

Rapport d'activité annuel 2020

Année d'exercice 2019



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
María 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

Rapport d'activité annuel 2020

Année d'exercice 2019



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
María 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.....	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
2.1.6 Activités de séquençage.....	9
2.2 ACTIVITES DE SURVEILLANCE.....	11
2.2.1 Description du réseau de partenaires	11
2.2.1.1 Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS	11
2.2.1.2 Définition de l'échantillon de souches isolées	12
2.2.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	13
2.2.2.1 Analyse de la distribution des différents sérotypes et analyse des tendances	13
2.2.2.2 Nombre annuel de <i>Salmonella</i> répertoriées au CNR-ESS.....	13
2.2.2.2.1 Origine géographique des souches de <i>Salmonella</i> reçues	14
2.2.2.2.2 Répartition des <i>Salmonella</i> par sites de prélèvement	17
2.2.2.2.3 Distribution des <i>Salmonella</i> par classes d'âge	17
2.2.2.2.4 Foyers de cas groupés à <i>Salmonella</i>	17
2.2.2.2.5 Répartition des 20 principaux sérotypes de <i>Salmonella</i>	19
2.2.2.2.6 Évolution de la répartition des principaux sérotypes en France	21
2.2.2.2.7 Le sérotype Typhi.....	22
2.2.2.2.8 Le sérotype Paratyphi A	25
2.2.2.2.9 Le sérotype Paratyphi B	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 – 2019.....	28
2.2.3.3 Résistance aux antibiotiques du variant 1,4,[5],12:i:- (monophasique) : 2007 – 2019	29
2.2.3.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis : 1993 – 2019	30
2.2.3.5 Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky : 2002 – 2019	30
2.2.3.6 Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby : 2002 – 2019	31
2.2.3.7 Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis : 1997 – 2019.....	32
2.2.3.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport : 1997 – 2019	32
2.2.3.9 Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar : 1997 – 2019	33
2.2.3.10 Résistance aux antibiotiques du sérotype Dublin : 2019.....	34
2.2.3.11 Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow : 1997 – 2019	34
2.2.3.12 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi : 1997 – 2019	35
2.2.3.13 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A : 2005 – 2019.....	36
2.2.3.14 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B : 2002 – 2019	36
2.2.3.15 Résistance aux antibiotiques des autres sérotypes.....	38
2.2.3.16 Détection de gènes de résistance par séquençage du génome complet : « Résistome ».....	38
2.2.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....	42
2.2.4.1 Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé Publique France	42
2.2.4.1.1 Relevés périodiques envoyés à Santé Publique France	42
2.2.4.1.2 Relevés annuels	42

2.2.4.1.3	Relevés ponctuels	42
2.2.4.2	Contribution aux réseaux de surveillance nationaux, humaine et vétérinaire	42
2.2.4.3	Contribution aux réseaux de surveillance internationaux.....	42
2.2.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	43
2.3	ALERTE	44
3	SHIGELLA/EIEC	49
3.1	ACTIVITES D'EXPERTISE	49
3.1.1	Évolutions des techniques	49
3.1.2	Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et troussees	50
3.1.3	Techniques transférées vers d'autres laboratoires	50
3.1.4	Collections de matériel biologique	50
3.1.5	Activités d'expertise	51
3.1.5.1	Activité de routine du CNR-ESS.....	51
3.1.5.2	Activité hors routine du CNR.....	51
3.1.6	Activités de séquençage.....	52
3.2	ACTIVITES DE SURVEILLANCE.....	54
3.2.1	Description du réseau de partenaires	54
3.2.1.1	Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS	54
3.2.1.2	Distribution globale des cas de shigellose en France métropolitaine et d'outre-mer	54
3.2.2	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	58
3.2.2.1	Origine des prélèvements	58
3.2.2.2	Analyse de la distribution en France métropolitaine et analyse de tendances.....	58
3.2.2.2.1	Répartition par sérogroupes et par sérotypes.....	58
3.2.2.2.2	Répartition par sexe.....	61
3.2.2.2.3	Répartition par âge	62
3.2.2.2.4	Notion de voyage.....	63
3.2.2.3	Analyse de la distribution des souches en Outre-mer et analyse de tendances	65
3.2.2.3.1	Répartition par sérogroupes et par sérotypes.....	66
3.2.2.3.2	Répartition par sexe.....	67
3.2.2.3.3	Répartition par âge	68
3.2.2.3.4	Notion de voyage.....	69
3.2.2.4	Distribution des séquences types (ST)	69
3.2.3	Surveillance de la résistance des <i>Shigella</i> aux antibiotiques.....	71
3.2.3.1	Surveillance globale	71
3.2.3.2	Résistances émergentes chez <i>Shigella</i> spp.	74
3.2.3.2.1	Résistance à l'azithromycine	74
3.2.3.2.2	Résistance aux céphalosporines de 3 ^{ème} génération.....	76
3.2.3.2.3	Résistance aux quinolones.....	79
3.2.4	Interface avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....	82
3.2.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	82
3.3	ALERTE	83
4	ESCHERICHIA COLI	85
4.1	ACTIVITES D'EXPERTISE	85
4.1.1	Évolutions des techniques	85
4.1.2	Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et troussees	85
4.1.3	Techniques transférées vers d'autres laboratoires	85
4.1.4	Collections de matériel biologique	86
4.1.5	Activités d'expertise	86
4.1.5.1	Inventaire des prélèvements reçus pour la recherche d'EHEC en 2019.....	86
4.1.6	Activités de séquençage.....	87
4.2	ACTIVITES DE SURVEILLANCE.....	88
4.2.1	Description du réseau de partenaires	88
4.2.2	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	88
4.2.2.1	Analyse des caractéristiques épidémiologiques des EHEC.....	88

4.2.2.2	Résultats microbiologiques 2019 pour les cas de SHU pédiatriques	91
4.2.2.3	Résultats microbiologiques 2019 pour les cas de SHU/MAT adultes.....	92
4.2.2.4	Bilan des activités concernant les <i>E. coli</i> entéro-hémorragiques (EHEC)	92
4.2.2.4.1	Analyse de la répartition des symptômes donnant lieu à une analyse de selles, souches....	92
4.2.2.4.2	Résultats obtenus sur les prélèvements de selles en 2019	93
4.2.2.4.3	Souches de <i>E. coli</i> d'origine humaine productrices de Shiga-toxines isolées en 2019	93
4.2.2.4.3.1	Analyse sur des souches de <i>E. coli</i> d'origine humaine productrices de Shiga-toxines	93
4.2.2.4.3.2	Analyse des profils de virulence.....	97
4.2.2.4.3.3	Analyse des variants (ou sous types) des gènes <i>stx</i> par WGS.....	100
4.2.2.4.3.4	Analyse des variants des gènes <i>eae</i> par WGS	101
4.2.2.4.3.5	Autres facteurs de virulence	102
4.2.2.4.3.6	Analyse des MLST	103
4.2.2.4.3.7	Analyse des cgMLST-HC5	104
4.2.2.4.4	Analyse des prélèvements (selles et/ou souches) dans l'entourage de patients présentant un SHU	106
4.2.2.5	Bilan des activités 2019 concernant les souches de <i>E. coli</i> extra intestinales (ExpEC).....	106
4.2.2.5.1	Étude des facteurs de pathogénicité des souches de <i>E. coli</i> responsables de méningites..	106
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.....	107
4.2.3	Surveillance de la résistance d'<i>Escherichia coli</i> aux anti-infectieux	109
4.2.3.1	Sensibilité aux antibiotiques des souches EHEC (LA-RD).....	109
4.2.3.2	Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>E. coli</i> responsables de pathologies extra intestinales (LA-RD).....	110
4.2.4	Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	110
4.2.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	110
4.3	ALERTE	111
4.3.1	ÉPIDEMIES NATIONALES	111
4.3.2	ÉPIDEMIES INTERNATIONALES.....	112
5	ACTIVITES DE RETRO-INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL.....	115
5.1	CONSEIL ET EXPERTISE AUX PROFESSIONNELS DE SANTE.....	115
5.1.1	Enseignements et formations aux professionnels de santé.....	115
5.1.2	Accueil de stagiaires	115
5.1.2.1	Liste des stagiaires au CNR-ESS en 2019 :.....	115
5.1.2.2	Liste des stagiaires au LA-RD en 2019.....	116
5.1.3	Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion).....	116
5.1.4	Modalités et cibles de la diffusion des données de surveillance et des productions du CNR	117
5.1.5	Activités de conseil aux professionnels de santé	117
5.2	CONSEIL ET EXPERTISE AUX AUTORITES SANITAIRES	117
5.3	CONSEIL ET EXPERTISE POUR D'AUTRES CIBLES (MEDIAS, GRAND PUBLIC ...).....	118
6	TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR	119
6.1	ACTIVITES DE RECHERCHE EN COURS LORS DE L'ANNEE 2019, CONCERNANT UNIQUEMENT CELLES AYANT UN LIEN DIRECT AVEC LES MISSIONS ET ACTIVITES DU CNR.....	119
6.1.1	Pour le CNR-ESS.....	119
6.1.2	Pour LA-RD.....	122
6.1.2.1	<i>E. coli</i> intestinaux :	122
6.1.2.2	<i>E. coli</i> extra intestinaux (LA-RD) :	122
6.2	LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS DE L'ANNEE 2019, CONCERNANT UNIQUEMENT CELLES AYANT UN LIEN DIRECT AVEC LES MISSIONS ET ACTIVITES DU CNR	122
6.2.1	Publications nationales.....	122
6.2.2	Publications internationales	122
6.2.3	Communications nationales.....	126

6.2.4	Communications internationales	126
6.2.5	Conférences sur invitations	126
7	COOPERATION AVEC LES LABORATOIRES DE SANTE ANIMALE, D'HYGIENE ALIMENTAIRE, ENVIRONNEMENTAUX	127
7.1	<i>SALMONELLA</i>	127
7.2	<i>ESCHERICHIA COLI</i>	127
8	PROGRAMME D'ACTIVITE POUR LES ANNEES SUIVANTES	129
8.1	APPORTER UNE EXPERTISE MICROBIOLOGIQUE	129
8.1.1	Infections à <i>E. coli</i>	129
8.1.1.1	Infections à <i>E. coli</i> entéro-hémorragiques.....	129
8.1.1.2	<i>E. coli</i> responsables d'infections extra-intestinales (LA-RD)	129
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)	130
8.1.2	Infections à <i>Shigella</i>	130
8.1.3	Infections à <i>Salmonella</i>	131
8.2	CONTRIBUER A LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE ET L'ALERTE, EN LIEN AVEC SANTE PUBLIQUE FRANCE	132
	ANNEXE 1 : MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR	135
A1.1	MISSIONS ET OBJECTIFS DU CNR-ESS ET DE SON LABORATOIRE ASSOCIE A L'HOPITAL ROBERT DEBRE	135
A1.2	ORGANISATION DU CNR ET DE SON LABORATOIRE ASSOCIE A L'HOPITAL ROBERT DEBRE	137
A1.2.1	Le CNR-ESS : Effectif / Qualification du Personnel	137
A1.2.2	Le laboratoire associé (LA-RD): Effectif / Qualification du Personnel	139
A1.3	LES LOCAUX ET EQUIPEMENTS	139
A1.3.1	CNR-ESS (Institut Pasteur)	139
A1.3.2	LA-RD	141
A1.4	COLLECTION DE MATERIEL BIOLOGIQUE	142
A1.5	DEMARCHE QUALITE	143
A1.5.1	Démarche qualité du CNR-ESS	143
A1.5.2	Démarche qualité du LA-RD	145
	ANNEXE 2 : CAPACITES TECHNIQUES DU CNR	147
A2.1	POUR <i>SALMONELLA</i>	147
A2.1.1	Liste des techniques de référence	147
A2.1.1.1	Des techniques classiques d'identification du genre, des espèces et des sous-espèces de <i>Salmonella</i>	147
A2.1.1.2	Des techniques d'identification des sérotypes	148
A2.1.1.2	Des techniques de sous-typage des <i>Salmonella</i> :	148
A2.1.1.4	Des techniques d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des <i>Salmonella</i>	149
A2.1.2	Liste des techniques recommandées par le CNR	150
A2.2	POUR <i>SHIGELLA</i>	150
A2.2.1	Liste des techniques de référence	150
A2.2.1.1	Techniques d'identification des <i>Shigella</i>/EIEC	150
A2.2.1.2	Techniques de typage des <i>Shigella</i>/EIEC	151
A2.2.1.4	Techniques de sous-typage des <i>Shigella</i>/EIEC	152
A2.2.1.3	Détection des gènes de pathogénicité des <i>Shigella</i>	153
A2.2.1.5	Techniques d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des <i>Shigella</i>	153
A2.2.1.6	Séquençage du génome entier des <i>Shigella</i>/EIEC	153
A2.2.2	Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles	153
A2.2.3	Collection de souches	154
A2.2.4	Techniques recommandées par le CNR-ESS	154
A2.3	POUR <i>ESCHERICHIA COLI</i>	154
A2.3.1	Liste des techniques de référence	154

A2.3.1.1 Techniques du LA-RD	154
A2.3.1.2 Techniques du CNR-ESS	155
A2.3.2 Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles.....	155
A2.3.3 Collection de souches.....	155
A2.3.4 Techniques recommandées par le CNR-ESS ET LA-RD	156

SOMMAIRE DES FIGURES

Figure 1. Organigramme du CNR-ESS.....	3
Figure 2. Organigramme du LA-RD.....	4
Figure 3. Délai de validation des typages de salmonelles, CNR-ESS 2019.....	8
Figure 4. Nombre annuel de souches de Salmonella d'origine humaine enregistrées (souches reçues + « fiches information »), France métropolitaine et Outre-mer 1983-2019.....	13
Figure 5. Répartition entre souches de Salmonella reçues et « fiches information », 2000-2019.....	13
Figure 6. Nombre de cas et incidence des salmonelloses par départements en 2019.....	16
Figure 7. Évolution des principaux sérotypes de Salmonella isolées chez l'homme, 1983-2019.....	20
Figure 8. Lettre « notion voyage» sérotypes majeurs.....	24
Figure 9. Nombre annuel de Shigella (souches et « fiches information», France métropolitaine et Outre-mer, 2005-2019).....	54
Figure 10. Nombre de cas et incidence des shigelloses par département en France en 2019.....	56
Figure 11. Répartition des cas de shigellose (souches et « fiches information », 2019).....	57
Figure 12. Évolution des principaux sérotypes de Shigella (souches, France métropolitaine, 2005-2019).....	60
Figure 13. Évolution des cas de shigellose par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2019).....	61
Figure 14. Patients âgés de 16-60 ans diagnostiqués avec S. sonnei g, S. flexneri 2a ou S. flexneri 3a, sans notion de voyage hors de France, par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2019).....	61
Figure 15. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2019).....	62
Données sur la population générale de France métropolitaine publiées par l'INSEE en janvier 2020.....	63
Figure 16. Evolution des principaux sérotypes de Shigella (souches, Outre-mer, 2005-2019).....	67
Figure 17. Principaux sérotypes de Shigella selon le sexe du patient (souches, Outre-mer, 2019).....	67
Figure 18. Répartition des cas de shigellose par âge (souches et « fiches information», Outre-mer, 2019).....	68
Figure 19. Principaux ST associés aux Shigella spp. (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2019).....	69
Figure 20. Prévalence des Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2014-2019).....	74
Figure 21. CMI des Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2019).....	75
Figure 22. Patients (âge et sexe) infectés par Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2019).....	75
Figure 23. Pourcentage des Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2005-2019).....	76
Figure 24. CMI des Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2019).....	77
Figure 25. Patients (âge et sexe) infectés par Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2019).....	77
Figure 26. Gènes responsables de la résistance aux C3G chez Shigella (souches, France métropolitaine, 2019).....	78
Figure 27. Prévalence des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2005-2019).....	79
Figure 28. CMI des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2019).....	80
Figure 29. Patients (âge et sexe) infectés par Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2019).....	80
Figure 30. Mutations chromosomiques (QRDR) des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2019).....	81
Figure 31. Déterminants PMQR des Shigella CIP-S et CIP-R (souches, France métropolitaine, 2019).....	81
Figure 32. Classe d'âge et sexe des patients ayant une recherche de EHEC positive en 2019.....	89
Figure 33. Répartition départementale des souches de EHEC isolées en 2019 (n = 307) sur le territoire.....	91
Figure 34. Répartition départementale des sérogroupes O26, O80 et O157 en 2019.....	91
Figure 35. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés toutes pathologies confondues en 2019.....	96
Figure 36. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés au cours des SHU tous âges confondus en 2019.....	96
Figure 37. Distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2019.....	97

SOMMAIRE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Nombre de souches et de « fiches information » de Salmonella enregistrées en 2019.....	7
Tableau 2 : Nombre de Salmonella analysées dans le cadre de l'activité de surveillance en 2019	8
Tableau 3 : Nombre de souches de Salmonella reçues par régions de 2015 à 2019.....	15
Tableau 4 : Répartition par sites de prélèvement de 2014 à 2019.....	17
Tableau 5 : Distribution par tranches d'âge de 2014 à 2019	17
Tableau 6 : Foyers de cas groupés de Salmonella de 2015 à 2019.....	18
Tableau 7 : Récapitulatif des différents foyers de cas groupés à Salmonella de 2015 à 2019	18
Tableau 8 : 20 principaux sérotypes de Salmonella au cours des années 2005, 2010, 2017 à 2019.....	19
Tableau 9. Nombre d'isollements annuels des principaux sérotypes en France de 2015 à 2019.....	21
Tableau 10 : Origine géographique des souches de sérotype Typhi (une par patient) de 2015 à 2019	22
Tableau 11 : Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi A (une par patient) de 2015 à 2019	25
Tableau 12 : Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi B (dt-) (une par patient) de 2015 à 2019	26
Tableau 13 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de Salmonella.....	27
Tableau 14 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhimurium.....	28
Tableau 15 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype <u>L</u> , <u>4</u> , <u>[5]</u> , <u>12</u> :i- (monophasique).....	29
Tableau 16 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Enteritidis	30
Tableau 17 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Kentucky	30
Tableau 18 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Derby	31
Tableau 19 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Infantis	32
Tableau 20 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Newport	32
Tableau 21 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Hadar.....	33
Tableau 22 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Dublin	34
Tableau 23 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Virchow.....	34
Tableau 24 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhi	35
Tableau 25 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi A.....	36
Tableau 26 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi B.....	37
Tableau 27 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques des autres sérotypes	38
Tableau 28 : Salmonella contenant des gènes de BLSE.....	39
Tableau 29 : Salmonella contenant des gènes de céphalomycesine	40
Tableau 30 : Salmonella contenant des gènes de carbapénèmase.....	40
Tableau 31 : Salmonella contenant des gènes de résistance à l'azithromycine.....	41
Tableau 32 : Salmonella contenant des gènes de résistance à la colistine	41
Tableau 33 : Nombre de souches de Shigella/EIEC enregistrées en routine au CNR-ESS, en 2019.....	51
Tableau 34 : Répartition des sites de prélèvement des Shigella spp. (souches et « fiches information », France métropolitaine et Outre-mer, 2019)	58
Tableau 35 : Distribution annuelle des différents sérotypes de Shigella (France métropolitaine, 2015-2019) ...	59
Tableau 36 : Incidence des cas de shigellose par classe d'âge (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2019).....	63
Tableau 37 : Notion de voyage associée aux cas de shigellose (souches, France métropolitaine, 2019)	64
Tableau 38 : Notion de voyage associée aux cas de shigellose (« fiches information », France métropolitaine, 2019)	65
Tableau 39 : Distribution des différents sérotypes de Shigella spp. (souches et « fiches information », Outre-mer, 2019)	66
Tableau 40 : Incidence des cas de shigellose (souches et « fiches information », Outre-mer, 2019).....	68
Tableau 41 : ST et sérotypes associés des Shigella spp. (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2019)..	70
Tableau 42 : Antibiotiques utilisés pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de Shigella spp.	71
Tableau 43 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de Shigella (souches, France métropolitaine, 2019)	72
Tableau 44 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de Shigella (souches, Outre-mer, 2019)	72
Tableau 45 : Caractérisation des principaux gènes de résistance aux antibiotiques détectés par WGS (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2019).....	73
Tableau 46 : Sérotypes/biotypes des Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2019)	74
Tableau 47 : Sérotypes/biotypes des Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2019).....	76
Tableau 48 : Sérotypes/biotypes des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2019).....	79
Tableau 49 : Répartition des différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au LA-RD en 2019	86
Tableau 50 : Les différents types de prélèvements.....	87

<i>Tableau 51 : Principal symptôme observé chez les patients ayant une recherche de EHEC positive (isolement d'une souche ou PCR positive) en 2019.....</i>	<i>88</i>
<i>Tableau 52 : Répartition des différents sérogroupes de EHEC (souches isolées) par classe d'âge et par sexe des patients en 2019</i>	<i>90</i>
<i>Tableau 53 : Symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC (souches ou selles) en 2019.....</i>	<i>93</i>
<i>Tableau 54 : Sérotypage complet par WGS des souches isolées en 2019.....</i>	<i>94</i>
<i>Tableau 55 : Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les plus fréquemment isolés en 2019.....</i>	<i>98</i>
<i>Tableau 56 : Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les moins fréquemment isolés en 2019</i>	<i>98</i>
<i>Tableau 57 : Profil de virulence des EHEC non sérogroupables par méthode moléculaire WGS en 2019</i>	<i>98</i>
<i>Tableau 58 : Profil de virulence directement par PCR sur les selles sans isolement de souches en 2019</i>	<i>99</i>
<i>Tableau 59 : Résultats du sérogroupage par PCR directe sur selles sans souche isolée en 2019.....</i>	<i>99</i>
<i>Tableau 60 : Répartition globale des variants stx en 2019.....</i>	<i>100</i>
<i>Tableau 61 : Répartition des profils de variants stx en fonction des sérogroupes de EHEC les plus fréquents des souches isolées en 2019</i>	<i>100</i>
<i>Tableau 62 : Répartition des profils de variants stx en fonction des sérogroupes de EHEC les plus rares isolés en 2019.....</i>	<i>101</i>
<i>Tableau 63 : La répartition des variants du gène eae en fonction du sérotype EHEC en 2019.....</i>	<i>102</i>
<i>Tableau 64 : Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène saa en 2019</i>	<i>103</i>
<i>Tableau 65 : Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène subA en 2019..</i>	<i>103</i>
<i>Tableau 66 : La répartition des ST en fonction du sérotype (≥ 10 souches par ST).....</i>	<i>103</i>
<i>Tableau 67 :Analyse des cgWGS HC5 des sérogroupes O26, O80 et O157 en 2019.....</i>	<i>105</i>
<i>Tableau 68 : Facteurs de virulence des E. coli responsables de méningites en 2019 (LA-RD).....</i>	<i>106</i>
<i>Tableau 69 : Caractéristiques des souches de ExpEC hors méningites en 2019 LA-RD.....</i>	<i>108</i>
<i>Tableau 70 : Prévalence de la résistance (en %) aux antibiotiques des souches EHEC en 2019(LA-RD)</i>	<i>109</i>
<i>Tableau 71 : CMI à l'azithromycine des souches EHEC isolées en 2019 au LA-RD</i>	<i>109</i>
<i>Tableau 72 : Prévalence de la résistance (en %) aux antibiotiques des souches EXPEC (2019, LA-RD)</i>	<i>110</i>

Résumé analytique

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*. En octobre 2018, le séquençage du génome entier (WGS) est devenu la technique de première intention pour la surveillance et l'investigation des épidémies à *E. coli* producteurs de Shiga-toxines, *Shigella* et *Salmonella*.

Salmonella

En 2019, le CNR-ESS a répertorié **10 305** isollements de *Salmonella* spp. dans le cadre de la surveillance (contre 10 926 en 2018). Ceux-ci se répartissaient en **9 215** souches de *Salmonella* reçues et typées (contre 9 145 en 2018), et **1 090** « fiches information » (contre 1 781 en 2018). En 2019, **8 968** souches ont été typées par WGS, soit 97,3 %, soit une nette augmentation par rapport aux 6 942 souches de 2018 (75,9 %).

Le WGS en routine, et l'analyse du cgMLST par l'outil Enterobase appliqué à certains sérotypes, ont permis de détecter et analyser 44 toxi-infections alimentaires en France, et de créer ou répondre à 38 alertes épidémiologiques via le réseau EPIS-FWD du Centre Européen pour le Contrôle des Maladies (ECDC) en 2019.

Shigella

En 2019, le CNR-ESS a étudié **1 502** souches d'origine humaine envoyées comme appartenant au genre *Shigella* (contre 1352 en 2018). Quatre-vingt-trois pour cent (1 242/1 502) de ces souches ont été confirmées comme des *Shigella* spp. (**n = 1 236**) ou des **EIEC (n = 6)**. Les autres souches (260/1 502, 17 %) étaient des « bactéries autres que *Shigella*/EIEC ». Au total, en 2019, **1 337** isollements de *Shigella*/EIEC ont été recensés (1 174 souches reçues et 163 « fiches information ») avec une **date de prélèvement en 2019**.

S. sonnei g est restée le type majoritaire circulant en France métropolitaine (41 % en 2019). Depuis 2013, le sex-ratio des cas de shigellose est déséquilibré (sex-ratio_{OH/F} = 1,5 en 2019). Cette situation faisait écho à des publications décrivant une **circulation active de ce pathogène au sein de la communauté homosexuelle masculine** au Royaume-Uni. L'émergence de la **résistance à l'azithromycine** (28 % en 2019), à la ciprofloxacine (18 %) et aux céphalosporines de 3^{ème} génération (8 %) était également notable parmi les souches de *Shigella*. Enfin, en 2019, **huit épidémies nationales à *S. sonnei* g, ST152**, ont été détectées par le CNR-ESS.

E. coli

En 2019, un total de 1 471 prélèvements, dont 1 195 prélèvements de selles et 264 souches de *E. coli* ont été reçus au LA-RD. Le nombre de souches analysées a diminué par rapport à 2018 (n = 308) contrairement au nombre de selles analysées qui augmente régulièrement depuis 2013 (1 041 en 2018, 985 en 2017, 970 en 2016, 785 en 2015, 750 en 2014 et 736 en 2013). En 2019, 307 souches de EHEC ont été identifiées au LA-RD puis caractérisées par WGS au CNR-ESS. En France, toutes pathologies confondues, les sérogroupes majeurs de EHEC étaient : O26 (31,4 %), O80 (17,8 %) et O157 (14,6 %). Au cours des SHU, la prédominance du sérotype O26 s'affirmait (45,9 %) suivi du sérotype O80 (22,6 %) et du sérotype O157 (11,3 %).

Comme en 2018, l'année 2019 a été marquée par une épidémie d'infections à EHEC O26 liée à la consommation de fromage au lait cru.

Analytic summary

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*. Since the 1st of October 2018, whole-genome sequencing (WGS) has been used as the first intention technique for surveillance and outbreak investigation of Shiga-toxins producing *E. coli*, *Shigella* and *Salmonella* infections.

Salmonella

In 2019, the CNR-ESS identified **10 305** *Salmonella* spp. isolates as part of the surveillance activities (*versus* 10 926 in 2018). Of those 10 305 isolates, **9 215** were received and typed (9 145 in 2018), and **1 090** notifications were received (*versus* 1 781 in 2018). Hence, **8 968** isolates were typed by WGS in 2019, representing 97,3 % of all typed isolates (*versus* 75,9 % in 2018). The remaining typed isolates were serotyped.

Routine WGS and cgMLST analyses through the Enterobase scheme on selected serotypes allowed to detect and analyse 44 food-borne outbreak in France, and to create or respond to 38 epidemiological alerts via the EPIS-FWD network of the European Centre for Diseases Control (ECDC) in 2019.

Shigella

In 2019, the CNR-ESS received and analysed **1 502 human isolates**, 1 242 of which were confirmed as *Shigella*/EIEC (1 236 *Shigella* spp. and six EIEC). The rest of strains (260/1 502, 17 %) were « bacteria other than *Shigella*/EIEC ». A total of 1 337 isolates with a collection date in 2019 were inventoried (1 174 strains received and 163 "information sheets").

S. sonnei g has remained the main type circulating in metropolitan France (41 % in 2019). Since 2013, the sex-ratio of shigellosis cases is unbalanced ($\text{sex-ratio}_{\text{H/F}} = 1.5$ in 2019). This situation echoed publications describing an active circulation of this pathogen within the male homosexual community in the United Kingdom. The emergence of resistance to azithromycin (28 % in 2019), ciprofloxacin (18 %) and 3rd generation cephalosporins (8 %) was also notable among *Shigella* strains. Finally, in 2019, eight national epidemics of *S. sonnei* g, ST152, were detected by CNR-ESS.

E. coli

In 2019, a total of 1 471 samples, including 1 195 stool specimens and 264 *E. coli* strains were received at LA-RD. The number of strains analyzed has decreased compared to 2018 (n = 308), 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 2019, 307 EHEC strains were isolated and characterized by WGS. In France, all pathologies included, the major serogroups of EHEC found were: serogroup O26 (31.4 %), serogroup O80 (17.8 %) and serogroup O157 (14.6 %). In 2019, in HUS patients, the most frequently isolated serogroups in France, were: O26 (45.9 %), O80 (22.6 %) and O157 (11.3 %), thus confirming the predominance of serogroup O26 in France in HUS patients.

As in 2018, the year 2019 was marked by an epidemic of EHEC O26 infections linked to raw milk cheese consumption.

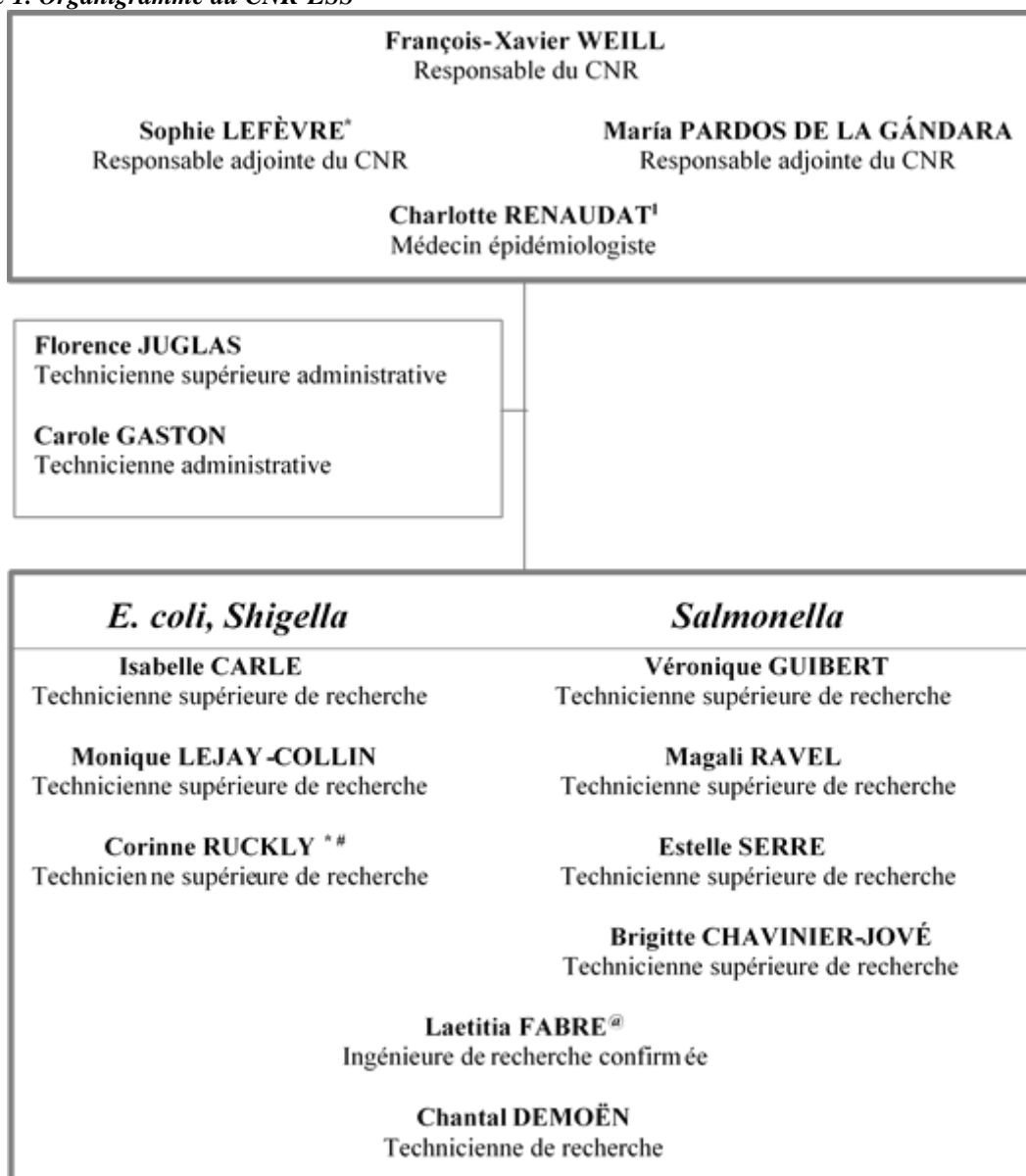
1 Missions et organisation du CNR

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

1.1 CNR-ESS

Charlotte RENAUDAT a quitté le CNR-ESS le 7 juin 2019, pour rejoindre l'équipe ICAREB (plate-forme d'investigation clinique et ressources biologiques) au sein de l'Institut Pasteur.

