCR temps réel avait CT très tardif (> 30) et la PCR conventionnelle des gènes de virulence n'a pas été réalisée. Pour ces 130 patients, les résultats de la PCR temps réel sur les selles sont :

- gène stx1 : n = 26
- gène stx2 : n = 79
- gène stx1+stx2 : n = 25

Pour 120 patients avec SHU/MAT(n = 38) ou DGS (n = 82), le profil de virulence par PCR conventionnelle figure dans le **tableau 55** ci-dessous. Le profil *stx2+eae+ehxA* est là aussi largement majoritaire.

Tableau 55 : Profil de virulence déterminé directement par PCR sur les selles sans isolement de souches en 2018

Profil de virulence	N patients	%
<i>stx2+eae+ehxA+</i>	44	36,7
<i>stx1+eae+ehxA+</i>	13	10,8
<i>stx2+</i>	13	10,8
<i>stx2+eae+</i>	12	10,0
<i>stx1+stx2+ehxA+</i>	9	7,5
<i>stx2+ehxA+</i>	9	7,5
<i>stx1+stx2+eae+ehxA+</i>	8	6,7
<i>stx1+</i>	5	4,2
<i>stx1+ehxA+</i>	5	4,2
<i>stx1+eae+</i>	1	0,8
<i>stx1+stx2+</i>	1	0,8
Total	120	100,0

Pour ces 120 patients, la PCR détectant les sérogroupes majeurs a également été réalisée. Les résultats de la PCR sérogroupage figurent dans le **tableau 56**.

En ce qui concerne les DGS, la répartition des sérogroupes est significativement différente de celle observée sur les souches. En effet, les deux premiers sérogroupes sont le séro groupe O91 et le séro groupe O121 alors qu'ils ne sont qu'en 10ème ou 8ème position au sein des souches. Aucun des patients « O91 » ou « O121 » n'a développé de SHU

En ce qui concerne les SHU, le séro groupe O80 est retrouvé dans 21 % des cas., dominant largement les sérogroupes O26 et O157.

Tableau 56 : Résultats du sérogroupage par PCR directe sur selles sans souche isolée en 2018

PCR sérogroupage	SHU		DGS	
	N patients	%	N patients	%
NST*	18	47,4	42	51,2
O80	8	21,1	3	3,7
O91			11	13,4
O121			6	7,3
O145	4	10,5	2	2,4
O157	3	7,9	3	3,7
O26	1	2,6	3	3,7
O103	1	2,6	2	2,4
O55	1	2,6	1	1,2
O103 + O55			1	1,2
O103 + O91			1	1,2
O104			1	1,2
O104+O91+O26			1	1,2
O121 + O157			1	1,2
O157+ O104	1	2,6	0	0,0
O157 + O55 + O103			1	1,2
O26 + O145 + O91			1	1,2
O26 + O121	1	2,6	0	0,0
O55 + O91			1	1,2
O80 ET O91			1	1,2
Total général	38	100	82	100

* NST : sérogroupes n'appartenant pas au panel des sérogroupes recherchés (O157, O26, O80, O121, O91, O103, O111, O55, O145, O104)

4.2.2.4.3.3 Analyse des variants (ou sous types) des gènes *stx* par WGS

La mise en évidence des **variants des gènes *stx*** a été réalisée sur les 309 souches isolées en 2018.

La répartition globale des variants est représentée sur le **tableau 57**.

La répartition des profils des variants en tenant compte des sérogroupes les plus fréquents et les plus rares sont regroupés respectivement dans les **tableaux 58 et 59**.

Chacun des trois sérogroupes majoritaires est fortement associé avec un sous type particulier.

Ainsi, les souches O26 sont associées au sous type *stx2a* dans 67 % des cas, le séro groupe O157 au sous type *stx2c* dans 47 % des cas, et le O80 au sous type *stx2d* dans 89 % des cas

Tableau 57 : Répartition globale des variants stx en 2018

Variants stx	N	%
stx2a	89	28,8
stx2d	52	16,8
stx1a	47	15,2
stx2c	31	10,0
stx1a+ stx2a	20	6,5
stx1a+ stx2c	15	4,9
stx2b	12	3,9
stx1c+ stx2b	9	2,9
stx1c	7	2,3
stx1a+ stx2d	6	1,9
stx2a	5	1,6
stx1a+ stx2b	3	1,0
stx2a,2c	3	1,0
stx2c,2d	3	1,0
stx2c	2	0,6
stx1a + stx2c	1	0,3
stx1a+ stx2a,2c	1	0,3
stx1c	1	0,3
stx1d	1	0,3
stx2a,2d	1	0,3
Total	309	100

Tableau 58 : Répartition des profils de variants stx en fonction des sérogroupes de EHEC les plus fréquents des souches isolées en 2018

Variants stx	Sérogroupes EHEC												Total				
	O26	O157	O80	O145	O103	O146	O177	O121	O111	O91	O166	O174		O5			
stx2a	55	7	4	10	1			8									85
stx2d	1	1	42	2					2	1							49
stx1a	27		1	1	8					1					3		41
stx2c		20		5			5					1					31
stx1a+ stx2a	3	10			2				3			1					19
stx1a+ stx2c		15															15
stx2b						4				1		1					6
stx1c+ stx2b						5					1						6
stx1c						2					2						4
stx1a+ stx2d					3				2								5
stx2a				3	1		1										5
stx1a+ stx2b										3							3
stx2a,2c		3															3
stx2c,2d				1			2										3
stx2c							2										2
stx1a + stx2c		1															1
stx1a+ stx2a,2c		1															1
stx1c						1											1
Total général	86	58	47	22	15	12	10	8	7	6	3	3	3	3	3	3	280

Tableau 59 : Répartition des profils de variants stx en fonction des sérogroupes de EHEC les plus rares isolés en 2018

Variants stx	Sérogroupes EHEC																			Total	
	O128ab	O128ac	O156	O27	O55	O98	O113	O128	O130	O134	O148	O171	O181	O76	O78	O8	O84	O88	O9		
stx2a			2		1															1	4
stx2d	1				1						1										3
stx1a						2											1	1			4
stx1a+ stx2a										1											1
stx2b	1	1		2				1													5
stx1c+ stx2b		1					1							1							3
stx1c													1		1						2
stx1a+ stx2d								1													1
stx1d																			1		1
stx2a,2d													1								1
Total général	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	25

Pour les 4 souches de sérotype indéterminé, deux portaient le variant *stx1a*, une le variant *stx2b*, et la dernière le variant *stx1c*.

4.2.2.4.3.4 Analyse des variants des gènes *eae* par WGS

Parmi les 309 souches, 264 souches possédaient le gène *eae* (85,4 %).

Les principaux variants sont :

- le variant *eae* β : 38,7 % des souches et majoritairement dans le sérotype O26 (100 %)
- le variant *eae* γ : 29,5 % des souches et majoritairement dans le sérotype O157 (100 %).
- le variant *eae* ξ : 18,9 % des souches et dans 100 % des sérotypes O80 et O55

La répartition des variants en fonction du sérotype est représentée dans le **tableau 60** suivant.

Tableau 60 : La répartition des variants du gène *eae* en fonction du sérotype EHEC

Variants <i>eae</i>	Sérotypes EHEC														Total général
	O26	O157	O80	O145	O103	O177	O121	O111	O5	O156	O55	O98	O128ab	O84	
<i>eae</i> β	86			2		10			3				1		102
<i>eae</i> γ		58		20											78
<i>eae</i> ϵ					15		7								22
<i>eae</i> ζ										2		2		1	5
<i>eae</i> θ 2								7							7
<i>eae</i> ξ			47				1				2				50
Total général	86	58	47	22	15	10	8	7	3	2	2	2	1	1	264

4.2.2.4.3.5 Autres facteurs de virulence

Les gènes codant pour les facteurs de virulence des *E. coli* entéroaggrégants (*aggR*), le gène *saa* et le gène codant la subtilase ont été retrouvés chez 36 des 309 souches EHEC.

Le gène ***aggR*** n'a été identifié chez **aucune** souche en 2018

Les **5 souches porteuses du gène *saa*** ne possédaient pas le gène *eae*. Quatre d'entre elles ont été responsables de SHU chez 4 adultes âgés de plus de 65 ans dont l'une possédait également le gène de la subtilase et le variant *stx2a,2d*. (**Tableau 61**)

Le gène ***subA*** a été retrouvé chez **31 souches** responsables de 2 cas de SHU (EHEC O171 et O128ab), 11 cas de DGS, 15 cas de diarrhée simple, 2 cas de diarrhée chronique, un cas de douleurs abdominales isolées. Deux souches ont été isolées chez des patients asymptomatiques et 4 chez des patients dont les symptômes étaient inconnus. Les souches subtilase positive possèdent les gènes *stx1* seul (n = 8), *stx2* seul (n = 12) ou l'association *stx1+stx2* (n = 11). Le variant *stx2* est le type *stx2b* majoritairement, tandis que le sous types *stx1c* prédomine largement. Aucune souche ne possédait le gène *eae*. Les sérotypes principaux (≥ 3 souches) sont : O146 (n = 11), O91(n = 4), O166 (n = 3) (**Tableau 62**).

Tableau 61 : Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène *saa* en 2018

Age	Sexe	Symptômes	WGSO	WGSJ	MLST	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>ehxA</i>	<i>saa</i>	<i>aggR</i>	<i>subA</i>
3 A	F	DGS	O8	H8	ST448	<i>stx1a</i>	-	-	-	<i>saa</i>	-	-
81 A	F	SHU	O134	H38	ST154	<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>	-	<i>ehxA</i>	<i>saa</i>	-	-
62 A	F	SHU	O171	H25	ST297	-	<i>stx2a + stx2d</i>	-	<i>ehxA</i>	<i>saa</i>	-	<i>subA</i>
82 A	F	SHU	O174	H2	ST661	<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>	-	<i>ehxA</i>	<i>saa</i>	-	-
90 A	F	SHU	O130	H11	ST297	<i>stx1a</i>	<i>stx2d</i>	-	<i>ehxA</i>	<i>saa</i>	-	-

Tableau 62 : Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène *subA* en 2018

Age	Sexe	Symptômes	WGSO	WGS	MLST	stx1	stx2	eae	ehxA	saa	aggR	subA
16 A	M	Diarrhée	ND	H21	ST40	stx1c	-	-	-	-	-	subA
36 A	M	DGS	O113	H4	ST10	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
1 A	F	Diarrhée	O128	H2	ST25	-	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
2 M	M	SHU	O128ab	H2	ST25	-	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
4 A	M	Diarrhée chronique	O128ac	H2	ST25	stx1c	stx2b	-	-	-	-	subA
1 A	F	Diarrhée	O128ac	H2	ST25	-	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
19 A	M	DGS	O146	H21	ST442	stx1c	-	-	ehxA	-	-	subA
88 A	F	Diarrhée	O146	H21	ST442	stx1c	-	-	ehxA	-	-	subA
53 A	F	Diarrhée	O146	H21	ST442	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
48 A	M	DGS	O146	H28	ST738	-	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
10 A	M	Diarrhée	O146	H21	ST442	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
63 A	F	DGS	O146	H21	ST442	-	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
61 A	M	Diarrhée	O146	H21	ST442	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
2 A	M	DGS	O146	H21	ST442	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
57 A	M	Diarrhée	O146	H21	ST442	stx1c	-	-	ehxA	-	-	subA
5 A	M	Diarrhée chronique	O146	H21	ST442	-	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
83 A	M	Diarrhée	O146	H21	ST442	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
69 A	M	Diarrhée	O166	H28	ST1819	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
51 A	M	DGS	O166	H28	ST1819	stx1c	-	-	ehxA	-	-	subA
3 M	M	DGS	O166	H28	ST1819	stx1c	-	-	ehxA	-	-	subA
62 A	F	SHU	O171	H25	ST297	-	stx2a + stx2d	-	ehxA	saa	-	subA
2 M	F	Diarrhée	O174	H8	ST13	-	stx2b	-	-	-	-	subA
58 A	F	Diarrhée	O181	H16	ST6274	stx1c	-	-	ehxA	-	-	subA
10 A	F	DGS	O27	H30	ST753	-	stx2b	-	-	-	-	subA
9 A	F	Diarrhée	O27	H30	ST753	-	stx2b	-	-	-	-	subA
77 A	F	Diarrhée	O76	H19	ST675	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
69 A	F	DGS	O78	H4	ST3101	stx1c	-	-	ehxA	-	-	subA
3 A	M	Diarrhée chronique	O91	H14	ST33	-	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
47 A	M	Douleurs abdominales	O91	H14	ST33	stx1a	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
10 A	M	DGS	O91	H14	ST33	stx1a	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
55 A	F	Diarrhée	O91	H14	ST33	stx1a	stx2b	-	ehxA	-	-	subA

4.2.2.4.3.6 Analyse des MLST

L'analyse MLST des 309 souches a permis de mettre en évidence **47 ST** dont 6 représentent 72,5 % des souches (**tableau 63**).

Tableau 63 : La répartition des ST en fonction du sérotype

MLST	Sérotypes EHEC						N	%
	O26	O157	O80	O145	O103	O146		
ST21	78						78	25,2
ST11		56					56	18,1
ST301			46				46	15,5
ST32				19			19	6,1
ST17					13		13	4,2
ST442						10	10	3,2

Le sérotype O157, O80 et O145 se distribuent dans un seul ST (ST11, ST301 et ST32 respectivement contrairement au sérotype O26 qui se répartissent dans le ST21 (n = 78), le ST29 (n = 5), une souche pour les ST1732, ST8284, ST8779.

4.2.2.4.3.7 Analyse des cgMLST HC5

Cette analyse a été réalisée uniquement pour les sérotypes les plus fréquents (O26, O157, O80) et permet de préciser de façon plus fine l'appartenance à un clone ou cluster. Les résultats sont représentés dans le tableau 64 page suivante

Pour les 86 souches de O26, on observe 61 cgMLST HC5 différents parmi lesquels 57 ne sont représentés que par une seule souche. Quatre clusters contiennent 29 souches soit 33,7 % des souches de O26. Le cluster HC5-65006 est prédominant et significativement associé à un SHU.

Pour les 57 souches de sérotype O157, on observe 41 cgMLST HC5 différents parmi lesquels 37 ne sont représentés que par une seule souche. Cinq clusters avec plus d'une souche ont été identifiés et contiennent 20 souches soit 35 % des souches de O157. Pour une souche O157, le cgMLST HC5 n'a pas pu être obtenu. Le cluster HC5-64670 apparaît associé particulièrement au SHU.

Pour les 47 souches de sérotype O80, on observe 41 cgMLST HC5 différents parmi lesquels 38 ne sont représentés que par une seule souche. Trois clusters avec plus d'une souche ont été identifiés et contiennent 10 souches soit 21,3 % des souches de O80. Le cluster HC5-35179 est fortement associé au SHU.

Tableau 64 :Analyse des cgWGS HC5 des sérogroupes O26, O157 et O80 en 2018

cgWGS HC5	Symptômes					Total
	DGS	SHU	Contact SHU	DIARRHEE	Diarrhee Chronique	
Séro groupe O26						O26
65006*	1	19	1	1		22
38792*		3				3
74867*			2			2
80767*				1	1	2
Total 4 Clusters*	1	22	3	2	1	29
Autres cgWGS HC5	13	24		19	1	57
					Total O26	86

cgWGS HC5	Symptômes			Total
	DGS	SHU	DIARRHEE	
Séro groupe O157				O157
51748*	1	1		2
64670*	3	5		8
65640*	4	2		6
74815*	2			2
74870*	3			3
Total 5 Clusters*	15	6		21
Autres cgWGS HC5	17	5	14	36
			Total O157	57

cgWGS HC5	Symptômes				Total
	DGS	SHU	DIARRHEE	Diarrhee Chronique	
Séro groupe O80					O80
35179*	1	5			6
74958*		2			2
80832*	1	1			2
Total 3 Clusters*	2	8			10
Autres cgWGS HC5	4	23	9	1	37
				Total O80	47

Clusters* : cgWGS HC5 >1 souche

4.2.2.4.4 Analyse des prélèvements (selles et/ou souches) dans l'entourage de patients présentant un SHU

La mise en évidence des EHEC a été réalisée dans l'entourage de 16 cas de SHU, soit 47 personnes prélevées dans l'entourage familial. Parmi elles, 8 (15 %) étaient positives (5 souches isolées et 3 PCR positives dans les selles). Les souches isolées présentaient le même profil que celle du cas index de SHU. L'un des contacts a également développé un SHU secondairement.