Figure 1. Organigramme du CNR-ESS



@ Correspondant Hygiène et Sécurité

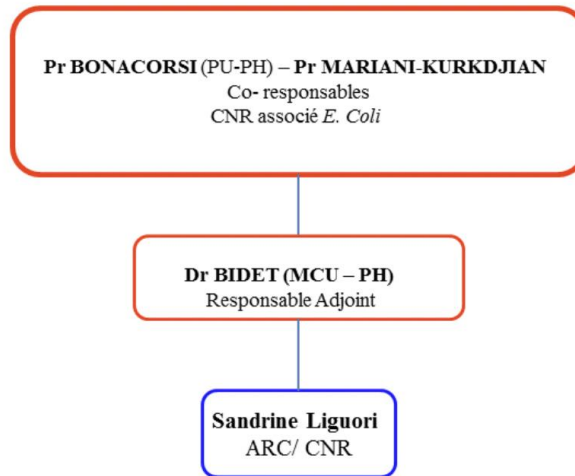
* Correspondant Qualité du CNR

Correspondant Métrologie et Matériel du CNR

1 Jusqu'au 07 juin 2019

1.2 Laboratoire associé Robert Debré (LA-RD)

Figure 2. Organigramme du LA-RD



2 SALMONELLA

2.1 Activités d'expertise

En 2019,

- Le séquençage du génome entier (WGS) a été la technique de première intention pour le typage des souches de *Salmonella* d'origine humaine reçues au CNR-ESS. Ainsi, 8 968 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 pour le typage des *Salmonella* et a été utilisé pour 896 souches dans un contexte d'urgence, de nouveaux types MLST, 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

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).

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. Le typage bactérien basé sur le WGS récupère les données de MLST, les séquences *fliC* et *fliB*, le **CRISPOL-type**, la présence ou absence du **O:5**, et la mutation (ou son absence) qui rend la bactérie **dt+/dt-** (ce qui différencie entre le sérotype Paratyphi B et son variant mineur, le biotype Java).

Depuis octobre 2018, la méthode **cgMLST** (pour core genome MLST) et le Hierarchical clustering appliqué au cgMLST (HierCC) via le site Enterobase (<https://enterobase.warwick.ac.uk>) sont utilisées pour le sous-typage de certains sérotypes lors de la détection et l'investigation des épidémies. Les résultats HC5, HC10, HC20 et HC50 sont communiqués hebdomadairement à Santé publique France. Cette approche est désormais utilisée pour la surveillance en France, ainsi que pour le réseau EPIS-FWD du ECDC.

Une confirmation des groupements bactériens épidémiologiques 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 polymorphism), sur le site Enterobase, ou par des outils développés au CNR-ESS.

Ces méthodes sont expliquées de façon détaillée dans l'**Annexe 2** de ce rapport.

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 les données de 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, le CNR travaille sur la mise au point d'une base de données des gènes du cluster *rfb* (codant pour l'antigène « O »), de façon à améliorer la déduction du sérotype pour les souches appartenant à des sérotypes moins fréquents. Il est donc important d'alimenter régulièrement cette base de données avec tous les nouveaux profils MLST identifiés au long de l'année, et avec des souches moins fréquentes dont le sérotype a été déterminé par la méthode de référence.

En parallèle, grâce à l'outil du **HierCC du cgMLST** d'Enterobase il a été possible d'identifier deux **nouvelles sous-espèces de *Salmonella enterica*, VII et VIII**. Ces sous-espèces ne pouvaient pas être distinguées des autres par les méthodes biochimiques traditionnelles. Cette nouvelle nomenclature est en cours de validation par le CCOMS *Salmonella* :

HC2850_2	→	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (I)
HC2850_724	→	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>salamae</i> (II)
HC2850_71	→	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> (IIIa)
HC2850_1	→	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb)
HC2850_176	→	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>houtenae</i> (IV)
HC2850_11201	→	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>indica</i> (VI)
HC2850_4208	→	<i>Salmonella enterica</i> subsp. (VII)
HC2850_17691	→	<i>Salmonella enterica</i> subsp. (VIII)
HC2850_4374	→	<i>Salmonella bongori</i> (V)

2.1.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Le CNR-ESS est un des principaux utilisateurs du site Enterobase. L'interaction du CNR avec l'équipe qui gère Enterobase à l'Université de Warwick (Royaume-Uni) a mené en juillet 2019 à la modification de l'algorithme utilisé pour l'assignation des allèles cgMLST. Le CNR-ESS a été le principal laboratoire à tester les différents algorithmes et à valider la version qui fonctionne actuellement sur le site. Cette modification, qui ignore l'information génétique manquante pour l'assignation des allèles cgMLST, a amélioré l'identification des groupements génomiques pour certains sérotypes, comme pour le variant monophasique de Typhimurium.

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 1^{er} 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 seul un résultat rapide permet l'interrogatoire précoce des nouveaux cas; l'agglutination permettant d'identifier le sérotype en 2 à 5 jours, puis le WGS permet le sous-typage en 18 jours en moyenne, b) quand une souche possède un nouveau profil MLST ou les résultats du séquençage ne sont pas concluants, 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 2019, le CNR-ESS a enregistré 10 891 isollements de *Salmonella* d'origine humaine. Ceux-ci se répartissaient en 9 464 souches de *Salmonella* qui ont été reçues au CNR-ESS et 1 427 « fiches information » envoyées ou soumises en ligne sur la plateforme Voozanoo par les laboratoires correspondants.

Tableau 1 : Nombre de souches et de « fiches information » de *Salmonella* enregistrées en 2019

Type d'enregistrement		N
Souches reçues		9 464
Souches reçues non analysables (exclues)		189
	Dont souches reçues en doublon	123
Souches identifiées comme « bactéries autres que <i>Salmonella</i> » (exclues)		50
Souches typées au CNR-ESS		9 225
	Par agglutination seulement	499
	Par WGS seulement	8 324
	Par agglutination et WGS	402
Enregistrements sur le portail en ligne (« Fiches information »)		1 427
« Fiches information » exclues des analyses		337
	Déclarées en doublon sur le site	40
	Doublon de souches reçues au CNR	297
« Fiches information » analysées par le CNR-ESS		1 090
Total enregistrements		10 891

Des 9 464 souches reçues, 189 souches ont été exclues des analyses dès leur réception, dont 123 identifiées comme des « doublons » (même patient, même laboratoire expéditeur, même sérotype dans un intervalle de temps inférieur à 8 semaines). Par ailleurs, 50 souches envoyées pour sérotypage de *Salmonella* se sont avérées être des bactéries autres que *Salmonella*. Finalement, 10 souches ont été identifiées comme des doublons après typage, donc elles ont été également exclues des analyses ultérieures. Au total, **9 215 souches** ont été incluse dans l'étude épidémiologique pour 2019. Toutes les souches reçues au CNR-ESS répondant aux critères d'inclusion dans la surveillance nationale ont été typées par WGS et/ou sérotypage.

De la même façon, parmi les 1 427 « fiches information », 40 doublons ont également été exclus de l'analyse. Enfin, pour 297 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 »). La surveillance épidémiologique des *Salmonella* en 2019 a donc pris en compte **1 090 « fiches information »**.

Tableau 2 : Nombre de *Salmonella* analysées dans le cadre de l'activité de surveillance en 2019

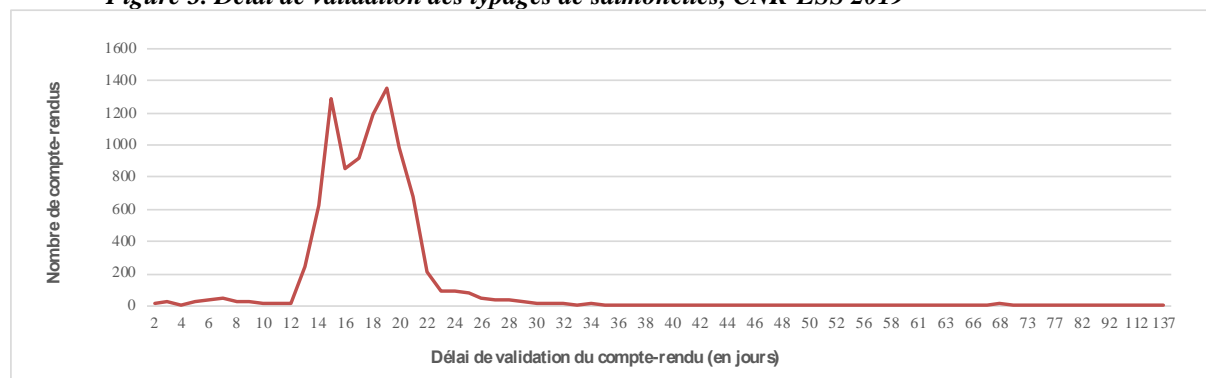
Type d'enregistrement	N
Souches typées	9 225
→ Souches typées en doublon (exclues de la surveillance)	10
→ Souches typées et analysées par le CNR-ESS	9 215
« Fiches information » analysées par le CNR-ESS	1 090
Nombre total de <i>Salmonella</i> annuel (souches + « fiches information »)	10 305

Le CNR-ESS a également réalisé le sérotypage de **60 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 108 souches dans le cadre d'études nationales ou internationales (**voir point 4. Activités de Recherche**).

Délai de restitution des résultats :

Le délai moyen de restitution des résultats de typage du CNR-ESS aux laboratoires est de **18 jours** (médiane de 18 jours également, versus 17 jours en moyenne et en médiane en 2018) avec des extrêmes entre 2 et 137 jours. Le délai de rendu de résultats est dépendant de la vitesse de production des séquences par la plateforme P2M de l'Institut Pasteur (voir **Annexe 2**). Deux *runs* de séquençage sont initiés chaque semaine – mardi à capacité moyenne et vendredi à grande capacité. Ainsi les séquences sont obtenues 15 ou 20 jours après réception des souches au CNR-ESS. La diminution notable de l'activité de typage par agglutination en 2019 a fait disparaître le premier pic de résultats à 2 et 7 jours présent jusqu'en 2018 (**figure 3**).

Figure 3. Délai de validation des typages de salmonelles, CNR-ESS 2019



Un compte-rendu des résultats du sérotypage a été systématiquement transmis par voie postale à tous les LBM expéditeurs à titre informatif pour encourager la poursuite de la participation des LBM à la surveillance épidémiologique nationale. Les résultats du sous-typage (cgMLST) ne sont quant à eux pas transmis. Ces derniers servent à la détection et au suivi des épidémies et leur communication est limitée à SpF et aux institutions européennes ou internationales en fonction du contexte.

2.1.6 Activités de séquençage

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

L'Institut Pasteur de Paris est doté d'une plateforme dite Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M) qui est ouverte à l'ensemble de ses CNR (voir l'**Annexe 2**, dans la partie A2.1.1.1 le paragraphe sur « Le séquençage complet du génome (WGS) »).

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

Voir l'**Annexe 2**, dans la partie A2.1.1.1 le paragraphe sur « Le séquençage complet du génome (WGS) ».

- 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 **paragraphe 2.3**).

- Décrire les outils bio-informatiques et les analyses conduites

Les analyses de génotypage en routine sont réalisées par BLAST contre des banques de données internes (*fliC*, *fljB*, CRISPOL) ou publiques (MLST d' Enterobase – <http://enterobase.warwick.ac.uk> –, Resfinder, 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 ST inconnu, la séquence est alors soumise sur Enterobase, qui déterminera le nom de ce nouveau ST.

Depuis octobre 2018, tous les génomes des souches appartenant aux sérotypes prévalents ayant une forte homogénéité génétique (Typhimurium-ST19, son variant monophasique-ST34, Enteritidis-ST11) ou aux sérotypes impliqués dans des épidémies d'envergure (Poona-ST308, Dublin-ST10, Mikawasima-ST1815) sont déposés dans Enterobase pour déterminer le **cgMLST**, et pour réaliser les analyses SNP quand c'est nécessaire (voir **Annexe 2** pour plus de détail sur la méthode).

Par ailleurs, des méthodes de '**mapping**' utilisant des logiciels disponibles sur le cluster de l'Institut Pasteur (dont RAxML et Gubbins) sont parfois utilisées pour approfondir les analyses SNP.

- 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, un sérotypage traditionnel a été réalisé en parallèle sur une partie des souches dans le but de déterminer rapidement le sérotype impliqué. Malheureusement cette technique n'apporte pas d'information utile à l'investigation lorsqu'il s'agit d'un sérotype fréquent.

Tel a été le cas de l'épidémie à *S. Enteritidis* de septembre 2019 dans le département 38, impliquant 69 souches. Étant donné que ce sérotype est le plus fréquent en France (n = 2 209 souches pour 2019), l'analyse par WGS et l'identification du HC5_149798 ont été essentielles pour individualiser les cas du cluster épidémique.

- Nombre de séquences réalisées à des fins de surveillance

En 2019 le CNR-ESS a réalisé **8 968** séquences de *Salmonella* à des fins de surveillance, soit 97,3 % des souches analysées. 849 souches ont dû être séquencées plus d'une fois (« bis », « ter » ou « reposit »), suite à des problèmes techniques lors de la préparation des lysats (n = 146), ou lors du séquençage (n = 703).

Le typage par WGS a été la technique de première intention pour l'ensemble des souches en 2019. La proportion de souches bénéficiant des deux méthodes (WGS et agglutination) n'a pas varié entre 2018 (6,44 %) et 2019 (7 %). Par contre, la proportion des souches typées uniquement par WGS a augmenté notablement, passant de 69,5 % de 2018 à 90,3 % en 2019.

- Où sont déposées les séquences brutes (fastq 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>) et déposée 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, ce qui permet la comparaison avec les séquences déposées par le reste des utilisateurs du site. Seuls les assemblages sont disponibles ultérieurement (délai de 2 ans dans le cas des génomes du CNR-ESS) pour le reste des utilisateurs du site ; les *short-reads* originaux sont détruits par Enterobase.

2.2 Activités de surveillance

En 2019 :

- 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* : **8 968 séquences** ont été produites, soit 97,3 % des souches analysées. Cela a permis au CNR-ESS et à SpF de créer ou de répondre à 38 alertes épidémiologiques européennes, et d'investiguer plus de 44 TIAC en France.
- Les laboratoires ont un accès à une plateforme web Voozadoo leur permettant de déclarer les « fiches information » (<https://epidemio.pasteur.fr/salm-shig>). Seulement **51 fiches (4,7 % des 1090 fiches reçues)** rapportaient un sérotype complet en 2019. Le CNR-ESS encourage les laboratoires depuis 2019 à envoyer tous les isolats de *Salmonella* et envisage la clôture de la plateforme Voozadoo en 2020.
- La diminution de l'incidence du sérotype Typhimurium observée depuis 2016 est confirmée, laissant la place à son variant monophasique et au sérotype 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 2019, le CNR-ESS a reçu des souches de la part de **964 LBM de France métropolitaine et d'outre-mer** (contre 859 en 2018). Ils se répartissaient en **450** laboratoires de centres hospitaliers (contre 332 en 2018) ayant adressé 3 390 souches (contre 3 263 en 2018) et **514** LBM privés (contre 527 en 2018) ayant adressé 5 822 souches (contre 5 881 en 2018). Trois souches ont également été envoyées de Suisse dans le cadre de l'investigation d'une TIAC française.

L'augmentation du nombre de laboratoires correspondants par rapport à 2018, malgré la diminution du nombre de LBM privés qui poursuivent leur regroupement en plateformes de biologie mutualisées, est la conséquence du nombre croissant de centres hospitaliers participants. Cette augmentation est probablement liée aux efforts de communication du CNR-ESS sur l'importance de l'envoi des souches au CNR, lors des congrès/réunions professionnels de 2019 (voir communications orales de Sophie Lefèvre : ColBVH, Congrès Microbe de la SFM et RICAI en 2019), mais aussi au cours des échanges quotidiens avec les professionnels de santé, par téléphone ou par courriel.

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 et en collectant les informations sur les souches dont le sérotype a été déterminé par le laboratoire correspondant.

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. Cette fiche est **téléchargeable depuis le site d'internet du CNR-ESS** : (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/escherichia-coli-shigella-salmonella/envoyer-un-echantillon>).

La collecte des informations sur les souches non envoyées au CNR-ESS se fait à l'aide d'une « **fiche information** » renseignée par les laboratoires correspondants et adressée au CNR par fax, e-mail ou voie postale, ou directement par saisie en ligne sur le portail web Voozano (<https://epidemiopasteur.fr/salm-shig>). Les laboratoires correspondants ont été encouragés en 2017 et 2018 à déclarer leurs souches en ligne, mais depuis 2019 le CNR-ESS recommande de nouveau l'envoi de souches (voir communications orales au ColBVH, Congrès microbes de la SFM et RICAI 2019).

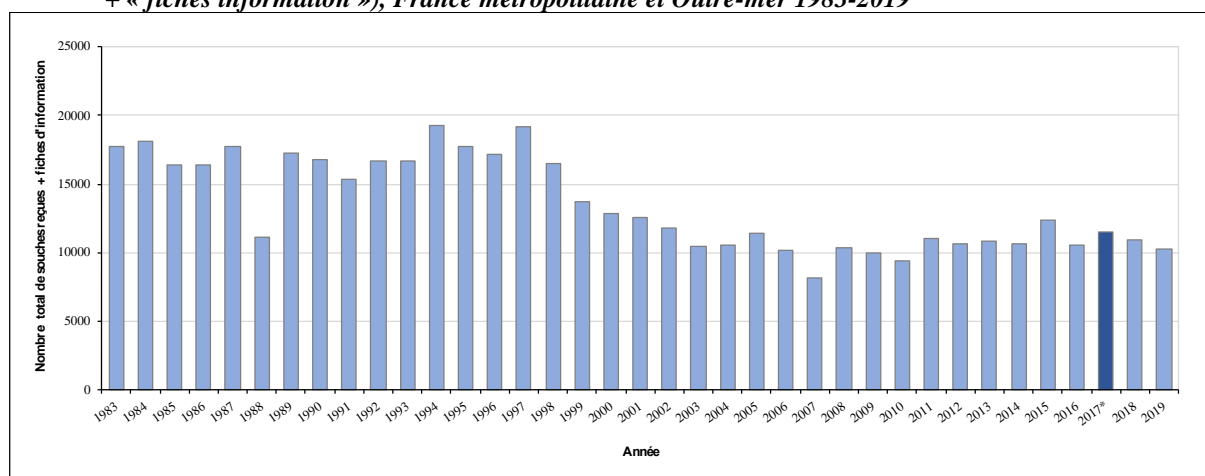
2.2.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

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

En **2019**, le CNR-ESS a enregistré **10 305** isollements de *Salmonella* en France métropolitaine, en Outre-mer et à Monaco et a reçu trois souches en provenance de Suisse pour sous-typage lors de l'épidémie UI-537 à *S. Poona* (voir paragraphe **2.3 Alerte**). Parmi ces **10 305** isollements, **9 215** ont été des souches reçues au CNR-ESS, et **1 090** provenaient de « fiches information ».

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

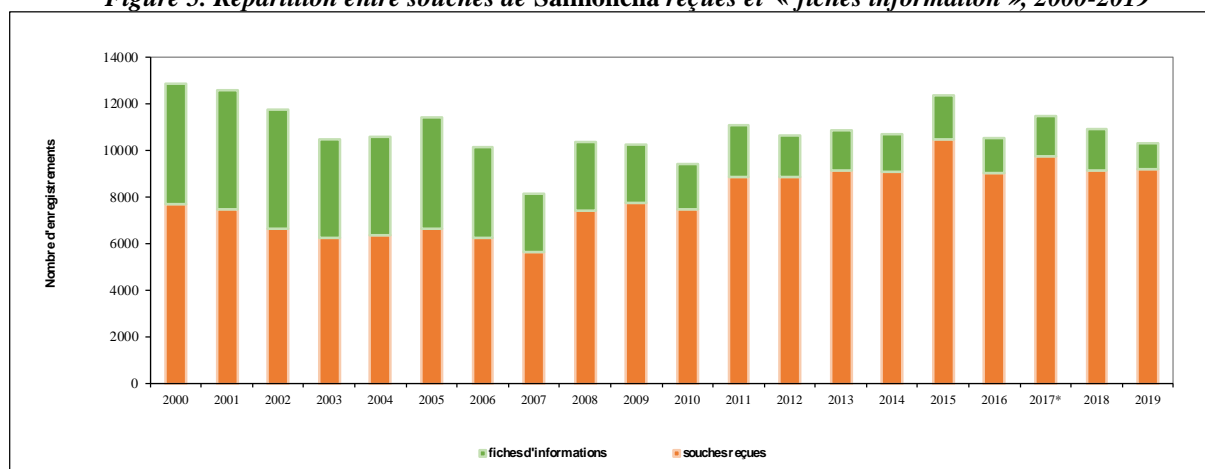
Figure 4. Nombre annuel de souches de *Salmonella* d'origine humaine enregistrées (souches reçues + « fiches information »), France métropolitaine et Outre-mer 1983-2019



* 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

Le nombre d'enregistrements de *Salmonella* au CNR-ESS est stable depuis le début des années 2000, autour de 10 000 chaque année. On observe cependant une proportion de plus en plus importante de souches reçues (environ 89 % en 2019). La part représentée par les « fiches information » dans le total des isollements de *Salmonella* enregistrés au CNR-ESS est en diminution depuis 2005. En 2019, elle représentait **10,5 %** (1 090/10 305) des enregistrements (tous sérotypes confondus) alors qu'elle était supérieure à 40 % avant 2005.

Figure 5. Répartition entre souches de *Salmonella* reçues et « fiches information », 2000-2019



* 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

Parmi les 1 427 isolements déclarés en 2019 exclusivement par l'intermédiaire de « fiches information », **40** ont été déclarés en double et pour **297** d'entre eux, une souche a été envoyée en parallèle au CNR-ESS. Ainsi, pour l'année 2019, la déclaration par « fiche information » sans envoi de souche représente 1 090 isolements (**tableau 2**). **Parmi ces « fiches information » seulement 4,7 % (51/1 090) présentaient un sérotypage complet. Le CNR-ESS a donc décidé de fermer en 2020 son portail web Voozadoo**, tout en continuant de transmettre son message sur l'importance de l'envoi de souches pour la surveillance épidémiologique des pathogènes.

2.2.2.2.1 Origine géographique des souches de *Salmonella* reçues

La donnée « code postal du patient » est présente pour 7 345 souches de *Salmonella* reçues et sérotypées au CNR-ESS en 2019 (soit 79,7 % versus 81,7 % en 2018). Pour les 1 870 souches non renseignées, le code postal du laboratoire expéditeur a été pris par défaut.

En 2019, le CNR-ESS a typé 8 543 souches en provenance de France métropolitaine (soit 92,7 % des souches reçues et typées) et 634 des départements d'Outre-mer. Vingt-six souches ont été envoyées par des laboratoires de Papeete (Tahiti, Polynésie Française) dans le contexte d'une TIAC à *S. Enteritidis*. Une souche a été envoyée par le CH de Nouméa (Nouvelle-Calédonie). Monaco, qui collabore à la surveillance épidémiologique des salmonelles en France, a envoyé huit souches de *Salmonella* spp. Finalement, trois souches ont été envoyées depuis la Suisse pour l'étude de l'épidémie internationale à *S. Poona* (UI-537-FR).

Voir **tableau 3** et **figure 6** pour le détail de la répartition géographique des cas de salmonellose en France en 2019.

SALMONELLA

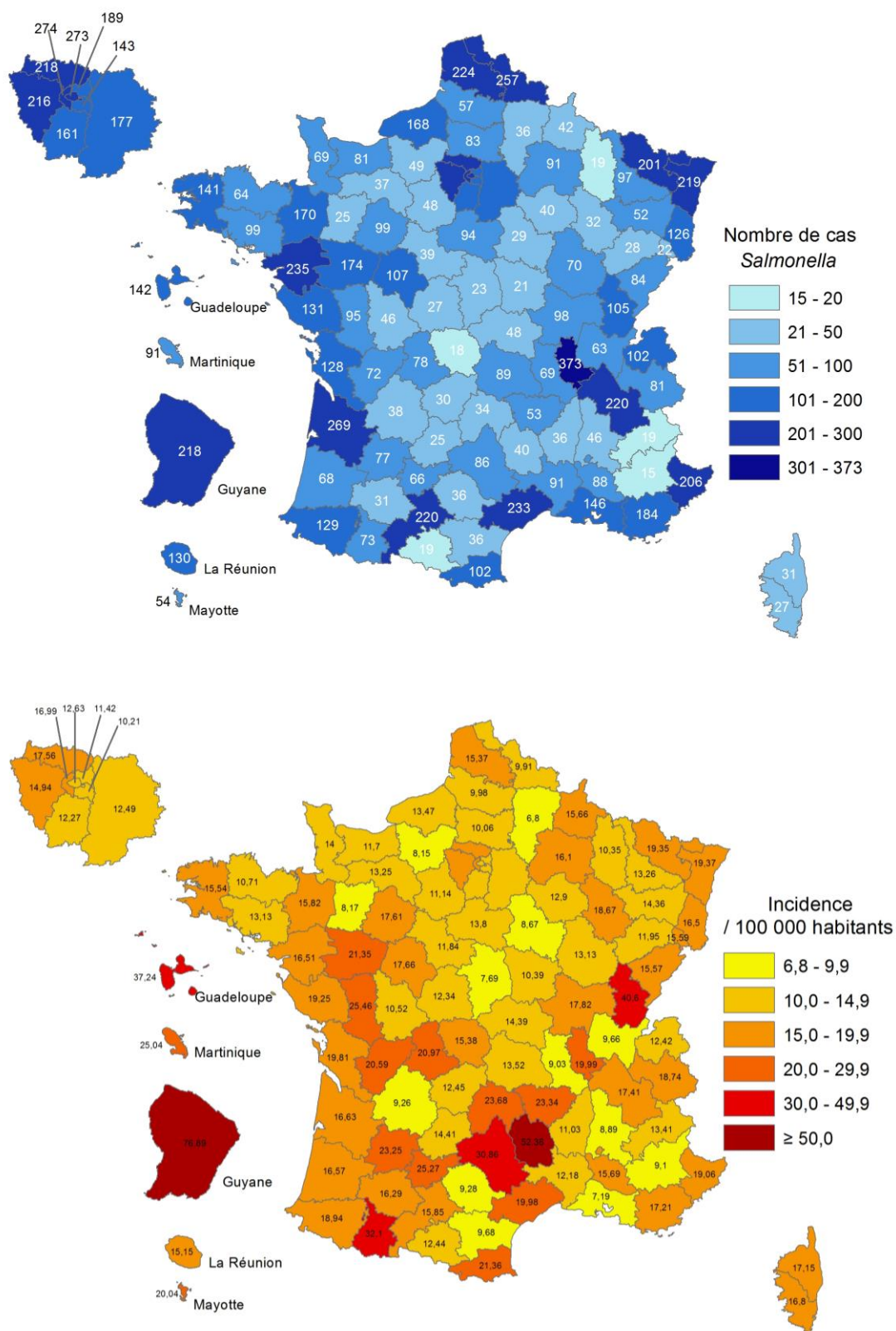
Tableau 3 : Nombre de souches de *Salmonella* reçues par régions de 2015 à 2019

	2015* N (nBio)	2016** N [%]	2017** N [%]	2018** N [%]	2019** N [%]
Auvergne-Rhône-Alpes 01-03-07-15-26-38-42-43-63-69-73-74	1 432 (67)	1 182 [13,1]	959 [11,8]	979 [10,71]	1 001 [10,9]
Bourgogne-Franche-Comté 21-25-39-58-70-71-89-90	444 (2)	387 [4,3]	293 [3,6]	421 [4,6]	408 [4,4]
Bretagne 22-29-35-56	239 (0)	250 [2,8]	292 [3,6]	348 [3,8]	387 [4,2]
Centre-Val de Loire 18-28-36-37-41-45	273 (0)	238 [2,6]	245 [3,0]	241 [2,6]	288 [3,1]
Corse 2A-2B	57 (6)	64 [0,7]	4 [0,5]	60 [0,7]	58 [0,6]
Ile-de-France 75-77-78-91-92-93-94-95	1 845 (7)	1 661 [18,4]	1 538 [18,9]	1 566 [17,1]	1 528 [16,6]
Grand-Est (Alsace + Champagne-Ardenne + Lorraine) 67-68-08-10-51-52-54-55-57-88	930 (6)	791 [8,8]	670 [8,2]	869 [9,5]	872 [9,5]
Hauts-de-France (Nord-Pas-de-Calais + Picardie) 02-60-80-59-62	768 (5)	549 [6,1]	575 [7,1]	574 [6,3]	556 [6,0]
Normandie (Haute + Basse Normandie) 14-27-50-61-76	439 (8)	371 [4,1]	377 [4,6]	295 [3,2]	323 [3,5]
Nouvelle-Aquitaine (Aquitaine + Poitou-Charentes + Limousin) 16-17-19-23-24-33-40-47-64-79-86-87	879 (1)	831 [9,2]	741 [9,1]	883 [9,7]	957 [10,4]
Occitanie (Languedoc-Roussillon + Midi-Pyrénées) 09-11-12-30-31-32-34-46-48-65-66-81-82	1 309 (5)	934 [10,3]	751 [9,2]	1 005 [11]	900 [9,8]
Pays de la Loire 44-49-53-72-85	546 (0)	546 [6,0]	548 [6,7]	700 [7,7]	611 [6,6]
Provence-Alpes-Côte d'Azur 04-05-06-13-83-84	668 (2)	526 [5,8]	501 [6,1]	611 [6,7]	654 [7,1]
TOTAL Métropole	9 829	8 330	7 533	8 552	8 543
Monaco	11 (0)	8[0,1]	9 [0,1]	8 [0,1]	8 [0,1]
Guadeloupe	92 (0)	141[1,6]	102 [1,3]	145 [1,6]	143 [1,6]
Martinique	98 (0)	87[1,0]	59 [0,7]	81 [0,9]	92 [1,0]
Guyane	251 (0)	276[3,1]	242 [3,0]	151 [1,7]	228 [2,5]
La Réunion	100 (0)	99[1,1]	103 [1,3]	93 [1]	117 [1,3]
Mayotte	73 (0)	62[0,7]	77 [0,9]	89 [1]	54 [0,6]
Polynésie française	21 (0)	27[0,3]	26 [0,3]	22 [0,2]	26 [0,3]
St Pierre et Miquelon	1 (0)	2[0,02]	0	0	0
Nouvelle-Calédonie	5 (0)	13[0,1]	8 [0,1]	3 [0,03]	3 [<0,1]
Suisse	0	0	0	0	3 [<0,1]

* Total des souches reçues (souches envoyées par Biomnis)

** Total des souches reçues [%]

Figure 6. Nombre de cas et incidence des salmonelloses par départements en 2019



2.2.2.2 Répartition des *Salmonella* par sites de prélèvement

Tableau 4 : Répartition par sites de prélèvement de 2014 à 2019

Sites de prélèvement*	2015	2016	2017	2018	2019
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Selles	9 509 (90,7)	7 915 (87,5)	7 095 (86,9)	8 046 (88,0)	8 046 (87,3)
Sang	499 (4,8) ¹	616 (6,8) ²	628 (7,7) ³	648 (7,1) ⁴	677 (7,3) ⁵
Urines	320 (3,1)	380 (4,2)	327 (4,0)	348 (3,8)	379 (4,1)
Pus	28 (0,3)	9 (0,1)	3 (0,1)	9 (0,1)	11 (0,1)
Bile	8 (0,1)	9 (0,1)	8 (0,1)	5 (< 0,1)	6 (< 0,1)
LCR	3 (< 0,1)	3 (< 0,1)	1 (< 0,1)	2 (< 0,1)	6 (< 0,1)
Autres	93 (0,9)	100 (1,1)	96 (1,2)	83 (0,9)	88 (0,9)
Inconnu	21 (0,2)	13 (0,1)	1 (< 0,1)	4 (0,1)	2 (< 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 3,7.² Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,2.³ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 6,0.⁴ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,4.⁵ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,4.2.2.2.2.3 Distribution des *Salmonella* par classes d'âge

Tableau 5 : Distribution par tranches d'âge de 2014 à 2019

Classes d'âge*	2015	2016	2017	2018	2019
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<1 an	605 (5,8)	498 (5,5)	514 (6,3)	612 (6,7)	508 (5,5)
1-5 ans	2 493 (23,8)	1 976 (21,9)	1 939 (23,8)	1 826 (20,0)	1 800 (19,5)
6-14 ans	1 481 (14,1)	1 143 (12,6)	974 (11,9)	1 177 (12,9)	1 147 (12,4)
15-64 ans	4 118 (39,3)	3 749 (41,5)	3 226 (39,5)	3 798 (41,5)	3 962 (43,0)
≥65 ans	1 763 (16,8)	1 671 (18,5)	1 506 (18,5)	1 731 (18,9)	1 797 (19,5)
Inconnu	21 (0,2)	8 (< 0,1)	0	1 (< 0,1)	1 (< 0,1)

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

2.2.2.2.4 Foyers de cas groupés à *Salmonella*

En 2019, **434** épisodes de cas groupés (foyers) ont été rapportés sur les « fiches de renseignements » accompagnant les souches reçues. Les épisodes de cas groupés concernaient un minimum de **1531** cas (422 foyers pour 829 cas en 2018).

La surveillance des valeurs de cgMLST permet une identification de plus en plus précise des groupements épidémiques. L'utilisation du HierCC (HC2, HC5, HC10) en routine permet d'exclure ou d'inclure des cas dans les groupements déclarés. Souvent les souches sont envoyées sans notion de groupement, ou même avec notion de « cas isolé », mais les valeurs de HC2 et HC5 mettent en évidence les groupements.

Le nombre de sérotypes de *Salmonella* impliqués dans les foyers rapportés pour 2019 a été de 69.

Tableau 6 : Foyers de cas groupés de *Salmonella* de 2015 à 2019

	Foyers de cas groupés à <i>Salmonella</i> signalés au CNR-ESS en :				
	2015	2016	2017	2018	2019
Nombre total de foyers	272	255	316	422	434
Sérotype causal :					
Enteritidis	80	80	92	105	140
Typhimurium	74	43	32	56	82
<u>1</u> ,4,[5],12:i:-	64	57	86	113	65

Les 434 épisodes de cas groupés ont été observés dans différents contextes :

Tableau 7 : Récapitulatif des différents foyers de cas groupés à *Salmonella* de 2015 à 2019

Types de foyers de cas groupés	2015 n épisodes (n cas)	2016 n épisodes (n cas)	2017 n épisodes (n cas)	2018 n épisodes (n cas)	2019 n épisodes (n cas)
Foyers familiaux	219 (711)	206 (686)	193 (444)	276 (524)	263 (605)
Collectivité	7 (41)	3 (23)	2 (n inconnu)	-	3 (4)
Travail	3 (9)		2 (12)	-	1 (7)
Écoles	1 (3)	5 (28)	9 (24)	11 (69)	4 (11)
Crèches	1 (5)		9 (17)	5 (9)	4 (4)
Foyers hospitaliers	3 (9)	7 (17)	7 (11)	20 (3)	12 (23)
Autres*	35 (347)	34 (147)	94 (214)	110 (227)	147 (877)
Nombre de sérotypes de <i>Salmonella</i> impliqués	37	40	57	62	69
Nombre total d'épisodes notifiés	272	255	31	422	434
Nombre de cas appartenant à des épisodes de cas groupés	1142	901	572	829	1531

* Le laboratoire déclarant ayant indiqué « autres groupes de cas » (56 foyers, 294 cas pour 2019) ou « TIAC » (91 foyers, 1531 cas pour 2019)

2.2.2.2.5 Répartition des 20 principaux sérotypes de *Salmonella***Tableau 8 : 20 principaux sérotypes de *Salmonella* au cours des années 2005, 2010, 2017 à 2019**

Rang	Distribution des sérotypes (n) par année				
	2005*	2010*	2017**	2018*	2019*
1	Typhimurium (3 992)	Typhimurium (3 027)	Enteritidis (2 109)	Enteritidis (2 486)	Enteritidis (2 212)
2	Enteritidis (3 638)	Enteritidis (1 711)	1,4,[5],12:i:- (2 101)	1,4,[5],12:i:- (2 251)	1,4,[5],12:i:- (1 818)
3	Agona (274)	1,4,[5],12:i:- (1 098)	Typhimurium (1 919)	Typhimurium (1 933)	Typhimurium (1 083)
4	Infantis (210)	Kentucky (208)	Infantis (212)	Newport (296)	Infantis (296)
5	Typhi (187)	Newport (191)	Typhi (159)	Infantis (266)	Typhi (214)
6	Derby (158)	Typhi (181)	Newport (154)	Kentucky (177)	Newport (186)
7	Hadar (147)	Derby (167)	Kentucky (136)	Napoli (165)	Napoli (181)
8	Virchow (142)	Panama (148)	Derby (130)	Typhi (159)	Derby (138)
9	Newport (133)	Infantis (128)	Chester (98)	Chester (157)	Panama (133)
10	Panama (124)	Napoli (100)	Panama (100)	Derby (135)	Stanley (126)
11	1,4,[5],12:i:- (101)	Dublin (81)	Dublin (98)	Panama (117)	Chester (123)
12	Manhattan (95)	Hadar (76)	Agona (97)	Dublin (94)	Kentucky (120)
13	Napoli (93)	Corvallis (70)	Saintpaul (81)	Virchow (69)	Poona (112)
14	Indiana (86)	Kottbus (66) Virchow (66)	Weltevreden (78)	Bredeney (64)	Dublin (98)
15	Brandenburg (82)		Napoli (76)	IIIa. 48:z4,z23:- (58)	Montevideo (77)
16	Dublin (73)	Saintpaul (64)	Virchow (62)	Livingstone (57)	Mikawasima (74) Virchow (74)
17	Manhattan (62)	Montevideo (61)	Kottbus (54) Stanley (54)	Saintpaul (55)	
18	Worthington (55)	Rissen (60)		Agona (53)	IIIa. 48:z4,z23:- (72)
19	Kentucky (48)	Bovismorbificans (59)	Javiana (53)	Bovimorbificans (52)	Bredeney (70)
20	Dublin (45)	Brandenburg (56)	Poona (52) Rissen (52)	Stanley (51)	Bovimorbificans (67)

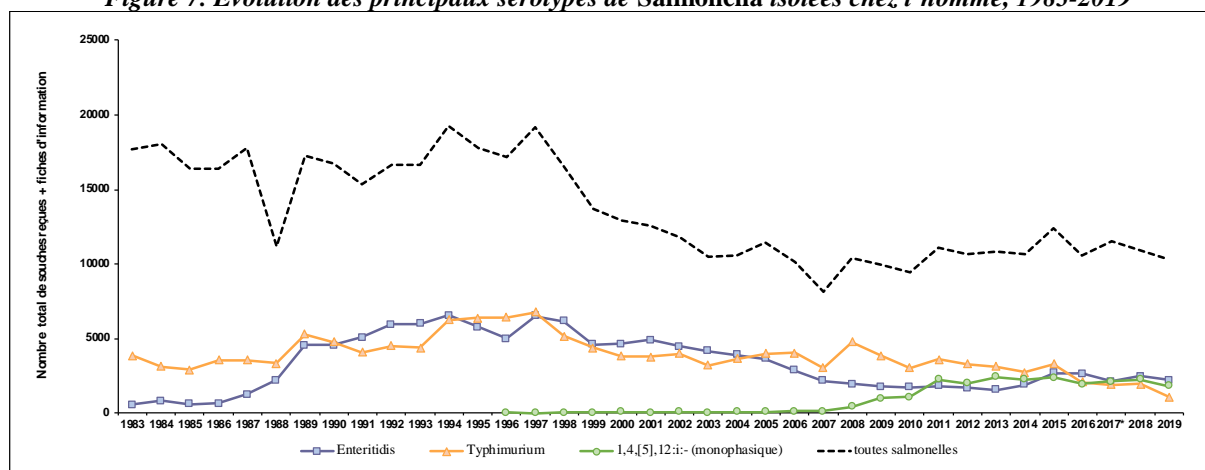
* Données incluant les souches adressées au CNR-ESS et les « fiches information »

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

En 2019, une **augmentation importante du nombre de souches identifiées uniquement comme *Salmonella* spp. ou partiellement sérotypées** a été constatée (n = 1 039, **95,3 %** des fiches reçues). 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. Les sérotypes Typhimurium (et son variant monophasique) et Enteritidis représentent à eux seuls 49 % des 51 « fiches information » reçues au CNR-ESS avec un sérotypage complet.

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, suivi par le variant monophasique de Typhimurium (1,4,[5],12:i:-). Cela est principalement dû à une diminution du sérotype Typhimurium. Cette diminution reste inexpliquée ; elle n'est pas en lien avec les régions d'isolement, le sexe ou l'âge des cas. Le sérotype Kentucky est aussi un sérotype important, même si nous avons observé une diminution du nombre de cas en 2019 ; ce sérotype est fortement associé à des souches hautement résistantes aux fluoroquinolones. D'autres sérotypes correspondent à une source connue pour lesquels des mesures ne sont pas encore efficaces, comme Chester (filiale aviaire au Maroc), Dublin (filiale bovine), Derby (filiale porcine). Le nombre de cas de sérotype Typhi a augmenté de 159 en 2017 et 2018 à 214 en 2019, en raison d'une augmentation du nombre de cas en Guyane en mars-avril et août-octobre 2019. Le sérotype Poona a subi une augmentation, de 50 en 2018 à 112 en 2019, suite à une épidémie, chez des nourrissons, liée au lait en poudre (UI-537-FR), ainsi que le sérotype Montevideo (46 cas en 2018 ; 77 en 2019), en lien avec une TIAC dans le dépt. 83, et le sérotype Mikawasima (18 cas en 2018 ; 74 cas en 2019), causant une TIAC internationale (UI-606-UK). (Voir paragraphe 2.3 Alerte).

Figure 7. Évolution des principaux sérotypes de Salmonella isolés chez l'homme, 1983-2019



* En 2017, 1 600 souches ont été reçues et non typées au CNR-ESS. Pour toutes les autres années, toutes les souches reçues ont été typées

2.2.2.2.6 Évolution de la répartition des principaux sérotypes en France

Tableau 9. Nombre d'isolements annuels des principaux sérotypes en France de 2015 à 2019

	Tous sérotypes	Enteritidis	Typhimurium	1, 4,[5],12:i:-	Typhi
Souches de <i>Salmonella</i> reçues et (séro)typées en :					
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
2019	9 215	2 209	1 082	1 810	214
Total 2015-2019	46 045	9 987	6 241	10 384	799
Fiches information reçues en :					
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
2019	1 090	3	1	21	2
Total 2015-2019	7 975	2 167	4 053	127	21
Total identifiées :					
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
2019	10 305	2 212	1 083	1 818	216
Total 2015-2019	54 020	12 154	10 294	10 498	820
Proportion Fiches information/total des souches (séro)typées (%) en :					
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
2019	10,6	0,1	0,1	1,2	0,9

* 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.

2.2.2.2.7 Le sérotype Typhi

En 2019, **214** souches de *S. enterica* sérotype Typhi isolées chez **194** patients ont été analysées au CNR-ESS. Le **tableau 10** précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignements, le lieu de la contamination probable des cas entre 2015 et 2019. La France d'outre-mer a été considérée comme lieu de contamination quand elle était le lieu d'isolement de la souche et qu'il n'y avait pas d'indication de voyage.

Tableau 10 : Origine géographique des souches de sérotype Typhi (une par patient) de 2015 à 2019

Pays de contamination	Nombre de patients				
	2015	2016	2017	2018	2019
<i>Afrique</i>	<i>14</i>	<i>28</i>	<i>22</i>	<i>23</i>	<i>19</i>
Afrique (sans précision)	1	3		2	
Afrique du Sud				1	
Algérie		3		1	
Bénin			1		
Burkina Faso				1	
Cameroun	1	1			
Comores		1		3	
Côte d'Ivoire		1		1	1
Egypte				1	
Guinée		2	2	3	
Madagascar		2	3	2	1
Mali	3	5	3	3	3
Maghreb (sans précision)	1				
Maroc	7	3	6	4	7
Mauritanie					1
Mozambique	1				
Niger		1			
République Centrafricaine		1		1	
Sénégal		3	4		3
Sierra Leone			1		
Soudan					2
Tchad		1	1		1
Togo		1			
Tunisie			1		
<i>Amériques</i>	<i>5</i>	<i>3</i>	<i>7</i>	<i>11</i>	<i>12</i>
Amériques (sans précision)				1	
Brésil				3	
États Unis	1				
Haïti	2		2		2
Mexique	2	2	5	7	11
Pérou		1			
<i>(continue sur la page suivante)</i>					

SALMONELLA

<i>(suite)</i>					
Pays de contamination	Nombre de patients				
	2015	2016	2017	2018	2019
<i>Asie</i>	<i>18</i>	<i>30</i>	<i>30</i>	<i>40</i>	<i>55</i>
Asie (sans précision)			2	1	
Bangladesh		3	5	2	6
Cambodge					1
Chine			1		
Inde	12	21	17	14	13
Indonésie		1			2
Irak				1	1
Laos					3
Maldives					1
Myanmar					4
Népal			1		
Pakistan	5	4	2	19	24
Qatar				1	
Syrie				1	
Sri Lanka	1		1	1	
Thaïlande			1		
Viêt-Nam		1			
<i>Europe</i>	<i>4</i>	<i>3</i>	<i>2</i>	<i>1</i>	<i>3</i>
Allemagne		1			
Bulgarie			1		
Espagne	1	1			1
Hongrie					1
Italie	1		1		
Pays-Bas	1				1
Pologne	1				
Portugal		1			
Royaume-Uni				1	
<i>France d'outre-mer</i>	<i>58</i>	<i>43</i>	<i>49</i>	<i>52</i>	<i>69</i>
Guyane	9	7	8	2	30
Martinique				1	
Mayotte	41	33	40	47	36
Nouvelle-Calédonie	1				
La Réunion	7	3	1	2	3
<i>France métropolitaine</i>				<i>3</i>	
<i>Pays de contamination non précisé</i>	<i>28</i>	<i>36</i>	<i>27</i>	<i>19</i>	<i>23</i>
<i>Précision « aucun voyage »</i>					<i>13</i>
TOTAL	127	143	137	149	194

Depuis 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**.

Depuis janvier 2019, le CNR-ESS envoie un message (« non-conformité ») aux laboratoires expéditeurs quand l'information de voyage n'est pas fournie pour une salmonelle de sérotype majeur avec le texte suivant :

Figure 8. Lettre « notion voyage » sérotypes majeurs.

Cher collègue,

Lors de l'identification d'une souche de salmonelle responsable de fièvre typhoïde ou paratyphoïde (sérotypes Typhi, Paratyphi A, B, C) qui sont des maladies à déclaration obligatoire (D.O.), il est fondamental dans le cadre de la surveillance de pouvoir différencier une infection d'acquisition locale ou d'importation. Comme aucune notion de voyage n'a été indiquée dans les renseignements épidémiologiques associés à l'envoi de cette souche, **pourriez-vous nous confirmer l'absence de voyage à l'étranger au cours des 12 derniers mois ou bien le(s) pays visité(s) avec la date approximative du séjour ?**

A défaut de pouvoir nous fournir ces informations, nous vous prions de nous transmettre les coordonnées utiles à l'obtention de ces renseignements (médecin traitant, médecin prescripteur, patient...) en rapportant le numéro de dossier **[# dossier CNR-ESS]**

Nous vous remercions par avance pour votre participation active à la surveillance de ces infections sévères.

Confraternellement,

2.2.2.2.8 Le sérotype Paratyphi A

En 2019, 46 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi A ont été répertoriées au CNR-ESS pour **41 patients**. Le **tableau 11** précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignements, le lieu de la contamination pour les cas entre 2015 et 2019.

Tableau 11 : Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi A (une par patient) de 2015 à 2019

Pays de contamination	Nombre de patients				
	2015	2016	2017	2018	2019
<i>Afrique</i>	2	8	3	4	3
Guinée					1
Madagascar		1			
Mali			1	2	
Maroc			1		
Maurice				1	
Mauritanie		1			
Sénégal	2	5	1	1	2
Tchad		1			
<i>Asie</i>	16	28	16	23	33
Asie (sans précision)	1	2		1	
Afghanistan					1
Bangladesh	1	1	1	1	
Cambodge	3	4	3	9	8
Chine		1			
Hong-Kong			1		
Inde	5	13	9	10	19
Indonésie	1				
Laos		1			
Myanmar	2	3			1
Népal					1
Pakistan		3		1	3
Sri Lanka			1	1	
Thaïlande	3		1		
<i>Europe</i>					1
Espagne					1
<i>Pays de contamination non précisé</i>	9	12	7	8	3
<i>Précision « aucun voyage »</i>					1
TOTAL	27	48	26	35	41

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 2019, un nombre important de patients (n = 8) ont été encore infectés par *S. Paratyphi A* lors d'un séjour au **Cambodge** ; l'**Inde** restant toutefois la destination associée avec le plus grand nombre de cas (n = 19).

2.2.2.2.9 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. Pour les souches analysées par la méthode phénotypique, la détermination du caractère (dt-) ou (dt+) nécessite jusqu'à sept jours d'analyse. Actuellement, le WGS permet de différencier les souches (dt-) des souches (dt+) sur la base des séquences.

En 2019, 17 souches de *S. enterica* sérotype **Paratyphi B (dt-)** ont été répertoriées au CNR-ESS pour **14** patients, et 51 souches de sérotype **Paratyphi B biotype Java (dt+)** pour **49** patients, en plus de 23 souches du profil monophasique **1,4,[5]:b:- (dt+)** pour **23** patients.

Le **tableau 12** 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 2015 et 2019.

Tableau 12 : Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi B (dt-) (une par patient) de 2015 à 2019

Pays de contamination	Nombre de patients				
	2015	2016	2017	2018	2019
Afrique	0	1	1	1	2
Maroc		1		1	2
Tunisie			1		
Asie	1	3	2	3	1
Indonésie		1			
Irak				1	
Bangladesh				1	
Turquie	1	2	2	1	1
Amérique	1	3	4	4	4
Amérique (sans précision)		1			1
Argentine			1		
Bolivie			3	1	2
Pérou	1	2		3	1
Europe					1
Espagne					1
Pays de contamination non précisé	7	7	7	6	4
Précision « aucun voyage »					2
TOTAL	9	14	14	14	14

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*, suivant les recommandations de la SFM/EUCAST (v1.1 Avril 2020). En 2019, **1 183 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. Trek). 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 = 109) ; **1,4,[5],12:i:-** (n = 87)
- 10 % des souches du sérotype **Typhimurium** (n = 103)
- 50 % des souches des sérotypes suivants : **Newport** (n = 88) ; **Infantis** (n = 140) ; **Derby** (n = 65) ; **Dublin** (n = 41) ; **Virchow** (n = 36) ; **Hadar** (n = 22)
- 100 % des souches pour certains sérotypes comme : **Kentucky** (n = 110), **Paratyphi B biotype Java (dt+)** (n = 51) et son variant monophasique **1,4,[5],12:b:- (dt+)** (n = 23)
- 5% des souches d'autres sérotypes (n = 136 antibiogrammes chez 57 sérotypes)

L'étude de la résistance aux antibiotiques par antibiogrammes classiques par diffusion sur milieu gélosé (disques de BioRad, Marnes-la-Coquette, France) a été réalisée pour toutes les souches (une par patient) des sérotypes **Typhi** (n = 192), **Paratyphi A** (n = 40) 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, cefoxitine ; 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 2020) ont été suivies.

Tableau 13 : 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)	2019 (n = 1 183) (N = 9 215)
Ampicilline	33,9	26,3	21
Céfotaxime	1,1	1,4	1,9
Méropénème	0	0	0
Gentamicine	2,2	9	5,1
Acide nalidixique	14,7	25,8	23,9
Ciprofloxacine	14,7	8,3 (27,5)*	13,9 (25,9)*
Azithromycine	0,1	0,6	0,3
Chloramphénicol	8,6	5,5	6,1
Sulfamides	39,2	30	20,6
Triméthoprimé	6,4	6,0	5,2
Tétracycline	37,0	31	23,6
Colistine	4,9	8,5	5,7

n : Nombre de souches étudiées

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

* : CMI > 0,5 mg/L (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 s'il s'agit d'une infection systémique. 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 (27/109, 24,8 % des souches Enteritidis testées) et Dublin (41/90, 85,4 %) —, mais aussi chez quelques souches d'autres sérotypes : Typhimurium (1/103, 1 %), Kentucky (1/110, 0,9 %), Derby (1/65, 1,5 %) et Newport (2/88, 2,5 %). Cependant, aucun gène de résistance connu n'a été pour l'instant identifié, à l'exception du gène *mcr-1* chez une souche multirésistante du sérotype Kentucky (profil phénotypique AMP-GEN-CIP_{HN}-SMX-TET-COL).

Il a été publié que des variants génétiques au niveau de la synthèse du lipo-polysaccharide (LPS), pourraient rendre certains sérotypes, notamment du groupe D (Enteritidis, Dublin) intrinsèquement moins sensibles à la colistine (Agero *et al.*, Foodborne Pathog Dis, 2012 ; Ricci *et al.*, mBio, 2020). Cela expliquerait nos résultats, similaires aux observations de 2018.

Les données globales de la résistance sont indiquées dans le **tableau 13**. Il est à noter que ce tableau regroupe les résultats obtenus par microdilution pour les sérotypes mineurs, et par antibiogramme sur milieu gélosé pour les sérotypes majeurs.

2.2.3.2 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium : 1993 – 2019

Tableau 14 : 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)	2006 (n = 100) (N = 1 852)	2011 (n = 102) (N = 1 932)	2014 (n = 102) (N = 1 575)	2019 (n = 103) (N = 1 043)
Aminopénicillines ¹	55,2	68,4	64,5	48	57	57,8	43,7
C3G ²	0	0	0,3	0	1	8,8	3,9
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	0	0
Gentamicine	0,3	0,7	0,3	1	1	2	4,9
Acide nalidixique	3	3,6	4	3	6	13,7	7,8
Ciprofloxacine	0	0	0,3	0	0	1	1,9 (11,7) ³
Sulfamides	58,9	70	68	48	65	60,8	36,9
Triméthoprim	0	6	5,3	5	7	18,6	11,7
Chloramphénicol	44,1	61,2	57	38	44	41,2	23,3
Tétracycline	69,6	83,2	71	52	68	56,9	32,0
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	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 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 2019, quatre souches de sérotype Typhimurium produisaient des bêta-lactamases de spectre étendu (BLSE) : une souche contenait le gène *bla*_{CTX-M-1} (profil complet AMP-CTX-GEN-SMX-TMP-TET, sans notion de voyage) ; deux souches avaient le gène *bla*_{CTX-M-9} (profil AMP-CTX-GEN-CIP_{SD}-SMX-TMP-CHL-TET, avec notion de voyage au Maroc) et une souche contenait le gène *bla*_{CTX-M-15} (profil AMP-CTX-GEN-CIP_{HN}-SMX-TMP-CHL-TET, avec notion de résidence en Afrique, sans spécifier le pays).

Parmi les 12 souches de sérotype Typhimurium ayant une résistance à la ciprofloxacine (CIP_{SD}), sept souches portaient des gènes de type *qnr* (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*), susceptibles de transmission horizontale.

Aucune souche de sérotype Typhimurium n'était résistante aux carbapénèmes ni à l'azithromycine. Une souche de ce sérotype avait une CMI = 4 mg/L à la colistine, mais aucun gène de résistance acquis n'a été mis en évidence.

2.2.3.3 Résistance aux antibiotiques du variant 1,4,[5],12:i:- (monophasique) : 2007 – 2019

Tableau 15 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype 1,4,[5],12:i:- (monophasique)

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2007 (n = 50) (N = 121)	2011 (n = 110) (N = 2 143)	2014 (n = 105) (N = 2235)	2016 (n = 196) (N = 1942)	2019 (n = 87) (N = 1748)
Aminopénicillines ¹	64	94,5	86,7	87,2	78,2
C3G ²	0	0	0	2,5	0
Carbapénèmes	nt	nt	0	0	0
Gentamicine	2	0,9	0	2,5	1,1
Acide nalidixique	0	1,8	0	5,1	0
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0 (0) ³
Sulfamides	40	95,5	83,8	91,3	73,6
Triméthoprime	16	4,5	6,7	12,2	5,7
Chloramphénicol	20	1,8	3,8	6,6	2,3
Tétracycline	90	97,8	86,7	84,7	75,9
Azithromycine	nt	nt	0	1,5	0
Colistine	nt	nt	0	4,1	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 2019, 68 souches du sérotype 1,4,[5],12:i:- sur les 87 analysées (78,2 %) étaient résistantes à l'ampicilline, et parmi elles, 49 avaient le profil de multirésistance AMP-SMX-TET (présence des gènes *bla*_{TEM-1B}, *sul2* et *tet(B)*). Aucune souche n'était résistante aux céphalosporines de troisième génération, aux carbapénèmes, à l'azithromycine, aux quinolones ou à la colistine.

2.2.3.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis : 1993 – 2019

Tableau 16 : 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)	2006 (n = 100) (N = 1 264)	2011 (n = 100) (N = 1 221)	2014 (n = 130) (N = 1 507)	2019 (n = 109) (N = 2148)
Aminopénicillines ¹	0	6,8	6,1	4	6	0,8	5,5
C3G ²	0	0	0	0	1	0	0
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Gentamicine	0	0,5	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	0	2	11,1	22	30	22,3	21,1
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	0,9 (16,5) ³
Sulfamides	0	3,9	0	2	1	4,6	1,8
Triméthoprim	0	2,3	0	1	1	0	1,8
Chloramphénicol	0	0,7	0	0	0	0	1,8
Tétracycline	2,8	3,4	3	3	3	0	3,7
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	nt	24,8

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)

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*. Comme expliqué précédemment, ce phénomène a été observé pour plusieurs sérotypes du groupe D, notamment Enteritidis et Dublin, et il semblerait associé à des particularités dans la synthèse du lipo-polysaccharide (LPS) (Agero *et al.*, Foodborne Pathog Dis, 2012 ; Ricci *et al.*, mBio, 2020).

2.2.3.5 Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky : 2002 – 2019

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

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2002 (n = 31) (N = 31)	2006 (n = 55) (N = 56)	2011 (n = 144) (N = 145)	2014 (n = 162) (N = 166)	2019 (n = 110) (N = 112)
Aminopénicillines ¹	22,6	25,5	72,9	69,1	60,9
C3G ²	0	0	3,5	1,2	0,9
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	0
Gentamicine	25,8	16,4	56,3	51,2	46,4
Acide nalidixique	25,8	32,7	81,2	84,6	78,2
Ciprofloxacine	3,2	30,9	81,2	82,1	78,2 (78,2) ³
Sulfamides	29	20	63,9	62,3	68,2
Triméthoprim	3,2	3,6	2,1	8,6	13,6
Chloramphénicol	3,2	1,8	1,4	8	7,3
Tétracycline	35,5	23,6	68,1	74,1	71,8
Azithromycine	nt	nt	1,4	2,5	0,9
Colistine	nt	nt	nt	nt	0,9

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, 2019) 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. Ainsi, seulement 18 des 110 souches analysées de ce sérotype en 2019 (16 %) ont montré un profil de pan-sensibilité aux antibiotiques testés.

En 2019 :

- Une première souche de sérotype Kentucky, avec notion de voyage en Égypte, produisait une BLSE (*bla*_{CTX-M-14}), avec un profil de multirésistance AMP-CTX-GEN-CIP_{HN}-SMX-TET.
- Une deuxième souche de sérotype Kentucky était résistante à l'azithromycine (*mph(A)*). Il s'agissait d'une patiente de 84 ans, hospitalisée, sans notion de voyage. La souche possédait le profil AMP-CIP_{HN}-SMX-TMP-TET-AZI.
- Une troisième souche de sérotype Kentucky était résistante à la colistine, porteuse du gène *mcr-1* dans un contexte de multirésistance AMP-GEN-CIP_{HN}-SMX-TET-COL. Aucune notion de voyage n'a été fournie.

En 2019, aucune souche du sérotype Kentucky n'était résistante aux carbapénèmes.

2.2.3.6 Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby : 2002 – 2019

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

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2002 (n = 39) (N = 128)	2006 (n = 50) (N = 137)	2011 (n = 137) (N = 139)	2014 (n = 43) (N = 118)	2019 (n = 65) (N = 130)
Aminopénicillines ¹	5	2	8,8	4,7	6,2
C3G ²	0	0	1,4	0	0
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	0
Gentamicine	2,6	2	2,2	0	0
Acide nalidixique	2,5	2	0	0	0,5
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0 (7,7) ³
Sulfamides	51,3	76	67,8	60,5	47,7
Triméthoprim	3	8	8	4,7	9,2
Chloramphénicol	0	0	2,2	7,0	4,6
Tétracycline	61,5	80	70,8	60,5	49,2
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	0
Colistine	nt	80	nt	60,5	1,5

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 2019, quatre souches de sérotype Derby montraient une résistance de bas niveau à la ciprofloxacine (CMI = 0,25 mg/L) tout en restant sensibles à l'acide nalidixique (CMI ≤ 4 pour trois souches ; CMI = 8 pour une). Ce profil était causé par le gène plasmidique *qnrS1*. Aucune souche de sérotype Derby n'était résistante aux céphalosporines de 3ème génération, aux carbapénèmes, à la gentamicine, à l'azithromycine ou à la colistine.

2.2.3.7 Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis : 1997 – 2019

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

Antibiotique	% de souches résistantes					
	1997 (n = 40) (N = 179)	2002 (n = 51) (N = 133)	2006 (n = 58) (N = 105)	2011 (n = 58) (N = 165)	2014 (n = 88) (N = 248)	2019 (n = 140) (N = 285)
Aminopénicillines ¹	2,5	2	0	3,4	3,4	5,7
C3G ²	0	0	0	0	1,1	1,4
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	0
Gentamicine	nt	nt	nt	nt	nt	0
Acide nalidixique	0	2	1,7	6,9	17,0	10,7
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	2,9 (10,7) ³
Sulfamides	5	4	0	8,6	19,3	10,7
Triméthoprim	5	0	0	5,2	5,7	5
Chloramphénicol	2,5	2	1,7	0	3,4	0,7
Tétracycline	35	4	5,2	6,9	18,2	12,1
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	0
Colistine	35	nt	5,2	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 2019, deux souches de sérotype Infantis produisaient des BLSE (codées par *bla*_{CTX-M-1} et *bla*_{CTX-M-65}, respectivement). Aucune souche n'était résistante aux carbapénèmes, à l'azithromycine ou à la colistine.

2.2.3.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport : 1997 – 2019

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

Antibiotique	% de souches résistantes					
	1997 (n = 40) (N = 170)	2002 (n = 66) (N = 71)	2006 (n = 88) (N = 91)	2011 (n = 63) (N = 134)	2014 (n = 53) (N = 163)	2019 (n = 88) (N = 179)
Aminopénicillines ¹	27,5	1,5	10,2	4,8	5,7	8
C3G ²	0	1,5	8	0	0	1,1
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	0
Gentamicine	2,5	0	0	1,6	0	0
Acide nalidixique	15	4,5	1,1	3,2	5,7	2,3
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	1,1 (8) ³
Sulfamides	27,5	4,5	11,4	6,3	7,5	5,7
Triméthoprim	27,5	3	3,4	6,3	3,8	2,3
Chloramphénicol	25	1,5	9,1	1,6	0	3,4
Tétracycline	45	3	12,5	6,3	7,5	6,8
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	1,1
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	2,3

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)

En 2019 :

- Une souche de sérotype Newport produisait une céphalosporinase de type AmpC (*bla*CMY-2). Elle était par ailleurs résistante à d'autres antibiotiques, avec un profil complet de résistance AMP-CTX-FOX-SMX-CHL-TET.
- Une deuxième souche de sérotype Newport était résistante à l'azithromycine (CMI \geq 64 mg/L); elle portait le gène *mph(A)*. La souche avait un profil de multi-résistance AMP-CIP_{SD}-SMX-TMP-CHL-TET-AZI, produit par les gènes *bla*_{CARB-2}, *sull1*, *dfrA1*, *floR*, *tetA*, *mph(A)* et *qnrA1*. Aucune notion de voyage n'a été rapportée.
- Deux autres souches de sérotype Newport avaient une CMI \geq 4 mg/L à la colistine, mais aucun gène de type *mcr* n'a été mis en évidence dans les génomes. L'une des souches, isolée en Guyane, portait le gène *qnrB19* qui conférait à cette souche une résistance à la ciprofloxacine.