Pour les patients atteints de SHU typique à EHEC et pour leurs contacts positifs, 13 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 par PCR était négatif pour les 13 cas.

4.2.2.5 Bilan des activités 2018 concernant les souches de *E. coli* extra intestinales (ExpEC)

4.2.2.5.1 Étude des facteurs de pathogénicité des souches de *E. coli* responsables de méningites

Le LA-RD a reçu **18** souches de *E. coli* isolées du LCR de 13 enfants et 3 adultes (à noter qu'un des enfants a présenté 2 rechutes de méningite à un mois d'intervalle). Parmi les 13 enfants, 11 étaient des nouveau-nés âgés de 12 jours à 27 jours et deux étaient des nourrissons âgés de 1 à 3 mois. Un nouveau-né est décédé. Les trois adultes étaient âgés de 65 ans.

Les résultats de l'étude des facteurs de virulence sont présentés dans le **tableau 65** et permettent d'incrémenter la base de données française des méningites à *E. coli*.

Tableau 65 : Facteurs de virulence des *E. coli* responsables de méningites en 2018 (LA-RD)

N° Souche	Sexe	Age /PL	groupe phylogénétique	PCR nonaplex wzy	PCRK1	ChuA	Hra	yjaA	T _{SPE4-C2}	fyuA	Hly	sfa/foc	PAP C	Aer	PAP G	cnf1	ibeA	iroN
452	F	66 ans	B2	O4	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	III	+	-	+
455	M	76 ans	B2	O2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	II+III	+	-	+
456	F	71 ans	B2	O7	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+
457	M	5 jours	B21	O2	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	II	-	-	+
458	F	27 jours	F	O7	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-
459	M	2 jours	B2	O2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	-	+
460	M	2 mois	F	neg	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-
461	M	5 jours	F	O7	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-
462	M	3 jours	B21	O18	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
463	M	6 jours	B21	neg	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
464	M	1 jour	B21	O18	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
465	F	1 mois	B2	neg	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
466	M	10 jours	B2	O4	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	II	+	-	+
467	F	1 jour	B2	O2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	-	+
468	F	3 jours	B1	neg	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
470	F	7 jours	B21	O45	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
471	F	1 mois	B21	O45	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
472	F	2 mois	B21	O45	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+

4.2.2.5.2 Étude des facteurs de pathogénicité des souches de *E. coli* extra-intestinales responsables de pathologies autres que les méningites

Le LA-RD a reçu 67 souches d'EXPEC hors méningites isolées des prélèvements suivants :

- hémocultures (n = 40)
- urines (n = 14)
- liquide gastrique (n = 3)
- aspiration bronchique (n = 2)
- liquide articulaire (n = 2)
- pus profond (n = 2)
- selles (n = 1)
- liquide péritonéal (n = 1)
- placenta (n=1)
- prélèvement vaginal (n = 2)

Ces souches ont été isolées chez 66 patients présentant :

- un urosepsis (n = 19) dont 2 MAT et un décès
- un sepsis sévère (n = 11) dont 6 décès
- une infection materno-fœtale (n = 10) dont 2 décès
- une chorioamniotite (n=5) dont une mort fœtale in utero
- un sepsis à point de départ digestif (n = 4) dont un avec suspicion de SHU
- un SHU ou suspicion de SHU (n = 4)
- une méningite (n = 2)
- une pancolite (n = 2)
- un abcès profond (n = 1)
- une arthrite septique, évolution vers fasciite nécrosante (n = 1)
- une endocardite (n = 1)
- une infection sur prothèse (n = 1)
- une infection urinaire récidivante (n = 1)
- insuffisance rénale aigue (n = 1)
- une médiastinite (n = 1)
- une pneumopathie communautaire nécrosante (n = 1)
- un purpura fulminans (n = 1)
- une suspicion de méningite (n = 1)

Les caractéristiques de ces souches sont indiquées dans le **tableau 66**

Tableau 66 : Caractéristiques des souches de ExpEC hors méningites en 2018 LA-RD

N° souche	Sexe	Age	Origine du prélèvement	Groupe phylogénétique	PCR K1	ChuA	Hra	YjaA	TSP64_C2	fyuA	Hly	stafoc	PAP C	Aer	PAP G	cnf1	ibeA	iroN
RDEx534	F	2 ans	pus profond	F	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx535	M	86 ans	hémoculture	B1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx536	M	86 ans	hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
RDEx537	F	75 ans	hémoculture	C	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx538	M	25 jours	urines	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	■	-	-	-
RDEx539	F	65 ans	urines	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	■	+	+	+
RDEx540	F	64 ans	hémoculture	U	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx541	M	51 ans	pus profond	B2	d	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
RDEx542	F	75 ans	urines	C	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx543	M	69 ans	aspiration bronchique	D	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	■	-	-	-
RDEx544	F	1 jour	hémoculture	A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx545	M	83 ans	hémoculture	F	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx546	M	1 jour	hémoculture	F	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx547	F	32 ans	urines	A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx548	F	40 ans	urines	B21	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	■	-	-	+
RDEx549	M	46 ans	aspiration bronchique	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	■	+	-	+
RDEx550	F	64 ans	hémoculture	A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx551	F	82 ans	hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	■	+	-	+
RDEx552	M	9 jours	hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	■	-	-	-
RDEx553	M	67 ans	hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	■	-	-	-
RDEx554	F	1 jour	hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
RDEx555	F	68 ans	hémoculture	U	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx556	F	32 ans	urines	B2	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
RDEx557	M	57 ans	hémoculture	D	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx558	F	mort né	selles	A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx559	F	41 ans	urines	B2	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
RDEx560	F	41 ans	prélèvement vaginal	B2	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
RDEx561	F	41 ans	hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
RDEx562	M	31 ans	hémoculture	B1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx563	F	85 ans	liquide articulaire	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx564	M	79 ans	hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+
RDEx565	M	79 ans	urines	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+
RDEx566	F	30 ans	hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx567	M	mort né	liquide gastrique	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
RDEx568	M	65 ans	hémoculture	A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx569	F	1 jour	hémoculture	B21	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
RDEx570	F	19 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	■	-	-	-
RDEx571	F	19 ans	urines	D	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	■	-	-
RDEx572	F	57 ans	liquide articulaire	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	■	-	-	+
RDEx573	M	48 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx574	F	48 ans	urines	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx575	F	3 jours	urines	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx576	F	12 jours	hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	■	-	-	+
RDEx577	F	27 ans	placenta	D	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx578	F	65 ans	hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx579	F	27 ans	liquide gastrique	B2	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
RDEx580	F	27 ans	hémoculture	B2	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
RDEx581	M	76 ans	hémoculture	F	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	■	-	-	-
RDEx582	F	67 ans	hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	■	+	-	-
RDEx583	F	80 ans	hémoculture	B2	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
RDEx584	F	51 ans	hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	■	-	-	+
RDEx585	M	1 jour	liquide gastrique	B2	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx586	F	95 ans	urines	U	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx587	F	3 jours	hémoculture	B1	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	■	-	+
RDEx588	M	71 ans	hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	■	-	-	+
RDEx589	M	61 ans	pus profond	B2	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	■	-	-	+
RDEx590	F	65 ans	hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
RDEx591	M	11 jours	urines	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	■	-	-	-
RDEx592	F	30 ans	hémoculture	A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx593	F	36 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	■	-	-
RDEx594	M	94 ans	hémoculture	B2	d	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
453	F	66 ans	hémoculture	B2	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	■	+	-	+
454	F	66 ans	liquide péritonéal	B2	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	■	+	-	+
469	F	2 jours	hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
473	F	2 jours	hémoculture	B1	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
APIMF42	M	1 jour	hémoculture	A	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
APIMF44	F	4 jours	hémoculture	A	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

4.2.3 Surveillance de la résistance d'*Escherichia coli* aux anti-infectieux

4.2.3.1 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 2018, 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)

La sensibilité des souches aux principales familles d'antibiotiques a été étudiée par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA-SFM 2018

Comme les années précédentes, les souches de EHEC appartenant au sérotype O157 sont plus sensibles aux antibiotiques que les souches d'EHEC non O157. Cependant la prévalence de la résistance aux bêta-lactamines a augmenté depuis l'année 2017 (ex pour l'AMX de 1.8 % à 12 % de résistance)

Six souches productrices de BLSE ont été isolées en 2018 chez 6 enfants; elles appartenaient aux sérotypes suivants :

- sérotype O157 (n = 5) isolées dans 2 cas de SHU et 3 DGS (2 cas dans le département 95 , deux dans le 75 et un dans le 80)
- sérotype O55 (n = 1) isolée dans une DGS

La prévalence de la résistance exprimée en pourcentage est indiquée dans le **tableau 67**

Tableau 67 : Prévalence de la résistance (%) aux antibiotiques des souches EHEC en 2018 (LA-RD)

% de Résistance	AMX	CRO	Aminosides	SXT	NAL	CIP
O157 (n=58)	12 %	8.6 %	0	1,7 %	0	0
Non O157 (n=251)	31,4 %	0,3 %	5.9 %	23 %	19,9 %	0

Parmi les souches non O157 résistantes à l'AMX (n = 79), 47 appartenaient au sérotype O80 et 14 au sérotype O26. Une résistance associée aux aminosides, à l'acide nalidixique et au cotrimoxazole était retrouvée chez 53 souches dont 40 souches appartenant au sérotype O80, 4 au sérotype O111.

En raison des fortes concentrations intraluminales de l'azithromycine (AZM), les CMI AZM ont été déterminées vis-à-vis des souches isolées en 2018 par la méthode de l'Etest et figurent dans le **tableau 68** ci-dessous. Aucune souche résistante à l'azithromycine n'a été détectée.

Tableau 68 : CMI à l'azithromycine des souches EHEC isolées en 2017 au LA-RD

	CMI 50 (mg/L)	CMI 90 (mg/L)	Intervalle (mg/L)
O157 (n=58)	4	4	1 - 4
Non O157 (n=251)	4	6	2 - 12

4.2.3.2 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 2018 (**tableau 69**).

Tableau 69 : Prévalence de la résistance (%) aux antibiotiques des souches EXPEC (2018, LA-RD)

	AMX	CTX	SXT	NAL	CIP	GEN
ExpEC méningites (n=18)	55,5	0	22,2	0	0	0
ExpEC hors méningites (n=44)	50	4,5	23,9	20,9	8,9	6,8

En 2018, aucune souche productrice de BLSE n'a été isolée de méningite. Trois souches productrices de BLSE ont été isolées dans les pathologies hors méningite avec une résistance associée aux quinolones et au cotrimoxazole

4.2.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Une fiche de renseignements spécifique au LA-RD accompagne chaque souche ou prélèvement reçus 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.

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

4.2.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Voir étude mentionnée sur le paragraphe « 7.2 *Escherichia coli* ».

4.3 Alerte

4.3.1 Épidémie à *E.coli* O26 liée à la consommation de reblochon

Lors de la semaine 19 de l'année 2018, dans le cadre du séquençage des souches de EHEC isolées par le LA-RD, le CNR-ESS a signalé avoir détecté un cluster génomique de quatre cas de SHU pédiatrique. Ces souches EHEC appartenaient au sérotype O26: H11, portaient les gènes pathogènes *stx2a*, *eae β* et *ehxA*. Elles appartenaient au ST21 et au cgWGS-H5 65006.

Quinze enfants ont été identifiés, il s'agissait de 12 cas confirmés et de 3 cas probables. Treize enfants ont présenté un SHU, un une diarrhée sanglante et un une diarrhée simple. Tous les cas de SHU ont été hospitalisés et un cas est décédé. Ces enfants étaient âgés de 1 à 5 ans. L'épidémie s'est déclarée dans toute la France entre la neuvième et la vingtième semaine. Les dates de début de symptômes des 15 cas sont comprises entre le 26 février et le 18 mai 2018.

Tous les cas ont déclaré avoir consommé du reblochon au fromage au lait cru d'une marque achetée dans la même chaîne de supermarchés. Les lots incriminés ont été retirés du marché et rappelés par un communiqué de presse national lancé la semaine 19. Quatre souches de STEC O26 appartenant au même cluster épidémique ont été isolées des filtres à lait des fournisseurs de lait du producteur incriminé de reblochon, mais aucune dans le lait ou le produit final.

Parmi les 15 cas, 10 étaient des cas isolés et aucun cas de diarrhée n'était signalé dans l'entourage. Pour 5 cas, des cas de diarrhée étaient rapportés dans l'entourage familial. Dans deux situations les cas de diarrhée rapportés dans l'entourage familial étaient en lien avec la consommation de reblochon.

Les séquences des souches du cluster ont été mises à la disposition des autres pays pour permettre une recherche de cas infectés par la même souche dans d'autres pays.

Aucun cas d'infection à STEC pouvant être en lien avec cette épidémie n'a été signalé à l'étranger.

4.3.2 Détection des cas par analyse WGS

L'analyse WGS a également permis de mettre en évidence les clusters de EHEC pour les sérogroupes O80 et O157.

Pour le séro groupe O80, le cluster HC5 35179 est majoritaire et regroupe 6 souches isolées tout au long de l'année 2018 et responsables de :

- Cinq cas de SHU : 2 cas chez des adultes (départements 1 et 66), 3 cas de SHU pédiatrique (tous < 3 ans) dans les départements 14, 85, 75 dont 2 cas non signalés à SPF
- un cas de DGS dans le département 74 chez un patient âgé d'un an

Aucune exposition à risque d'infection commune à ces 4 cas n'a été mise en évidence pour ces patients.

Pour le séro groupe O157, trois clusters sont observés :

- le cluster HC5 64670 est majoritaire et regroupe 8 souches responsables de cinq cas de SHU : un cas adulte (département 76), 4 cas pédiatriques (2 à 7 ans) dans les départements 44 (2 cas), 76 (1 cas), et 18 (un cas) et de trois cas de DGS chez des enfants âgés de 2 à 14 ans dans les départements 68, 76, 94. Sept de ces huit souches ont été isolées en janvier 2018 ; la dernière a été isolée en mars 2018.

- le cluster HC5 65640 regroupant 6 souches dont 5 possédaient une bêta-lactamase à spectre étendu (β la-CTXM-14) responsables de deux cas de SHU pédiatrique (départements 76 et 80), de trois cas de DGS au cours d'une TIAC familiale (2 enfants et leur mère ; 2 souches BLSE et une souche multisensible - département 95) et d'une diarrhée simple dans le département 76 chez un enfant de 3ans. Ces 6 souches ont été isolées entre le 11/01/2018 et le 05/02/2018
- le cluster HC5 74870 regroupant 3 souches isolées au cours d'une TIAC familiale dans le département 57

4.3.3 Analyse du sérotype O145

En 2018, nous constatons une augmentation du nombre de souches EHEC appartenant au sérotype O145 : 22 souches soit 7.1 %. En effet, en 2016, sur 179 souches EHEC, 5 appartenaient au sérotype O145 (2.8 %) et en 2017, 6 appartenaient au sérotype O145 sur les 250 souches isolées (2.4 %)

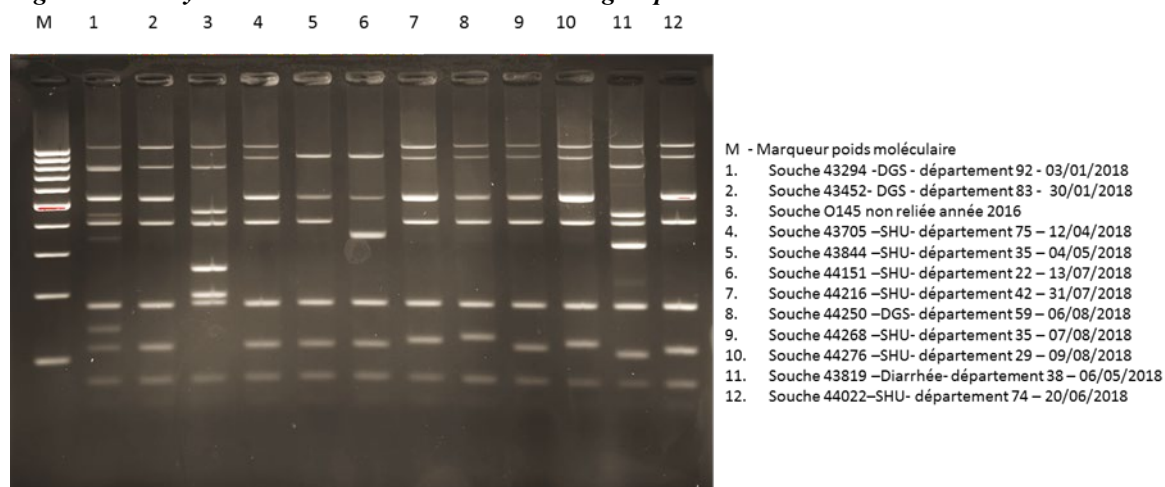
Les souches isolées en 2018 appartiennent à 3 ST différents ; le cgWGS HC5 n'a pas été analysé.

- ST 32 : 19 souches responsables de 7 cas de SHU pédiatrique et un cas de SHU adulte dans les départements 22 (n = 1), 29 (n = 1), 31 (n = 1), 35 (n = 2), 42 (n = 1), et 75 (n = 1)
- ST 342 : deux souches d'un cas de SHU pédiatrique (département 67) et d'un cas de DGS (département 38).
- ST137 : une souche responsable de SHU pédiatrique dans le département 75

Ces souches ont été isolées tout au long de l'année 2018. Pour les cas de SHU de 2018, les informations épidémiologiques (expositions alimentaires ou environnementales, distribution des cas dans le temps et dans l'espace) n'ont pas permis d'établir un lien éventuel entre tous ces cas.

Devant l'augmentation d'isolement des souches O145, en Octobre 2018, une analyse rapide des souches par la technique MLVA développée au LA-RD a montré que sur 11 des souches isolées depuis le début de l'année, on observait 4 profils MLVA différents (**figure 38**) indiquant qu'au moins 3 souches n'étaient pas reliées génétiquement. L'analyse du cgWGS HC5 pour les souches O145 pourrait permettre la différenciation des autres souches.

Figure 38. Analyse MLVA des souches EHEC de sérotype O145 isolées en 2018



5 Activités de rétro-information, de formation et de conseil

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

5.1.1 Enseignements et formations aux professionnels de santé

M. Pardos : Présentation « Données de surveillance du CNR *Salmonella* pour l'année 2017 et actualités ». 22ème réunion du Réseau *Salmonella*. 06 décembre 2018, Anses, Maisons-Alfort.

S. Lefèvre : « Microbiologie des *Shigella* » et « Microbiologie des principaux pathovars entériques d'*E. coli* ». Programme RESER pour les Biologistes du Réseau International de l'Institut Pasteur, Paris 19-26 novembre 2018.

M. Pardos : « Salmonelles mineures » et « *Salmonella* : résistances antimicrobiennes ». Programme RESER pour les Biologistes du Réseau International de l'Institut Pasteur, Paris 19-26 novembre 2018.

F.-X. Weill : Cours (6h) sur la surveillance microbiologique en Santé Publique. Programme RESER pour les Biologistes du Réseau International de l'Institut Pasteur, Paris 19-26 novembre 2018.

S. Bonacorsi, P. Bidet et P. Mariani-Kurkdjian. Participation à l'enseignement aux Internes de Pédiatrie et de Biologie dans le cadre des staffs et enseignements facultaires

5.1.2 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.

5.1.2.1 Liste des stagiaires au CNR-ESS en 2018 :

- François GRAVEY, interne en biologie médicale au CHU de Caen, stage de Master 2 de recherche du 15 janvier au 31 août 2018, sur l'approche génomique comme outils de surveillance des BMR : focus sur *E. coli* et *K. pneumoniae* producteurs de BLSE.
- Gautier WERLE, élève de 2nde, stage d'observation du 18 juin au 29 juin 2018, dans le cadre de la découverte du milieu professionnel.
- Wim CUYPERS, étudiant en thèse à l'université d'Anvers, stage du 10 au 28 décembre 2018, dans le cadre d'un projet sur la diversité génomique de *S. enterica* sérotype Concord.
- Noah RABENANDRASANA, chercheur à l'Institut Pasteur de Madagascar, stage d'observation du 27 novembre au 07 décembre 2018, dans le cadre du programme RESER de la Direction Internationale de l'Institut Pasteur.
- Abdoulaye SECK, chercheur à l'Institut Pasteur du Sénégal, stage d'observation du 10 au 20 décembre 2018, dans le cadre du programme RESER de la Direction Internationale de l'Institut Pasteur.
- Clarisse KOUAME, chercheur à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, stage d'observation du 10 au 20 décembre 2018, dans le cadre du programme RESER de la Direction Internationale de l'Institut Pasteur.

- Alexandre PETEL, élève de 3^{ème}, stage d'observation du 17 au 21 décembre 2018, dans le cadre de la découverte du milieu professionnel.
- Maïli OLLIVIER, élève de 3^{ème}, stage d'observation du 17 au 21 décembre 2018, dans le cadre de la découverte du milieu professionnel.

5.1.2.2 Liste des stagiaires au LA-RD en 2018

- Aurélie COINTE, Thèse de Sciences, Université Paris Diderot, 2018-2021: « Analyse de la diversité des *Escherichia coli* de pathotype hybride, producteurs de Shiga toxine et associés à une virulence extra-intestinale »
- Jeanne TRUONG, Master 2 Sciences du médicament "Parcours : "Microbiologie (bactéries, virus, parasites) : microbiotes, agents pathogènes et thérapeutiques anti-infectieuses" Caractérisation de souches de *Escherichia coli* non productrices de Shigatoxines, responsables d'infections extra-intestinales associées à un syndrome hémolytique et urémique.
- Claire Hobson, Master 2 Sciences du médicament "Parcours : "Microbiologie (bactéries, virus, parasites) : microbiotes, agents pathogènes et thérapeutiques anti-infectieuses" Evaluation de l'impact des chimiothérapies anti-cancéreuses sur *Escherichia coli* et sa niche écologique

5.1.3 Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion)

Les responsables du CNR-ESS aident les laboratoires nationaux à identifier les sérotypes de *Salmonella*, notamment en diffusant un guide dans lequel sont répertoriés tous les sérotypes connus avec leur formule antigénique complète. 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 :

<https://www.pasteur.fr/fr/file/3184/download?token=5-WekyPv>

5.1.4 Modalités et cibles de la diffusion des données de surveillance et des productions du CNR

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 de pages Internet dédiés dont voici les liens :

<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/escherichia-coli-shigella-salmonella/envoyer-un-echantillon>

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

5.1.5 Activités de conseil aux professionnels de santé

Les résultats des analyses sont envoyés au laboratoire ayant adressé la souche 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 ou salmonella@pasteur.fr ou e.coli@aphp.fr).

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

María Pardos de la Gándara a remplacé Simon Le Hello, suite à son départ de l'Institut Pasteur fin août 2018, comme membre du **réseau *Salmonella***, Anses, Maisons-Alfort (depuis 2008), ainsi que comme expert national au réseau Food- and Waterborne Diseases de l'European Center of Disease Control (**FWD-ECDC**).

Par ailleurs, le CNR-ESS et le CCOMS *Salmonella* participent au réseau Global Foodborne Infections Network de l'OMS, aux réunions et avis d'expertises pour l'ECDC et sont sollicités pour avis d'experts lors de saisines nationales.

Pour 2018, nous avons participé aux saisines suivantes :

- F.-X. Weill a été auditionné dans le cadre de deux enquêtes ouvertes par les autorités sanitaires françaises, suite à l'affaire Lactalis (poudre de lait infantile contaminé par *Salmonella enterica* sérotype Agona) et suite au décès suspect d'un enfant qui aurait consommé un reblochon contaminé par une souche de *Escherichia coli* O26 producteur de Shiga-toxines.
- S. Lefèvre, M. Pardos, F.-X. Weill ont participé à la « Réunion Franco-Américaine SpF–CNR-ESS–CDC. 27 septembre 2018, Saint Maurice.

5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)

Très nombreuses interviews de François-Xavier Weill pour la presse écrite, télévisuelle et radiophonique dans le cadre de l'épidémie à *Salmonella* Agona (l'affaire Lactalis) en janvier et février 2018.

Interviews en 2018 dans le cadre de retraits et rappels de reblochons, suite à des cas d'infections sévères à *Escherichia coli* O26 producteur de Shiga-toxines chez des jeunes enfants.

6 Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR

6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année 2018, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

6.1.1 Pour le CNR-ESS

Études de populations génétiquement homogènes, résistantes aux antibiotiques, chez *Salmonella* et *Shigella* –F.-X. Weill, M. Pardos de la Gándara, S. Lefèvre

La résistance aux antibiotiques est émergente chez les *Salmonella* et les *Shigella*. Le suivi de ces résistances fait partie des missions du CNR-ESS

Objectifs : caractériser les mécanismes émergents de résistance (gènes, supports et environnements génétiques) et décrire la structure des populations bactérienne résistantes.

Matériel : souches du CNR-ESS et souches obtenues via des collaborations internationales

Méthodes : microbiologie classique et WGS.

Ces approches ont pour but d'identifier l'émergence, comprendre l'évolution et la propagation de certains clones à succès (*Salmonella* sérotypes Kentucky, Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B, Paratyphi C, Concord, et Panama, *S. sonnei* et *flexneri* 2a dans certaines communautés, ...).

Finalisation de l'outil génomique pour le sérotypage *in silico* des *Shigella* – F.-X. Weill, S. Lefèvre

Il est important de conserver une correspondance entre les données de WGS et les données de sérotypage des *Shigella*, méthode de référence utilisée depuis plusieurs décennies.

Objectif : inférer un sérotype de *Shigella* à partir de séquences génomiques. Ce travail permettra de s'affranchir des techniques de microbiologie classique pour le typage des *Shigella* tout en gardant des résultats compatibles avec les données de sérotypage.

Matériel : 380 souches de la collection du CNR-ESS pour couvrir la diversité génétique des différents sérotypes et biotypes de *Shigella*.

Méthodes : WGS (technologies Illumina HiSeq 2000[®], HiSeq 2500[®] et NextSeq 500[®]) et bioinformatique.

Au cours de l'année 2018, nous avons effectué la mise au point du sérotypage *in silico* des souches de *Shigella flexneri* 1 à 5, en déterminant des cibles spécifiques de prophages sur des séquences de type HiSeq[®]. Nous évaluons désormais cet outil bio-informatique sur des séquences de type NextSeq. La technologie Illumina NextSeq 500[®] étant utilisée pour séquencer toutes les souches transmises au CNR-ESS dans le cadre de son activité de routine de surveillance.

Établissement d'un dictionnaire lysotype/génotype pour *S. enterica* sérotype Typhi – F.-X. Weill

La distribution mondiale des populations de *S. enterica* sérotype Typhi a été étudiée durant de nombreuses décennies grâce à la lysotypie, technique qui n'est plus pratiquée depuis ces dernières années.

Objectif : Inférer un lysotype à partir de séquences génomiques de *S. enterica* sérotype Typhi.

Matériel : 500 souches disponibles au CNR-ESS et couvrant la diversité génétique des différents lysotypes de *S. enterica* sérotype Typhi.

Méthodes : WGS et bioinformatique.

Ce travail a pour but d'établir un lien entre les données de WGS et les données de lysotypage, de façon à ne pas perdre les informations précieuses accumulées depuis les années 1950.

Etude phylogéographique des populations de *S. enterica* sérotype Napoli – F.-X. Weill, M. Pardos de la Gándara – collaboration ISS, Italie et ETH Zurich.

S. enterica sérotype Napoli est un sérotype dont le nombre de cas fluctue d'une année sur l'autre en France, où il existe plusieurs foyers (Ouest, Sud-Ouest et Sud-Est). Il est également endémique en Suisse et en Italie. Un réservoir environnemental semble le plus probable.

Objectif : Mieux décrire les populations de *S. enterica* sérotype Typhi et identifier un réservoir animal.

Matériel : 520 souches humaines et non humaines isolées en France, Italie et Suisse entre 1945 et 2018 sont en cours de séquençage au CNR-ESS. Une campagne de prélèvement de batraciens et reptiles sauvages sera réalisée en 2019.

Méthodes : Culture, WGS et bioinformatique.

Ce travail a pour but de mieux comprendre l'épidémiologie de ce sérotype.

Projet “OneHealth EJP ADONIS (Assessing Determinants Of the Non-decreasing Incidence of *Salmonella*)” – M. Pardos de la Gándara et F.-X. Weill

Après une tendance à la diminution du nombre de cas de salmonellose humaine depuis 2008, *S. enterica* sérotype Enteritidis est redevenu prépondérant en Europe, en parallèle à l'augmentation des isollements dans la filière aviaire.

Objectif : Ce projet interdisciplinaire, avec 13 partenaires du monde médical et vétérinaire européens a pour but de mieux comprendre ce phénomène de résurgence.

Matériel : Toutes les souches de *S. enterica* sérotype Enteritidis répertoriées dans les institutions participantes et du domaine public seront analysées par WGS, puis par des analyses phénotypiques.

Méthodes : WGS et bioinformatique, ingénierie moléculaire, antibiogrammes, biochimie

Il s'agit d'un projet soumis pour financement.

6.1.2 Pour LA-RD

6.1.2.1 *E. coli* intestinaux :

- **Caractérisation du clone émergent de EHEC O80:H2 stx2** (Thèse de Science : Dr Aurelie Cointe)
- **Participation au PHRC national ZYTHROSHU** : « Intérêt de l'azithromycine dans le traitement des syndromes hémolytiques et urémiques post diarrhée »
- **Participation à l'essai REBALANCE** : recherche de portage de *E.coli* producteurs de Shiga-toxines chez les donneurs de microbiote fécal

6.1.2.2 *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).

6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

6.2.1 Publications nationales

Néant

6.2.2 Publications internationales

1. El Sayed F, Sapriel G, Fawal N, Gruber A, Bauer T, Heym B, Dupont C, Garchon HJ, Gaillard JL, Rottman M, Le Hello S. In-Host Adaptation of *Salmonella enterica* Serotype Dublin during Prosthetic Hip Joint Infection. Emerg Infect Dis. 2018 Dec;24(12):2360-2363.
2. Cointe A, Birgy A, Mariani-Kurkdjian P, Liguori S, Courroux C, Blanco J, Delannoy S, Fach P, Loukiadis E, Bidet P, Bonacorsi S. Emerging Multidrug-Resistant Hybrid Pathotype Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O80 and Related Strains of Clonal Complex 165, Europe. Emerg Infect Dis. 2018 Dec;24(12):2262-2269.
3. Ingelbeen B, Bruyand M, Mariani-Kurkdjian P, Le Hello S, Danis K, Sommen C, Bonacorsi S, de Valk H. Emerging Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* serogroup O80 associated hemolytic and uremic syndrome in France, 2013-2016: Differences with other serogroups. PLoS One. 2018 Nov 12;13(11):e0207492.