2.2.3.9 Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar : 1997 – 2019

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

Antibiotique	% de souches résistantes				
	1997 (n = 200) (N = 1067)	2003 (n = 40) (N = 157)	2006 (n = 40) (N = 114)	2009 (n = 168) (N = 168)	2019 (n = 22) (N = 44)
Aminopénicillines ¹	78	42,5	50	68,5	9,1
C3G ²	0	0	0	0	4,5
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	0
Gentamicine	nt	nt	nt	nt	0
Acide nalidixique	84	65	80	33,9	86,4
Ciprofloxacine	0	0	0	0	86,4 (86,4) ³
Sulfamides	5	0	6	1,2	9,1
Triméthoprim	3,5	2,5	6	0,6	9,1
Chloramphénicol	1	0	0	0	0
Tétracycline	88	92,5	94	90,5	95,5
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	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 2019, la résistance à l'acide nalidixique et la sensibilité diminuée à la ciprofloxacine concernaient 20 des 22 souches humaines du sérotype Hadar (86,4 %). Et 21 des 22 souches (95,5 %) étaient résistantes à la tétracycline. Une souche de sérotype Hadar présentait un phénotype BLSE. La souche, multirésistante, portait les gènes de résistance *bla*_{CTX-M-1}, avec un profil AMP-CTX-CIP_{SD}-TET. Aucune notion de voyage n'a été décrite pour le patient. Aucune souche de sérotype Hadar n'était résistante aux carbapénèmes, à la gentamicine, à l'azithromycine, au chloramphénicol ou à la colistine.

2.2.3.10 Résistance aux antibiotiques du sérotype Dublin : 2019

Depuis 2018, le CNR-ESS analyse les souches de sérotype Dublin, du fait de son invasivité (seulement le 24,4 % des prélèvements étaient issus des selles, le reste étant issu de sang, d'urines, de liquide ascitique, de liquide synovial ou de liquide péricardique) et seulement 26,6 % des patients avaient ≥ 60 ans.

Tableau 22 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Dublin

Antibiotique	% de souches résistantes	
	2018 (n = 44) (N = 94)	2019 (n = 41) (N = 90)
Aminopénicillines ¹	4,5	2,4
C3G ²	0	0
Carbapénèmes	0	0
Gentamicine	0	0
Acide nalidixique	0	4,9
Ciprofloxacine	0 (2,3) ³	4,9 (4,9) ³
Sulfamides	0	2,4
Triméthoprim	0	2,4
Chloramphénicol	0	0
Tétracycline	6,8	2,4
Azithromycine	0	0
Colistine	0	85,4

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 2019, les souches de *Salmonella* de sérotype Dublin étaient dans la plupart des cas sensibles aux antibiotiques, et aucune souche n'était résistante aux C3G, aux carbapénèmes, à la gentamicine ou à l'azithromycine. Cependant, il est à noter le pourcentage de souches avec CMI = 4–8 mg/L à la colistine (35 des 41 souches analysées, 85,4 %). Comme pour le cas du sérotype Enteritidis, aussi membre du groupe D, des mécanismes liés à la synthèse du LPS pourraient être impliqués dans ce phénomène.

2.2.3.11 Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow : 1997 – 2019

Tableau 23 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Virchow

Antibiotique	% de souches résistantes					
	1997 (n = 50) (N = 501)	2002 (n = 40) (N = 126)	2006 (n = 98) (N = 101)	2011 (n = 51) (N = 55)	2014 (n = 48) (N = 52)	2019 (n = 36) (N = 71)
Aminopénicillines ¹	26	5	6,1	3,6	12,5	5,6
C3G ²	0	0	1	0	0	2,8
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	0
Gentamicine	0	0	3	3,9	6,3	2,8
Acide nalidixique	24	45	32,7	7,8	39,6	41,7
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	5,6 (50) ³
Sulfamides	12	10	13,3	7,8	18,8	0
Triméthoprim	20	5	13,3	7,8	18,8	0
Chloramphénicol	6	2,5	3	0	0	0
Tétracycline	24	5	9,2	9,8	27,1	2,8
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	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 2019, une souche de sérotype Virchow était productrice d'une BLSE (*bla_{SHV-12}*), avec un profil de multirésistance AMP-CTX-CIP_{SD}-TET. La résistance à l'acide nalidixique et la sensibilité diminuée à la ciprofloxacine concernaient 50 % des souches humaines du sérotype Virchow, comme en 2018. Aucune souche du sérotype Virchow n'avait présenté de résistance aux carbapénèmes, à l'azithromycine ou à la colistine.

2.2.3.12 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi : 1997 – 2019

Tableau 24 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhi

Antibiotique	% de souches résistantes					
	1997 (n = 40) (N = 170)	2002 (n = 40) (N = 133)	2006* (n = 106) (N = 111)	2011* (n = 102) (N = 102)	2014* (n = 99) (N = 108)	2019 (n = 192) (N = 194)
Aminopénicillines ¹	0	2,5	12,3	13,7	4,0	12,5
C3G ²	0	0	0	0	0	5,7
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	0
Gentamicine	nt	nt	nt	nt	nt	0
Acide nalidixique	0	7,5	37,7	39,2	44,4	37
Ciprofloxacine	0	0	0	3,9	8,1	9,4 (38,5) ³
Cotrimoxazole	5	7,5	12,3	13,7	8,1	14,1
Chloramphénicol	7,5	7,5	12,3	12,7	6,1	13,5
Tétracycline	5	7,5	12,3	4,9	2,0	2,1
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	0

* : Souches isolées en France métropolitaine excluant les souches provenant de Mayotte et des Antilles-Guyane

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, à considérer résistant si infection systémique)

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 *bla_{CTX-M-15}*. En 2019, le nombre de souches BLSE a augmenté à 11, toutes productrices de *bla_{CTX-M-15}*, et toutes isolées de patients avec notion de voyage au Pakistan. Les 11 souches étaient du génotype 4.3.1.1.P1. Le profil de résistance AMP-CTX-CIP_{HN}-SMX-TMP-CHL indique qu'il s'agit toujours du clone épidémique décrit dans ce pays depuis 2016 (Klemm *et al.* Mbio 2018).

En 2019, 18 souches résistantes à haut niveau à la ciprofloxacine (CMI > 0,5 mg/L), toutes étaient associées à une notion de séjour en Asie (Bangladesh, Cambodge, Inde, Pakistan ou Sri Lanka) sauf une, pour laquelle la notion de voyage était en Afrique (Mali). Toutes du génotype 4.3.1.1.P1.

Sur les 69 souches en provenance ou avec notion de voyage en Outre-mer analysées en 2019, seules cinq (5,9 %), étaient résistantes à l'acide nalidixique (avec sensibilité diminuée à la ciprofloxacine, CMI entre 0,06 et 0,5 mg/L). Une souche en provenance de Mayotte a montré un profil de multirésistance : AMP-SMX-TMP-CHL. Le patient, un enfant de 6 ans, avait séjourné récemment en Tanzanie. Aucune souche de sérotype Typhi n'était résistante aux carbapénèmes, à la gentamicine, à l'azithromycine ou à la colistine (la colistine ne fait pas partie des antibiogrammes sur milieu solide, mais aucun gène de résistance du type *mcr* n'a été détecté par l'analyse WGS).

2.2.3.13 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A : 2005 – 2019

Tableau 25 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi A

Antibiotique	% de souches résistantes			
	2006 (n = 21) (N = 33)	2011 (n = 31) (N = 32)	2014 (n = 43) (N = 46)	2019 (n = 40) (N = 41)
Aminopénicillines ¹	0	0	0	0
C3G ²	0	0	0	0
Carbapénèmes	nt	nt	nt	0
Gentamicine	nt	nt	nt	0
Acide nalidixique	71,4	90,3	27,9	95
Ciprofloxacine	0	0	0	7,5 (95) ³
Cotrimoxazole	0	0	0	0
Chloramphénicol	0	0	0	0
Tétracycline	0	0	0	0
Azithromycine	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 2019, sur les 40 souches de sérotype Paratyphi A analysées, 35 étaient résistantes à l'acide nalidixique et avec une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine, et trois souches avaient une résistance à la ciprofloxacine de > 5 mg/L. Pour toutes, à l'exception de deux souches avec sensibilité diminuée à la ciprofloxacine, une notion de séjour à l'étranger précédant les symptômes, était indiquée. Il s'agissait de séjours en Asie pour 32 souches (Inde, n = 18 ; Cambodge, n = 8 ; Pakistan, n = 3 ; Afghanistan, n = 1 ; Myanmar, n = 1 ; Népal, n = 1) et en Afrique pour trois souches (Sénégal, n = 2 ; Guinée, n = 1). Pour un patient le seul voyage récent notifié était en Espagne. Aucune souche de *Salmonella* Paratyphi A n'était résistante aux autres antibiotiques.

2.2.3.14 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B : 2002 – 2019

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+).

En 2019, nous avons voulu analyser également les souches de profil monophasique 1,4,[5],12:b:- (dt+), pour voir si les profils de résistance étaient différents de ceux des souches diphasiques de sérotype Paratyphi B biotype Java.

Tableau 26 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi B

Antibiotique	% de souches résistantes								
	2002 * (n = 78) (N = 78)	2006 * (n = 35) (N = 51)	2011 * (n = 37) (N = 38)	2014 * (n = 41) (N = 48)	2018 (dt-) (n = 14) (N = 14)	2018 Java (dt+) (n = 27) (N = 35)	2019 (dt-) (n = 14) (N = 14)	2019 Java (dt+) (n = 51) (N = 51)	2019 1,4,[5],12:b:- (dt+) (n = 23) (N = 23)
Aminopénicillines ¹	28,2	8,6	8,1	12,2	0	22,2	0	3,9	4,3
C3G ²	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Carbapénèmes	nt	nt	nt	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	0	0	0	0	0	4,3
Acide nalidixique	0	2,9	21,6	4,9	42,9	0	7,1	0	0
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0 (42,9) ³	0 (3,7) ³	7,1 (7,1) ³	0 (0) ³	0 (4,3) ³
Sulfamides	29,5	8,6	10,8	22,0	0	29,6	0	5,9	0
Chloramphénicol	7,7	0	2,7	9,8	0	11,1	0	2	0
Tétracycline	24,4	8,6	5,4	4,9	0	14,8	0	7,8	0
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	0	0	0	2	0

* : Sérotypes Paratyphi B (dt-) et biotype Java ensemble

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 2019, une seule souche de sérotype Paratyphi B (dt-) était résistante à l'acide nalidixique et à la ciprofloxacine (CMI de 1 mg/L). Isolée en Île-de-France, aucune notion de voyage n'était rapportée. Les autres souches de sérotype Paratyphi B (dt-) étaient sensibles à tous les antibiotiques.

En 2019 :

- La résistance dominante des souches humaines du sérotype Paratyphi B biotype Java (dt+) était celle à la tétracycline (n = 4 souches, 7,8 %).
- Une souche isolée en Guadeloupe avait un profil de multirésistance AMP-SMX-CHL-TET.
- Pour la première fois une souche du sérotype Paratyphi B biotype Java (dt+) était résistante à l'azithromycine (CMI \geq 64 mg/L ; *mph(A)*). La souche, également résistante à l'ampicilline (CMI \geq 64 mg/L ; *blaTEM-1*), avait été isolée en France métropolitaine, sans notion de voyage.
- Une souche, isolée au retour d'un voyage en Indonésie, avait montré une CMI = 4 mg/L pour la colistine. Cependant, la souche ne codait pour aucun gène du type *mcr*.

En 2019, les souches monophasiques 1,4,[5],12:b:- (dt+) étaient majoritairement sensibles aux antibiotiques. Une souche avait une CMI = 4 mg/L pour la colistine, en absence de gène *mcr*.

2.2.3.15 Résistance aux antibiotiques des autres sérotypes

En 2019, un tirage au sort sur les sérotypes non analysés habituellement a été réalisé dans le but d'analyser 5 % des souches de ces sérotypes.

Tableau 27 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques des autres sérotypes

Antibiotique	% de souches résistantes
	57 sérotypes différents (n = 136) (N = 2 697)
Aminopénicillines ¹	5,1
C3G ²	1,5
Carbapénèmes	0
Gentamicine	0,7
Acide nalidixique	1,5
Ciprofloxacine	7,4 (7,4) ³
Sulfamides	5,9
Triméthoprime	6,6
Chloramphénicol	1,5
Tétracycline	8,1
Azithromycine	0
Colistine	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)

Les 57 différents sérotypes étaient globalement relativement sensibles aux antibiotiques. Les résistances les plus fréquentes étaient vis-à-vis de l'ampicilline, des quinolones, des sulfamides, du triméthoprime et de la tétracycline.

2.2.3.16 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*.

Dans les pages suivantes, les tableaux de 28 à 32 montrent en détail les gènes de résistance aux bêta-lactamines (BLSE, céphamycinase, carbapénémase), à l'azithromycine et à la colistine, retrouvés chez les salmonelles en 2019.

SALMONELLA

Tableau 28 : Salmonella contenant des gènes de BLSE

Gènes	Sérotypes (n)		
	2017	2018	2019
<i>bla</i> _{CTX-M-1}	4,[5],12:i:- (1) Corvallis (1) Derby (1) Goldcoast (1) Infantis (1)	Typhimurium (1) London (1)	Typhimurium (4) Bredeney (1) Hadar (1) Infantis (1) Livingstone (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-3}	Agbeni (1) Derby (1) Mbandaka (1)	Telelkebir (1) Agama (1)	0
<i>bla</i> _{CTX-M-9}	Rissen (1) Typhimurium (24)	Typhimurium (13)	Typhimurium (15)
<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)	Alachua (1) Kentucky (1) Rissen (1) 1,4,[5],12:i:- (monophasique) (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-15}	0	Typhi (3) Typhimurium (3) Rissen (2) Agona (1) Hessarek (1)	Typhi (11) Typhimurium (3) 1,4,[5],12:i:- (monophasique) (2) Cerro (1) Derby (1) Dublin (1) Rissen (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-32}	0	Newport (1) Infantis (1)	0
<i>bla</i> _{CTX-M-55}	4,[5],12:i:- (2) Give (1) Kentucky (1) Newport (2)	4,[5],12:i:- (1) Meleagridis (1)	1,4,[5],12:i:- (monophasique) (2) Uganda (2) Bovismorbificans (1) Schwarzengrund (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-65}	Infantis (2)	Infantis (3)	Infantis (7) Indiana (1)
<i>bla</i> _{SHV-12}	4,[5],12:i:- (1)	Napoli (1) Kentucky (1)	Virchow (1)
<i>bla</i> _{TEM-35}	0	0	Bredeney (1) Enteritidis (1)
<i>bla</i> _{TEM-52}	Derby (1)	0	0

n : Nombre de souches étudiées

Tableau 29 : *Salmonella* contenant des gènes de céphalomycinase

Gènes	Sérotypes (n)		
	2017	2018	2019
<i>bla</i> _{AAC-3}	Enteritidis (1)	Typhimurium (1)	0
<i>bla</i> _{ACT-7}	0	0	Dublin (1)
<i>bla</i> _{ACT-12}	0	0	IIIa. 48:z4,z23:- (1)
<i>bla</i> _{CMY-2}	Typhimurium (2) Derby (1) Kentucky (2) Miami (1) Minnesota (1) Stanley (1)	Typhimurium (2) 63:-: (1)	Minnesota (2) Typhimurium (2) Agona (1) Bovismorbificans (1) Haifa (1) Newport (1)
<i>bla</i> _{CMY-4}	Typhimurium (2)	Typhimurium (1)	0
<i>bla</i> _{CMY-48}	0	Typhimurium (1)	0
<i>bla</i> _{CMY-66}	0	0	Zanzibar (1)
<i>bla</i> _{CMY-74}	Derby (1) Typhimurium (1)	0	0
<i>bla</i> _{CMY-78}	0	0	Newport (1)
<i>bla</i> _{CMY-83}	0	0	Enteritidis (1)
<i>bla</i> _{CMY-110}	0	0	Schwarzengrund (1)
<i>bla</i> _{DHA-1}	4,[5],12:i:- (1) Kentucky (1)	4,[5],12:i:- (1) Anatum (2) Chester (1)	1,4,[5],12:i:- (monophasique) (3) Anatum (1)
<i>bla</i> _{DHA-2}	0	Weltevreden (1)	0
<i>bla</i> _{DHA-4}	0	Sandiego (1)	Colorado (1) Montevideo (1)
<i>bla</i> _{DHA-13}	0	Kentucky (1)	Enteritidis (1)
<i>bla</i> _{DHA-16}	0	0	Napoli (1)
<i>bla</i> _{DHA-22}	0	0	1,4,[5],12:i:- (monophasique) (1)

n : Nombre de souches étudiées

Tableau 30 : *Salmonella* contenant des gènes de carbapénèmase

Gènes	Sérotypes (n)		
	2017	2018	2019
<i>bla</i> _{OXA-48}	Kentucky (3) Poona (1) Postdam (1) Saintpaul (1)	4,[5],12:i:- (1) IIIa. 48:z4,z23:- (1) Derby (1) Enteritidis (2) Kentucky (1) Napoli (1) Typhi (1)	Baidon (1) Enteritidis (1) Virchow (1)
<i>bla</i> _{VIM-1}	0	Typhimurium (1)	0
<i>bla</i> _{VIM-2}	Kentucky (5)	0	0
<i>bla</i> _{NDM-1}	Westhampton (1)	0	0
<i>bla</i> _{NDM-2}	Kentucky (1)	0	1,4,[5],12:i:- (monophasique) (1)

n : Nombre de souches étudiées

SALMONELLA

Tableau 31 : *Salmonella* contenant des gènes de résistance à l'azithromycine

Gènes	Sérotypes (n)		
	2017	2018	2019
<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)	Blockley (5) Rissen (4) 1,4,[5],12:i:- (monophasique) (3) Enteritidis (2) Indiana (2) Napoli (2) Java (1) Kentucky (1) Newport (1) Schwarzengrund (1) Typhimurium (1)
<i>mph(B)</i>	0	0	1,4,[5],12:i:- (monophasique) (2) Typhimurium (2) Saintpaul (1)
<i>mph(E)</i>	0	0	Ohio (1)

n : Nombre de souches étudiées

Tableau 32 : *Salmonella* contenant des gènes de résistance à la colistine

Gènes	Sérotypes (n)		
	2017	2018	2019
<i>mcr-1</i>	4,[5],12:i:- (14)	4,[5],12:i:- (7) Kentucky (1) Typhimurium (1)	1,4,[5],12:i:- (monophasique) (3) Kentucky (1)
<i>mcr-3</i>	4,[5],12:i:- (4) Typhimurium (1)	4,[5],12:i:- (2)	1,4,[5],12:i:- (monophasique) (3)
<i>mcr-5</i>	0	Typhimurium (1)	0

n : Nombre de souches étudiées

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 2019 ont concerné :

- **434 foyers de cas groupés** d'infections à *Salmonella* signalés par les laboratoires correspondants en 2019 (**422 foyers de cas groupés** déclarés en 2018)
- 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 sur l'ensemble des sérotypes identifiés

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...),
- Notifications de la part du CNR-ESS suite à l'identification d'un groupement génomique émergent (cgMLST),
- 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, via **SpF**, 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 2019, le CNR-ESS a adressé au CCOMS les nouveaux sérotypes, ou nouveaux variants, putatifs suivants :

- Le nouveau sérotype de *Salmonella enterica* sous-espèce *enterica* de formule antigénique 16:y:l,w
- Le nouveau sérotype de *Salmonella bongori* de formule antigénique 40:z₄₁:-

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>

Le CNR-ESS fait partie du réseau européen « Epidemic Intelligence Information System for the Food- and Waterborne Diseases Network » (EPIS-FWD) du Centre Européen pour la Prévention et le Contrôle des Maladies (ECDC, son acronyme en anglais). Ensemble avec Santé publique France, le CNR-ESS a lancé ou répondu à 38 alertes sur EPIS-FWD relatives à des épidémies à *Salmonella* en 2019.

2.2.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

En 2019, le CNR-ESS était membre d'un consortium ayant obtenu un financement par le programme One Health European Joint Programme (OHEJP) de la Commission Européenne dont le but est d'améliorer la surveillance des *S. Enteritidis* chez la volaille : le Projet ADONIS (*Assessing Determinants Of the Non-decreasing Incidence of Salmonella*).

2.3 Alerte

En 2019, le CNR-ESS a participé à l'investigation de **44 TIAC en France**. Nous présentons ici les 15 épidémies comprenant au moins 10 cas :

⇒ *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:- ST19, CT_1, plusieurs départements

Le 11 mars 2019, le **LNR** à l'Anses informait d'un lien génétique entre des souches isolées d'échantillons de **saucisson sec** et 27 séquences de souches humaines déposées par le CNR-ESS sur Enterobase. Les dates de prélèvement des souches humaines étaient situées entre 2018 et 2019. Ces souches appartenaient au clone de *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:- ST19 CT_1, **HC5_88279**. À la fin de l'année 2019, 44 souches avaient été identifiées dans plusieurs régions, de manière dispersée au cours de l'année.

⇒ *S. enterica* sérotype Montevideo ST316, dépt. 83

Au cours des semaines 12 et 13 de 2019, une TIAC en lien avec une **chaîne de restauration rapide** affectait 83 personnes du dépt. 83. Vingt-quatre souches ont été analysées par le CNR-ESS. La souche identifiée avait un profil **HC5_176432**.

⇒ *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:- ST34, dépt. 06 et Monaco

En avril 2019, le laboratoire de bactériologie du CH Princesse Grace de **Monaco** notifiait une TIAC familiale impliquant trois habitants du dépt. 06, et possiblement liée à la consommation d'œufs contaminés. Le cgMLST a permis d'identifier treize cas additionnels en lien avec cette TIAC, à partir de prélèvements effectués entre fin février et mi-avril 2019. L'un des cas habitait à Monaco, les autres en région Provence-Alpes-Côte d'Azur. La souche identifiée avait un profil **HC5_171775**.

⇒ *S. enterica* sérotype Enteritidis ST11, Île-de-France

En avril 2019, dix-neuf souches étaient envoyées au CNR-ESS par plusieurs laboratoires d'Île-de-France avec une notion de TIAC liée à un **vol de retour d'Algérie**. Aucune source alimentaire n'a pu être confirmée. La souche était de sérotype Enteritidis et **HC5_179398**.

⇒ *S. enterica* sérotype Infantis ST32, plusieurs départements du Nord-Ouest de la France

Entre mars et juin 2019, un total de 29 souches était reçu au CNR-ESS en provenance de laboratoires de Bretagne, Normandie, Pays-de-la-Loire, Île-de-France, Centre-Val-de-Loire et de deux départements du nord de la région Nouvelle-Aquitaine. L'aliment incriminé était un **filet-mignon de porc fumé**. La souche responsable était de sérotype Infantis et présentait le profil **HC5_181229**.

⇒ *S. enterica* sérotype Newport ST118, dépt. 31

En mai 2019, une TIAC était déclarée dans un établissement médico-social du dépt. 31. Le CNR-ESS a analysé 12 souches de sérotype Newport et **HC5_123854**. L'aliment incriminé était une **salade verte avec des noix**, mais la souche isolée de l'aliment n'a pas pu être comparée par WGS avec les souches humaines.

⇒ *S. enterica* sérotype Typhimurium ST19, CT_160, plusieurs départements

Au cours du mois de juillet 2019, une TIAC liée à la consommation de **coppa** contaminée était déclarée. Le CNR-ESS a analysé 83 souches en provenance de **36 départements**. La souche épidémique était de sérotype Typhimurium et de **HC5_158233**.

⇒ *S. enterica* sérotype Muenster ST321, dépt. 84

En juillet et août 2019, une TIAC de vingt cas était déclarée dans le sud-ouest de la France. L'aliment incriminé était un **fromage de chèvre produit dans le dépt. 84**, conduisant à la fermeture temporaire de la ferme produisant le fromage. La souche était de sérotype Muenster et de **HC5_198134**.

⇒ *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:- ST34, dépt. 32

À la fin du mois d'août 2019, une TIAC était déclarée dans le dépt. 32, en association à de la consommation de **canard séché** pendant un festival à Marciac. Il s'agissait d'une souche du variant monophasique du sérotype Typhimurium (4,[5],12:i:-). Son profil **HC5_111251, HC2_122719** était le même que celui du « **Cluster A** », identifié au CNR-ESS en 2018, en lien avec de la consommation de charcuterie. Douze cas avec notion de consommation du canard incriminé, ainsi qu'un échantillon de ce canard ont été analysés au CNR-ESS, ce qui a permis de confirmer l'origine de la contamination.

⇒ *S. enterica* sérotype Typhimurium ST19, CT_96, Île-de-France

En septembre 2019, une TIAC familiale était déclarée en Île-de-France. Quinze souches ont été analysées au CNR-ESS. La souche épidémique était de sérotype Typhimurium et **HC5_198221**.

⇒ *S. enterica* sérotype Enteritidis ST11, dépt. 69

En octobre 2019, 10 souches étaient reçues au CNR-ESS en provenance du dépt. 69. Une consommation d'**œufs « bio »** achetés au marché local avait été rapportée par la plupart des patients. La souche épidémique de *Salmonella* était de sérotype Enteritidis et **HC5_149943**.

⇒ *S. enterica* sérotype Enteritidis ST11, dépt. 48

En octobre 2019, le CNR-ESS recevait 29 souches de 27 cas issus d'une TIAC en Occitanie. Une épidémie scolaire avait débuté le 6 octobre 2019 et affectait environ 200 élèves (50 de lycée et 150 de collège) et deux membres du personnel. La souche épidémique était de sérotype Enteritidis et avait le profil **HC5_156102**. La restauration scolaire, et plus particulièrement des œufs, avaient été incriminés.

⇒ *S. enterica* sérotype Enteritidis ST11, Auvergne-Rhône-Alpes

Le 5 octobre 2019, une TIAC (14 cas) dans une cantine scolaire était déclarée dans le dépt. 38. Le CNR-ESS a reçu un total de 69 souches de sérotype Enteritidis et de profil **HC5_149798**.

⇒ *S. enterica* sérotype Typhimurium ST19, CT_31, Île-de-France

En octobre 2019, le CNR-ESS recevait 10 souches en provenance de différents laboratoires d'Île-de-France. La souche était de sérotype Typhimurium et **HC5_209302**. Aucun aliment n'a pu être incriminé.

⇒ *S. enterica* sérotype Infantis ST32, dépt. 34

En décembre 2019, le CNR-ESS recevait 19 souches liées à une TIAC en lien avec la **viande de porc** préparée par un traiteur local. La souche épidémique était de sérotype Infantis et **HC5_2016730**.

⇒ *S. enterica* sérotype Eastbourne ST474, dépt. 78

En novembre 2019, une épidémie était identifiée dans un **hôpital pédiatrique** de la région d'Île-de-France. Le CNR-ESS a reçu huit souches, ce qui a permis d'identifier la souche épidémique comme étant de sérotype Eastbourne et **HC5_218702**.

En 2019, Santé publique France, en étroite collaboration avec le CNR-ESS, a **lancé les alertes européennes suivantes sur le réseau EPIS-FWD de l'ECDC** :

⇒ *S. enterica* sérotype 1,4,[5],12:i:- en lien avec du porc (04/01/2019, UI-532)

Depuis novembre 2018, le CNR-ESS avait reçu 23 souches de *S. enterica* sérotype 1,4,[5],12:i:- ST34, CT_1, appartenant au cluster génomique HC5_302 (LegacyHC5_157729 selon l'ancien schéma Enterobase). La plupart des cas étaient liés à la consommation de charcuterie.

⇒ *S. enterica* sérotype Poona et poudre de lait infantile (21/01/2019, UI-537)

En janvier 2019, un groupement de quatre souches de *S. Poona* ST308, HC5_164707 était identifié chez des nourrissons. Les souches avaient été reçues au CNR-ESS entre le 20 et le 24 décembre 2018. Les investigations initiales avaient détecté une même marque de lait de riz infantile. Au total, 30 cas ont été confirmés en France, un cas en Belgique et un cas au Luxembourg. Le produit était fabriqué dans une usine en Espagne. La tour de séchage impliquée a été fermée le 22 janvier 2019 et les lots des deux formules commercialisées en France ont été rappelés les 24 et 25 janvier 2019. Un produit à base de lait fabriqué dans cette même usine et commercialisé exclusivement en Espagne, était également rappelé par les autorités espagnoles le 12 février 2019. Ce dernier était contaminé par le même sérotype de *Salmonella* mais aucune comparaison génomique n'a pu être effectuée. Un article a été publié dans Eurosurveillance, (Jones *et al.*, doi.org :10.2807/1560-7917.ES.2019.24.13.1900161).

⇒ *S. enterica* sérotype Enteritidis et fromage de brebis (26/07/2019, UI-580)

Le 26 juillet 2019, 20 cas de salmonellose à *S. Enteritidis* ST11, HC5_185027 étaient identifiés, suite à des prélèvements effectués entre le 28 mai et le 5 juillet 2019. Les patients avaient un âge moyen de 29 ans (entre 1 et 88) et habitaient dans 5 régions différentes. Sept patients avaient rapporté la consommation de fromage au lait cru de brebis. *S. Enteritidis* avait été isolé d'un échantillon du fromage consommé par plusieurs membres d'une même famille. Le produit aurait été distribué en Allemagne, en Autriche, en Espagne et aux Pays-Bas (RASFF 2019.2657). Il a fait l'objet d'un retrait-rappel le 19 juillet 2019.

⇒ *S. enterica* sérotype Stanley (02/09/2019, UI-595)

Un groupement de 44 souches de *S. Stanley* ST2045, HC5_198993 était identifié en septembre 2019. Les prélèvements avaient été réalisés entre le 29 juin et le 21 août 2019, dans 11 régions de France. L'âge moyen des patients était de 14 ans (entre 1 et 85). Vingt-cinq patients étaient des femmes. Sept cas avaient été identifiés en Belgique. Aucun aliment n'a pu être incriminé.

⇒ *S. enterica* sérotype Bovismorbificans et viande de cheval (13/09/2019, UI-600)

Vingt-six cas de salmonellose à *S. Bovismorbificans* ST1499, HC5_67638 ont été détectés dans la région Hauts-de-France, avec des dates de prélèvement entre le 4 août et le 6 octobre 2019. La consommation de viande de cheval était rapportée par la plupart des cas.

⇒ *S. enterica* sérotype Enteritidis lié à la consommation d'œufs (24/12/2019, UI-620)

Un groupement génomique de 33 souches de *S. Enteritidis* ST11, HC5_145416 avait été identifié dans la région Provence-Alpes-Côte d'Azur à partir de prélèvements obtenus entre le 3 mai et le 8 décembre 2019. La plupart des patients avaient présenté des symptômes entre les semaines 36 et 46 de 2019. L'âge moyen était de 48 ans, et la proportion H/F était de 1,5. Une notification (RASSF 2020.0125) était émise début 2020 avec la suspicion de consommation d'œufs « bio » d'origine italienne. L'Italie avait par la suite déclaré 21 cas appartenant au même groupement génomique entre septembre et novembre 2019 dans le nord du pays.

Des cas de salmonellose identifiés en France en 2019 ont fait partie de huit épidémies **notifiées sur EPIS-FWD par d'autres pays** :

⇒ UI-579-NL : *S. enterica* sérotype Enteritidis lié à la consommation d'œufs (23/07/2019)

Les Pays-Bas avaient notifié une augmentation de cas associés à *S. Enteritidis* ST11, HC5_2127 à partir de juillet 2019. Cinq cas français avaient été détectés. Ils provenaient tous de la région Grand-Est et les enquêtes s'étaient orientées vers la consommation d'œufs.

⇒ UI-584-AT : *S. enterica* sérotype Enteritidis lié à de la restauration asiatique (01/08/2019)

L'Autriche avait notifié un groupement épidémique entre juin et août 2019, en lien avec de la restauration chinoise/japonaise (RASSF 2019.2765). La souche de *S. Enteritidis* ST11, HC5_1358 avait causé 58 cas en France en 2019, mais sans lien épidémiologique retrouvé entre les cas.

⇒ UI-601-NL : *S. enterica* sérotype Enteritidis lié à la consommation d'œufs (20/09/2019)

Les Pays-Bas notifiaient en septembre 2019 une TIAC familiale au tiramisù préparé à partir d'œufs d'origine espagnole (RASSF 2019.3069). Le profil cgMLST du clone de *S. Enteritidis* ST11 était HC5_2301. En France, plus de 48 souches avaient le même profil HC5 depuis 2018. Par analyse des SNP le nombre de cas possiblement associés à l'épidémie était limité à 13, avec cinq isolats de 2018 et neuf de 2019, mais sans contexte épidémique.