4. Rincé A, Balière C, Hervio-Heath D, Cozien J, Lozach S, Parnaudeau S, Le Guyader FS, Le Hello S, Giard JC, Sauvageot N, Benachour A, Strubbia S, Gourmelon M. Occurrence of Bacterial Pathogens and Human Noroviruses in Shellfish-Harvesting Areas and Their Catchments in France. *Front Microbiol.* 2018 Oct 11;9:2443.
5. Sévellec Y, Granier SA, Radomski N, Felten A, Le Hello S, Feurer C, Mistou MY, Cadel-Six S. Complete Genome Sequence of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serotype Derby, Associated with the Pork Sector in France. *Microbiol Resour Announc.* 2018 Sep 27;7(12). pii: e01027-18.
6. Joseph A, Rafat C, Zafrani L, Mariani-Kurkdjian P, Veyradier A, Hertig A, Rondeau E, Mariotte E, Azoulay E. Early Differentiation of Shiga Toxin-Associated Hemolytic Uremic Syndrome in Critically Ill Adults With Thrombotic Microangiopathy Syndromes. *Crit Care Med.* 2018 Sep;46(9):e904-e911.
7. Guyomard-Rabenirina S, Muanza B, Bastian S, Malpote E, Jestin P, Guerin M, Talarmin A, Weill FX, Legrand A, Breurec S. *Salmonella enterica* serovars Panama and Arechavaleta: Risk Factors for Invasive Non-Typhoidal *Salmonella* Disease in Guadeloupe, French West Indies. *Am J Trop Med Hyg.* 2018 Sep;99(3):584-589.
8. Breurec S, Rafai C, Onambele M, Frank T, Farra A, Legrand A, Weill FX. Serotype Distribution and Antimicrobial Resistance of *Shigella* Species in Bangui, Central African Republic, from 2002 to 2013. *Am J Trop Med Hyg.* 2018 Aug;99(2):283-286.
9. Zhou Z, Lundstrøm I, Tran-Dien A, Duchêne S, Alikhan NF, Sergeant MJ, Langridge G, Fotakis AK, Nair S, Stenøien HK, Hamre SS, Casjens S, Christophersen A, Quince C, Thomson NR, Weill FX, Ho SYW, Gilbert MTP, Achtman M, Pan-genome Analysis of Ancient and Modern *Salmonella enterica* Demonstrates Genomic Stability of the Invasive Para C Lineage for Millennia, *Curr Biol.* 2018 Aug 6;28(15):2420-2428.e10.
10. Togarsimalemath SK, Si-Mohammed A, Puraswani M, Gupta A, Vabret A, Liguori S, Mariani-Kurkdjian P, Bagga A, Dragon-Durey MA. Gastrointestinal pathogens in anti-FH antibody positive and negative Hemolytic Uremic Syndrome. *Pediatr Res.* 2018 Jul;84(1):118-124.
11. Sadikalay S, Reynaud Y, Guyomard-Rabenirina S, Falord M, Ducat C, Fabre L, Le Hello S, Talarmin A, Ferdinand S. High genetic diversity of extended-spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* in feces of horses. *Vet Microbiol.* 2018 Jun;219:117-122.
12. Sévellec Y, Vignaud ML, Granier SA, Lailier R, Feurer C, Le Hello S, Mistou MY, Cadel-Six S. Polyphyletic Nature of *Salmonella enterica* Serotype Derby and Lineage-Specific Host-Association Revealed by Genome-Wide Analysis. *Front Microbiol.* 2018 May 17;9:891.
13. Baker S, Thomson N, Weill FX, Holt KE. Genomic insights into the emergence and spread of antimicrobial-resistant bacterial pathogens. *Science.* 2018 May 18;360(6390):733-738.

14. Baker KS, Dallman TJ, Field N, Childs T, Mitchell H, Day M, Weill FX, Lefèvre S, Tourdjman M, Hughes G, Jenkins C, Thomson N. Genomic epidemiology of *Shigella* in the United Kingdom shows transmission of pathogen sublineages and determinants of antimicrobial resistance. *Sci Rep*. 2018 May 9;8(1):7389.
15. Bruyand M, Mariani-Kurkdjian P, Gouali M, de Valk H, King LA, Le Hello S, Bonacorsi S, Loirat C. Hemolytic uremic syndrome due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. *Med Mal Infect*. 2018 May;48(3):167-174.
16. Baker KS, Dallman TJ, Field N, Childs T, Mitchell H, Day M, Weill FX, Lefèvre S, Tourdjman M, Hughes G, Jenkins C, Thomson N. Horizontal antimicrobial resistance transfer drives epidemics of multiple *Shigella* species. *Nat Commun*. 2018 Apr 13;9(1):1462.
17. Birgy A, Madhi F, Hogan J, Doit C, Gaschignard J, Caseris M, Bidet P, Cohen R, Bonacorsi S. CTX-M-55-, MCR-1-, and FosA-Producing Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Infection in a Child in France. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018 Mar 27;62(4). pii: e00127-18.
18. Tran-Dien A, Le Hello S, Bouchier C, Weill FX. Early transmissible ampicillin resistance in zoonotic *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in the late 1950s: a retrospective, whole-genome sequencing study. *Lancet Infect Dis*. 2018 Feb;18(2):207-214.
19. Jourdan-da Silva N, Fabre L, Robinson E, Fournet N, Nisavanh A, Bruyand M, Mailles A, Serre E, Ravel M, Guibert V, Issenhuth-Jeanjean S, Renaudat C, Tourdjman M, Septfons A, de Valk H, Le Hello S. Ongoing nationwide outbreak of *Salmonella* Agona associated with internationally distributed infant milk products, France, December 2017. *Euro Surveill*. 2018 Jan;23(2).
20. Geslain G, Birgy A, Adiba S, Magnan M, Courroux C, Levy C, Cohen R, Bidet P, Bonacorsi S. Genome sequencing of strains of the most prevalent clonal group of O1:K1:H7 *Escherichia coli* that causes neonatal meningitis in France. *BMC Microbiol*. 2019 Jan 17;19(1):17
21. Pommelet V, Mariani P, Basmaci R, Tourdjman M, Morin L, Gaschignard J, de Lauzanne A, Lemaitre C, Bonacorsi S, Faye A. Enteric fever among children: 50 cases in a French tertiary care centre. *J Travel Med*. 2018 Jan 1;25(1).

6.2.3 Communications nationales

1. Truong J., P. Bidet, A. Birgy, M.F. Roux-Hurtaud, P. Mariani-Kurkdjian, P. Fach, S. Delannoy, A. Cointe, G. Jalladaud, C. Courroux, S. Bonacorsi. Caractérisation de souches de *Escherichia coli* non productrices de Shiga-toxine responsables d'infections extra-intestinales associées à un Syndrome Hémolytique et Urémique. **Communication orale**, Société Française de Microbiologie, Paris, 2018
2. Hobson C., Bonacorsi S., Hocquet D., Baruchel A., Fadh M., Storme T., Tang R., Tenaillon O., Birgy A. In vitro impact of anticancer chemotherapy on Ceftazidime-Avibactam resistance in KPC-producing Enterobacteriaceae. **Communication affichée**. 38ème Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-infectieuse, Paris, 2018.

3. Lefèvre S., Feldman S., Carle I., Lejay-Collin M., Ruckly C., Macé M., Weill FX. Antimicrobial Resistance in *Shigella* spp.: trends and genetic determinants. **Communication affichée**. International Conference « Combating resistance: microbes and vectors » 2018. Institut Pasteur International Network Symposium, Paris, 15-16 novembre 2018.

6.2.4 Communications internationales

1. Mikhail Churakov, communication orale “Effects of reduced typing coverage for routine *Salmonella* surveillance in France” lors de la session Epidemiology and Public Health du congrès « International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis (I3S) », St Malo, 26 septembre 2018.
2. Cointe A., Birgy A., Liguori S., Courroux C., Delannoy S., Fach P., Loukiadis E., Sergentet D., Blanco J., Beutin L., Bidet P., Bonacorsi S., Mariani-Kurkdjian P. Characterization of an emerging hybrid O80 Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) combining multiresistance and extra-intestinal virulence. **Communication orale**. International Symposium on Shiga Toxin producing *Escherichia coli* infections, Florence, 2018.
3. Bruyand, M., Mariani-Kurkdjian P., Le Hello S., King, LA., Van Cauteren D., Lefevre S., Gouali, M; Jourdan- Da Silva N., Mailles A., Donguy M.P., Loukiadis E., Loirat C., Bonacorsi S., Weill FX., de Valk, H. Pediatric hemolytic and uremic syndrome related to Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, an overview of surveillance in France (2007-2016) **Communication orale**. International Symposium on Shiga Toxin producing *Escherichia coli* infections, Florence, 2018.
4. Cointe A., Birgy A., Mariani-Kurkdjian P., Liguori S., Courroux C., Delannoy S., Fach P., Loukiadis E., Bidet P., Bonacorsi S. Hybrid pathotype *Escherichia coli* combining Shiga toxin production, extra-intestinal virulence and multiresistance is not restricted to O80 serogroup. **Communication affichée**. International Symposium on Shiga Toxin producing *Escherichia coli* infections, Florence, 2018.
5. Delannoy S., Mariani-Kurkdjian P., Webb H., Bonacorsi S., Fach P. The mobilome is a major contributor to *Escherichia coli* stx2-positive O26:H11 strains intra-serotype diversity. **Communication affichée**. International Symposium on Shiga Toxin producing *Escherichia coli* infections, Florence, 2018.

6.2.5 Conférences sur invitations

François-Xavier Weill, orateur invité “Genomic insights into the Grigoriev-Shiga’s bacillus”. International conference « Molecular bases of epidemiology, diagnostics and treatment of infectious diseases », St Petersburg, Russie 4-6 décembre 2018.

6.2.6 Organisations de Congrès

Maria Pardos de la Gandara, co-chair lors des Journées Départementales du Département d'Infection et Épidémiologie, Maintenon, 4-5 juin 2018.

François-Xavier Weill, chairman de la session « genomics » lors de l'« International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis (I3S) », St Malo, 24-26 septembre 2018.

François-Xavier Weill, co chair du comité d'organisation de l'International Conference « Combating resistance : microbes and vectors » 2018 Institut Pasteur International Network Symposium, Paris, 15-16 novembre 2018.

6.2.7 Distinctions

Simon Le Hello a été nommé Chevalier dans l'Ordre national du Mérite (promotion de novembre 2018).

François-Xavier Weill a reçu le Prix Eloi Collery de l'Académie nationale de Médecine, 18 décembre 2018.

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. En 2018, le CNR-ESS a incité l'Anses à utiliser le portail Enterobase pour l'analyse des génomes par l'approche cgMLST. Cela a permis d'établir pour certaines épidémies le lien entre les cas humains et les aliments suspectés d'en être à l'origine.

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. Simon Le Hello a notamment participé au comité d'expert scientifique CES-BIORISK de l'Anses.

Le CNR-ESS a participé en tant qu'expert (Simon Le Hello) 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 poursuit avec les réseaux nationaux en charge de la surveillance des STEC, l'ENV-Lyon (LNR) et l'Anses- LERQAP Maisons-Alfort pour des études ponctuelles sur les STEC, dans les aliments, chez l'animal et dans l'environnement avec échange et comparaison de souches.

Suite aux épidémies répétées à STEC O26 en lien avec des reblochs, une étude a été initiée en 2018. Toutes les souches de STEC O26 isolées de la filière lait entre 2015 et 2018 (n=38) ont été transmises par le LNR *E. coli* au CNR-ESS pour séquençage complet du génome. Plusieurs clusters en lien avec des filières de fromage spécifiques ont été détectés et font désormais l'objet d'un suivi parmi les cas humains.

8 Programme d'activité pour les années suivantes

8.1 Apporter une expertise microbiologique

8.1.1 Infections à *E. coli*

8.1.1.1 Infections à *E. coli* entéro-hémorragiques

Depuis le 1^{er} 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** de 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 Sérurier, 75019 Paris cedex 19. Cela consiste en l'isolement 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
- Le typage rapide des souches lors de cas groupés par la technique du MLVA
- **Le séquençage du génome entier** des *E. coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) s'effectuera au CNR-ESS, 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 le LA-RD poursuivent 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*), cytotoxic necrotising factor (*cnf1*)
 - ⇒ Systèmes de captation du fer : yersiniabactine (*fyuA*), aérobactine (*iucC*), salmocheline (*iroN*)
 - ⇒ Invasines : invasive brain endothelial cell (*ibeA*)

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 MLVA. 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. Étude 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.

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'analyse de toutes les souches de *Shigella* par WGS est désormais effectuée en routine au CNR-ESS. Cette méthodologie est à ce jour utilisée dans le cadre d'investigations d'épidémies. La finalisation des outils d'analyse bioinformatique (utilisation des cibles prophagiques pour obtenir les différents sérotypes de *S. flexneri*) devrait permettre de l'utiliser dans le cadre de la surveillance de routine dès la fin de l'année 2019. Cela conduira à l'arrêt de l'identification biochimique et du sérotypage des *Shigella*.

8.1.3 Infections à *Salmonella*

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

Le WGS est désormais utilisée en routine comme technique de typage de première intention. Les outils développés permettent d'inférer le sérotype d'une souche à partir de différentes cibles génomiques comme les gènes des deux flagellines, les sept gènes du MLST et les spaceurs CRISPR.

Un nouvel outil complémentaire permettant d'identifier l'antigène somatique « O » des *Salmonella* à partir de génomes (SeqSero2) est en cours d'évaluation. Cela permettra d'avoir à terme une panoplie d'outils génomiques conférant une plus grande robustesse à cette inférence de sérotype.

Les séquences des sérotypes plus homogènes – Enteritidis ST11, 1,4,[5]:12:i:- (monophasique) ST34, Agona ST13, Dublin ST10, Newport ST118 – sont soumises sur Enterobase pour le suivi des populations par l'approche cgMLST. Cela sera poursuivi. Des séquences d'autres sérotypes seront également déposées lors de l'investigation de futures épidémies nationales ou internationales.

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

Le CNR-ESS réalisera comme chaque année l'analyse de la sensibilité aux antibiotiques à l'aide de méthodes standardisées comme des antibiogrammes en milieu gélosé suivant les recommandations du CA-SFM-EUCAST) ou la détermination des CMI par microdilution (Sensititre®) sur une collection d'environ 1000 souches de *Salmonella*, incluant toutes les souches des sérotypes majeurs et une sélection des sérotypes les plus fréquents (Enteritidis, Typhimurium et son variant monophasique) et des sérotypes fréquemment associés à des profils de multirésistance.

L'identification des mécanismes de résistance aux antibiotiques clés dans le traitement des salmonelloses sévères, à savoir la ciprofloxacine, les céphalosporines de 3ème génération, les carbapénèmes, l'azithromycine et la colistine, sera réalisée.

- **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 basé sur des données génomiques (MLST, CRISPOL, cgMLST) pourra être développé quand il y aura une certaine accumulation de données de 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 LA-RD continueront à transmettre quotidiennement à Santé publique France 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 au LA-RD par les laboratoires correspondants. Tous les phénomènes d'importance seront communiqués sans attendre par téléphone ou par courriel. Le CNR-ESS va poursuivre son envoi hebdomadaire à Santé publique France, des déclarations obligatoires (identification de sérotypes majeurs de *Salmonella* spp.) et 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 vont poursuivre leur participation à l'investigation des cas groupés en collaboration avec Santé publique France.

Le CNR-ESS et LA-RD vont notamment poursuivre leur expertise microbiologique 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).

Lors de la survenue d'une épidémie, le CNR-ESS et LA-RD réaliseront 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, que ce soit au niveau national ou international. Les souches EHEC, d'origine humaine ou non, continueront à être étudiées par WGS. Toutes les souches seront envoyées par le LA-RD au CNR-ESS pour cela. Le CNR-ESS va également poursuivre le séquençage de toutes les souches de *Salmonella* et *Shigella*.

Lors des phases initiales de l'investigation d'une épidémie, le CNR-ESS pourra être amené également à réaliser un sérotypage, de façon à confirmer le plus rapidement possible les cas en vue de leur interrogatoire.

- **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**

Nous allons poursuivre la détermination en temps réel des types et sous-types bactériens à partir des séquences génomiques obtenues de souches humaines et/ou prélèvements biologiques reçues de nos réseaux historiques respectifs. Le plus grand nombre possible de souches sera séquencé dans les limites du budget alloué.

- **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'École Vétérinaire de Lyon (Dr Delphine Sergentet) 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 tout 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*, des *Shigella* et des STEC (envoi trimestriel des données de surveillance, collaboration en cas d'alerte européenne, ...)**

Le CNR-ESS et LA-RD participent 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 participent chaque année à des contrôles qualité externes internationaux de souches de STEC et de *Salmonella* organisés par ce réseau. Par ailleurs, le CNR-ESS et LA-RD transmettent leurs données trimestriellement via Santé publique France à ce réseau européen et répondent 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 2003/99/CE**

Le CNR-ESS et LA-RD vont poursuivre leur 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 le 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.

ANNEXE 1 : Missions et organisation du CNR

A1.1 Missions et objectifs du CNR-ESS et de son laboratoire associé à l'Hôpital Robert Debré

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

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'École 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.
- Contribuer à la détection et à l'investigation des cas groupés en lien avec Santé publique France, par séquençage complet du génome.
- Contribuer à des études de recherche appliquée.
- Participer aux réseaux de surveillance et d'alerte internationaux et en particulier européens, en lien avec Santé publique France
- 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 grâce à une collaboration avec de nombreux hôpitaux et laboratoires répartis dans toute la France et à un partenariat étroit avec Santé publique France.

Pour les Salmonella (CNR-ESS) :

- Contribuer à l'optimisation 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...

A1.2 Organisation du CNR et de son laboratoire associé à l'Hôpital Robert Debré

A1.2.1 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 Vibrions et du choléra et le Centre Collaborateur de l'OMS pour le typage et l'antibiorésistance de *Salmonella*. Le personnel du CNR-ESS est réparti de la façon suivante :

ETAT DES EMPLOIS DESTINES A L'ACTIVITE DU CNR

Noms et Prénoms	Qualifications	ETP
WEILL François-Xavier	Directeur de recherche (Responsable du CNR)	0,10
LE HELLO Simon (*)	Cadre médical (Co-Responsable du CNR)	0,50
PARDOS DE LA GÁNDARA María (*)	Ingénieure de recherche experte (Responsable adjointe)	
LEFÈVRE Sophie (*)	Cadre médicale (Responsable adjointe)	0,90
RENAUDAT Charlotte (†)	Cadre médicale	0,40
FABRE Laëtitia	Ingénieure de recherche confirmée	0,50
CHAVINIER-JOVÉ Brigitte (†)	Technicienne supérieure de recherche	0,40
CARLE Isabelle	Technicienne supérieure de recherche	0,75
DEMOËN Chantal	Technicienne de recherche	0,75
GUIBERT Véronique	Technicienne supérieure de recherche	0,75
LEJAY-COLLIN Monique	Technicienne supérieure de recherche	0,75
RAVEL Magali	Technicienne supérieure de recherche	0,75
RUCKLY Corinne	Technicienne supérieure de recherche	0,75
SERRE Estelle	Technicienne supérieure de recherche	0,90
GASTON Carole	Employée administrative	1,00
LEMESLE Marie (*)	Technicienne supérieure administrative	0,30
JUGLAS Florence (*)	Technicienne supérieure administrative	
TOTAL ETP :		9,5

(*) María Pardos de la Gándara a été recrutée en janvier 2018 pour remplacer provisoirement Sophie Lefèvre (congé maternité), puis pour remplacer définitivement Simon Le Hello suite à son départ de l'institut Pasteur le 31 août 2018. Florence Juglas a été recrutée en mars 2018 pour remplacer définitivement Marie Lemesle.

(†) Poste pris en charge financièrement à 100% par l'Institut Pasteur.

- *Les responsables scientifiques*

François-Xavier Weill

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

Simon Le Hello (jusqu'au 31 août 2018)

Docteur en pharmacie, DES de Biologie Médicale, Doctorat d'université de Microbiologie. Habilitation à Diriger des Recherches (Paris Sud).

Sophie Lefèvre

Docteur en pharmacie, DES de Pharmacie spécialisée, Doctorat d'université de Microbiologie, ancienne Assistante Hospitalo-Universitaire (Strasbourg).

María Pardos de la Gándara

Médecin spécialiste en Microbiologie et Parasitologie (Saragosse, Espagne).

Charlotte Renaudat

Docteur en médecine.

- *Le personnel technique*

*** Techniciens effectuant les analyses :**

- **Laëtitia Fabre**, Ingénieure de Recherche, Bachelor in Science (Kingston, RU), Master 2 de Microbiologie, Doctorat d'Université de Microbiologie. Expérience : 18 ans au CNR-ESS.

- **Véronique Guibert**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 24 ans au CNR-ESS.

- **Corinne Ruckly**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 10 ans au CNR des méningocoques, 17 ans au CNR-ESS.

- **Monique Lejay-Collin**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 33 ans au CNR-ESS.

- **Isabelle Carle**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 32 ans au CNR-ESS.

- **Estelle Serre**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 3 ans au CNR-ESS.

- **Magali Ravel**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 4 ans au CNR-ESS.

- **Brigitte Chavinier-Jové**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 5 ans au CNR-ESS. (En renfort depuis 2014)

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

- **Chantal Demoën**, technicienne de recherche. Expérience : 5 ans 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 : 19 ans au CNR-ESS et au CCOMS.

*** Technicien du Centre Collaborateur OMS préparant les sérums :**

- **Brigitte Chavinier-Jové**, technicienne supérieure de recherche. Expérience : 15 ans au CCOMS.

• *Le personnel administratif*

- **Carole Gaston**, secrétaire du CNR-ESS, gestion des dossiers, du téléphone et du courrier. Expérience : 2 ans au CNR-ESS

- **Marie Lemesle**, BTS Assistante Secrétaire Trilingue, secrétaire de l'unité BPE. Expérience : 6 ans (jusqu'au 29 mars 2018).

- **Florence Juglas**, Bac+3, assistante de l'unité BPE. Expérience : arrivée le 21 mars 2018.

A1.2.2 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

A1.3 Les locaux et équipements

A1.3.1 CNR-ESS (Institut Pasteur)

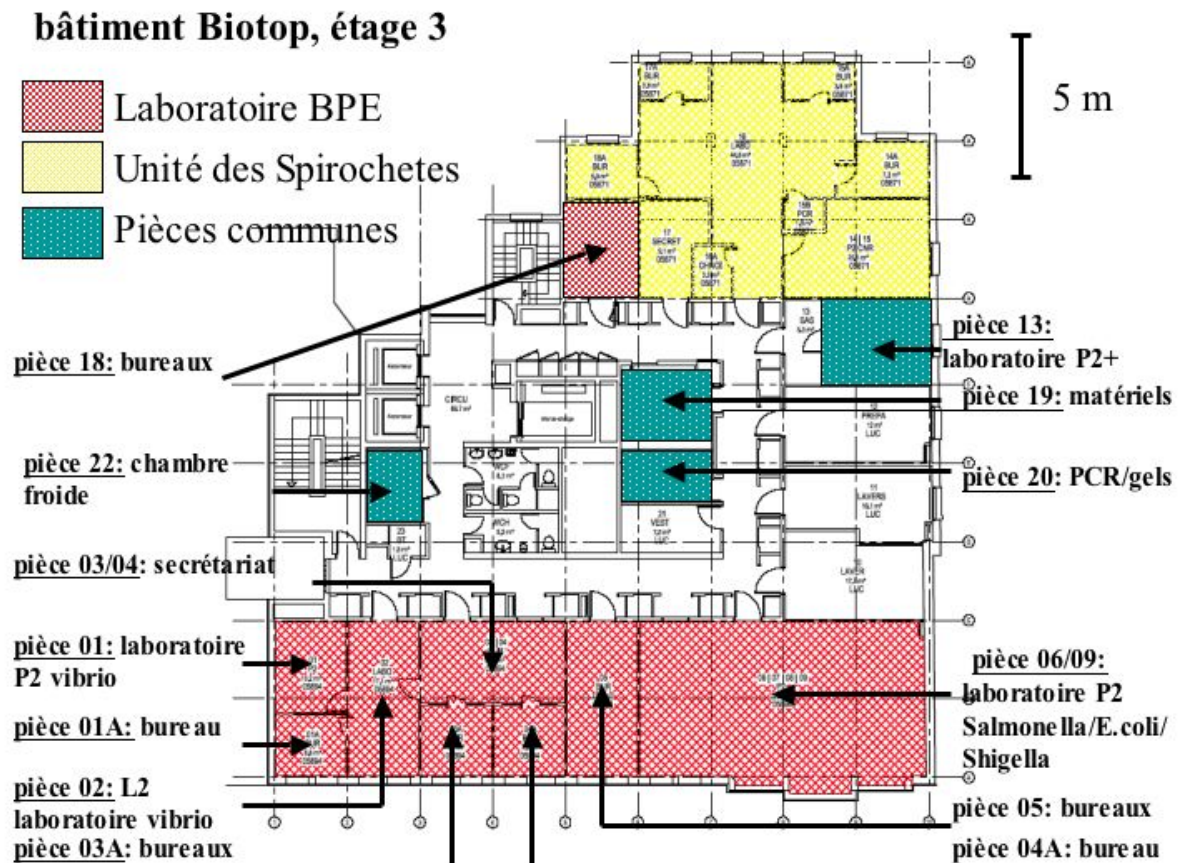
Le CNR-ESS, le CNR des Vibrions et du choléra, le CCOMS des *Salmonella* font partie de l'Unité d'Expertise et de Recherche des Bactéries Pathogènes Entériques dont les locaux se situent au 3^{ème} étage du bâtiment Biotop.

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

- Pièces 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 06/07/08/09) de 72.8m² 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 m² 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 m² où se trouvent les agitateurs Infors, les 2 congélateurs à -80°C et l'ultracentrifugeuse, une pièce, une pièce de 7,5 m² dédié comme îlot déchet et une pièce de 16,1 m² où se trouvent les appareils d'électrophorèse, les extracteurs ADN, la machine à glace 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).



Au 4^{ème} étage : deux bureaux d'une superficie de 5 m² chacun donnant sur un laboratoire de 22,5 m²

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^{er} étage, l'Unité BPE a acquis des locaux qui seront partagés avec le CNR des Leptospires (Unité des Spirochètes). Ces locaux de 33 m² 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.

A1.3.2 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 Équipements 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 Bruker Microflex pour identification bactérienne

En commun :

- Pièce pré PCR avec poste de sécurité PCR
- Une pièce climatisée comprenant :
 - Thermocyclers (x 3)
 - Appareil PCR temps réel (Smart Cycler)
 - Appareil d'électrophorèse en champ pulsé (Chef mapper- BioRad)
 - Pièce post PCR comprenant
 - Matériel d'électrophorèse en agarose
 - 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

A1.4 Collection de matériel biologique

Le CNR valorise son savoir-faire et son expertise en matière de *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella* en mettant à disposition de tiers académiques et industriels des duplicatas des souches initialement reçues (à noter que la collection CNR est donc préservée).

L'accès au matériel biologique collecté dans le cadre de l'activité du CNR est conditionné :

- à ce que l'utilisation envisagée du matériel biologique réponde à un objectif de santé publique ;
- à la mise en place de documents contractuels spécifiques.

Ainsi, est exigée pour le transfert du matériel biologique et des données associées à des équipes extérieures, la mise en place a minima d'un accord de transfert de matériel biologique (MTA) ou d'un accord de collaboration selon la nature des interactions entre les deux parties. Suivant la nature industrielle ou académique du partenaire, ces accords donneront lieu ou non à une contrepartie financière, contrepartie financière qui reste limitée au remboursement des coûts induits pour l'obtention et la conservation du matériel biologique transféré. Ces accords ont notamment pour objet d'assurer le transfert de la détention physique du matériel au partenaire.

Il est bien entendu que l'utilisation du matériel biologique par le tiers est strictement limitée au projet initial.

En termes de valorisation, l'Institut Pasteur s'assure que le CNR soit remercié ou associé dans chacune des publications et communications des résultats du projet. L'Institut Pasteur s'assure également dans certaines circonstances de la copropriété des résultats issus des travaux effectués sur le matériel biologique.

A tout le moins, les résultats du projet sont systématiquement communiqués au CNR.

A1.5 Démarche qualité

A1.5.1 Démarche qualité du CNR-ESS

Le CNR-ESS fait partie des 14 Centres Nationaux de Référence placés sous la responsabilité de l'Institut Pasteur. Ils sont organisés en multisite et constituent, avec la Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU), le Laboratoire de Référence et d'Expertise Multisite (LREMS). Le LREMS est sous démarche d'accréditation.

Cette accréditation répond à l'ordonnance du 13 janvier 2010 et à la loi du 31 mai 2013 relative aux activités de biologie médicale.

Le projet d'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 (certifié ISO 9001 v 2015)
- 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.

Suite à l'évaluation de Janvier 2018, les 14 CNR de l'Institut Pasteur et la CIBU du LREMS sont accrédités COFRAC selon la norme ISO 15189 version 2012 sous le n° 8-2588. L'annexe d'accréditation est disponible sur le site du COFRAC www.cofrac.fr.

L'ensemble des CNR participent annuellement à des contrôles externes de la qualité. Ceux-ci n'étant pas des programmes pérennes, lorsque ces CQE sont suspendus ou ne sont pas organisés annuellement, les CNR organisent des essais inter laboratoires avec des laboratoires homologues ou confrères européens ou mondiaux.

L'année qualité 2018 du CNR-ESS s'est organisée comme suit :

Étapes clés LRE-MS	Périodes de réalisation
Audit de surveillance S5	16 au 20 janvier 2018
Revue qualité	23 février 2018
Revue de direction LREMS et ajustement de la demande d'extension	16 mai 2018
Audits internes qualité et technique	04 et 11 octobre 2018

Perspectives 2019 :

Le CNR-ESS a été accrédité en 2018 par le COFRAC, pour la technique de « Détection des gènes codant les Shiga-toxines Stx1 et Stx2 chez *Escherichia coli* par un système de PCR multiplex en point final. ». Suite à la nouvelle organisation du CNR-ESS et LA-RD dans le mandat 2017-2022, il s'avère que cette technique de PCR n'est plus utilisée au sein du CNR-ESS. La détection des gènes codant pour les Shiga-toxines chez *E. coli* est désormais effectuée par l'analyse du génome complet (WGS) des souches transmises par le LA-RD.

Le CNR-ESS a donc arrêté de maintenir l'accréditation sur cette technique. Les autres techniques mises en œuvre au sein du CNR-ESS sont strictement destinées à la surveillance épidémiologique des *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella*. Aucune technique ne fait donc plus l'objet d'une demande d'accréditation par le COFRAC.

La liste des techniques accréditées du LREMS est disponible en annexe 2.

Engagement du CNR-ESS dans une démarche qualité :

Bien que le CNR-ESS ne demande plus le maintien de l'accréditation par le COFRAC, la démarche du système qualité mis en place est conservée, en terme organisationnel et de gestion et traçabilité du matériel, des réactifs et des consommables.

Évaluation externe de la qualité :

Le CNR-ESS participe chaque année aux contrôles de qualité externe européens proposés par l'ECDC via le Statens Serum Institut (Copenhague, Danemark).

- Pour *Salmonella*, l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (méthode de diffusion en milieu gélosé, en microdilution, et détection de la production de BLSE, AmpC acquise et carbapénémase) et la clusterisation était conforme aux résultats attendus.
- Pour *E. coli* producteur de Shiga-toxines (STEC) : 100 % de résultat correct pour la détection des antigènes O et H ; 100 % de profils de virulence corrects avec la détection des gènes de pathogénicité (*eae*, *stx1* et *stx2* et de leurs variants, *aggR* et *aaiC*) et des pathovars associés.
- Pour l'étude de clusterisation des souches de STEC, une analyse des SNP sans élimination des régions avec recombinaison génétique avait été utilisée. Les données transmises étaient de qualité acceptable mais les distances SNP rapportées ont été jugées systématiquement plus élevées que celles attendues. Toutefois cette technique n'est plus utilisée depuis octobre 2018. Le clustering s'effectue désormais par une analyse cgMLST suivie d'une confirmation par une analyse des SNP après élimination des zones recombinantes.

Reconnaissance du laboratoire par des instances nationales et internationales :

L'Unité BPE a été désignée le 15 octobre 2018 par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme Centre Collaborateur de l'OMS pour le typage et l'antibiorésistance des *Salmonella*. Ce centre dirigé par François-Xavier Weill a pour principales missions : la mise à jour du Schéma de White-Kauffmann-Le Minor, le soutien des programmes de l'OMS concernant l'antibiorésistance 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 a été membre 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.

A1.5.2 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 1er 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.

Évaluation externe de la qualité : le LA-RD participe également chaque année aux contrôles de qualité externe européens proposés par l'ECDC via le Statens Serum Institut (Copenhague, Danemark).

ANNEXE 2 : Capacités techniques du CNR

A2.1 Pour *Salmonella*

A2.1.1 Liste des techniques de référence

A2.1.1.1 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 (H₂S), 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.

A2.1.1.2 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 et Statens Serum Institut), 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 (séro)typage moléculaire** d'une souche de *Salmonella*. Cinq 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 (Achtman *et al*, PloS Pathogens 2012). Les résultats sont partagés avec la communauté scientifique par l'intermédiaire du site *Salmonella enterica* MLST Database hébergée à la Warwick Medical School (Warwick, RU) : <http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/dbs/Senterica>.
 - **Le séquençage des gènes de flagellines *fliC* et *fliB*.** Cette méthode se base sur l'analyse des gènes codant pour les 2 phases flagellaires de *Salmonella*.

- **La détection du gène responsable de l'antigène O:5** dans la région *rfb*, chez le sérotype Typhimurium et son variant monophasique.
- **Le séquençage du gène de la déhydrase du d-tartrate** pour détecter la mutation ponctuelle responsable du phénotype « dt+ » et « dt- » chez *S. Paratyphi B*.

A2.1.1.3 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 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) par séquençage. Plus de 900 CRISPOL types différents ont été décrits par cette méthode. Cette méthode originale a été mise au point au CNR-ESS (Fabre *et al*, PloS One 2012).

A2.1.1.4 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'antibiogramme** par microdilution dans un volume de 50µl sur plaques à 96 puits Sensititre® (BioMérieux®), suivant les dernières recommandations de l'EUCAST et de la SFM.
- **L'étude des mécanismes de résistance aux antibiotiques** (caractérisation des gènes de résistance, de leur environnement génétique et de leur support).