⇒ UI-606-UK : *S. enterica* sérotype Mikawasima (21/10/2019)

En octobre 2019, le Royaume-Uni lançait une alerte, alors que le CNR-ESS et SpF étaient en train d'investiguer une augmentation du nombre de cas de *S. Mikawasima* ST1815, HC5_203704. Un total de 19 cas était identifié en France avec des prélèvements étalés entre le 14 septembre et le 15 octobre. Il s'agissait de douze femmes et sept hommes, avec un âge moyen de 40 ans. Une partie importante de ces cas habitait dans le nord de la France. Des tomates de type cherry étaient suspectés dans les deux pays, sans que cela puisse être confirmé.

⇒ UI-608-BE : *S. enterica* sérotype Enteritidis lié à la consommation d'œufs (24/10/2019)

La Belgique déclarait en octobre 2019 une TIAC scolaire causée par une souche de *S. Enteritidis* ST11 de profil HC5_12622. Une sauce tartare était incriminée. En France, 13 cas avaient été rapportés entre avril et septembre 2019 chez des adultes. Six d'entre eux avaient indiqué une fréquentation de restaurants asiatiques. Les enquêtes, centrées sur des œufs d'origine espagnole, n'avaient pu déboucher sur une identification formelle de la source.

⇒ UI-611-DE : *S. enterica* sérotype Agona lié à la consommation de kebab (31/10/2019)

En octobre 2019, l'Allemagne notifiait une TIAC à *S. Agona* ST13 HC5_7392 liée à la consommation de kebabs, possiblement associée à la notification RASSF 2019.3655 (kebabs surgelés au bœuf et au poulet). En France, six cas avaient été identifiés entre juillet et septembre 2019, mais aucun aliment n'a pu être incriminé.

Par ailleurs, le CNR-ESS et SpF ont répondu à 26 **alertes européennes pour lesquelles aucun cas n'avait été identifié en France** :

- ⇒ UI-533-CH, *S. enterica* sérotype Muenchen, Suisse (07/01/2019)
- ⇒ UI-534-US, *S. enterica* sérotype Paratyphi B biotype Java, États-Unis (10/01/2019)
- ⇒ UI-538-NZ, *S. enterica* sérotype Typhimurium, Nouvelle Zelande (22/01/2019)
- ⇒ UI-542-NL, *S. enterica* sérotype Entertidis, Pays-Bas (14/02/2019)
- ⇒ UI-543-NO, *S. enterica* sérotype Agbeni, Norvège (22/02/2019)
- ⇒ UI-544-CH, *S. enterica* sérotype Derby, Suisse (22/02/2019)
- ⇒ UI-547-UK, *S. enterica* sérotype Agona, Royaume-Uni (08/03/2019)
- ⇒ UI-550-SI, *S. enterica* sérotype Typhimurium, Slovénie (15/04/2019)
- ⇒ UI-553-LV, *S. enterica* sérotype Abony, Lettonie (16/04/2019)
- ⇒ UI-559-DE, *S. enterica* sérotype Havana, Allemagne, (22/05/2019)
- ⇒ UI-560-DE, *S. enterica* sérotype Hadar, Allemagne, (23/05/2019)
- ⇒ UI-564-UK, *S. enterica* sérotype Enteritidis, Royaume-Uni, (11/06/2019)
- ⇒ UI-569-DK *S. enterica* sérotype Coeln, Danemark (27/06/2019)
- ⇒ UI-571-US *S. enterica* sérotype 1,4,[5],12:i:-, États-Unis (02/07/2019)
- ⇒ UI-572-IE, *S. enterica* sérotype Bredeney, Irlande (04/07/2019)
- ⇒ UI-574-CH, *S. enterica* sérotype Hvitvingfoss, Suisse (05/07/2019)
- ⇒ UI-577-SE, *S. enterica* sérotype Enteritidis, Suède (19/07/2019)
- ⇒ UI-581-UK, *S. enterica* sérotype 4,5,12:b:- d-Tar+, Royaume-Uni (26/07/2019)
- ⇒ UI-590-RS, *S. enterica* sérotype Leeuwarden, Serbie (19/08/2019)
- ⇒ UI-591-NL, *S. enterica* sérotype Muenchen, Pays-Bas (26/08/2019)
- ⇒ UI-597-BA, *S. enterica* Groupe D, Bosnie-Herzégovine (09/09/2019)
- ⇒ UI-599-LV, *S. enterica* sérotype Ohio, Lettonie (11/09/2019)
- ⇒ UI-602-UK, *S. enterica* sérotype Enteritidis, Royaume-Uni (20/09/2019)
- ⇒ UI-603-SE, *S. enterica* sérotype 1,4,[5],12:i:-, Suède (03/10/2019)
- ⇒ UI-609-SE, *S. enterica* sérotype Newport, Suède (29/10/2019)
- ⇒ UI-617-DE, *S. enterica* sérotype Bovismorbificans, Allemagne (06/12/2019)

3 Shigella/EIEC

3.1 Activités d'expertise

Au cours de l'année 2019, le CNR-ESS a réceptionné et analysé :

- **1502 souches** envoyées par le réseau des laboratoires de biologie médicale de France métropolitaine et d'outre-mer dans le cadre de l'activité de surveillance de routine.
- **58 échantillons de selles** transmises dans le cadre d'une étude des performances du système de PCR multiplex BD Max[®].
- **14 souches** de l'Institut Pasteur de Madagascar dans le cadre des collaborations avec le réseau international de l'Institut Pasteur (RIIP).

3.1.1 Évolutions des techniques

Les différentes techniques d'étude des souches de *Shigella* spp./EIEC : identification, typage, sous-typage, détection de gènes de pathogénicité et étude de la sensibilité aux antibiotiques, sont présentées dans l'**Annexe 2** de ce rapport. Les dernières évolutions sont décrites ci-après.

Depuis le nouveau mandat (effectif depuis le 1er avril 2017), la totalité des souches de *Shigella*/EIEC reçues au CNR-ESS sont séquencées (voir paragraphe « A2.2.1.6. Séquençage du génome entier des *Shigella*/EIEC »)

En 2019, l'identification et le typage des *Shigella* s'effectuaient encore selon les techniques de référence de **bactériologie classique** : tests biochimiques et sérotypage par agglutination. Cependant, nous avons terminé **le développement et la validation d'une méthode de sérotypage in silico**. Son déploiement en routine au sein du CNR-ESS est attendu pour fin 2020/début 2021 après mise à jour de scripts automatiques.

Au cours de cette étape de développement une base de données des séquençotypes MLST7 et des cgMLST (valeurs de « Hierarchical clustering » HC1100, HC400 et HC200) a été validée pour l'ensemble des sérotypes connus de *Shigella*.

Concernant l'investigation des épidémies, la technique de l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), qui était la méthode de référence, n'est plus réalisée au CNR-ESS. Depuis octobre 2018, la définition des **clusters épidémiques** s'effectue à partir de l'analyse des séquences du génome complet (selon les valeurs de « **Hierarchical clustering** » de **cgMLST** puis par **analyse SNP**).

3.1.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Les Laboratoires de Biologie Médicale (LBM) utilisent largement 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 des systèmes distribués en France (principalement Microflex® de Bruker et Vitek®MS de Biomérieux) ne permettent pas de différencier *Shigella* spp. de *Escherichia coli*. Pour améliorer ces performances le CNR-ESS avait initié un projet d'étude du Microflex® de Bruker avec deux approches différentes : d'un côté la création d'une BDD de spectres exhaustive contenant l'ensemble des différents sérotypes de *Shigella* (ce qui n'est pas le cas dans la BDD commercialisée), et une approche par 'machine learning' proposant une autre méthode d'analyse des spectres que celle proposée par le système Bruker. Ce travail a été l'occasion d'une collaboration avec le C3BI (Center of Bioinformatics, Biostatistics and Integrative Biology) de l'Institut Pasteur, Paris. Les résultats n'ont pas permis d'obtenir de différenciation fiable des *Shigella* et *E. coli*. Deux nouvelles technologies sont cependant disponibles sur le marché. Elles permettraient la mise en évidence de la diversité des LPS, caractéristique de la différenciation *E. coli/Shigella* et sont donc prometteuses. Il s'agit de la technologie du MALDI Biotyper Sirius® de Bruker, qui associe l'analyse des lipides en plus de celle des protéines, et la technologie du IR Biotyper® de Bruker, qui analyse les vibrations des glycoprotéines par un système de spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier. Une étude sur à peu près 1 000 souches du CNR-ESS démarrera fin 2020 avec l'**IR Biotyper® de Bruker**.

Les kits syndromiques de PCR multiplex se sont également largement répandus depuis quelques années dans les LBM. Une étude des performances du système BD Max® pour la détection des souches de *Shigella*/EIEC dans les prélèvements humains de selles, a été réalisée entre 2018 et 2019 en collaboration avec nos deux plus gros LBM partenaires (>8 000 coprocultures/an). Une présentation des résultats a été effectuée au congrès Microbes de la Société Française de Microbiologie (1^{er} octobre 2019) enrichie d'une revue critique de la littérature et d'une discussion sur les limites du système commercialisé. Des recommandations ont été proposées pour le diagnostic des *Shigella*/EIEC mais aussi pour celui des *Salmonella*. Ces dernières sont à la disponibilité de tout laboratoire contactant le CNR-ESS.

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

3.1.5.1 Activité de routine du CNR-ESS

Le CNR-ESS a réalisé l'identification biochimique et le sérotypage classique par agglutination de la totalité des **1 502 souches humaines reçues en 2019**. Une analyse par biologie moléculaire (PCR des gènes de virulence) a été effectuée sur tous les échantillons non évocateurs d'un sérotype connu, dans le but de détecter les nouveaux sérotypes de *Shigella* spp., les EIEC mais aussi les bactéries autre que *Shigella*/EIEC. Une étude phénotypique de la sensibilité aux antibiotiques ainsi qu'un séquençage du génome complet (WGS) ont enfin été effectuées sur toutes les souches identifiées comme *Shigella*/EIEC.

Les dates de prélèvement de ces 1 502 souches étaient réparties entre le 28/06/2018 et le 24/12/2019. Les résultats de la surveillance des cas de shigellose en 2019 seront présentés dans le prochain **paragraphe 3.2** sur la base des isollements de *Shigella*/EIEC avec une date de prélèvement strictement limitée à l'année 2019.

Quatre-vingt-trois pour cent (83 %, 1 242/1 502) des souches réceptionnées ont été confirmées comme des *Shigella* spp. (n = 1 236) ou des EIEC (n = 6).

Les autres souches (260/1 502, 17 %) étaient des « **bactéries autres que *Shigella*/EIEC** » confondues avec les *Shigella* (*E. coli* atypiques le plus fréquemment). Ce pourcentage de mauvaise identification des *Shigella* par les LBM a été multiplié par 4 en cinq ans (4% en 2014, 6% en 2015, 12% en 2016, 15% en 2017, 17% en 2018 et 2019). Ceci est attribuable à l'abandon de plus en plus répandu des techniques de référence (tests biochimiques associés aux tests d'agglutination) au profit de systèmes d'identification automatisés (type Vitek®2 ; Biomérieux), incapables de différencier les souches de *Shigella* des *E. coli* déficients. 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.

Tableau 33 : Nombre de souches de *Shigella*/EIEC enregistrées en routine au CNR-ESS, en 2019

Souches	N
Souches analysées par le CNR-ESS*	1 502
souches identifiées comme <i>Shigella</i> /EIEC	1242
souches identifiées comme « bactéries autres que <i>Shigella</i> /EIEC »	260
Nombre final de souches de <i>Shigella</i>/EIEC enregistrées en 2019	1 242

*quelle que soit l'année de prélèvement.

Attention, les effectifs des enregistrements 2019 diffèrent des effectifs de surveillance 2019. Ces derniers, exposés dans le **paragraphe 3.2** Activité de surveillance, s'intéressent aux souches isolées strictement au cours de l'année 2019 et excluent les souches transmises en doublet.

Un compte-rendu des résultats du sérotypage a été systématiquement transmis par voie postale à tous les LBM expéditeurs. Ces résultats sont transmis à titre informatif pour encourager les LBM à poursuivre leur participation à la surveillance épidémiologique nationale. Toute discordance avec nos résultats peut être également l'occasion d'une discussion sur les limites du processus de diagnostic en place par le LBM. Les résultats du sous-typage (cgMLST) ne sont, quant à eux, pas transmis. Ces derniers servent à la détection et au suivi des épidémies et leur communication est limitée à SpF et aux institutions européennes ou internationales en fonction du contexte.

3.1.5.2 Activité hors routine du CNR

Cinquante-huit échantillons humains supplémentaires de selles ont été analysés en 2019 dans le cadre de l'étude sur les performances du système de PCR multiplex BD Max® (voir le paragraphe précédent 3.1.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse).

Quatorze souches de *Shigella* spp. de l'Institut Pasteur de Madagascar ont été transmises pour sérotypage par agglutination et sérotypage *in silico* : deux souches du projet AFRIBIOTA et 12 souches isolées de cas de dysenterie à l'hôpital Mère-enfant de Tsaralanana (Antananarivo) en 2018.

Aucune souche d'origine animale n'a été reçue en 2019.

3.1.6 Activités de séquençage

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

L'Institut Pasteur de Paris est doté d'une plateforme dite Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M) qui est ouverte à l'ensemble de ses CNR (voir l'Annexe 2, paragraphe « A2.2.1.6. Séquençage du génome entier des *Shigella*/EIEC »).

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

Voir l'Annexe 2, paragraphe « A2.2.1.6. Séquençage du génome entier des *Shigella*/EIEC »

- 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.

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

Depuis avril 2017, toutes les souches reçues et identifiées comme *Shigella*/EIEC sont séquencées à des fins de surveillance (voir paragraphe 3.2 Activités de surveillance). Toutes les souches impliquées dans une épidémie sont donc séquencées.

- Nombre de séquences réalisées à des fins de surveillance

En 2019, le CNR-ESS a séquencé la totalité des 1 222 souches reçues et identifiées comme *Shigella* spp. ou EIEC, hors doublons (souches isolées d'un même patient au cours d'un intervalle de temps inférieur à 2 mois).

- Où sont déposées les séquences brutes (fastq files)

Toutes les séquences brutes sont stockées au CNR-ESS sur un serveur dédié. En coordination avec SpF, la séquence d'au moins une souche représentative de chaque épidémie est déposée sur le site 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>). Il s'agit d'un site de l'ECDC (pour European Centre for Diseases Control) dédié au partage des alertes épidémiques sur des pathogènes d'origine alimentaire et animale. L'accès est restreint à certains laboratoires et services épidémiologiques pour chaque pays de l'UE (Anses, CNR et SpF en France).

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.

Enfin tous les reads filtrés sont déposés en temps réel sur la plateforme Enterobase (<http://enterobase.warwick.ac.uk>) avec des données limitées (année et pays d'isolement), ce qui permet la comparaison avec les séquences déposées par le reste des utilisateurs du site. Le téléchargement des séquences est bloqué pendant 1 an, puis le téléchargement d'un assemblage effectué par la plateforme devient disponible librement à tous les utilisateurs du site ; les *reads* originaux sont détruits par Enterobase.

3.2 Activités de surveillance

A la différence des données globales sur notre activité d'expertise (voir le paragraphe précédent 3.1), les données de surveillance ne concernent volontairement que les souches de *Shigella*/EIEC avec une **date de prélèvement en 2019**.

Soit un total de **1 337*** isollements dont :

-1 167 *Shigella* et 7 EIEC reçus au CNR-ESS (entre le 01/01/2019 et le 13/01/2020)

-163 *Shigella* supplémentaires déclarées au CNR-ESS par le biais de « fiches information** » sans transmission d'aucun isolement.

Depuis octobre 2018, la définition des **clusters épidémiques** de *Shigella* s'effectue à partir de l'analyse des **séquences du génome complet**.

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

** Ces « fiches informations » ont été collectées par voie postale, fax, e-mail ou directement sur le portail web dédié Voozano.

3.2.1 Description du réseau de partenaires

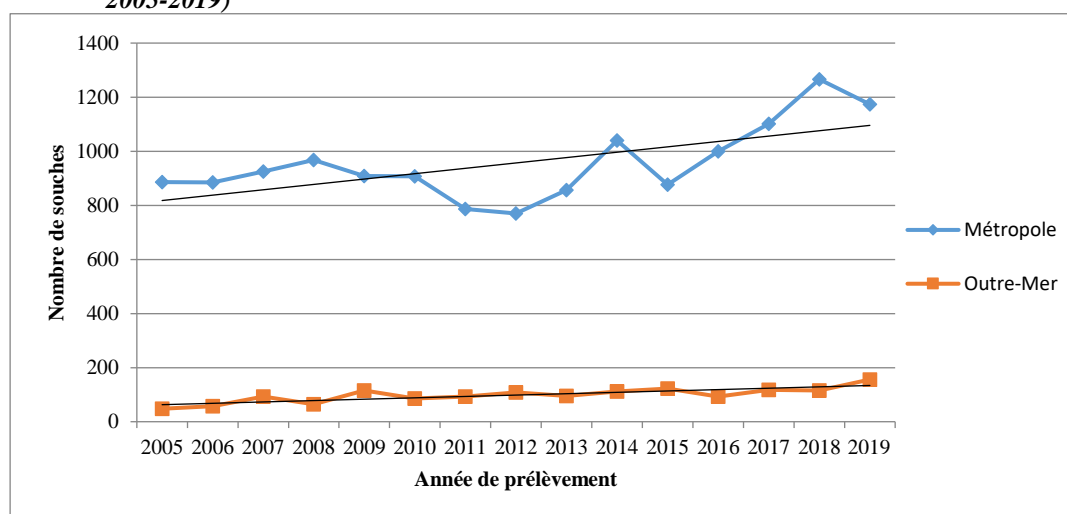
3.2.1.1 Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS

Le CNR-ESS collabore depuis de nombreuses années avec **un réseau d'environ 1 000 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. Pour plus de détails, voir le **paragraphe 2.2.1.1** de la partie *Salmonella*.

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

Le nombre global de cas enregistrés en métropole et en Outre-mer est en augmentation depuis 2005 (**Figure 9**).

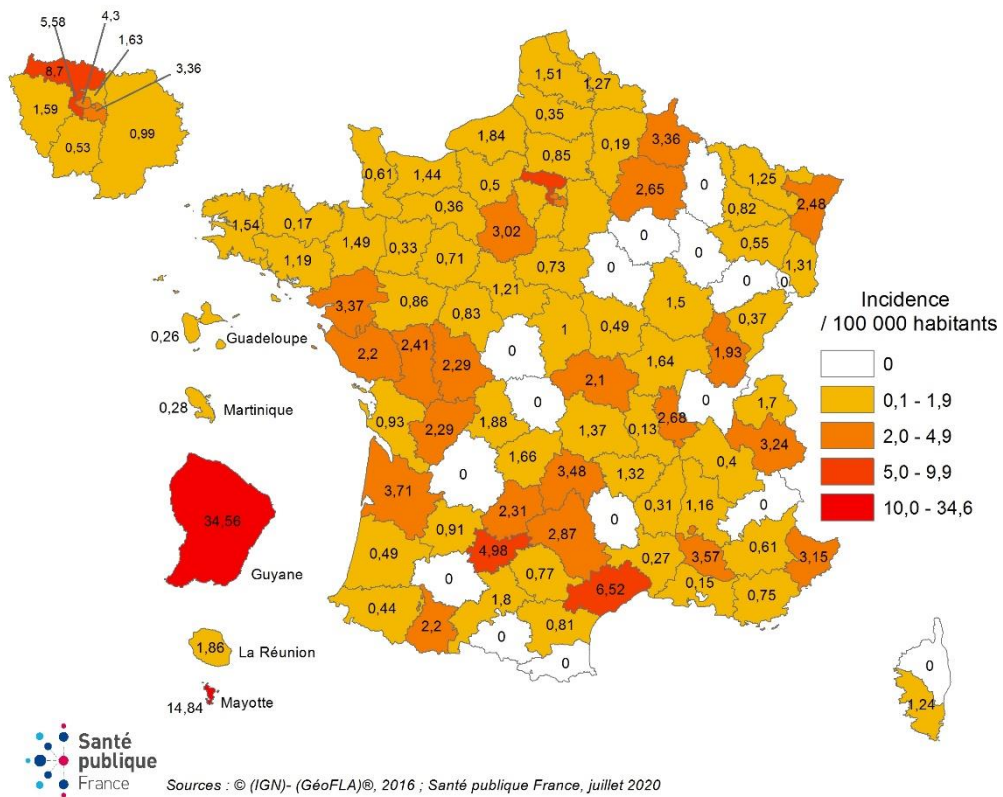
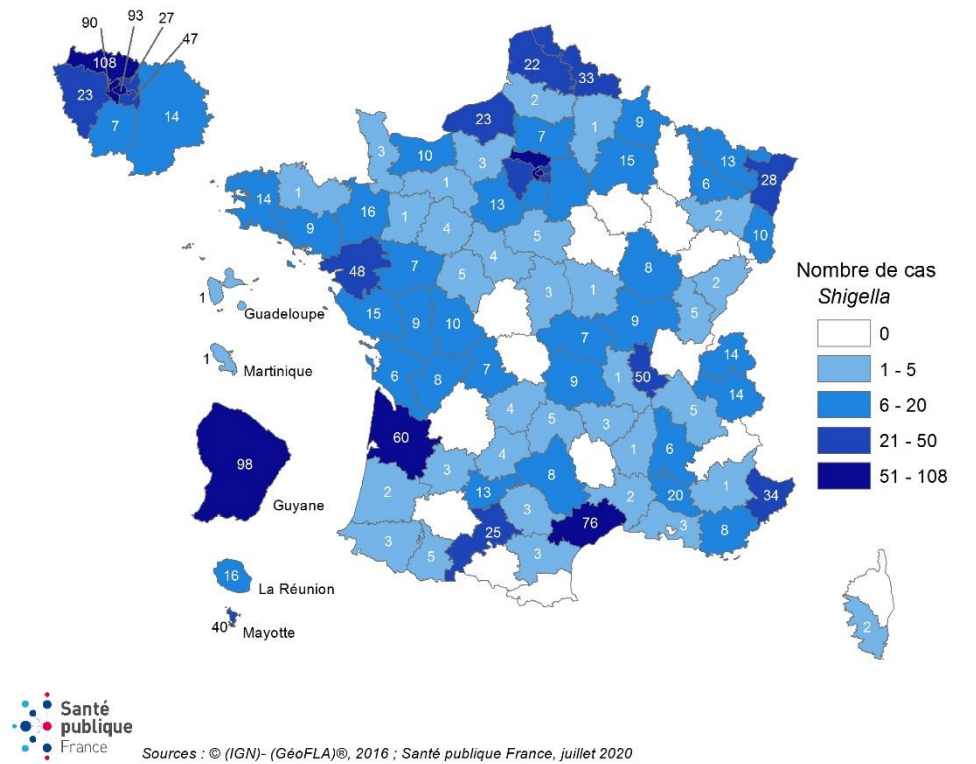
Figure 9. Nombre annuel de *Shigella* (souches et « fiches information », France métropolitaine et Outre-mer, 2005-2019)



En 2019, la totalité des 1 330 isollements de *Shigella* spp. et des 7 EIEC enregistrés au CNR-ESS (souches et « fiches information ») correspondaient à **1179 cas en métropole** et **158 en Outre-mer**. Ces derniers provenaient de 80 départements de France métropolitaine et de cinq départements d’Outre-mer (Guadeloupe, Martinique, Guyane, La Réunion et Mayotte) (**Figure 10**). Aucune souche ou fiche n'a été transmise depuis les 7 autres territoires d’Outre-mer. Monaco, qui collabore à la surveillance épidémiologique des *Shigella* en France, a envoyé une souche.

Pour déterminer l’origine des souches de *Shigella* reçues au CNR-ESS, nous étudions par défaut la donnée « code postal du patient ». La donnée « code postal du laboratoire expéditeur » est utilisée dans deux situations particulières : lorsque la donnée « code postal du patient » n’est pas renseignée ou lorsqu’il s’agit d’un patient résident à l’étranger mais ayant acquis une infection à *Shigella* lors d’un séjour en France.

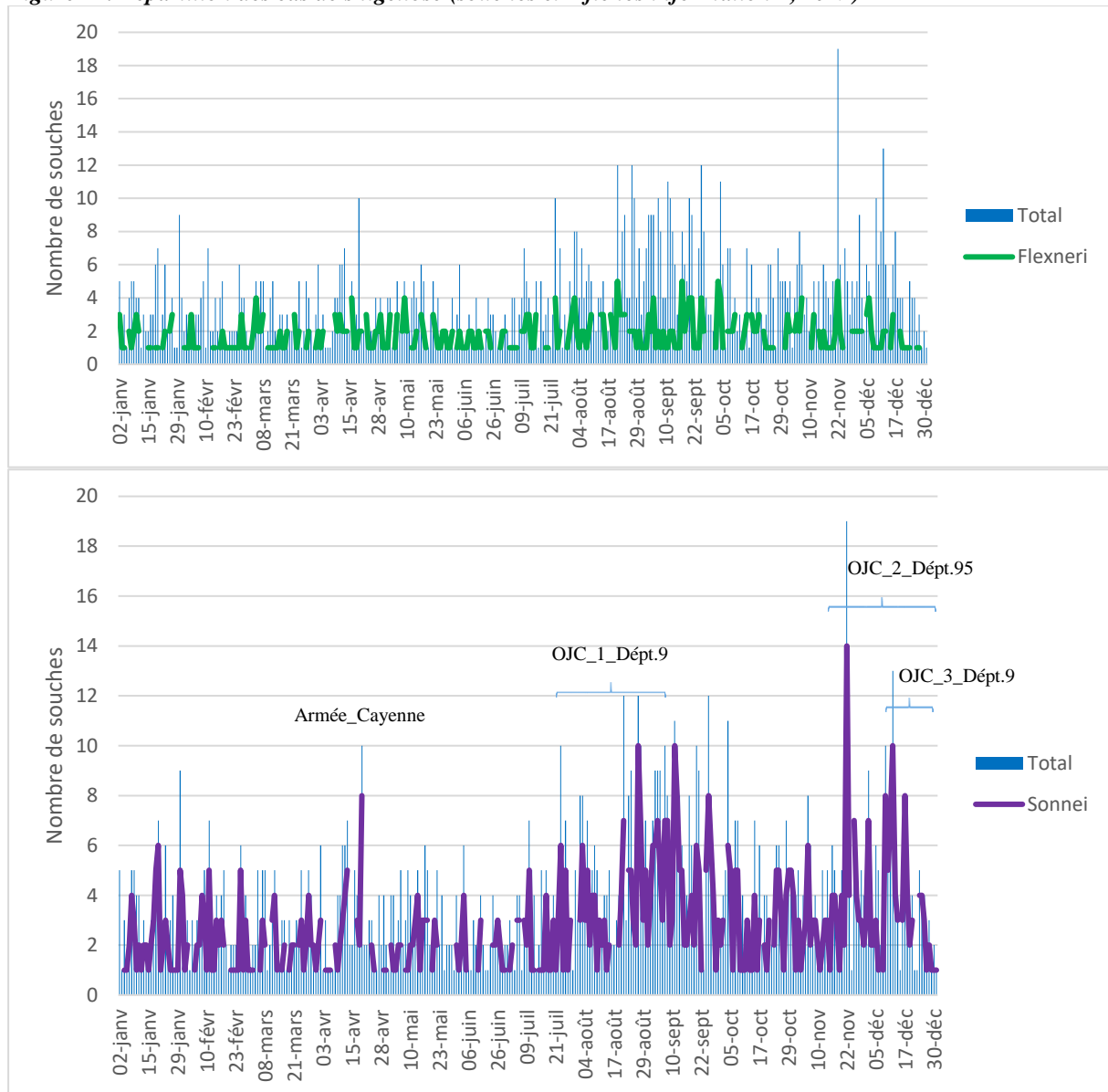
Figure 10. Nombre de cas et incidence des shigelloses par département en France en 2019



(Cartes réalisées par Santé publique France à partir des données du CNR-ESS, août 2020, Édith Laurent)

Le **figure 11** présente la distribution temporelle des cas de shigellose signalés en France au cours de l'année 2019 pour les sérogroupes les plus fréquents, *S. sonnei* et *S. flexneri*.

Figure 11. Répartition des cas de shigellose (souches et « fiches information », 2019)



OJC : écoles confessionnelles

En 2019 nous avons observé une répartition constante du nombre de cas d'infection à *S. flexneri*, sans pic épidémique notable.

Le nombre de cas de *S. sonnei* a quant à lui présenté 4 pics épidémiques au cours de l'année: un groupe de cas parmi des soldats à Cayenne, Guyane française, ainsi que 3 épisodes de cas groupés dans des écoles confessionnelles d'Ile-De France. Ces derniers sont décrits ci-après dans le paragraphe « 4. Alerte ».

Les 7 souches de EIEC correspondaient à des épisodes isolés avec des dates de prélèvement espacées au long de l'année 2019.

3.2.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

3.2.2.1 Origine des prélèvements

La répartition en fonction du site de prélèvement, de la totalité des 1 330 souches de *Shigella* spp. déclarées en 2019 (souches transmises + «fiches information», France métropolitaine et d'outre-mer), est présentée dans le **tableau 34**. La très grande majorité de ces prélèvements (1 314/1 330, 99 %) était d'origine intestinale. Les bactériémies ainsi que les infections urinaires à *Shigella* spp. restent exceptionnelles.

Tableau 34 : Répartition des sites de prélèvement des *Shigella* spp. (souches et « fiches information », France métropolitaine et Outre-mer, 2019)

	France métropolitaine	Outre-Mer	Total
Selles/ Écouvillon rectal	1153	156	1309
Urines	3	0	3
Sang	7	0	7
Biopsie anale/intestinale	5	0	5
Inconnu	6	0	6
Total	1174	156	1330

Les 7 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 1 337 souches de *Shigella*/EIEC isolées en 2019 (souches transmises + « fiches information »), 1 179 (1 174 *Shigella* et 5 EIEC) provenaient de France métropolitaine.

3.2.2.2.1 Répartition par sérogroupes et par sérotypes

La répartition des différents sérogroupes et sérotypes des 1 179 souches de *Shigella*/EIEC enregistrées en France métropolitaine en 2019 est présentée dans le **tableau 35**.

Tableau 35 : Distribution annuelle des différents sérotypes de *Shigella* (France métropolitaine, 2015-2019)

Sérotype	Année	2015	2016	2017	2018	2019
<i>Shigella boydii</i>		41	37	34	42 [50]	20 [20]
1		2	3	1	1	3
2		11	9	14	20	4
4		16	5	1	5	4
5		–	–	–	1	1
8		–	–	–	–	1
9		–	1	–	–	1
10		4	2	2	3	1
11		–	5	10	3	–
12		1	1	–	–	–
13		1	3	–	1	–
14		2	1	3	1	1
18		1	–	–	1	3
19		–	1	1	3	1
20		2	6	2	3	–
<i>Shigella dysenteriae</i>		11	14	15	14 [15]	14 [15]
2		4	2	5	2	5
3		3	6	1	4	2
4		–	–	1	–	–
5		–	–	1	–	–
6		–	1	–	–	–
9		–	1	1	–	–
12		1	1	2	1	3
sérotype provisoire 97-10607 (96-204)		3	3	2	4	4
sérotype provisoire Sh111		–	–	2	–	–
rough ou NST (ST148)		NR	NR	NR	3	–
<i>Shigella flexneri</i>		240	276	267	328 [354]	354 [373]
1		2	–	1	1	–
1a		2	2	2	3	3
1b		43	43	39	69	63
<u>2a</u>		<u>96</u>	<u>136</u>	<u>109</u>	<u>108</u>	<u>112</u>
2b		7	11	5	10	10
3a		34	23	28	43	69
3b		4	8	2	3	3
4		5	9	10	–	–
4a		1	–	–	4	1
4av		NR	NR	NR	8	12
4c		11	3	7	3	–
6 Boyd 88		15	18	27	34	42
6 Hertfordshire		2	3	1	4	2
6 Manchester		–	–	–	1	2
X		–	3	2	1	–
Xv		NR	NR	NR	1	6
Y		2	1	3	4	4
Yv		NR	NR	NR	4	2
sérotype provisoire 1c (7a et 7b)		16	16	29	27	22
NST (ST245)		–	–	–	–	1
<i>Shigella sonnei</i>		381	411	530	635 [842]	624 [763]
a		12	12	13	34	28
e		–	2	5	4	1
f		1	–	–	–	1
g		<u>221</u>	<u>255</u>	<u>346</u>	<u>397</u>	<u>410</u>
<u>g (mannitol-)</u>		<u>82</u>	<u>90</u>	<u>79</u>	<u>127</u>	<u>101</u>
g (mannitol- et ODC-)		1	–	–	–	–
g (mannitol- et ONPG-)		2	1	–	–	–
g (ONPG-)		61	50	85	72	83
g (ODC-)		1	–	2	–	–
rough (ST152)		NR	NR	NR	1	–
<i>Shigella spp.</i>		–	1	–	– [5]	– [3]
Total <i>Shigella</i>		673	739	846	1 019 [1 266]	1 012 [1 174]
<i>E. coli</i> entéroinvasif (EIEC)		NR	NR	1	4 [4]	5 [5]
Total <i>Shigella</i>/EIEC		673	739	847	1 023 [1 270]	1 017 [1 179]

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

Pour 2018 et 2019 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* (763/1174, 65 %) et *S. flexneri* (373/1174, 32 %) ont été les sérogroupes les plus fréquemment isolés en métropole en 2019. *S. boydii* (20/1174, 2 %) et *S. dysenteriae* (15/1174, 1 %) restent faiblement représentés.