A2.1.1.5 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 (NextSeq 500). Les analyses bio-informatiques sont issues du CNR-ESS.

A2.1.1.6 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*.

A2.1.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Le **sérotypage** des souches doit être réalisé conformément au schéma de White-Kauffmann-Le Minor (WKL) (9^{ème} 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 (prière de mentionner les coordonnées professionnelles) ou téléchargeable en version française à l'adresse <https://www.pasteur.fr/fr/file/3184/download?token=5-WekyPv>.

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 des génomes entiers (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 cgMLST ou analyse de SNP, en utilisant les méthodologies les plus adaptées à l'investigation.

A2.2 Pour *Shigella*

A2.2.1 Liste des techniques de référence

A2.2.1.1 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 (H₂S), 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.

A2.2.1.2 Techniques d'identification de *Shigella*

Le sérotypage classique

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 *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*.

A2.2.1.3. Détection des gènes de pathogénicité par PCR des *Shigella*

- Les gènes *ial* et *ipaH*
- Le gène *stx* chez *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga-toxine 1).

A2.2.1.4 Techniques de sous-typage des *Shigella*

Le sous-typage des souches de *Shigella* est effectué depuis octobre 2018 par l'analyse cgMLST des séquences du génome entier (voir le paragraphe « A2.2.1.6. Séquençage du génome entier des *Shigella* »).

L'électrophorèse en champ pulsé (PFGE) à l'aide de différentes endonucléases (méthode standardisée PulseNet), n'est plus utilisée au sein du CNR-ESS.

A2.2.1.5 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 de l'EUCAST) et détermination de la CMI (méthode e-test) des principaux antibiotiques (ciprofloxacine, céphalosporines de troisième génération et azithromycine).
- L'étude des mécanismes de résistance aux antibiotiques (caractérisation des gènes de résistance, de leur environnement génétique et de leur support) est effectuée par analyse du génome complet (WGS).

A2.2.1.6. Séquençage du génome entier des *Shigella*

Cette technique est réalisée grâce à une plateforme (P2M) de l'Institut Pasteur permettant une extraction d'ADN à haut-débit (MagNAPure 96, Roche) et le séquençage par la technologie Illumina (NextSeq 500®). Les analyses bio-informatiques réalisées au CNR-ESS permettent de connaître le séquençotype MLST et cgMLST, le type CRISPR, la séquence *fliC* et le contenu en gènes de virulence et de résistance aux antibiotiques. Le sérotype *in silico* devrait pouvoir être inféré très prochainement.

A2.2.2 Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles

Dans le cas de *Shigella*, le sérotypage est essentiel pour vérifier que des souches présentent le même sérotype. Le PFGE peut être utilisé pour vérifier la clonalité des souches. Mais la diversité des populations de *Shigella* 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.

Cependant désormais, le WGS est devenu la technique de référence pour sous-typer les souches de *Shigella* et permettre l'expertise et les investigations microbiologiques à mener.

A2.2.3 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 dans une pièce climatisée avec leurs informations microbiologiques et cliniques (si disponibles).

Ceci permet des études rétrospectives sur l'évolution des types ou des résistances aux antibiotiques. Les souches importantes sont en plus conservées à -80°C, parmi ces souches, il y a :

- 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.

A2.2.4 Techniques recommandées par le CNR-ESS

Concernant les *Shigella*, la caractérisation biochimique suivie de la séro-agglutination 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.

A2.3 Pour *Escherichia coli*

A2.3.1 Liste des techniques de référence

A2.3.1.1 au CNR-ESS

Séquençage du génome entier (WGS)

Cette technique est réalisée grâce à une plateforme (P2M) de l'Institut Pasteur permettant une extraction d'ADN à haut-débit (MagNAPure 96, Roche) et le séquençage par la technologie Illumina (NextSeq500). Les analyses bio-informatiques réalisées au CNR-ESS 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.

A2.3.1.2 Techniques du LA-RD

Diagnostic/identification

- Mise en culture sur milieux spécifiques : Mac Conkey Sorbitol Cefixime Tellurite (BioMérieux), Milieu chromogène pour entérobactéries et milieu de Drigalski, milieu spécifique STEC (Chromagar)^o
- Identification par spectrométrie de Masse Maldi-Tof et identification biochimique sur galerie API20E (BioMérieux)
- PCR spécifique des gènes de virulence : *stx1*, *stx2*, *eae*, *hlyA*
- Groupage phylogénétique

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, O80, O104 et O121.
- MLVA

Sensibilité aux anti-infectieux

- étude de la sensibilité aux antibiotiques par méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA-SFM de l'année en cours
- détermination de la CMI à l'azithromycine par la méthode du E-test pour la détermination de la sensibilité

A2.3.2 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, le WGS est effectuée.

Toutes les techniques décrites précédemment peuvent être utilisées en association comme marqueurs épidémiologiques.

A2.3.3 Collection de souches

Au CNR-ESS, toutes les souches de *E. coli* sont ensemencées en gélose de conservation et une pièce climatisée est réservée aux collections de souches des CNR. Les souches importantes sont de plus conservées à -80°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.

Au LA-RD à l'hôpital Robert Debré, les souches sont conservées à -80°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.

A2.3.4 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 nouvel article de référence rédigé en 2016 par le LA-RD est paru dans la Revue française des Laboratoires et a permis de mettre à jour les nouveaux outils diagnostiques dans les infections à STEC. (Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S Diagnostic des infections à *Escherichia coli* enterohémorragique. Revue française des laboratoires, Novembre 2016, n°486, 45-52

Désormais, l'expertise fine des *E. coli* requiert une analyse du génome.

REVIEW

Genomic insights into the emergence and spread of antimicrobial-resistant bacterial pathogens

Stephen Baker,^{1,2,3*} Nicholas Thomson,^{4,5} François-Xavier Weill,⁶ Kathryn E. Holt^{5,7}

Whole-genome sequencing (WGS) has been vital for revealing the rapid temporal and spatial evolution of antimicrobial resistance (AMR) in bacterial pathogens. Some antimicrobial-resistant pathogens have outpaced us, with untreatable infections appearing in hospitals and the community. However, WGS has additionally provided us with enough knowledge to initiate countermeasures. Although we cannot stop bacterial adaptation, the predictability of many evolutionary processes in AMR bacteria offers us an opportunity to channel them using new control strategies. Furthermore, by using WGS for coordinating surveillance and to create a more fundamental understanding of the outcome of antimicrobial treatment and AMR mechanisms, we can use current and future antimicrobials more effectively and aim to extend their longevity.

When antimicrobial drugs were introduced into clinical usage in the mid-20th century, they had an astonishing impact on human health. Infectious bacteria that had threatened our survival were now at the mercy of a chemical arsenal. Previously fatal infections, from whooping cough and scarlet fever to tuberculosis and syphilis, were no longer considered a threat. Antimicrobials substantially reduced the risks associated with child birth, injuries, and invasive medical procedures. What has followed in the subsequent 70 years or so has been an uncontrolled microbiological experiment conducted on an unprecedented scale. Initially we identified a plethora of new antimicrobial classes targeting different essential bacterial functions, but we deployed them haphazardly in ever-increasing quantities. Now antimicrobial resistance (AMR) poses a genuine threat to human health, with the potential to return us to a situation where common infections are as untreatable as they were in the pre-antimicrobial era (1).

Humans did not create AMR; we simply promoted it by applying evolutionary pressure. Almost all antimicrobials have chemical similarities with compounds that can be found naturally; AMR genes have been found deep in the permafrost (2) and arose long before humankind's ability to synthesize antibacterial chemicals and use them en masse. Therefore, AMR in bacterial populations is a largely predictable phenomenon; the more commonly a specific antimicrobial compound is used,

the more likely it is that resistance will emerge and be maintained in an exposed microbial population. The specific dynamics of the processes associated with AMR are, however, less predictable. The rapidity with which diverse AMR phenotypes have emerged and become established within human, animal, and wider environmental populations of microbes has been astonishing and most likely accelerated by concurrent advances in human development, mobilization, and population growth.

“The first reports of penicillin-resistant infections occurred early in the 1940s, but a penicillinase was described even before the continued clinical usage of the prototype antibiotic.”

The evolutionary dynamics of antimicrobial resistance

How resistance is maintained and distributed within bacterial populations is a function of the organism's lifestyle (i.e., transmission mode, colonization, and pathogenicity) and the genetic basis for resistance, which can be either intrinsic (i.e., the organism naturally lacks the specific pathway targeted by the drug), mutation associated (i.e., induced changes are passed vertically to descendants), or acquired via horizontal gene transfer (HGT) between organisms (with acquired genes then being passed vertically to progeny). The first reports of penicillin-resistant infections occurred early in the 1940s, but a penicillinase was described even before the continued clinical usage of the prototype antibiotic (3). Since then, there

have been numerous examples of the rapid emergence of bacteria exhibiting resistance to a specific antimicrobial class soon after its introduction (4). However, in the past decade, through the advent of high-throughput whole-genome sequencing (WGS), we have been able to make substantive advances in understanding the dynamics of AMR evolution and spread in bacterial populations.

WGS has become the key technology for understanding pathogen evolution, population dynamics, and genomic epidemiology, as it provides a far greater degree of reproducibility, standardization, and resolution than previous genotyping methods (5). By capturing both the neutral evolution of the population—for tracking transmission and diversification of the organism—and the genetic determinants of AMR, WGS can reveal detailed temporal and spatial dynamics of AMR evolution and simultaneously infer the impact of AMR selection on pathogen populations. Much of the pioneering WGS-based AMR work was focused on the opportunistic Gram-positive human pathogen *Staphylococcus aureus*, particularly with respect to the emergence of methicillin resistance (MRSA) in health care facilities in Europe (6). MRSA is still among the best examples of how AMR variants can rapidly emerge, be efficiently maintained, and spread at different spatiotemporal scales, ranging from individual hospital wards to health care networks, and internationally within human populations (Fig. 1). MRSA was first observed in 1960, within a year of the introduction of second-generation β -lactams, such as methicillin, into clinical practice. However, phylogenetic reconstruction showed that MRSA actually emerged in the 1940s via HGT of the staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) element, as a consequence of the initial mass usage of penicillin (7). WGS data shows that MRSA has arisen on numerous occasions independently in different subpopulations on different continents (e.g., USA300, ST22 in Europe, and ST93 in Australia) through parallel HGT events and spread throughout health care systems (6). The history of health care-associated MRSA in the later part of the 20th century was punctuated by frequent epidemics associated with highly successful clones, such as EMRSA-15 (ST22), which was first described in the United Kingdom in the 1990s and then spread throughout Europe, and then intercontinentally (Fig. 1) (8). Notably, a fluoroquinolone-resistant EMRSA-15 variant arose in the United Kingdom soon after clinical trials with ciprofloxacin in the 1980s, with point mutations in the DNA gyrase and topoisomerase IV genes. This critical event was the apparent trigger for the subsequent pandemic spread of a fluoroquinolone-resistant MRSA variant (Fig. 1) (8).

The global dissemination of antimicrobial-resistant clones

MRSA epitomizes a now all-too-familiar evolutionary route by which successful AMR clones

¹Oxford University Clinical Research Unit, Ho Chi Minh City, Vietnam. ²Centre for Tropical Medicine and Global Health, Oxford University, Oxford, UK. ³The Department of Medicine, University of Cambridge, Cambridge, UK. ⁴The Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, UK. ⁵The London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, UK. ⁶Institut Pasteur, Paris, France. ⁷Department of Biochemistry and Molecular Biology, Bio21 Molecular Science and Biotechnology Institute, University of Melbourne, Parkville, Victoria, Australia.

*Corresponding author. Email: sbaker@oucr.uo

Ongoing nationwide outbreak of *Salmonella* Agona associated with internationally distributed infant milk products, France, December 2017

Nathalie Jourdan-da Silva¹, Laetitia Fabre², Eve Robinson^{1,3}, Nelly Fournet¹, Athinna Nisavanh¹, Mathias Bruyand¹, Alexandra Mailles¹, Estelle Serre², Magali Ravel², Véronique Guibert², Sylvie Issenhuth-Jeanjean², Charlotte Renaudat², Mathieu Tourdjman¹, Alexandra Septfons¹, Henriette de Valk¹, Simon Le Hello²

1. Santé publique France, Saint-Maurice, France

2. Institut Pasteur, Centre National de Référence des Salmonella, Paris, France

3. European Programme for Intervention Epidemiology Training (EPIET), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), Stockholm, Sweden

Correspondence: Nathalie Jourdan-da Silva (Nathalie.JOURDAN-DASILVA@santepubliquefrance.fr)

Citation style for this article:

Jourdan-da Silva Nathalie, Fabre Laetitia, Robinson Eve, Fournet Nelly, Nisavanh Athinna, Bruyand Mathias, Mailles Alexandra, Serre Estelle, Ravel Magali, Guibert Véronique, Issenhuth-Jeanjean Sylvie, Renaudat Charlotte, Tourdjman Mathieu, Septfons Alexandra, de Valk Henriette, Le Hello Simon. Ongoing nationwide outbreak of *Salmonella* Agona associated with internationally distributed infant milk products, France, December 2017. *Euro Surveill.* 2018;23(2):pii=17-00852. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.2.17-00852>

Article submitted on 21 Dec 2017 / accepted on 11 Jan 2018 / published on 11 Jan 2018

On 1 December 2017, an outbreak of *Salmonella* Agona infections among infants was identified in France. To date, 37 cases (median age: 4 months) and two further international cases have been confirmed. Five different infant milk products manufactured at one facility were implicated. On 2 and 10 December, the company recalled the implicated products; on 22 December, all products processed at the facility since February 2017. Trace-forward investigations indicated product distribution to 66 countries.

Identification of the outbreak

At the end of November 2017 the French National Reference Centre (NRC) for *Salmonella* noted an unusual increase in *Salmonella* Agona among infants, with 22 cases identified between August and November 2017 in children younger than six months. On 1 December, interviews with the caregivers of eight of these infants by the French National Institute for Public Health (Santé Publique France (SPF)) identified infant milk products from a single company as a potential source. All but one of the first eight investigated cases had consumed products manufactured at a single facility operated by this company. This facility had previously been associated with an outbreak of *Salmonella* Agona in 2005 [1]. An outbreak investigation is currently ongoing in conjunction with the NRC, SPF, the Ministry of Health and the Ministry of Economy in charge of consumers' affairs.

Epidemiological investigations

The operational definition for probable cases as at 11 January 2018 includes children younger than two years with a laboratory-confirmed *Salmonella* Agona infection and with a date of onset of symptoms since 1

January 2017. A confirmed case is a probable case with a *Salmonella* Agona isolate belonging to the outbreak cluster by whole genome sequencing (WGS) or, if WGS has not been performed, an isolate which does not produce H₂S and gas after 18 h incubation on Kligler iron agar (see *Microbiological investigations* for further details). Cases were excluded if they had a history of travel abroad in the 7 days before symptom onset and probable cases were excluded if after WGS, they were not within the outbreak cluster.

As at 11 January 2018, 37 cases have been identified in France, all of whom were confirmed (Figure 1). All cases had gastrointestinal symptoms, and there was no case of bloodstream infection or meningitis. Almost all cases had diarrhoea (34 cases), 23 had bloody diarrhoea, 26 fever and 13 vomiting. One case had symptom onset in April while the remaining cases had onset of symptoms between mid-August and 2 December. The cases included 21 girls and 16 boys. The median age was 4 months (range: 2 weeks–9 months). The cases were scattered across 10 different regions of France.

Among 36 cases whose caregivers have been interviewed to date, 18 were hospitalised for their illness, all of whom have recovered at the time of writing this report. Eleven cases had underlying medical conditions. These conditions were not associated with an increased risk of salmonellosis. However, they may have increased the likelihood of presentation to a healthcare provider and of diagnostic investigations. In the 3 days before symptom onset, 35 of the 36 cases had consumed infant milk products intended for babies aged 0–6 months manufactured by the same company. Five different products have been implicated to date:

Early transmissible ampicillin resistance in zoonotic *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in the late 1950s: a retrospective, whole-genome sequencing study



Alicia Tran-Dien, Simon Le Hello, Christiane Bouchier, François-Xavier Weill

Summary

Background Ampicillin, the first semi-synthetic penicillin active against Enterobacteriaceae, was released onto the market in 1961. The first outbreaks of disease caused by ampicillin-resistant strains of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium were identified in the UK in 1962 and 1964. We aimed to date the emergence of this resistance in historical isolates of *S enterica* serotype Typhimurium.