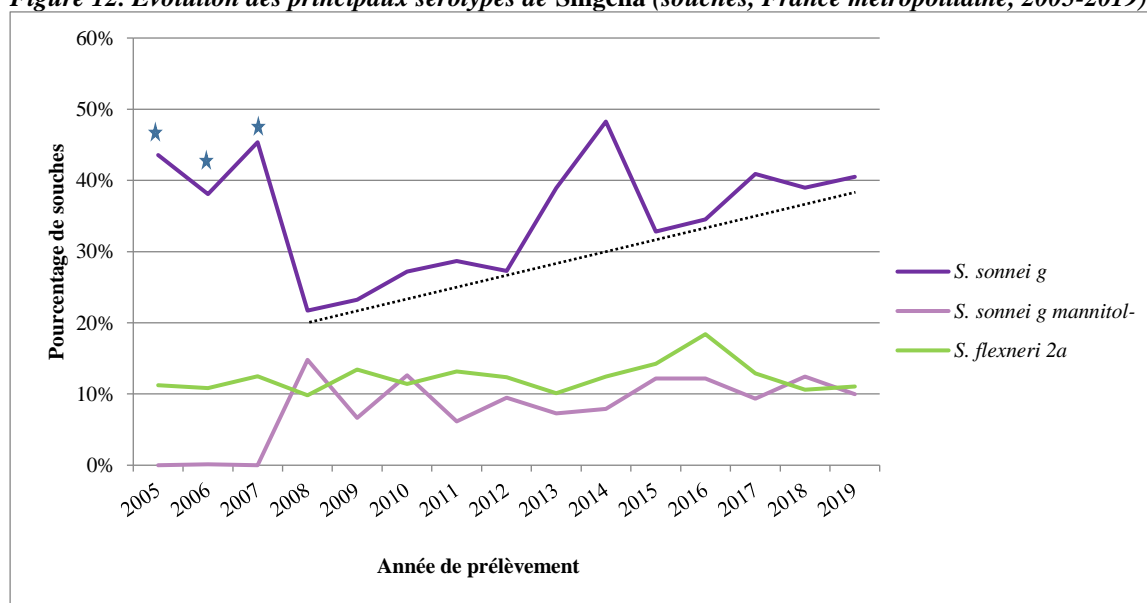
S. sonnei g est le type majoritaire en France métropolitaine depuis plus de 10 ans. En 2019, les pourcentages du **biotype g strict** (410/1 012, 41 %) montrent une légère progression par rapport à 2018 (39%), perpétuant l'augmentation annuelle observée depuis 2008 (22%). Entre 2005 et 2007, l'absence de saisie du caractère mannitol- dans la base de données du CNR biaise les proportions réelles du biotype g strict et de ses différents variants.

S. flexneri 2a était le 2^{ème} sérotype de *Shigella* détecté en 2019 (112/1 012, 11 %).

A proportion quasi-égale le variant *S. sonnei g (mannitol-)* était le 3^{ème} type de *Shigella* détecté en 2019 (101/1 012, 10 %). Comme en 2018 ce variant était caractérisé par une importante association avec un retour de voyage au **Maroc** : parmi les 62 cas pour lesquels l'item sur la notion de voyage était renseigné, 60 % (37/62) étaient associés à un voyage au Maroc. Ce variant circule également sur le territoire métropolitain puisque 27% (17/62) des cas ne déclaraient aucun voyage en 2019.

Contrairement à *S. sonnei g*, les proportions de *S. flexneri 2a* et de *S. sonnei g (mannitol-)* sont constantes depuis 2008.

Figure 12. Évolution des principaux sérotypes de *Shigella* (souches, France métropolitaine, 2005-2019)



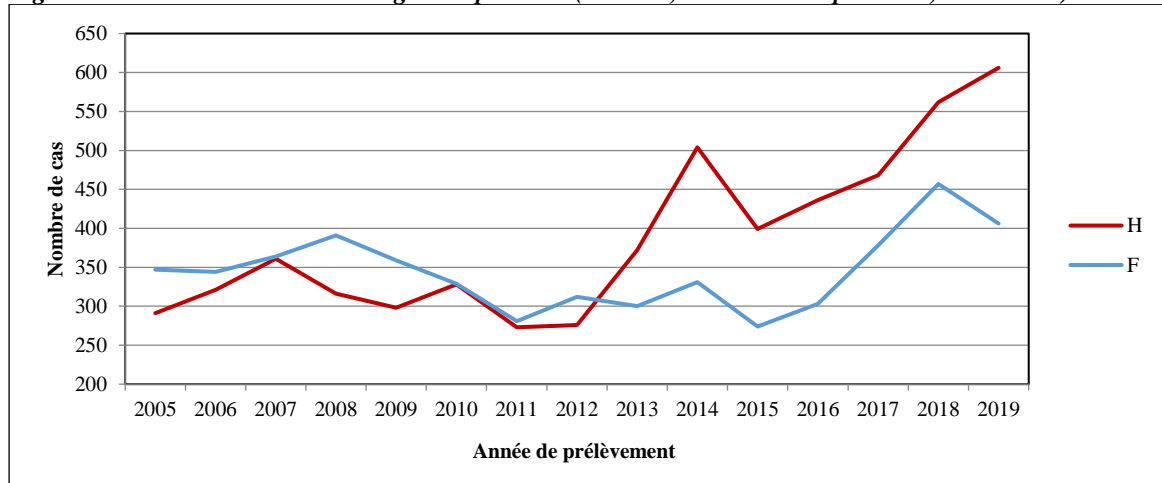
★ : le caractère mannitol- n'était pas saisi dans les bases de données 2005, 2006 et 2007. Les proportions réelles du biotype g strict et de ses variants sont donc biaisées pour ces années.

Les 5 EIEC isolés en France métropolitaine étaient de sérotype **O121:H30, ST6** (n = 3), O28ac/O42:H7, ST311 (n = 1) ou O143:H26, ST280 (n = 1).

3.2.2.2 Répartition par sexe

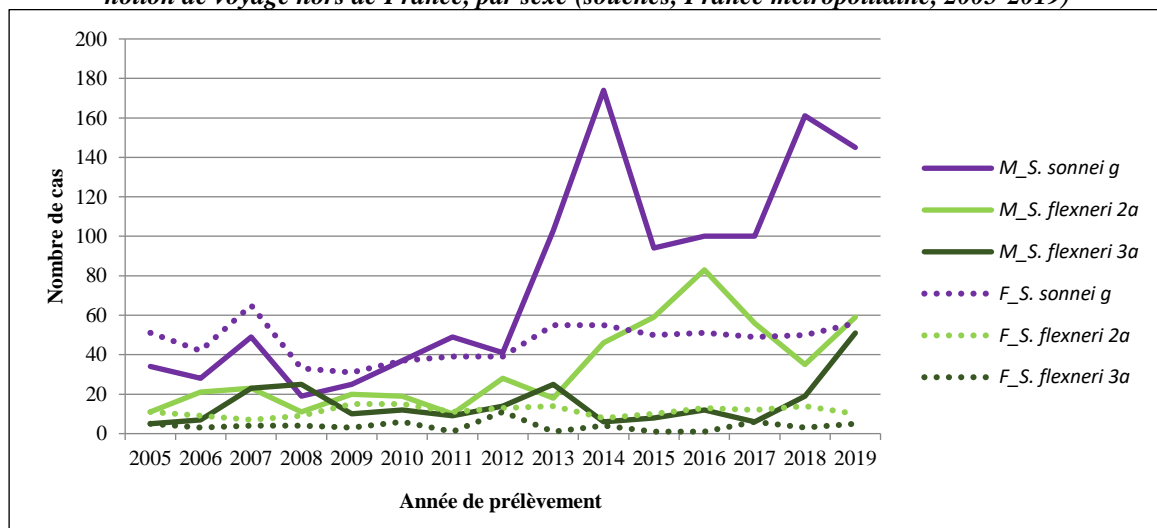
Depuis 2013, le nombre de cas masculins de shigellose est systématiquement supérieur à celui des femmes. Cette tendance globale se confirme et s'accroît en 2019 avec un $\text{sex-ratio}_{H/F} = 1,5$ (**Figure 13**).

Figure 13. Évolution des cas de shigellose par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2019)



Ce déséquilibre du sex-ratio est significatif parmi les souches de *S. sonnei* g et de *S. flexneri* 2a depuis 2013. En 2019, nous l'avons également observé pour la première fois parmi les souches de *S. flexneri* 3a. Dans la **figure 14** nous présentons l'évolution de ces 3 sérotypes parmi les hommes et les femmes âgés de 16-60 ans et sans notion de voyage. Dans cette population le nombre de cas féminins reste constant tandis qu'il ne cesse d'augmenter chez les hommes.

Figure 14. Patients âgés de 16-60 ans diagnostiqués avec *S. sonnei* g, *S. flexneri* 2a ou *S. flexneri* 3a, sans notion de voyage hors de France, par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2019)



Une situation similaire a été décrite au Royaume-Uni (Euro Surveill 2015;20(15):pii=21097) et les auteurs ont établi un lien avec la communauté homosexuelle masculine. Nos données vont en ce sens sans que nous puissions conclure car l'orientation sexuelle des patients n'est pas un paramètre autorisé à être recensé en France dans la fiche épidémiologique d'accompagnement des souches de *Shigella*.

3.2.2.2.3 Répartition par âge

La **figure 15** ainsi que le **tableau 36** montrent le détail de la répartition des cas de shigellose par classe d'âge en France métropolitaine en 2019. Nous avons observé deux pics d'incidence principaux chez les 0–9 ans (plusieurs épidémies à *S. sonnei* dans des écoles confessionnelles d'Ile-De France) et chez les 20–49 ans. L'incidence la plus basse est retrouvée dans la population des 60 ans et plus.

Figure 15. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2019)

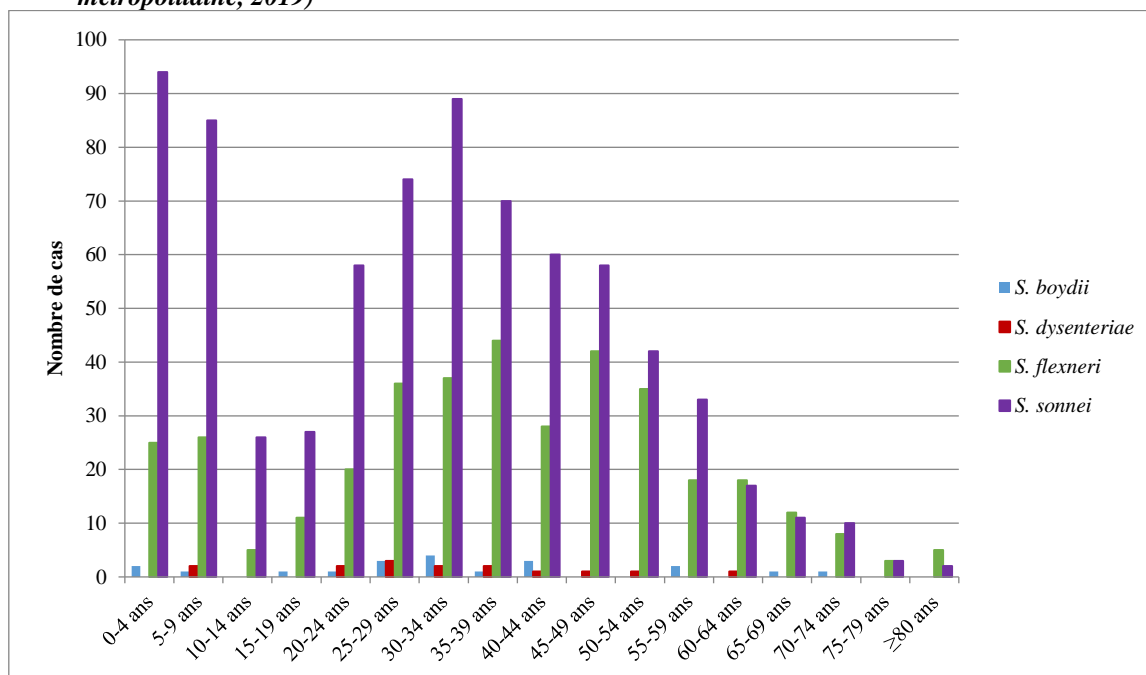


Tableau 36 : Incidence des cas de shigellose par classe d'âge (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2019)

	<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	0	25	94	0	121	3,45
5-9 ans	1	2	26	85	1	115	2,94
10-14 ans	0	0	5	26	0	31	0,77
15-19 ans	1	0	11	27	0	39	0,98
20-24 ans	1	2	20	58	1	82	2,26
25-29 ans	3	3	36	74	0	116	3,23
30-34 ans	4	2	37	89	0	132	3,36
35-39 ans	1	2	44	70	0	117	2,85
40-44 ans	3	1	28	60	0	92	2,33
45-49 ans	0	1	42	58	0	101	2,31
50-54 ans	0	1	35	42	0	78	1,82
55-59 ans	2	0	18	33	0	53	1,26
60-64 ans	0	1	18	17	0	36	0,90
65-69 ans	1	0	12	11	0	24	0,63
70-74 ans	1	0	8	10	0	19	0,56
75-79 ans	0	0	3	3	0	6	0,28
≥80 ans	0	0	5	2	1	8	0,20
Age inconnu	0	0	0	4	0	4	-
Total	20 (100%)	15 (100%)	373 (100%)	763 (100%)	3 (100%)	1174 (100%)	1,81

Données sur la population générale de France métropolitaine publiées par l'INSEE en janvier 2020.

Les 5 souches de EIEC de France métropolitaine ont été isolées chez des patients de 5 à 58 ans.

3.2.2.2.4 Notion de voyage

Le **tableau 37** présente les notions de voyage associées aux 1 012 souches de *Shigella* transmises au CNR-ESS, en provenance de **France métropolitaine en 2019**.

Parmi les 49 % des cas (495/1 012) pour lesquels l'item sur la notion de voyage était renseigné, **63 %** mentionnaient un **voyage à l'étranger** (90 % des cas pour *S. boydii*, 64 % pour *S. dysenteriae*, 27 % pour *S. flexneri* et 30 % pour *S. sonnei*) et **37 %** ne déclaraient **aucun voyage**.

Les 10 pays les plus fréquemment mentionnés étaient le **Maroc (49 cas)**, l'**Inde** et le **Sénégal (23 cas chacun)** suivis de l'Egypte (14 cas), l'Algérie (12 cas), le Mexique (11 cas), Madagascar (10 cas), la Côte d'Ivoire (9 cas), l'Espagne et la Colombie (8 cas chacun).

Tableau 37 : Notion de voyage associée aux cas de shigellose (souches, France métropolitaine, 2019)

Sérogroupe/Sérotype	Nbre de cas	Notion de voyage*	Aucun voyage
<i>Shigella boydii</i>	20	18 (90 %)	2 (10 %)
1	3	1 Congo ; 1 Niger ; 1 Pakistan	-
2	4	1 Afrique du Sud ; 1 Maroc ; 1 Sénégal	1
4	4	1 Inde ; 2 Madagascar ; 1 Tchad	-
5	1	1 République Centrafricaine	-
8	1	-	1
9	1	1 Cameroun	-
10	1	1 Maroc	-
14	1	1 Mali	-
18	3	1 Inde ; 1 Népal ; 1 Tchad	-
19	1	1 Inde	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	14	9 (64 %)	0 (0 %)
2	5	1 Bangladesh ; 1 Colombie ; 2 Mexique ; 1 Togo	-
3	2	-	-
12	3	1 Inde ; 1 Sénégal	-
séro. prov. 97-10607 (96-204)	4	1 Afrique ; 1 Inde	-
<i>Shigella flexneri</i>	354	96 (27 %)	72 (20 %)
1a	3	-	-
1b	63	1 Afrique ; 1 Afrique du Sud ; 3 Cap-Vert ; 1 Colombie ; 1 Egypte ; 1 Guinée ; 1 Haïti ; 1 Inde ; 3 Madagascar ; 3 Maroc	<u>10</u>
2a	112	1 Afrique ; 3 Algérie ; 2 Allemagne ; 1 Argentine ; 1 Bénin ; 1 Bolivie ; 1 Canada ; 1 Cap-Vert ; 1 Côte d'Ivoire ; 1 Espagne ; 1 Guinée ; 4 Inde ; 1 Maroc ; 1 Pays-Bas ; 1 Pérou ; 1 Pologne ; 1 Sénégal ; 1 Tanzanie ; 1 Turquie ; 1 Zimbabwe	<u>26</u>
2b	10	1 Arabie Saoudite ; 1 Cote d'Ivoire ; 1 Madagascar ; 2 Togo ; 1 Autre	-
3a	69	1 Espagne ; 1 Estonie ; 1 Ethiopie ; 1 Madagascar ; 1 Maroc ; 1 Mexique ; 1 Norvège ; 1 Portugal	<u>22</u>
3b	3	-	-
4a	1	-	-
4av	12	1 Afrique ; 1 Bénin ; 1 Cameroun ; 1 Comores ; 1 Inde ; 1 Jordanie ; 1 Mexique ; 2 Sénégal ; 1 Togo	-
6 Boyd 88	42	1 Algérie ; 1 Bénin ; 1 Cameroun ; 1 Côte d'Ivoire ; <u>5 Maroc</u> ; 1 Monaco ; 1 Pakistan ; 1 République Centrafricaine ; 4 Sénégal	<u>7</u>
6 Herfordshire	2	1 Mexique	-
6 Manchester « variant »	2	-	-
X/Xv	6	1 Brésil ; 1 Cameroun ; 1 Côte d'Ivoire ; 1 Tanzanie	1
Y	4	1 Espagne	3
Yv	2	-	1
sérotype provisoire 1c (7a et 7b)	22	3 Côte d'Ivoire ; 1 Mauritanie ; 1 Népal ; 3 Sénégal	2
NST (ST245)	1	-	-
<i>Shigella sonnei</i>	624	190 (30 %)	108 (17 %)
a	28	3 Colombie ; 2 Mayotte ; 1 Moldavie ; 4 Philippines ; 2 Tanzanie	<u>6</u>
e	1	1 Monténégro	-
f	1	1 Malaisie	-
g	410	<u>5 Afrique du Sud</u> ; 2 Algérie ; 1 Allemagne ; 1 Belgique ; 1 Brésil ; 1 Cambodge ; 1 Cameroun ; 1 Chine ; 2 Colombie ; 1 Côte d'Ivoire ; 1 Cuba ; <u>12 Egypte</u> ; 1 El Salvador ; 1 Equateur ; 2 Espagne ; 1 Géorgie ; 3 Grèce ; <u>11 Inde</u> ; <u>5 Indonésie</u> ; 1 Irak ; 1 Israël ; 1 Italie ; 1 Jordanie ; 1 Mali ; <u>6 Mexique</u> ; 2 Népal ; 1 Niger ; 2 Oman ; 1 Pakistan ; 2 Pérou ; 2 République Centrafricaine ; <u>3</u> République Dominicaine ; 2 Sénégal ; 1 Serbie ; 1 Singapour ; 3 Sri Lanka ; 1 Tanzanie ; 3 Thaïlande ; 2 Togo ; 2 Tunisie ; 2 Turquie ; 3 Autres	<u>74</u>
g (mannitol-)	101	1 Côte d'Ivoire ; 2 Espagne ; 1 Italie ; 3 Madagascar ; <u>37 Maroc</u> ; 1 La Réunion	<u>17</u>
g (ONPG-)	83	1 Afrique ; <u>6 Algérie</u> ; 2 Cambodge ; 1 Cameroun ; 1 Cap-Vert ; 1 Colombie ; 1 Egypte ; 1 Espagne ; 1 Ethiopie ; 2 Guinée ; 1 Inde ; 1 Kenya ; 2 Mali ; 9 Sénégal ; 2 Tanzanie ; 1 Thaïlande ; 1 Turquie	<u>11</u>
TOTAL	1 012	313 (31 %)	182 (18 %)

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 38** présente quant à lui les notions de voyage associées aux 162 souches de *Shigella* pour lesquelles nous n'avons reçu qu'une « **fiche information** » **sans transmission de souche**. Les données sont présentées par séro groupe (les sérotypes étaient rarement renseignés par les laboratoires expéditeurs). Des voyages ont été rapportés pour 51 cas (51/162, 31 %). Le **Maroc** (10 cas) et l'**Egypte** (5 cas) étaient également les pays les plus notifiés.

Tableau 38 : Notion de voyage associée aux cas de shigellose (« fiches information », France métropolitaine, 2019)

Sérogroupe	Nbre de cas	Avec voyage	Pays du voyage*	Aucun voyage
<i>Shigella boydii</i>	0	0	-	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	1	0	-	1
<i>Shigella flexneri</i>	19	1	1 Inde	8
<i>Shigella sonnei</i>	139	50	1 Afrique du nord 2 Asie 2 Autre 1 Bali 2 Cameroun 1 Cap-Vert 1 Colombie 1 Congo 1 Costa Rica 2 Côte d'Ivoire 5 Egypte 1 Equateur 1 Géorgie 1 Ile Maurice 3 Inde 1 Israël 1 Italie 1 Madagascar 10 Maroc 1 Mauritanie 2 Mexique 1 Népal 1 Portugal 2 Sénégal 2 Tanzanie 1 Thaïlande 2 Tunisie	42
<i>Shigella spp.</i>	3		-	1
Total	162		51 (31 %)	52 (32%)

*Le pays est présenté en **gras et souligné** si ≥ 5 cas.

3.2.2.3 Analyse de la distribution des souches en **Outre-mer** et analyse de tendances

Parmi les 1 337 souches de *Shigella*/EIEC isolées en 2019 (souches transmises + « fiches information »), 158 (156 *Shigella* spp et 2 EIEC) provenaient de la France d'outre-mer. Quarante-vingt-dix-huit *Shigella* spp. ont été envoyées de **Guyane**, 40 de **Mayotte**, 15 de **La Réunion**, une de **Guadeloupe** et une de **Martinique**. Un cas supplémentaire de shigellose a été déclaré par un laboratoire de La Réunion via une « fiche information ». Les 2 EIEC provenaient de Guyane.

3.2.2.3.1 Répartition par sérogroupes et par sérotypes

La répartition des différents sérogroupes et sérotypes de *Shigella*/EIEC isolées en 2019 en Outre-mer est présentée dans le **tableau 39**.

Tableau 39 : Distribution des différents sérotypes de *Shigella* spp. (souches et « fiches information », Outre-mer, 2019)

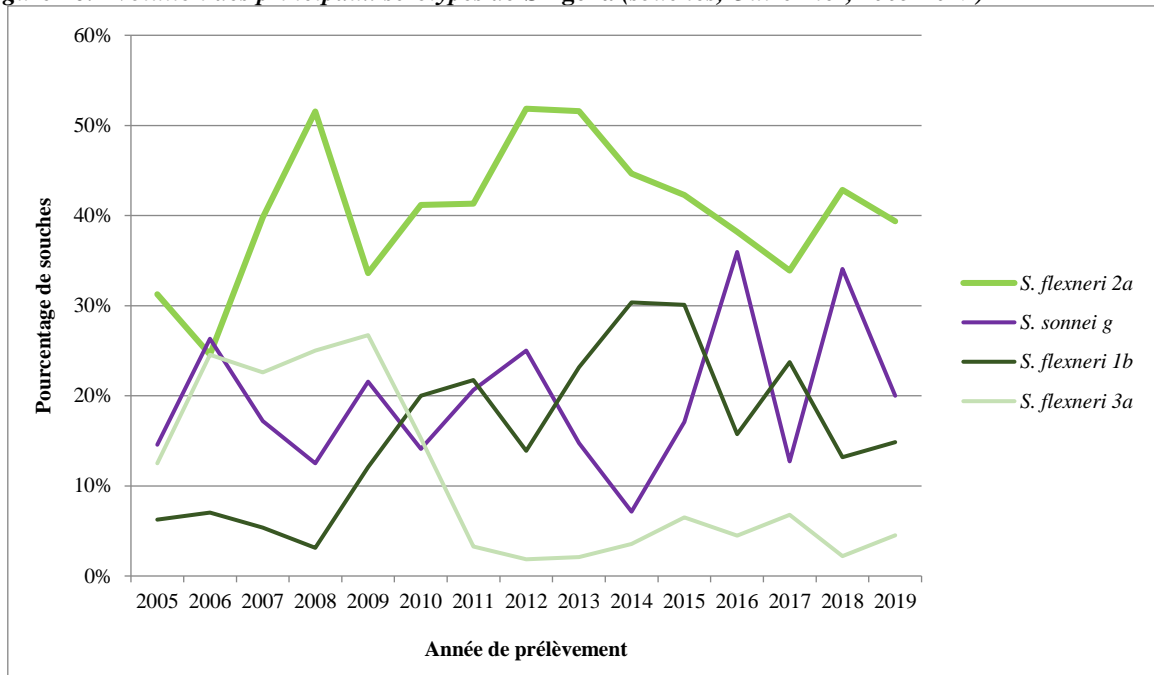
Sérotype	Guyane française	Mayotte	La Réunion	Guadeloupe	Martinique	Total
<i>Shigella dysenteriae</i>	–	–	2	–	–	2
sérotype provisoire 97-10607 (96-204)	–	–	2	–	–	2
<i>Shigella flexneri</i>	69	31	3	1	1	105
1b	7	15	1	–	–	12
2	–	–	1	–	–	1
2a	<u>57</u>	2	–	1	1	39
2b	–	1	–	–	–	
3a	2	5	–	–	–	2
3b	1	4	–	–	–	
4av	–	–	1	–	–	6
6 Boyd 88	–	3	–	–	–	1
Y	2	–	–	–	–	1
Yv	–	1	–	–	–	2
<i>Shigella sonnei</i>	29	9	10 [11]	–	–	48 [49]
a	1	<u>7</u>	–	–	–	8
g	<u>28</u>	1	2	–	–	31
g (mannitol–)	–	1	8	–	–	9
g (ONPG–)	–	–	–	–	–	–
Total <i>Shigella</i>	98	40	15 [16]	1	1	155 [156]
EIEC	2	–	–	–	–	2
O8:H19	1	–	–	–	–	1
O132:H21	1	–	–	–	–	1
Total <i>Shigella</i>/EIEC	100	40	15 [16]	1	1	157 [158]

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

Comme chaque année, *S. flexneri* (105/157, 67 %) est l'espèce prédominante parmi les souches provenant d'Outre-mer. Il est suivi par *S. sonnei* (48/157, 31 %). Deux souches de *S. dysenteriae* d'un sérotype encore provisoire (97-10607/96-204) ont été également confirmées, ainsi que 2 EIEC. Aucune *S. boydii* n'a été transmise.

L'évolution des principaux sérotypes de *Shigella* enregistrés au CNR-ESS depuis 2005 et provenant d'Outre-mer est présentée dans la **figure 16**. Nous précisons ici 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, *S. flexneri* 2a reste le sérotype majoritaire. Nous observons également depuis 2010 une diminution des *S. flexneri* 3a au profit de *S. sonnei* g et *S. flexneri* 1b qui se classent en 2ème et 3ème position, respectivement.

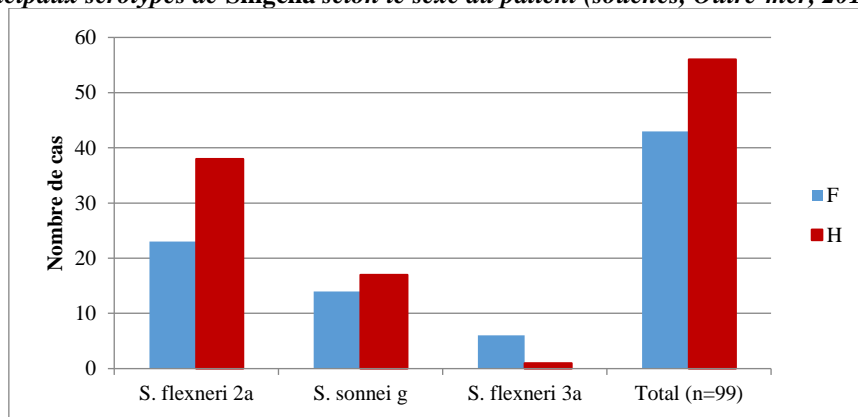
Figure 16. Evolution des principaux sérotypes de Shigella (souches, Outre-mer, 2005-2019)



3.2.2.3.2 Répartition par sexe

En 2019, les cas de shigellose en France d'outre-mer ont montré une prédominance chez les hommes ($\text{sex-ratio}_{H/F} = 1,3$). Ce déséquilibre a été observé parmi les cas d'infection à *S. flexneri 2a* et à *S. sonnei g* mais pas à *S. flexneri 3a* contrairement à la France métropolitaine (Figure 17).

Figure 17. Principaux sérotypes de Shigella selon le sexe du patient (souches, Outre-mer, 2019)



3.2.2.3.3 Répartition par âge

La **figure 18** ainsi que le **tableau 40** montrent le détail de la répartition des cas de shigellose par classe d'âge en Outre-mer (Guadeloupe, Martinique, Guyane française, La Réunion et Mayotte) en 2019. Comme chaque année une large majorité des cas est observée chez les 0-4 ans. En 2019, **l'incidence des jeunes adultes de 20-39 ans** (11,73/100 000 habitants) était supérieure à celle des enfants de 0-19 ans (8,92/100 000 habitants). Ce phénomène n'avait pas été observé en 2017 et 2018 et **sera à surveiller sur les prochaines années**. L'incidence la plus basse était retrouvée dans la population des 75 ans et plus.

Figure 18. Répartition des cas de shigellose par âge (souches et « fiches information », Outre-mer, 2019)

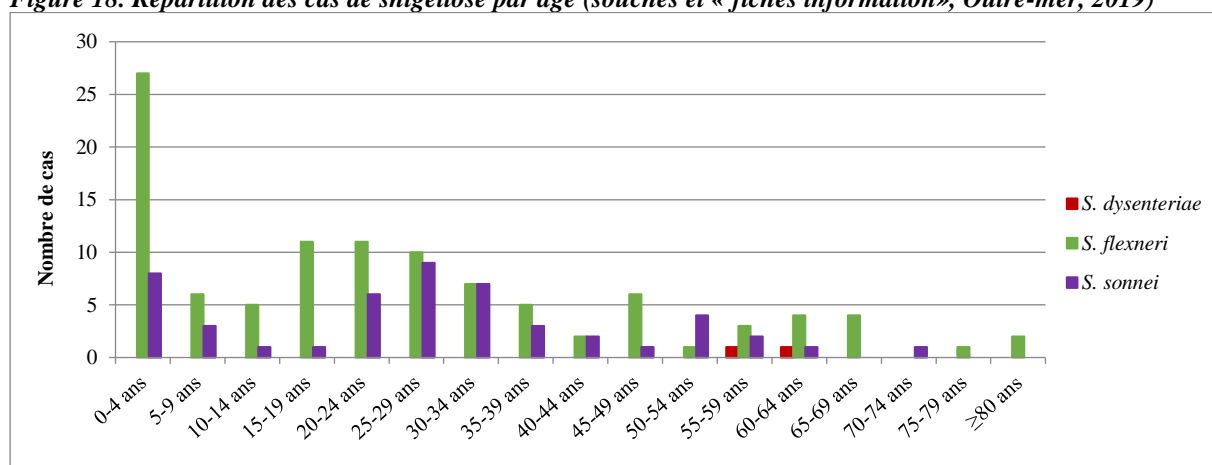


Tableau 40 : Incidence des cas de shigellose (souches et « fiches information », Outre-mer, 2019)

	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	Total	Incidence (pour 100 000 hab.)
0-4 ans	0	27	8	35	8,92
5-9 ans	0	6	3	9	
10-14 ans	0	5	1	6	
15-19 ans	0	11	1	12	
20-24 ans	0	11	6	17	11,73
25-29 ans	0	10	9	19	
30-34 ans	0	7	7	14	
35-39 ans	0	5	3	8	
40-44 ans	0	2	2	4	3,94
45-49 ans	0	6	1	7	
50-54 ans	0	1	4	5	
55-59 ans	1	3	2	6	
60-64 ans	1	4	1	6	3,77
65-69 ans	0	4	0	4	
70-74 ans	0	0	1	1	
75-79 ans	0	1	0	1	
≥80 ans	0	2	0	2	2,39
Total	2 (100 %)	105 (100 %)	49 (100 %)	156 (100 %)	7,20

Source : Insee - Estimations de population au 1^{er} janvier 2020, par dépt., sexe et grande classe d'âge (DOM : Guadeloupe, Martinique, Guyane, La Réunion et Mayotte)

3.2.2.3.4 Notion de voyage

Parmi les 155 souches de *Shigella* spp. transmises d’Outre-mer, quatre souches de *S. sonnei* g (mannitol-) étaient associées à une notion de voyage à Madagascar. Aucun autre renseignement de voyage à l’étranger n’était indiqué pour les autres souches.