Methods In this retrospective, whole-genome sequencing study, we analysed 288 *S enterica* serotype Typhimurium isolates collected between 1911 and 1969 from 31 countries on four continents and from various sources including human beings, animals, feed, and food. All isolates were tested for antimicrobial drug susceptibility with the disc diffusion method, and isolates shown to be resistant to ampicillin underwent resistance-transfer experiments. To provide insights into population structure and mechanisms of ampicillin resistance, we did whole-genome sequencing on a subset of 225 isolates, selected to maximise source, spatiotemporal, and genetic diversity.

Findings 11 (4%) of 288 isolates were resistant to ampicillin because of acquisition of various β lactamase genes, including *bla*_{TEM-1}, carried by various plasmids, including the virulence plasmid of *S enterica* serotype Typhimurium. These 11 isolates were from three phylogenomic groups. One isolate producing TEM-1 β lactamase was isolated in France in 1959 and two isolates producing TEM-1 β lactamase were isolated in Tunisia in 1960, before ampicillin went on sale. The vectors for ampicillin resistance were different from those reported in the strains responsible for the outbreaks in the UK in the 1960s.

Interpretation The association between antibiotic use and selection of resistance determinants is not as direct as often presumed. Our results suggest that the non-clinical use of narrow-spectrum penicillins (eg, benzylpenicillin) might have favoured the diffusion of plasmids carrying the *bla*_{TEM-1} gene in *S enterica* serotype Typhimurium in the late 1950s.

Funding Institut Pasteur, Santé publique France, the French Government's Investissement d'Avenir programme, the Fondation Le Roch-Les Mousquetaires.

Introduction

In May, 2015, the 68th World Health Assembly endorsed a global action plan to tackle antimicrobial resistance,¹ a global public health issue for the 21st century. The discovery and commercialisation of so-called sulfa drugs (eg, sulfonamidochrysoïdine and sulfanilamide) 80 years ago opened up a new era in the fight against bacterial infections.² These synthetic bacteriostatic antibiotics were hailed as magic bullets or wonder drugs, but were rapidly eclipsed by penicillin, a natural bactericidal substance from *Penicillium rubrum* that had been discovered earlier (1928) but had not gone into mass production until World War 2.² In his landmark paper, Alexander Fleming noted that, unlike Gram-positive bacteria, the bacteria of the “coli-typhoid” group were not sensitive to penicillin.³ The first penicillin drug to be active against Enterobacteriaceae was ampicillin, a broad-spectrum semi-synthetic derivative of 6-aminopenicillanic acid that was commercialised by Beecham Research Laboratories under the name Penbritin in 1961.^{4,5}

The first report to describe β lactamases encoded by R factors (plasmids) in Enterobacteriaceae strains with

transmissible ampicillin resistance was published in 1965.⁶ In this report, two of the three Enterobacteriaceae strains studied were found to produce the TEM penicillinase. One of these strains, an *Escherichia coli* isolate obtained from a patient in Greece in 1963 (the strain and its β lactamase were named TEM after the patient's name, Temoneria),⁷ was subsequently shown to carry the *bla*_{TEM-1A} gene on an IncX2 plasmid about 40 kbp in size⁸ (table 1). The second of these strains, a *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B isolate obtained in the UK in 1963, was also subsequently shown to carry the *bla*_{TEM-1A} gene on an IncF plasmid that was roughly 100 kbp in size¹⁰ (table 1). A third strain, *S enterica* serotype Typhimurium phage-type 1a (later reclassified as definitive phage-type [DT] 2) isolated in Brighton, UK, in 1962 produced a β lactamase with a substrate profile that was different from that of TEM (table 1). This strain was isolated during the first reported outbreak caused by an ampicillin-resistant strain of *S enterica* serotype Typhimurium. The outbreak occurred in the UK in the second half of 1962, at a time when several *S enterica* serotype Typhimurium DT2 isolates resistant to

Lancet Infect Dis 2018;
18: 207–14

Published Online
November 29, 2017
[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30705-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30705-3)

See [Comment](#) page 132

Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* (A Tran-Dien MSc, S Le Hello PharmD, F-X Weill MD) and Plate-forme Génomique (PF1) (C Bouchier PhD), Institut Pasteur, Paris, France

Correspondence to:
Dr François-Xavier Weill, Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Institut Pasteur, Paris 75724, France
francois-xavier.weill@pasteur.fr

Pan-genome Analysis of Ancient and Modern *Salmonella enterica* Demonstrates Genomic Stability of the Invasive Para C Lineage for Millennia

Zhemín Zhou,^{1,*} Inge Lundstrøm,² Alicia Tran-Dien,³ Sebastián Duchêne,⁴ Nabil-Fareed Alikhan,¹ Martin J. Sergeant,¹ Gemma Langridge,^{5,10} Anna K. Fotakis,² Satheesh Nair,^{5,11} Hans K. Stenøien,⁶ Stian S. Hamre,⁷ Sherwood Casjens,⁸ Axel Christophersen,⁶ Christopher Quince,¹ Nicholas R. Thomson,⁵ François-Xavier Weill,³ Simon Y.W. Ho,⁹ M. Thomas P. Gilbert,^{2,6,*} and Mark Achtman^{1,12,*}

¹Warwick Medical School, University of Warwick, Gibbet Hill Road, Coventry CV4 7AL, UK

²Centre for GeoGenetics, Natural History Museum of Denmark, University of Copenhagen, Øster Voldgade 5-7, 1350 Copenhagen, Denmark

³Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Institut Pasteur, Paris, France

⁴Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Melbourne, Parkville, Victoria 3010, Australia

⁵Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, UK

⁶NTNU University Museum, N-7491 Trondheim, Norway

⁷Department of Archaeology, History, Cultural Studies and Religion, University of Bergen, Post Box 7805, 5020 Bergen, Norway

⁸Pathology Department, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, UT 84112, USA

⁹School of Life and Environmental Sciences; University of Sydney, Sydney NSW 2006, Australia

¹⁰Present address: Molecular Microbiology, Norwich Medical School, University of East Anglia, Norwich, UK

¹¹Present address: Gastrointestinal Bacteria Reference Unit, Public Health England, London, UK

¹²Lead Contact

*Correspondence: zhemin.zhou@warwick.ac.uk (Z.Z.), tgilbert@snm.ku.dk (M.T.P.G.), m.achtman@warwick.ac.uk (M.A.)

<https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.05.058>

SUMMARY

Salmonella enterica serovar Paratyphi C causes enteric (paratyphoid) fever in humans. Its presentation can range from asymptomatic infections of the blood stream to gastrointestinal or urinary tract infection or even a fatal septicemia [1]. Paratyphi C is very rare in Europe and North America except for occasional travelers from South and East Asia or Africa, where the disease is more common [2, 3]. However, early 20th-century observations in Eastern Europe [3, 4] suggest that Paratyphi C enteric fever may once have had a wide-ranging impact on human societies. Here, we describe a draft Paratyphi C genome (Ragna) recovered from the 800-year-old skeleton (SK152) of a young woman in Trondheim, Norway. Paratyphi C sequences were recovered from her teeth and bones, suggesting that she died of enteric fever and demonstrating that these bacteria have long caused invasive salmonellosis in Europeans. Comparative analyses against modern *Salmonella* genome sequences revealed that Paratyphi C is a clade within the Para C lineage, which also includes serovars Choleraesuis, Typhisuis, and Lomita. Although Paratyphi C only infects humans, Choleraesuis causes septicemia in pigs and boar [5] (and occasionally humans), and Typhisuis causes epidemic swine salmonellosis (chronic paratyphoid) in domestic pigs [2, 3]. These different host specificities likely evolved in Europe over the last ~4,000 years since the time of their most recent common

ancestor (tMRCA) and are possibly associated with the differential acquisitions of two genomic islands, SPI-6 and SPI-7. The tMRCAs of these bacterial clades coincide with the timing of pig domestication in Europe [6].

RESULTS AND DISCUSSION

According to historical records [7], humans have long been afflicted by bacterial infections, yet genomic analyses of extant bacterial pathogens routinely estimate a tMRCA of no more than a few centuries [8]. In general, evolutionary trees contain a stem group, which may include lineages that are now rare or extinct, as well as the crown group of extant organisms. Historical reconstructions based only on the crown group ignore the older sub-lineages in the stem group and thereby provide an incomplete picture of the older evolutionary history of the pathogen. In contrast, analyses of ancient DNA (aDNA) can shed light on additional millennia of bacterial pathogen evolution that occurred prior to the origin of the crown group [9, 10]. We therefore searched for ancient bacterial lineages by scanning metagenomic sequences from teeth and long bones of 33 skeletons who were buried between 1100 and 1670 CE in Trondheim, Norway [11] (Figures 1A and 1C).

SK152 is the skeleton of a 19- to 24-year-old woman of 154 ± 3 cm height who was buried in 1200 ± 50 CE, according to archaeological investigations [11]. Calibrated radiocarbon (¹⁴C) dating of two teeth estimated her burial as 100–200 years earlier (Figure S1B); this minor discrepancy may reflect the reservoir effect on radiocarbon dating from a predominant diet of fish products [13]. Based on δ¹⁸O_{carbon} isotopic measurements from her first and third molars, this woman likely migrated from the northernmost inland areas of Scandinavia or Northwest



In-Host Adaptation of *Salmonella enterica* Serotype Dublin during Prosthetic Hip Joint Infection

Faten El Sayed, Guillaume Sapriel, Nizar Fawal, Aurelia Gruber, Thomas Bauer, Beate Heym, Caroline Dupont, Henri-Jean Garchon, Jean-Louis Gaillard, Martin Rottman, Simon Le Hello

Genome degradation has been central to the adaptation of *Salmonella enterica* serotypes to their hosts throughout evolution. We witnessed the patho-adaptation of a strain of *Salmonella* Dublin (a cattle-adapted serotype) to a human host during the course of a recurrent prosthetic hip joint infection evolving over several years.

Salmonella enterica serotype Dublin is a host-adapted bacterium with cattle as a predominant reservoir and is responsible for invasive, potentially life-threatening infections in humans (1,2). In France, the epidemiology of *Salmonella* Dublin infections among humans corroborates surveillance data from the United States (1). *Salmonella* Dublin causes substantially more bloodstream infections and hospitalizations than other *Salmonella* serotypes. It is also much more likely to be isolated in metastatic foci of infection secondary to bacteremia. The prevalence of prosthetic joints in *Salmonella* Dublin patients is significantly greater than for other *Salmonella* cases (Table).

Host adaptation is central to pathogen evolution and is associated with gene acquisition, genome degradation (gene inactivation or deletion), or both. Genome degradation has played a major role in the adaptation of *S. enterica* serotypes Typhi and Paratyphi A to the human host throughout evolution (3). Degradation also has been recently reported in a severely immunocompromised patient in whom recurrent systemic *Salmonella* Enteritidis infections developed over 15 years (4). We report the phenotypic and genomic changes

undergone by *Salmonella* Dublin throughout a recurrent prosthetic hip infection in an immunocompetent patient.

The Study

In May 2011, a 74-year-old woman with bilateral hip prostheses (implanted in 1998 [right] and 2001 [left]) was admitted to intensive care for sepsis and left hip pain (online Technical Appendix Figure, <https://wwwnc.cdc.gov/EID/article/24/12/18-0214-Techapp1.pdf>). Blood cultures and a joint aspiration yielded pure cultures of *Salmonella* spp. She underwent debridement and implant retention surgery, followed by a 6-week intravenous course of cefotaxime and ciprofloxacin. Three years later, she sought care at the emergency department with acute-onset fever and prosthesis joint infection of the right hip and underwent right hip debridement and implant retention surgery. Blood cultures, joint aspirates, and all interoperative periprosthetic tissue samples yielded *Salmonella* spp. The patient received 2 weeks of intravenous amoxicillin and oral ofloxacin, was discharged, and received oral antimicrobial drugs for 10 more weeks. Six weeks after surgery, the surgical wound was healed, and the patient walked normally. One year later (2015), her primary care physician referred her to the hospital because of night fevers without local signs or implant dysfunction. Radiolucosintigraphy showed right hip inflammation. Bilateral hip biopsies were performed, and the right hip biopsy sample tested positive for *Salmonella* spp. A right hip 1-stage exchange procedure was performed. All intraoperative periprosthetic tissue samples yielded *Salmonella* spp. A 6-week course of intravenous therapy with ceftriaxone and ciprofloxacin was administered. One year later (2016), the patient appeared to be free from infection and walked normally.

We characterized isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany) and serotyping (French National Reference Center for *Salmonella*). We assessed carbohydrate metabolic activity using the API50CH system (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France) and biofilm formation using crystal violet (5). Antimicrobial susceptibility testing was performed using 2015 EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) guidelines (http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/). We conducted high-throughput whole-genome sequencing using the Illumina NextSeq 500 system (Illumina, San Diego, CA, USA).

Author affiliations: University of Versailles Saint-Quentin, Montigny-le-Bretonneux, France (F. El Sayed, G. Sapriel, B. Heym, H.-J. Garchon, J.-L. Gaillard); Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France (F. El Sayed, A. Gruber, T. Bauer, B. Heym, C. Dupont, J.-L. Gaillard, M. Rottman); Atelier de Bioinformatique, Paris, France (G. Sapriel); Institut Pasteur, Paris (N. Fawal, S. Le Hello); Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France (M. Rottman)

DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2412.180214>

Serotype Distribution and Antimicrobial Resistance of *Shigella* Species in Bangui, Central African Republic, from 2002 to 2013

Sebastien Breurec,^{1,2,3*} Clotaire Rafai,¹ Manuella Onambele,¹ Thierry Frank,¹ Alain Farra,¹ Arnaud Legrand,⁴ and François-Xavier Weill^{5*}

¹Laboratoire de Bactériologie, Institut Pasteur de Bangui, Bangui, Central African Republic; ²Faculté de Médecine Hyacinthe Bastaraud, Université des Antilles, Pointe-à-Pitre, France; ³Laboratoire de Microbiologie Clinique et Environnementale, Centre Hospitalier Universitaire de Pointe-à-Pitre/les Abymes, Pointe-à-Pitre, France; ⁴Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, Nantes, France; ⁵Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris, France

Abstract. *Shigella* is a major cause of severe diarrhea in children less than the age of 5 years in sub-Saharan Africa. The aim of this study was to describe the (sub-)serotype distribution and antimicrobial susceptibility of *Shigella* serogroups from Centrafrican patients with diarrhea between 2002 and 2013. We collected 443 *Shigella* isolates in total. The most common serogroups were *Shigella flexneri* ($N = 243$, 54.9%), followed by *Shigella sonnei* ($N = 90$, 20.3%) and *Shigella dysenteriae* ($N = 72$, 16.3%). The high diversity of (sub-)serotypes of *S. flexneri* and *S. dysenteriae* may impede the development of an efficient vaccine. Rates of resistance were high for ampicillin, chloramphenicol, tetracycline, and cotrimoxazole but low for many other antimicrobials, confirming recommendations for the use of third-generation cephalosporins (only one organism resistant) and fluoroquinolones (no resistance). However, the detection of one extended-spectrum beta-lactamase-producing *Shigella* organism highlights the need for continued monitoring of antimicrobial drug susceptibility.

INTRODUCTION

In 2013, 6.3 million deaths were recorded in children less than the age of 5 years, 578,000 of which were because of diarrheal disease, the second leading cause of death in this age group. Almost half of these diarrhea-related deaths occurred in sub-Saharan Africa.¹ Recent studies (Torcadia for Central African Republic [CAR] and the Global Enteric Multi-center Study for other sites) in The Gambia and Mali (West Africa), Mozambique and Kenya (East Africa), and CAR (Central Africa) have confirmed the continuing importance of *Shigella* as a major cause of severe diarrhea in children less than the age of 5 years. *Shigella* spp. are the third most important pathogen in these regions.^{2,3}

High rates of resistance to conventional antimicrobials, such as ampicillin, chloramphenicol, tetracycline, and cotrimoxazole, have been reported for *Shigella* spp. in many studies.⁴ This resistance has led to third-generation cephalosporins (C3G), fluoroquinolones, and azithromycin becoming the first-line antimicrobials for treating these infections. However, the clinical severity of shigellosis and the emergence of resistance to first-line treatments highlight the growing need to develop alternative prophylactic and therapeutic strategies. The development of a safe and effective anti-*Shigella* vaccine for controlling shigellosis is enshrined in WHO public health policy. However, the presence of four different serogroups (formerly known as species), *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella boydii*, and *Shigella sonnei*, made up of at least 50 antigenically different (sub-)serotypes may impede vaccine development.⁵ Indeed, the larger the number of serotypes to be included, the more

complex and expensive the vaccine becomes. The lack of data from Central Africa and from very low-income countries, such as CAR,⁶ which suffers from long-term instability, highlights the need to improve our understanding of the spatial and temporal distribution of (sub-)serotypes in sub-Saharan Africa.^{7,8} Central African Republic is a resource-limited country in equatorial Africa (ranked 180/187 according to the Human Development Index in 2013). Here, we describe the (sub-)serotype distribution and antimicrobial susceptibility of *Shigella* species isolated from patients in CAR during the 2002–2013 period.

Clinical isolates of *Shigella* were obtained between January 2002 and December 2013, from Centrafrican outpatients with diarrhea attending the Institut Pasteur in Bangui. If more than one isolate of the same (sub-)serotype and serogroup and with the same antimicrobial drug resistance phenotype was recovered from a given patient, only the first isolate was included. *Shigella* was identified by conventional methods and (sub-)serotyping was performed by slide agglutination assays with a complete set of antisera recognizing all the described *Shigella* serotypes.⁹ Antimicrobial drug susceptibility was assessed by the disk diffusion method, and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) production was evaluated in the double-disc synergy test, as previously described.¹⁰

Date, site of isolation, patient age, and gender were recorded for each isolate. We used χ^2 test, Student's *t*-test, and ANOVA (analysis of variance—with Lilliefors' test for normality and Levene's test for homoscedasticity) to compare categorical and continuous variables in univariate analysis. Multivariate logistic regression was performed to explore high rates of multidrug resistance (MDR, defined by resistance to more than five of the 13 antimicrobials tested). Factors with *P* values < 0.2 in univariate analysis were retained for the multivariate analysis. We considered *P* values < 0.05 to be statistically significant.

In total, 443 clinical isolates of *Shigella* were collected between January 2002 and December 2013, from 443 Centrafrican outpatients with diarrhea (238 male and 205 female patients, mean age: 27.2 years, median age: 29.5 years, 25th percentile: 8 years, 75th percentile: 40 years). The small number of organisms isolated during the study period reflects


* Address correspondence to Sebastien Breurec, Centre Hospitalier Universitaire de Pointe-à-Pitre/les Abymes, Laboratoire de Microbiologie Clinique et Environnementale, Route de Chauvel, Pointe-à-Pitre, France, E-mail: sebastien.breurec@chu-guadeloupe.fr or François-Xavier Weill, Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Institut Pasteur, 28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France, E-mail: francois-xavier.weill@pasteur.fr.

ARTICLE

DOI: 10.1038/s41467-018-03949-8

OPEN

Horizontal antimicrobial resistance transfer drives epidemics of multiple *Shigella* species

Kate S. Baker ^{1,2}, Timothy J. Dallman³, Nigel Field⁴, Tristan Childs⁵, Holly Mitchell⁴, Martin Day³, François-Xavier Weill⁶, Sophie Lefèvre⁶, Mathieu Tourdjman⁷, Gwenda Hughes⁸, Claire Jenkins³ & Nicholas Thomson^{2,9}

Horizontal gene transfer has played a role in developing the global public health crisis of antimicrobial resistance (AMR). However, the dynamics of AMR transfer through bacterial populations and its direct impact on human disease is poorly elucidated. Here, we study parallel epidemic emergences of multiple *Shigella* species, a priority AMR organism, in men who have sex with men to gain insight into AMR emergence and spread. Using genomic epidemiology, we show that repeated horizontal transfer of a single AMR plasmid among *Shigella* enhanced existing and facilitated new epidemics. These epidemic patterns contrasted with slighter, slower increases in disease caused by organisms with vertically inherited (chromosomally encoded) AMR. This demonstrates that horizontal transfer of AMR directly affects epidemiological outcomes of globally important AMR pathogens and highlights the need for integration of genomic analyses into all areas of AMR research, surveillance and management.

¹Institute for Integrative Biology, University of Liverpool, Liverpool L69 7ZB, UK. ²Wellcome Trust Sanger Institute, Hinxton CB10 1SA, UK. ³Gastrointestinal Bacterial Reference Unit, National Infection Service, Public Health England, London NW9 5HT, UK. ⁴Centre for Molecular Epidemiology and Translational Research, Institute for Global Health, UCL, London WC1E 6BT, UK. ⁵Centre for Infectious Disease Surveillance and Control, National Infection Service, Public Health England, London NW9 5HT, UK. ⁶Institut Pasteur, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Paris 75015, France. ⁷Santé Publique France, the French Public Health Agency, Saint-Maurice 94415, France. ⁸Department of HIV and STIs, National Infection Service, Public Health England, London NW9 5HT, UK. ⁹London School of Hygiene and Tropical Medicine, London WC1E 7HT, UK. Correspondence and requests for materials should be addressed to K.S.B. (email: kbaker@liverpool.ac.uk) or to N.T. (email: nrt@sanger.ac.uk)



CTX-M-55-, MCR-1-, and FosA-Producing Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Infection in a Child in France

André Birgy,^{a,f} Fouad Madhi,^{b,c,d} Julien Hogan,^e Catherine Doit,^{a,f} Jean Gaschignard,^g Marion Caseris,^g Philippe Bidet,^{a,f} Robert Cohen,^{c,d,h,i} Stéphane Bonacorsi^{a,f}

^aIAME, UMR 1137, INSERM, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, France

^bService de Pédiatrie Générale, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France

^cGroupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique (GPIP), Paris, France

^dCentre de Recherche Clinique, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France

^eService de Néphrologie, Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris, France

^fService de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris, France

^gService de Pédiatrie Générale, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France

^hAssociation Clinique Thérapeutique Infantile du Val de Marne (ACTIV), Saint Maur des Fossés, France

ⁱUnité Court Séjour, Petits Nourrisson, Service de Néonatalogie, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France

KEYWORDS CTX-M-55, *E. coli*, colistin, *fosA*, fosfomycin, *mcr-1*

A horizontally transferable plasmid-mediated *mcr-1* gene, encoding a phosphoethanolamine transferase conferring resistance to colistin, in multiresistant pathogens may lead to therapeutic impasse. Liu et al. in 2015 first reported an *mcr-1* gene in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from patients and animals in China (1). Human carriage has been described sporadically, and human infections with MCR-1-producing *Enterobacteriaceae* remain rare and have been scarcely described in France (2–4).

We report the case of a 3-year-old boy originating from Bahrain who was hospitalized for pyelonephritis due to an extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *E. coli* infection. He was treated with piperacillin-tazobactam for 10 days, and the outcome was favorable.

We were puzzled by the growth of the *E. coli* strain from the patient's urine on Columbia colistin-nalidixic acid agar (bioMérieux, France). The MIC of colistin determined by the microdilution broth method (Biocentric, France) was 4 mg/liter, and the strain was considered to be resistant to colistin according to EUCAST criteria.

The whole genome of this isolate was sequenced using the Illumina technology. Sequences were analyzed by using SPADES and the Center of Genomics Epidemiology website (5; www.genomicepidemiology.org).

This *E. coli* strain belonged to serogroup O19:H34 and to sequence type 219. It harbored numerous resistance mechanisms, including the production of the beta-lactamases OXA-1, TEM-1, and CTX-M-55. CTX-M-55 has good hydrolytic activity against both cefotaxime and ceftazidime thanks to a D240G mutation. Quinolone resistance was mediated by the chromosomal mutations *parC*-S80I and *gyrA*-S83L D87N but also by the multidrug efflux pump mediated by *oqxAB*-like and enzymatic modification due to the presence of the *aac(6')Ib-cr* gene. Different aminoglycoside-resistant genes, such as *aph(3')-IIa*-like, *strA/strB*-like, and the extended-spectrum aminoglycoside resistance methylase gene *armA*, were present in the strain. Chloramphenicol resistance was mediated by the acetyl-transferase *catB3*-like and by the *floR*-like resistance gene. The classical tetracycline *tet(A)*-like and the sulfamide *sul1* and *sul2* genes were also found.

Accepted manuscript posted online 29 January 2018

Citation Birgy A, Madhi F, Hogan J, Doit C, Gaschignard J, Caseris M, Bidet P, Cohen R, Bonacorsi S. 2018. CTX-M-55-, MCR-1-, and FosA-producing multidrug-resistant *Escherichia coli* infection in a child in France. *Antimicrob Agents Chemother* 62:e00127-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.00127-18>.

Copyright © 2018 American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Address correspondence to Stéphane Bonacorsi, stephane.bonacorsi@aphp.fr.

RESEARCH ARTICLE

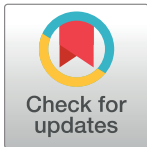
Emerging Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* serogroup O80 associated hemolytic and uremic syndrome in France, 2013-2016: Differences with other serogroups

Brecht Ingelbeen^{1,2*}, Mathias Bruyand¹, Patricia Mariani-Kurkjian^{3,4}, Simon Le Hello⁵, Kostas Danis^{1,2}, Cécile Sommen¹, Stéphane Bonacorsi^{3,4}, Henriette de Valk¹

1 Santé Publique France, Saint-Maurice, France, **2** European Programme for Intervention Epidemiology Training (EPIET), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), Stockholm, Sweden, **3** Service de Microbiologie, Centre National de Référence associé, Centre Hospitalo-Universitaire Robert-Debré, AP-HP, Paris, France, **4** IAME, UMR 1137, INSERM, Université Paris Diderot Sorbonne Paris Cité, Paris, France, **5** Institut Pasteur, Paris, France

* Current address: Department of Public Health, Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgium

* brechtingelbeen@gmail.com



OPEN ACCESS

Citation: Ingelbeen B, Bruyand M, Mariani-Kurkjian P, Le Hello S, Danis K, Sommen C, et al. (2018) Emerging Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* serogroup O80 associated hemolytic and uremic syndrome in France, 2013-2016: Differences with other serogroups. PLoS ONE 13(11): e0207492. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207492>

Editor: Giuseppe Remuzzi, Istituto Di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, ITALY

Received: July 27, 2018

Accepted: October 30, 2018

Published: November 12, 2018

Copyright: © 2018 Ingelbeen et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: Data of the HUS surveillance system are de-identified. However, as individual data are stored in the database, risk of privacy of the persons involved cannot be completely excluded. Access to these data is only possible through a request to the French public health agency, Santé publique France. Santé publique France will check the relevance of the proposal and its compliance to the French law related to data protection. If potentially identifying individual data are needed, Sante publique France

Abstract

To generate hypotheses on possible sources of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) serogroup O80 associated hemolytic-uremic syndrome (HUS), we explored differences in factors associated with STEC O80 associated HUS, compared with STEC O157 or STEC of other serogroups, in France during 2013–16. STEC was isolated from 153/521 (30%) reported HUS cases: 45 serogroup O80, 46 O157 and 62 other serogroups. Median ages were 1.1 years, 4.0 years and 1.8 years, respectively. O80 infected patients were less likely to report ground beef consumption (aOR [adjusted Odds Ratio] 0.14 95% CI [Confidence Interval] 0.02–0.80) or previous contact with a person with diarrhea or HUS (aOR 0.13 95%CI 0.02–0.78) than patients infected with STEC O157. They were also less likely to report previous contact with a person presenting with diarrhea/HUS than patients infected with other serogroups (aOR 0.13 95%CI 0.02–0.78). STEC O80 spread all over France among young children less exposed to known risk factors of O157 or other STEC infections, suggesting the existence of different reservoirs and transmission patterns.

Introduction

Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) infections can result in gastroenteritis, enterocolitis, and bloody diarrhea [1]. In up to 10% of STEC infections hemolytic-uremic syndrome (HUS) may develop, making STEC the main cause of acute renal failure in children [1]. Humans can contract STEC infection through consumption of food items contaminated by the animal reservoir such as undercooked beef, raw milk, or raw vegetables, through contact with animals or an environment contaminated by colonized animals, or through person-to-person contact in particular in nurseries or within families [1–6]. STEC serogroup O157

Emerging Multidrug-Resistant Hybrid Pathotype Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* O80 and Related Strains of Clonal Complex 165, Europe

Aurélie Cointe, André Birgy, Patricia Mariani-Kurkdjian, Sandrine Liguori, Céline Courroux, Jorge Blanco, Sabine Delannoy, Patrick Fach, Estelle Loukiadis, Philippe Bidet, Stéphane Bonacorsi

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* serogroup O80, involved in hemolytic uremic syndrome associated with extraintestinal infections, has emerged in France. We obtained circularized sequences of the O80 strain RDEx444, responsible for hemolytic uremic syndrome with bacteremia, and noncircularized sequences of 35 O80 *E. coli* isolated from humans and animals in Europe with or without Shiga toxin genes. RDEx444 harbored a mosaic plasmid, pR444_A, combining extraintestinal virulence determinants and a multidrug resistance–encoding island. All strains belonged to clonal complex 165, which is distantly related to other major enterohemorrhagic *E. coli* lineages. All *stx*-positive strains contained *eae*- ξ , *ehxA*, and genes characteristic of pR444_A. Among *stx*-negative strains, 1 produced extended-spectrum β -lactamase, 1 harbored the colistin-resistance gene *mcr1*, and 2 possessed genes characteristic of enteropathogenic and pyelonephritis *E. coli*. Because O80–clonal complex 165 strains can integrate intestinal and extraintestinal virulence factors in combination with diverse drug-resistance genes, they constitute dangerous and versatile multidrug-resistant pathogens.

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), a subset of Shiga toxin–producing *E. coli* (STEC), are major foodborne pathogens responsible for outbreaks and sporadic cases of gastrointestinal diseases ranging from simple diarrhea to hemorrhagic colitis, characterized by bloody diarrhea. The

most serious complication, particularly in young children, is hemolytic uremic syndrome (HUS), defined by a combination of renal failure, thrombocytopenia, and hemolytic anemia (1). Post-STEC HUS is a major worldwide public health concern because it is the primary cause of acute renal failure in children (1). These clinical features result mainly from the action of the phage-encoded Shiga toxin (Stx), of which there are 2 types: Stx1, which has 3 subtypes, Stx1a, 1c, and 1d; and Stx2, which has 7 subtypes, Stx2a–g. In typical EHEC, adhesion to the intestinal epithelium is mediated by the locus of enterocyte effacement (LEE), a chromosomal pathogenicity island (PAI), shared with Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) strains, which encodes a type III secretion system (T3SS), an adhesin called intimin, and its receptor Tir. Intimin, encoded by the *eae* gene, is a major virulence factor (VF) involved in the intimate attachment of typical EHEC to intestinal epithelium, causing characteristic attaching and effacing lesions. EHEC enterohemolysin (*ehxA*) is a pore-forming cytolysin carried by a plasmid involved in EHEC virulence. This plasmid, initially described as part of the O157 serogroup (pO157) (2), can carry 2 additional VFs, a catalase peroxidase, encoded by *katP*, and a serine protease, encoded by *espP*, which can cleave human coagulation factor V and might be involved in the development of hemorrhagic colitis (3).

Serogroup O157 is the predominant STEC serogroup worldwide, but non-O157 serogroups are increasingly associated with post-STEC HUS, and the unusual serogroup O80 is emerging in France and Europe. In 2016, O80 represented the second most frequent serogroup isolated in France, after serogroup O26 (4). This phenomenon is no longer restricted to France; strains of serotype O80:H2, all belonging to sequence type (ST) 301, have been identified in Spain (5), the Netherlands (6), and Switzerland (7).

This serogroup is unique for several reasons. First, it is always associated with multiple determinants of resistance

Author affiliations: Hôpital Robert-Debré (AP-HP), Paris, France (A. Cointe, A. Birgy, P. Mariani-Kurkdjian, S. Liguori, C. Courroux, P. Bidet, S. Bonacorsi); Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris (A. Cointe, A. Birgy, P. Mariani-Kurkdjian, P. Bidet, S. Bonacorsi); Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, Spain (J. Blanco); ANSES, Plateforme IdentyPath, Maisons-Alfort, France (S. Delannoy, P. Fach); Université de Lyon, CNRS, INRA, UCBL, VetAgro Sup, Laboratoire d'Écologie Microbienne, Villeurbanne, France (E. Loukiadis)

DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2412.180272>