Parmi les « fiches information », un cas de shigellose a été déclaré par un laboratoire de La Réunion. Il s’agissait d’une *S. sonnei* sans renseignement associé.

3.2.2.4 Distribution des séquences types (ST)

Les 7 EIEC isolés en France métropolitaine et Outre-mer en 2019 étaient associés aux ST suivants :

N° CNR	ST
201900470	6
201902596	4267
201904875	6
201905154	6
201908119	311
201908715	6
202000108	280

Les principaux ST des 1 167 souches de *Shigella* spp isolées au CNR-ESS en 2019 sont présentés dans **la figure 19 et le tableau 41**.

Figure 19. Principaux ST associés aux *Shigella* spp. (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2019)

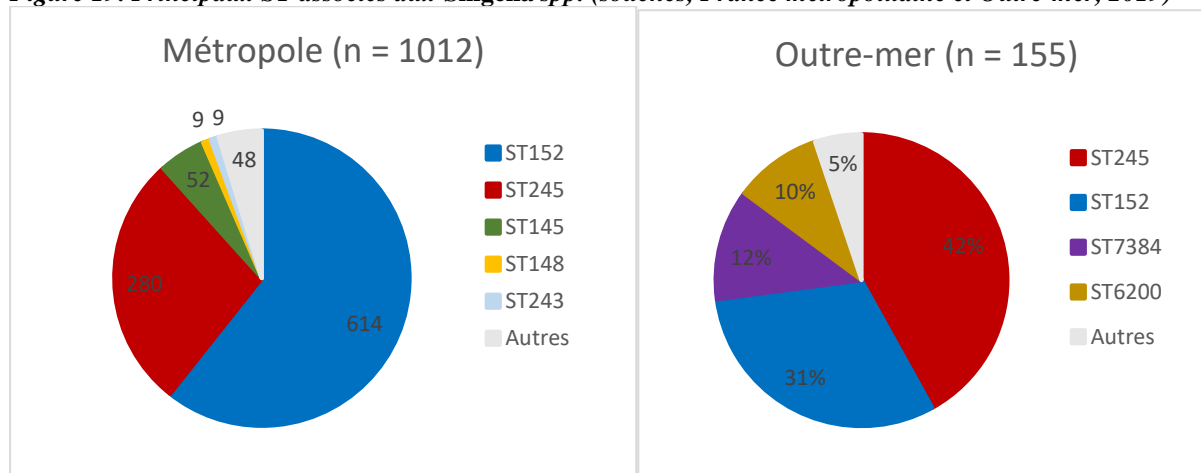


Tableau 41 : ST et sérotypes associés des *Shigella* spp. (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2019)

	Métropole	Outre-mer
ST145	52	2
<i>S. boydii</i> 2	4	0
<i>S. boydii</i> 4	3	0
<i>S. flexneri</i> 6 Boyd 88	41	2
<i>S. flexneri</i> 6 Herfordshire	2	0
<i>S. flexneri</i> 6 Manchester "variant"	2	0
ST148	9	2
<i>S. dysenteriae</i> 3	2	0
<i>S. dysenteriae</i> 12	3	0
<i>S. dysenteriae</i> sérotype provisoire 97-10607 (96-204)	4	2
ST152	614	48
<i>S. sonnei</i> a	27	8
<i>S. sonnei</i> g	403	31
<i>S. sonnei</i> g (mannitol-)	101	9
<i>S. sonnei</i> g (ONPG-)	83	0
ST243	9	0
<i>S. boydii</i> 1	3	0
<i>S. boydii</i> 8	1	0
<i>S. boydii</i> 10	1	0
<i>S. boydii</i> 18	3	0
<i>S. boydii</i> 19	1	0
ST245	280	65
<i>S. flexneri</i> 1b	59	8
<i>S. flexneri</i> 2a	109	45
<i>S. flexneri</i> 2b	8	2
<i>S. flexneri</i> 3a	63	7
<i>S. flexneri</i> 3b	3	1
<i>S. flexneri</i> 4av	5	0
<i>S. flexneri</i> Xv	6	0
<i>S. flexneri</i> Y	4	2
<i>S. flexneri</i> Yv	1	0
<i>S. flexneri</i> sérotype provisoire 1c (7a et 7b)	21	0
<i>S. flexneri</i> non sous-typable	1	0
ST273	3	0
<i>S. dysenteriae</i> 2	3	0
ST628	5	0
<i>S. flexneri</i> 3a	5	0
ST630	7	2
<i>S. flexneri</i> 4av	6	1
<i>S. flexneri</i> 4a	1	0
<i>S. flexneri</i> Yv	0	1
ST1503	4	0
<i>S. sonnei</i> g	4	0
ST7384	4	19
<i>S. flexneri</i> 1b	4	15
<i>S. flexneri</i> 3b	0	4

Les valeurs de ce tableau correspondent au nombre de souches.
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. transmises au CNR-ESS avec une date d'isolement en 2019 (n = 1167).

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 42**.

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 42 : 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 % (51/1 012) des souches étaient sensibles à tous les antibiotiques testés, dont 76 % (39/51) de *S. flexneri*. Le **tableau 43** donne le pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches de France métropolitaine en 2019.

Tableau 43 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de *Shigella* (souches, France métropolitaine, 2019)

	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	Moyenne
Souches testées	20	14	354	624	Total=1012
Sensibles	15%	0%	11%	1%	5%
AMP	50%	71%	72%	38%	50%
CAZ/CTX	10%	14%	0,3%	13%	8%
STR	55%	86%	81%	94%	89%
AKN	0%	0%	0%	0%	0%
GEN	0%	0%	0%	1%	0,5%
TMP	85%	93%	51%	97%	81%
SMX	70%	93%	44%	77%	65%
CHL	15%	57%	58%	2%	23%
TET	60%	71%	79%	71%	74%
CIP	5%	14%	7%	24%	18%
AZM	5%	0%	26%	31%	28%

En gras, les valeurs ≥ 50 %.

En Outre-mer, 6 % (9/155) des souches étaient sensibles à tous les antibiotiques testés dont 15 % (7/48) de *S. sonnei*. Le **tableau 44** présente le pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches d'Outre-mer en 2019.

Tableau 44 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de *Shigella* (souches, Outre-mer, 2019)

	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	Moyenne
Souches testées	0	2	105	48	Total=155
Sensibles	-	0%	2%	15%	6%
AMP	-	100%	90%	60%	81%
CAZ/CTX	-	0%	1%	2%	1%*
STR	-	100%	98%	77%	92%
AKN	-	0%	0%	0%	0%
GEN	-	0%	0%	0%	0%
TMP	-	100%	72%	81%	75%
SMX	-	100%	32%	75%	46%
CHL	-	100%	86%	58%	77%
TET	-	100%	91%	77%	87%
CIP	-	0%	1%	0%	1%**
AZM	-	0%	2%	0%	1%**

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

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

** La première souche d'Outre-mer présentant une résistance à la ciprofloxacine ou à l'azithromycine enregistrée au CNR-ESS date de 2018.

Le séquençage du génome entier a été réalisé sur la totalité des souches de *Shigella* spp. hors doublons (n = 1 167). Cette nouvelle technique nous a permis d'identifier la présence des gènes de résistance aux antibiotiques suivants (tableau 45) :

Tableau 45 : Caractérisation des principaux gènes de résistance aux antibiotiques détectés par WGS (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2019)

Résistance à	<i>Shigella</i> spp (n = 1167)
β-LAC*	<i>bla</i> OXA-1 (354) <i>bla</i> TEM-1B (218) <i>bla</i> TEM-35 (12) <i>bla</i> TEM-1C (6) <i>bla</i> TEM-1A (1)
AMI	<i>strB/aph(6)-Id</i> (623) <i>strA/aph(3'')-Ib</i> (617) <i>aadA1</i> (446) <i>ant(3)-Ia</i> (231) <i>aadA5</i> (148) <i>aph(3)-Ib</i> (34) <i>aac(3)-IIId</i> (4) <i>aac(6')-Iaa</i> (2) <i>aadA2</i> (2) <i>aac(3)-IIa</i> (1) <i>aac(6')-Ib-cr</i> (1) <i>aph(3)-Ia</i> (1)
COL	-
PHEN	<i>catA1</i> (355) <i>catA2</i> (1) <i>catB3</i> (1) <i>floR</i> (3)
SUL	<i>sul2</i> (687) <i>sul1</i> (169) <i>sul3</i> (3)
TET	<i>tet(A)</i> (473) <i>tet(B)</i> (414)
TMP	<i>dfrA1</i> (761) <i>dfrA17</i> (147) <i>dfrA14</i> (143) <i>dfrA7</i> (10) <i>dfrA5</i> (9) <i>dfrA8</i> (3) <i>dfrA12</i> (3) <i>dfrA15</i> (1)

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

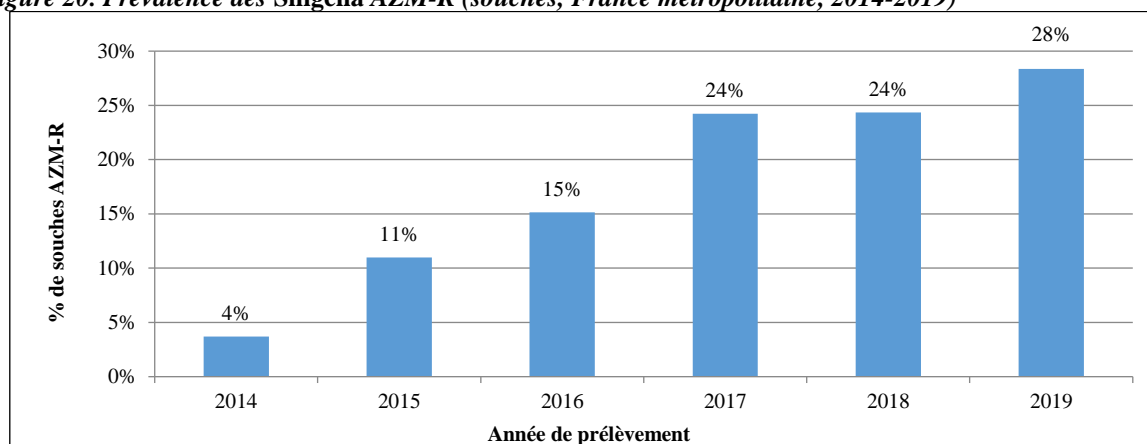
*Attention, les gènes de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération, à l'azithromycine et aux fluoroquinolones sont décrits ci-après dans le paragraphe « 3.2.3.2 Résistances émergentes chez *Shigella* spp. ».

3.2.3.2 Résistances émergentes chez *Shigella* spp.

3.2.3.2.1 Résistance à l'azithromycine

La sensibilité à l'azithromycine est testée en routine au CNR depuis avril 2014. Depuis cette date, le nombre de souches résistantes (AZM-R ; CMI > 16 mg/L) augmente chaque année. En 2019, 28% (287/1 012) 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, 2014-2019)



Parmi les 287 souches de *Shigella* spp. AZM-R de métropole, nous avons identifié 68 % (195/287) de *S. sonnei*, 32 % (91/287) de *S. flexneri* et une souche de *S. boydii* 18. Les différents sérotypes/biotypes sont décrits dans le **tableau 46**.

Tableau 46 : Sérotypes/biotypes des *Shigella* AZM-R (souches, France métropolitaine, 2019)

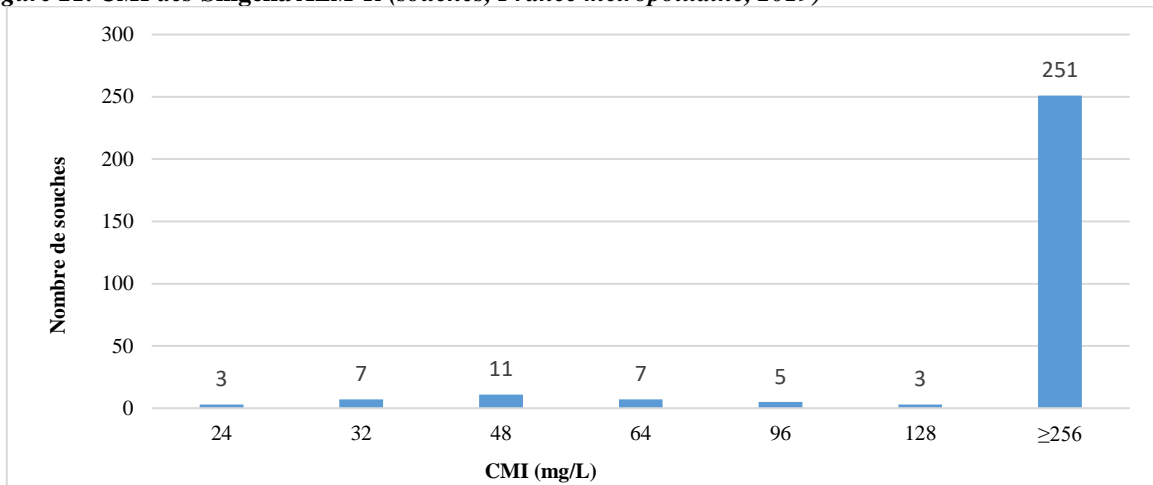
Sérotypes/Biotypes	n
<i>Shigella sonnei</i>	195
<u>g</u>	<u>191</u>
g (ONPG-)	4
<i>Shigella flexneri</i>	91
1a	2
1b	3
<u>2a</u>	<u>23</u>
<u>3a</u>	<u>55</u>
3b	1
Y	2
sérotipe provisoire 1c (7a)	5
<i>Shigella boydii</i>	1
18	1
Total	287

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

La première souche de *Shigella* AZM-R en provenance d'**Outre-mer** a été détectée en 2018. Il s'agissait d'une souche de *S. sonnei* g isolée d'un patient de **Guadeloupe** (n° CNR 201805411). En 2019, nous avons détecté une souche AZM-R de *S. flexneri* 1b (n° CNR 201911230) et une souche AZM-R de *S. flexneri* 2a (n° CNR 201908408) en provenance de **Guyane française**. Ces dernières présentaient une CMI de 64 et 96 mg/L et un profil *mph(A)*+, *ermB*-.

Les CMI de l'azithromycine pour les souches de métropole présentait une nette prédominance de hauts niveaux de résistance (≥ 256 mg/L) (**Figure 21**).

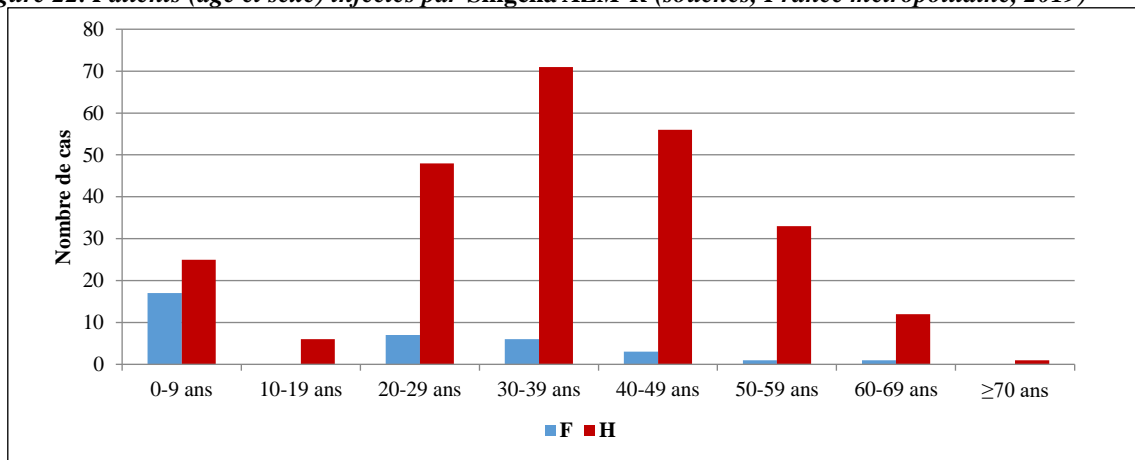
Figure 21. CMI des Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2019)



Le gène *mph(A)* a été détecté chez 99% (285/287) des souches de *Shigella* AZM-R (CMI_{AZM} > 16 mg/L). Aucune souche avec une CMI_{AZM} ≤ 16 mg/L ne contenait le gène *mph(A)*. Chez les deux souches AZM-R *mph(A)*-, seul le gène *erm(B)* a été détecté et les CMI étaient de 32 et 48 mg/L.

Comme chaque année, les souches de *Shigella* AZM-R de 2019 étaient majoritairement isolées chez des **hommes de 20-59 ans** (225/287, 78%) (**Figure 22**).

Figure 22. Patients (âge et sexe) infectés par Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2019)

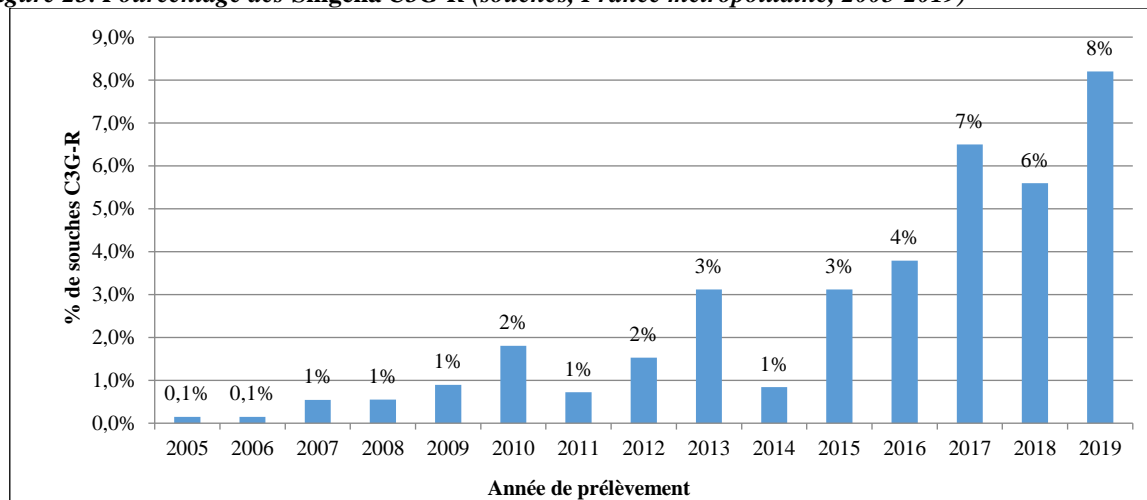


Parmi les 102 cas pour lesquels l'item sur la notion de voyage était renseigné, **74 %** (75/102) précisait une **absence de voyage** hors de France métropolitaine, 11 % (11/102) un voyage en Europe, 10 % (10/102) en Asie, et les 9 % restants (9/102) un voyage en Amérique ou sans précision.

3.2.3.2.2 Résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération

En 2019, 8 % (83/1012) des souches de *Shigella* en provenance de métropole présentaient une **résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G-R ; CMI > 1mg/L)**. L'évolution du pourcentage des souches C3G-R en métropole de 2005 à 2019 est présentée dans la **figure 23**.

Figure 23. Pourcentage des *Shigella* C3G-R (souches, France métropolitaine, 2005-2019)



Parmi les 83 souches de *Shigella* C3G-R de **métropole**, 94 % (78/83) étaient des *S. sonnei*. Les différents sérotypes/biotypes sont décrits dans le **tableau 47**.

Tableau 47 : Sérotypes/biotypes des *Shigella* C3G-R (souches, France métropolitaine, 2019)

Sérotypes/Biotypes	n
<i>Shigella sonnei</i>	78
<u>g</u>	<u>71</u>
g (ONPG-)	4
g (mannitol-)	2
e	1
<i>Shigella flexneri</i>	1
2a	1
<i>Shigella boydii</i>	2
2	1
18	1
<i>Shigella dysenteriae</i>	2
sérotipe provisoire 97-10607 (96-204)	2
Total	83

Le sérotipe majoritaire de l'année est souligné.

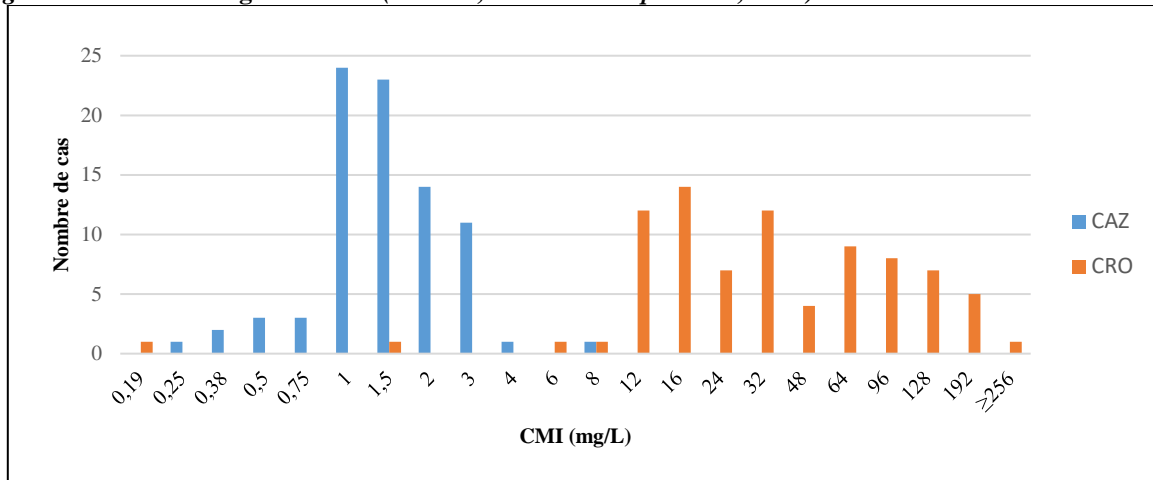
En Outre-mer, deux souches C3G-R ont été enregistrées en **2019** :

- n° CNR 201908190 : *S. flexneri* 1b, **ST7384**, productrice de **CTX-M-15** isolée à **Mayotte**.
- n° CNR 201910409 : *S. sonnei* g (mannitol-), **ST152**, productrice de **CTX-M-15** isolée à **La Réunion**.

Pour rappel, les premières souches C3G-R d'Outre-mer transmises au CNR-ESS datent de 2017 et 2018. Il s'agissait de sept *S. flexneri* 4a, 4av ou Y, ST630, productrices de CTX-M-15 et toutes isolées à Mayotte (n° CNR 201711703, 201802196/02199/04236/04237/04246/10235).

Les CMI de la ceftazidime (CAZ) et de la ceftriaxone (CRO) pour les souches C3GR de métropole étaient respectivement comprises entre 0,25 - 8 mg/L et 0,19 - \geq 256 mg/L (Figure 24).

Figure 24. CMI des Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2019)

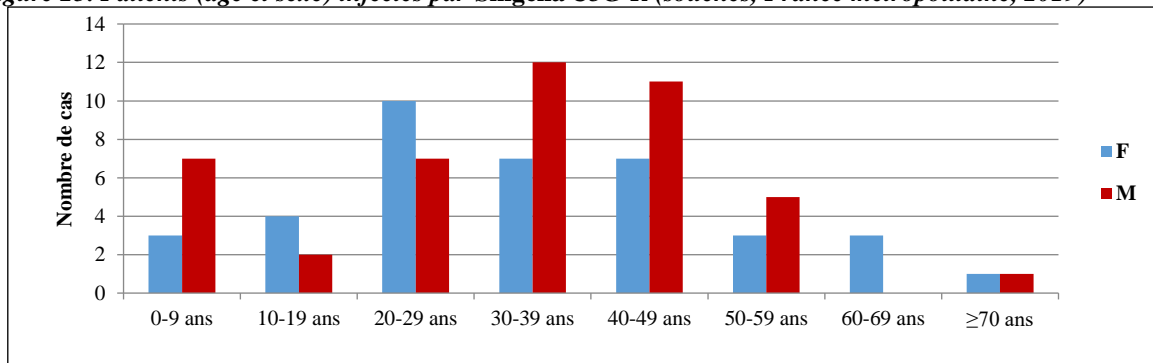


Les deux souches productrices de CTX-M-15 d’Outre-mer avaient une CMI_{CAZ} = 1,5-2 mg/L et une CMI_{CRO} = 24-48 mg/L.

La notion de voyage était renseignée chez 57 % (47/83) des cas de shigellose C3G-R de métropole. Trente pour cent (14/47) mentionnaient l’absence de voyage en dehors de France métropolitaine, 28% (13/47) un voyage en Egypte et 9 % (4/47) un voyage en Inde. Aucune notion de voyage n’était mentionnée pour les souches C3G-R d’Outre-mer (Mayotte et La Réunion).

Comme en 2018, la répartition des âges (Figure 25) parmi les cas infectés par des souches C3G-R montrait une majorité de cas âgés de 20 à 49 ans (54/83, 65 %). Dans la classe d’âge 20-29 ans circulait une diversité de clones avec une importante proportion de voyage (Inde, Pakistan, Thaïlande, Egypte ; 41%). Dans la classe d’âge 30-49 ans un déséquilibre du sex-ratio (23 hommes versus 14 femmes) était corrélé à la présence majoritaire d’un clone de *S. sonnei* producteur de CTX-M-27, HC5_62596, parmi les hommes (14/23, 60%). Une épidémie liée à la circulation de ce clone dans la communauté HSH (hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes) a été décrite en 2018. En France l’épidémie qui avait fait 10 cas en 2018 s’est donc poursuivie en 2019 (voir paragraphe 3.3 Alerte).

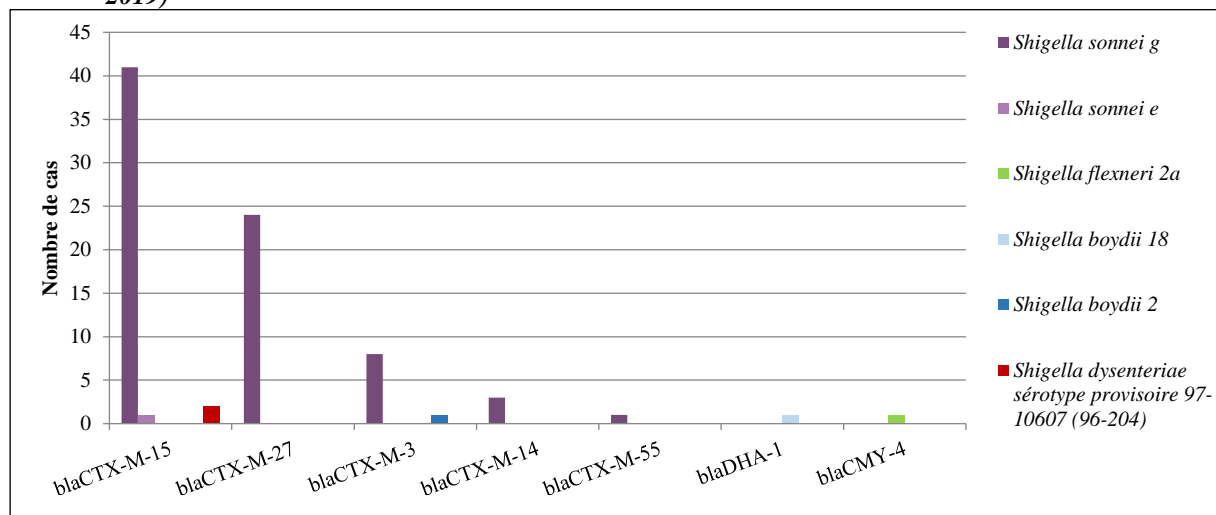
Figure 25. Patients (âge et sexe) infectés par Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2019)



Les deux souches d’Outre-mer ont, quant à elles, été isolées chez deux enfants de 1 et 15 ans.

Grâce au WGS, les gènes de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération ont été systématiquement recherchés. Les gènes de BLSE appartenaient à la famille des *bla*_{CTX-M}. En 2019, nous avons également détecté deux souches productrices de céphalosporinases de type **CMY-4** ou **DHA-1** (voir **figure 26**).

Figure 26. Gènes responsables de la résistance aux C3G chez *Shigella* (souches, France métropolitaine, 2019)



En métropole, le gène *bla*_{CTX-M-15} était le plus fréquemment retrouvé chez les *Shigella* C3G-R. Le pic de 24 souches de *S. sonnei* g productrices de CTX-M-27 est lié à l'épisode épidémique chez les HSH décrit dans le paragraphe ci-dessus « Répartition des âges » et dans le paragraphe 3.3 Alerte.

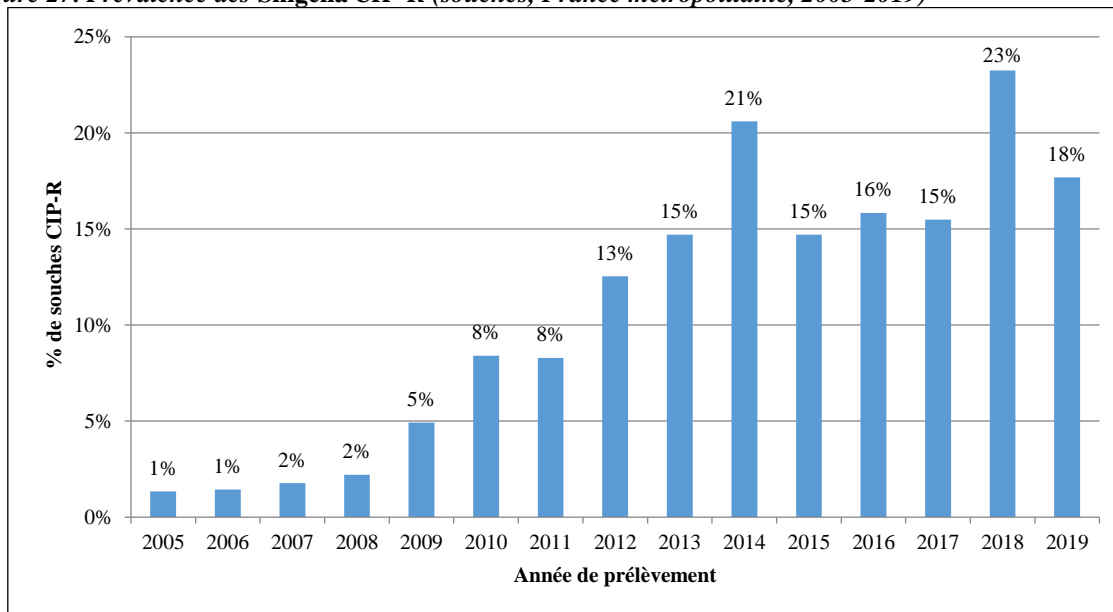
En Outre-mer, les deux souches C3G-R étaient productrices de CTX-M-15.

Enfin, parmi les sept souches de **EIEC** isolées en 2019, une souche ST4267 était porteuse du gène *bla*_{CTX-M-15} (n° CNR 201902596).

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**). En 2019, 18 % (179/1012) des souches en provenance de France métropolitaine présentaient une résistance à la ciprofloxacine.

Figure 27. Prévalence des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2005-2019)



Parmi les 179 souches de *Shigella* CIP-R de métropole, **84 %** (151/179) étaient des *S. sonnei*, **14 %** (25/179) des *S. flexneri* et moins de 2 % (3/179) des *S. boydii* ou des *S. dysenteriae*. Les différents sérotypes/biotypes sont décrits dans le **tableau 48**.

Tableau 48 : Sérotypes/biotypes des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2019)

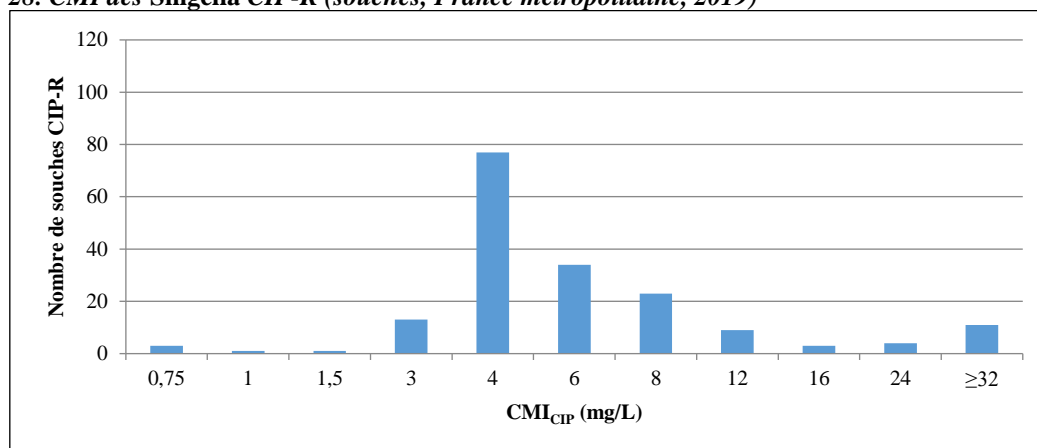
Sérotypes/Biotypes	n
<i>Shigella sonnei</i>	151
<u>g</u>	<u>143</u>
g (ONPG-)	7
g (mannitol-)	1
<i>Shigella flexneri</i>	25
<u>2a</u>	<u>22</u>
3a	<u>1</u>
6 Boyd 88	1
6 Herfordshire	1
<i>Shigella dysenteriae</i>	2
sérotipe provisoire 97-10607 (96-204)	2
<i>Shigella boydii</i>	1
19	1
Total	179

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

En 2019, le CNRS-ESS a détecté une souche unique de *Shigella* CIP-R en provenance d'Outre-mer : il s'agissait d'une *S. flexneri* 2b isolée d'un habitant de **La Réunion** et de retour d'un voyage en Inde (n° 201911204).

Les CMI de la ciprofloxacine pour les *Shigella* CIP-R étaient comprises entre 0,75 et > 32 mg/L, avec une majorité des CMI entre 4–8 mg/L (75 %, 134/179) (**Figure 28**).

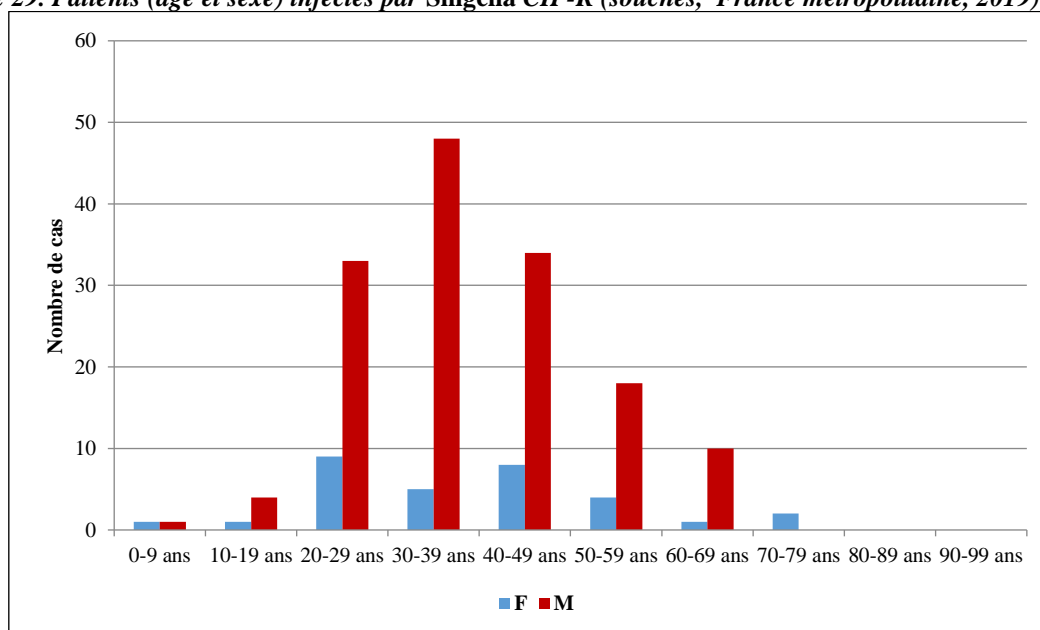
Figure 28. CMI des *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2019)



La notion de voyage était renseignée chez 43 % (77/179) des cas de shigellose CIP-R. Parmi ces derniers, 23 % (18/77) mentionnaient un **voyage en Inde**, et pour **49 % (38/77)** l'**absence de séjour à l'étranger** était signalée.

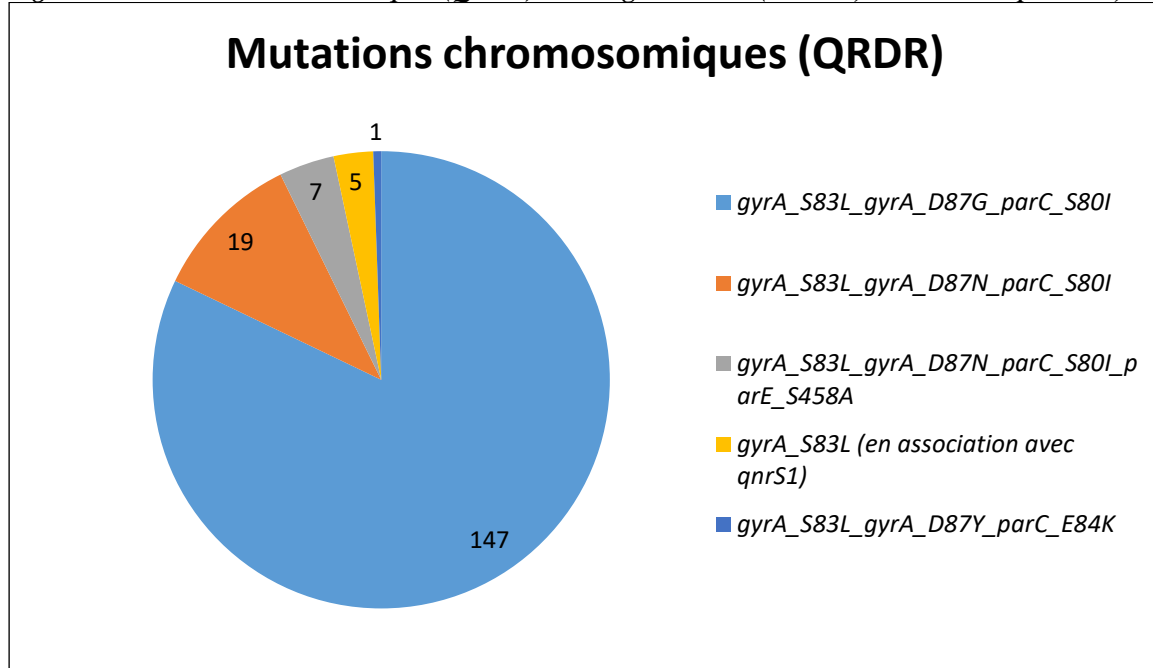
Alors que les souches CIP-R étaient originellement strictement associées à un voyage, ces dernières semblent désormais circuler localement sur le territoire métropolitain, et tout particulièrement parmi les **hommes de 20–59 ans** (133/179, 74 %), comme pour les souches AZM-R (**Figure 29**).

Figure 29. Patients (âge et sexe) infectés par *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2019)



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 179 souches de *Shigella* CIP-R de métropole (**Figure 30**).

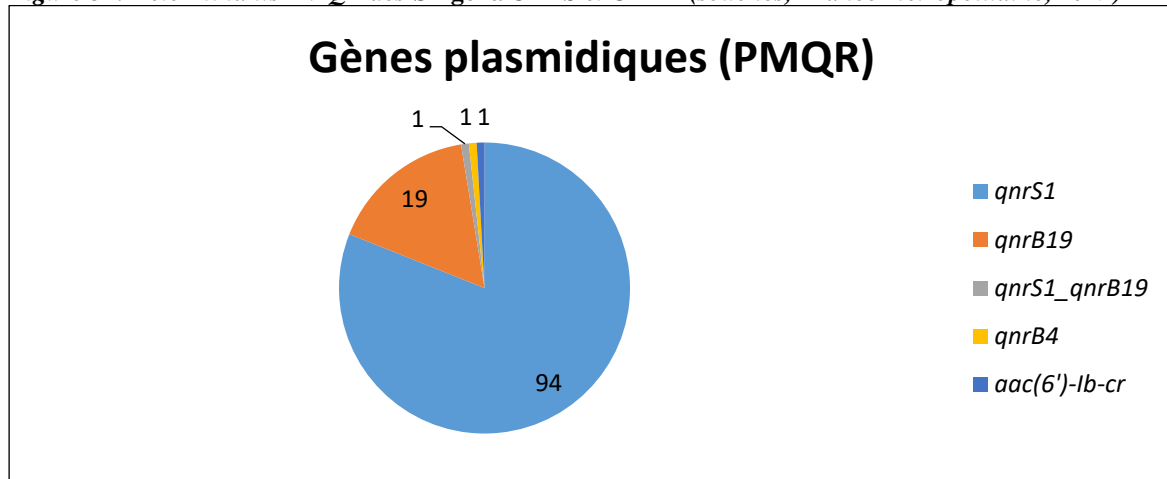
Figure 30. Mutations chromosomiques (QRDR) des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2019)



La souche de *Shigella flexneri* 2b CIP-R en provenance de La Réunion et associée à voyage en Inde (n° 201911204) présentait une triple mutation QRDR de type *gyrA_S83L_gyrA_D87N_parC_S80I*.

Nous avons également détecté des gènes de résistance aux quinolones médiés par des plasmides (PMQR) chez un total de 116 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, 2019)



Une souche de *S. flexneri* 1b en provenance de Mayotte (n° 201908190) et une souche de *S. sonnei* g (mannitol-) en provenance de La Réunion (n° 201910409) étaient également porteuses d'un gène *qnrS1*. Il s'agit des deux souches d'Outre-mer productrices de BLSE de type CTX-M-15. Enfin, une autre souche de *S. sonnei* g (mannitol-) en provenance de La Réunion et avec notion de voyage à Madagascar (n° 201910150) était porteuse du gène *qnrB19*.

3.2.4 Interface avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France (SpF) : l'échange des données s'effectue historiquement 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 par 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 aux 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'espace économique européen (EEE) – Islande, Norvège et 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 2019. 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 2020.
- Étude des différents clusters génomiques des souches de *Shigella* multi-résistantes aux antibiotiques en France métropolitaine. Cette étude est en cours de réalisation au sein de l'unité.

3.3 Alerte

En 2019, huit épidémies nationales à *S. sonnei* g, ST152, ont été détectées par le CNR-ESS et ont été notifiées à Santé publique France :

- Un groupe de sept cas au sein de l'armée à Cayenne, Guyane française : **HC5_126490**. Ces souches nous ont été transmises par l'Institut Pasteur de Cayenne.
- Trois épisodes de cas groupés dans des établissements confessionnels pour la petite enfance en Ile-De France :
 - **HC5_125344**
 - neuf cas dans un centre de loisirs de Saint Mandé (dépt. 94) en juillet/août
 - 36 cas dans une école primaire de Sarcelles (dépt. 95) en décembre
 - **HC5_123428**
 - 31 cas dans différentes crèches et écoles de Sarcelles (dépt. 95) en novembre/décembre
- TIAC dans un restaurant pakistanais à Saint-Laurent-du-Var. Deux cas d'infection à *S. sonnei* g producteur de CTX-M-15, **HC5_95885**. Un membre du personnel présentait des diarrhées profuses et était de retour du Pakistan. L'établissement a été fermé par le préfet.
- Un groupe de trois cas au sein d'un bidonville de Bondy (dépt. 93).
- Poursuite de l'épidémie due au clone **HC5_2712** multi-résistant (**AMP STR PEF CIP TET SMX TMP AZM**). Ce clone émerge en France métropolitaine depuis juillet 2018. Cent dix nouveaux cas ont été détectés tout au long de l'année 2019 en métropole, dont 95% d'hommes (104/110) presque exclusivement âgés de 19 à 60 ans (102/104, 98%). Parmi ces derniers l'item sur la notion de voyage avait été renseigné chez 34 cas : 80% (27/34) indiquait l'absence de voyage à l'étranger. Ceci nous permet de suspecter une circulation dans la communauté HSH métropolitaine. Aucune souche de ce clone ne nous a été transmise d'Outre-mer en 2019.
- Poursuite de l'épidémie due au clone **HC5_62596** multi résistant (**CAZ CRO FEP STR PEF TET SMX TMP AZM**, producteur de **CTX-M-27**). Ce clone émerge en France métropolitaine depuis fin 2018 (voir rapport 2018, alerte UI-530 du Royaume-Uni, 20/12/2018). En 2019, 22 nouveaux cas ont été détectés en France métropolitaine, dont 91% d'hommes (20/22) presque exclusivement âgés de 23 à 57 ans (19/20, 95%). Parmi ces derniers l'item sur la notion de voyage avait été renseigné chez sept cas dont cinq d'entre eux indiquaient l'absence de voyage à l'étranger. Ce clone circule également très probablement dans la communauté HSH métropolitaine. Aucune souche de ce clone ne nous a été transmise d'Outre-mer en 2019.

En 2019, un cas groupé à *S. flexneri* 1b, ST245, **HC5_96305** a également été détecté dans un bidonville de Bondy. Les souches nous ont été transmises par l'hôpital Jean Verdier de Bondy (dépt. 93)

En 2019, aucune alerte européenne concernant des cas groupés à *Shigella* spp n'a été déposée sur la plateforme EPIS-FWD de l'ECDC.

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 2019, un total de 1471 prélèvements, dont 1195 prélèvements de selles et 264 souches de *E. coli* ont été reçus au LA-RD. Le nombre de souches analysées a diminué par rapport à 2018 (n = 308) contrairement au nombre de selles analysées qui augmente régulièrement depuis 2013 (1 041 en 2018, 985 en 2017, 970 en 2016, 785 en 2015, 750 en 2014 et 736 en 2013). En 2019, 307 souches de EHEC ont été identifiées au LA-RD puis caractérisées par WGS au CNR-ESS. En France, toutes pathologies confondues, les sérogroupes majeurs de EHEC retrouvés étaient : le O26 (31,4 %), le O80 (17.8 %) et le O157 (14.6 %). Au cours des SHU, la prédominance du séro groupe O26 s'affirmait (45.9 %) suivi du séro groupe O80 (22.6 %) et du séro groupe O157 (11.3 %).

Comme en 2018, l'année 2019 a été marquée par une épidémie d'infections à EHEC O26 liée à la consommation de fromage au lait cru.

4.1.1 Évolutions des techniques

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

Concernant l'investigation des épidémies, la technique de l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), qui était la méthode de référence, n'est plus réalisée au CNR-ESS. Depuis octobre 2018, la définition des **clusters épidémiques** s'effectue à partir de l'analyse des séquences du génome complet (selon les valeurs de « **Hierarchical clustering** » de **cgMLST** puis par **analyse SNP**). Les résultats HC5, HC10, HC20 et HC50 sont communiqués hebdomadairement à Santé publique France. Cette approche est désormais utilisée pour la surveillance en France, ainsi que sur le réseau EPIS-FWD du ECDC.

Ces différentes méthodes sont détaillées dans l'annexe 2 paragraphe A2.3.1.1

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.

Le CNR-ESS est un des principaux utilisateurs du site Enterobase (<https://enterobase.warwick.ac.uk/>). L'interaction du CNR avec l'équipe qui gère Enterobase à l'Université de Warwick (Royaume-Uni) a mené à la modification des calculs réalisés par l'algorithme pour l'assignation des allèles cgMLST en juillet 2019. Le CNR-ESS a été le principal laboratoire à tester les différents algorithmes et à valider la version qui fonctionne actuellement sur le site pour les *E. coli*, les *Shigella* et les *Salmonella*. Cette modification, qui ignore l'information génétique manquante pour l'assignation des allèles cgMLST, a amélioré l'identification des groupements génomiques de *E. coli*.

4.1.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Aucune pour le LA-RD ni pour le CNR-ESS.

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 2019, 307 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 2019, un total de 1 471 prélèvements, dont 1195 prélèvements de selles, 264 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 49**.

Tableau 49 : Répartition des différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au LA-RD en 2019

Inventaire des prélèvements	N
Prélèvement humains	
SELLES	1195
BIOPSIE INTESTINALE	3
ADN /SELLES	9
Souches humaines isolées de :	
Selles	133
Hémoculture	53
Urines	49
LCR	11
Aspiration bronchique	3
Biopsie colique	3
Pus profond	2
Placenta	2
Abscès hépatique	1
Gorge	1
Liquide gastrique	1
Moelle	1
Prélèvement vaginal	1
Souches animales isolées de :	
Fromage	3
Total général	1471

4.1.5.1 Inventaire des prélèvements reçus pour la recherche d'EHEC en 2019

Concernant l'activité d'expertise EHEC, le LA-RD a reçu 1393 prélèvements dont 1195 selles, 133 souches isolées de selles. Le détail des différents types de prélèvements est répertorié dans le **tableau 50**.

Tableau 50 : Les différents types de prélèvements

Prélèvements	N
SELLES	1195
BIOPSIE INTESTINALE	3
SOUCHE /SELLES	133
SOUCHE/ HEMOC	24
SOUCHE/URINE	23
ADN /SELLES	9
SOUCHE/BIOPSIE COLON	3
SOUCHE/ALIMENTAIRES /FROMAGES	3
Total général	1393

Ces prélèvements concernaient 1233 patients suivis par 172 services hospitaliers dont 2 hors métropoles ou des structures de biologie privées (n = 196).

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. 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

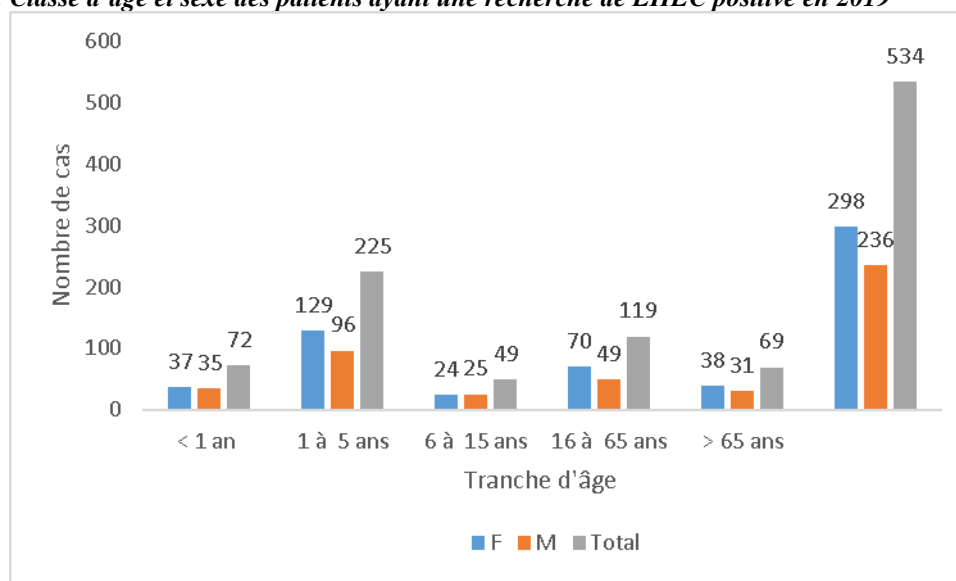
En 2019, **534 patients** ont eu une **recherche de EHEC positive** (isolement de souche ou PCR positive sur les selles). (**307 patients avec souches isolées** et 227 patients n'ayant qu'une PCR positive sur les selles). Nous observons une augmentation depuis 2015 (246, 304, 250, 559 patients positifs respectivement en 2015, 2016, 2017, 2018) 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 51** montre les principaux symptômes des patients ayant une recherche EHEC positive.

Tableau 51 : Principal symptôme observé chez les patients ayant une recherche de EHEC positive (isolement d'une souche ou PCR positive) en 2019

Symptômes	Total	%
Diarrhée simple	188	35,2
SHU/MAT	182	34,1
Diarrhée glairo-sanglante	106	19,9
Diarrhée chronique	16	3,0
Entourage patient	13	2,4
Non renseigné	8	1,5
Asymptomatique	7	1,3
Douleurs abdominales isolées	4	0,7
Infection urinaire	4	0,7
Diarrhée de retour	3	0,6
Sepsis	1	0,2
Pus profond	1	0,2
Don de selles	1	0,2
Total général	534	

La prévalence des EHEC la plus importante est retrouvée chez les enfants de moins de 15 ans (346 cas soit 64,8 %) et principalement dans la tranche d'âge de 1 à 5 ans (297 cas, soit 55,6 %) avec un sex-ratio (H/F) de 0,79 tout âge confondu et de 0,78 pour les moins de 5 ans. (**Figure 32**). En 2019, deux nouveau-nés ont eu une infection à EHEC sans évolution vers un SHU ; celui âgé de 5 jours avait une diarrhée avec PCR positive sans souche isolée et l'autre âgé de 3 jours avait une DGS à EHEC O91 et sa mère avait une PCR positive dans les selles sans souche isolée.

Figure 32. Classe d'âge et sexe des patients ayant une recherche de EHEC positive en 2019



Concernant les souches isolées, 307 souches d'EHEC ont été isolées. Trois sérogroupes sont majoritaires :

- O26 (n = 97) : 31,6%
- O80 (n = 55) : 17,9%
- O157 (n = 44) : 14,3%

On observe des différences de prévalence en fonction des tranches d'âge

- Enfants âgés de 0 à 5 ans : 197 souches dont 3 sérogroupes majoritaires :

- O26 (80 cas soit 40,6 %)
- O80 (40 cas soit 20,3 %)
- O157 (19 cas soit 9,6 %)

- Enfants âgés de 6 à 15 ans : 31 souches isolées dont 3 sérogroupes majoritaires :

- O157 (11 cas soit 35,4%)
- O26 (8 cas soit 25,8%)
- O103 (4 cas soit 12,9%)

- Patients de 16 à 65 ans : 46 souches isolées dont 3 sérogroupes majoritaires :

- O80 (9 cas soit 19%)
- O157 (7 cas soit 15,2%)
- O26 (6 cas soit 13%)

Pour les patients de 65 ans, 33 souches isolées ::

- O157 (n = 7 soit 21,2%)
- O80 (n = 6 soit 18,2%)
- O26 (n = 3 soit 9%)

Tous les résultats sont représentés dans le **tableau 52**.

Tableau 52 : Répartition des différents sérogroupes de EHEC (souches isolées) par classe d'âge et par sexe des patients en 2019

Sexe	Tranche d'âge										Total
	< 1 an		1-5 ans		6-15 ans		16-65 ans		> 65 ans		
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	
Sérogroupes											
O26	7	13	38	22	3	5	5	1	1	2	97
O80	6	6	18	10	0	0	6	3	4	2	55
O157	0	2	12	5	5	6	4	3	5	2	44
O103	4	1	2	3	2	2	3	0	0	2	19
O145	1	1	1	5	0	0	0	2	0	0	10
O55	2	0	3	2	0	1	0	1	0	0	9
O177	1	0	3	4	0	0	0	0	0	0	8
O146	1	0	0	1	0	0	1	2	1	1	7
ND	0	0	3	0	1	0	0	1	0	1	6
O121	2	1	0	1	0	1	0	0	0	0	5
O182	0	0	1	0	2	0	1	0	1	0	5
O174	0	0	0	1	0	0	0	2	0	1	4
O111	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3
O113	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	3
O5	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	3
O104	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2
O128ac	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	2
O148	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2
O156	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2
O166	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	2
O186	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2
O91	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2
O116	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
O117	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
O127	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
O128ab	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
O153/O178	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
O17/O44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
O183	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
O22	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
O27	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
O4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
O50/O2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
O76	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
O78	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
O8	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
O88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Total	25	25	87	60	14	17	25	21	18	15	307

La répartition géographique des souches isolées en 2019 est indiquée sur la **figure 33** ci-dessous. La répartition géographique des principaux sérogroupes confirme ce qui avait été observé depuis 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 souches de EHEC isolées en 2019 (n = 307) sur le territoire

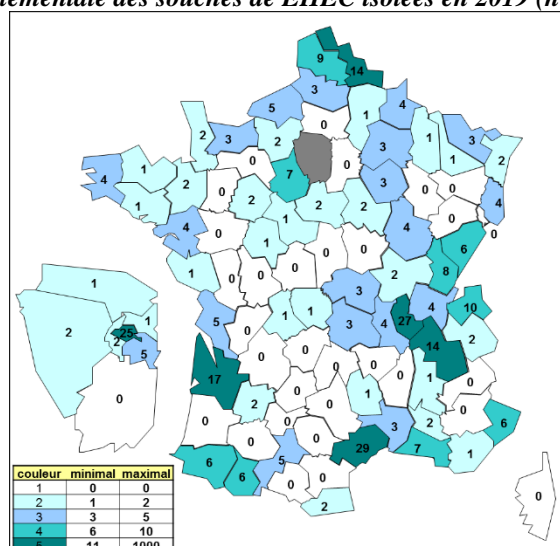
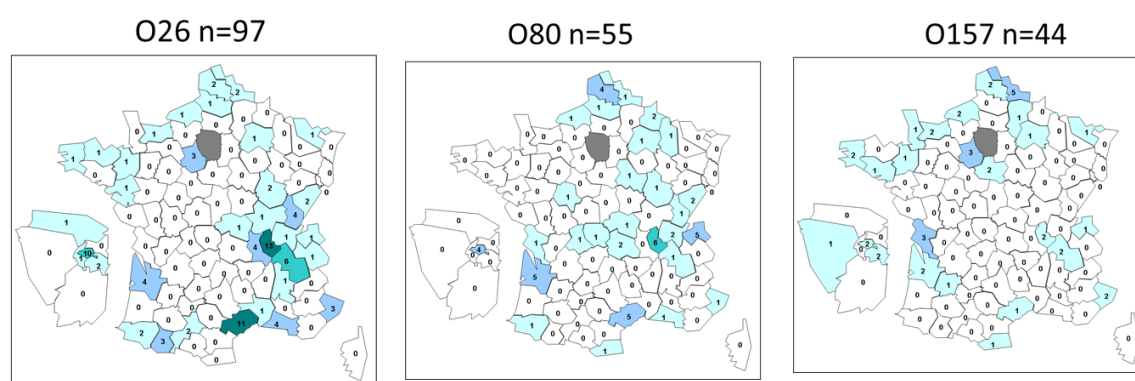


Figure 34. Répartition départementale des sérogroupes O26, O80 et O157 en 2019



4.2.2.2 Résultats microbiologiques 2019 pour les cas de SHU pédiatriques

Parmi les **137 cas de SHU ou suspicion de SHU chez des patients de moins de 15 ans en 2019**, l'étude microbiologique a donné les résultats suivants :

- Pour **110 enfants** de moins de 15 ans, **une souche de EHEC a été isolée** appartenant principalement aux sérogroupes suivants :
 - O26 (n = 60)
 - O80 (n = 20)
 - O157 (n = 11)
 - O145 (n = 5)
- Pour **27 patients**, la **PCR était positive dans les selles sans isolement de souches** avec une PCR sérogroupage positive dans les selles permettant pour 12 cas d'incriminer les sérogroupes suivants : EHEC O80 (n = 4), EHEC O26 (n = 2), EHEC O55 (n = 1), EHEC O145 (n = 2), O121 (n = 1), O103 (n = 1), O111(n = 1).
- Les patients étaient âgés en moyenne de 2,31 ans (Extrêmes : 6 jours à 13 ans) avec un sex-ratio de 0.76.

4.2.2.3 Résultats microbiologiques 2019 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 2019, pour 45 adultes atteints de SHU ou de MAT, la recherche d'EHEC a été positive avec **23 souches d'EHEC** isolées et 22 PCR positives sans souche isolée

Les souches appartenaient majoritaires aux sérogroupes suivants :

- O80 (n = 10)
- O157 (n = 4)
- O103 (n = 3)

- Pour **22 patients**, la **PCR était positive dans les selles sans isolement de souches** avec une PCR sérogroupage positive dans les selles permettant pour 5 cas d'incriminer les sérogroupes suivants : EHEC O80 (n = 2), EHEC O91 (n = 2), O103 (n = 1).

Le séro groupe 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.

En 2019, les patients adultes âgés en moyenne de 60,7 ans et avec un sex- ratio de 0,66.

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 53**.

Tableau 53 : Symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC (souches ou selles) en 2019

Symptômes	N	%
SHU ou suspicion de SHU	368	26,6
Diarrhée glairo-sanglante ou sanglante	322	23,3
Diarrhée simple	311	22,5
MAT ou suspicion de MAT	89	6,4
Contrôle post traitement	50	3,6
Donneur de microbiote fécal	45	3,3
Entourage de patients EHEC	41	3,0
Diarrhée chronique	28	2,0
TIAC	28	2,0
Non renseigné	17	1,2
Diarrhée et douleurs abdominales	12	0,9
Diarrhée de retour	12	0,9
Asymptomatique	9	0,7
Sepsis	8	0,6
Diarrhée et insuffisance rénale	7	0,5
Anémie et thrombopénie	5	0,4
Colite sévère	5	0,4
Diarrhée fébrile	5	0,4
Infection materno-fœtale	4	0,3
Insuffisance rénale aigüe	4	0,3
Infection urinaire	4	0,3
Rectocolite hémorragique	3	0,2
Douleurs abdominales isolées	1	0,1
Médecine du travail	1	0,1
Pancréatite	1	0,1
Peritonite	1	0,1
Pus profond	1	0,1
Décès inexpliqué	1	0,1
Total	1383	

4.2.2.4.2 Résultats obtenus sur les prélèvements de selles en 2019

Sur les 1195 prélèvements de selles reçus, la **recherche directe** des gènes de Shiga-toxines par amplification génique *in vitro* (PCR) a été positive pour **503 patients, soit 42,1 %** des patients pour lesquels des selles ont été reçues.

Dans 54,2 % 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 227 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 2019

4.2.2.4.3.1 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 2019, **307 souches EHEC ont été caractérisées par le LA-RD**

Le CNR-ESS a séquencé le génome des 307 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 54**.

Tableau 54 : Sérotypage complet par WGS des souches isolées en 2019

WGSO	WGSH																		Total
	H10	H11	H14	H16	H18	H19	H2	H20	H21	H25	H27	H28	H30	H4	H40	H7	H8	H9	
O26		97																	97
O80							55												55
O157																44			44
O103							19												19
O145										3		7							10
O55																1		8	9
O177		1									7								8
O146									5				1					1	7
ND				1				3				1				1			6
O121							5												5
O182											5								5
O174								3		1									4
O111																		3	3
O113														3					3
O5																		3	3
O104														2					2
O128ac								2											2
O148																		2	2
O156											2								2
O166													2						2
O186				2															2
O91	1		1																2
O116													1						1
O117																	1		1
O127															1				1
O128ab								1											1
O153/O178							1												1
O17/O44					1														1
O183					1														1
O22																		1	1
O27													1						1
O4							1												1
O50/O2												1							1
O76																	1		1
O78														1					1
O8																		1	1
O88											1								1
Total	1	98	1	3	2	6	81	3	6	18	1	12	1	6	1	48	8	11	307

Ces souches ont été isolées chez 307 patients présentant les symptômes suivants :

Symptômes	N	%
SHU/MAT	123	40,1
Diarrhée	90	29,3
DGS	51	16,6
Diarrhée chronique	12	3,9
Entourage	12	3,9
Non renseigné	5	1,6
Asymptomatique	2	0,7
Diarrhée de retour	2	0,7
Infection urinaire	4	1,3
Diarrhée et douleurs abdominales	2	0,7
Sepsis	1	0,3
Pus profond	1	0,3
Diarrhée fébrile	1	0,3
Médecine du travail	1	0,3
Total	307	

Toutes pathologies confondues, les sérogroupes majoritairement isolés (>10 %) en France en 2019 étaient :

- **O26** (n = 97) : 31,6%
- **O80** (n = 55) : 17,9%
- **O157** (n = 44) : 14,3%

Pour les SHU/MAT typiques (n = 133), les mêmes sérogroupes étaient majoritairement isolés, tous âges confondus :

- **O26** : 61 souches isolées soit **45,9%**
- **O80** : 30 souches isolées soit **22,6 %**
- **O157** : 15 souches isolées soit **11,3 %**

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 2019, la prévalence des différents sérogroupes d'EHEC est superposable à celle de 2018 et confirme la place prépondérante du séro groupe EHEC O26 en France, suivi du séro groupe EHEC O80 puis du séro groupe EHEC O157.

Figure 35. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés toutes pathologies confondues en 2019

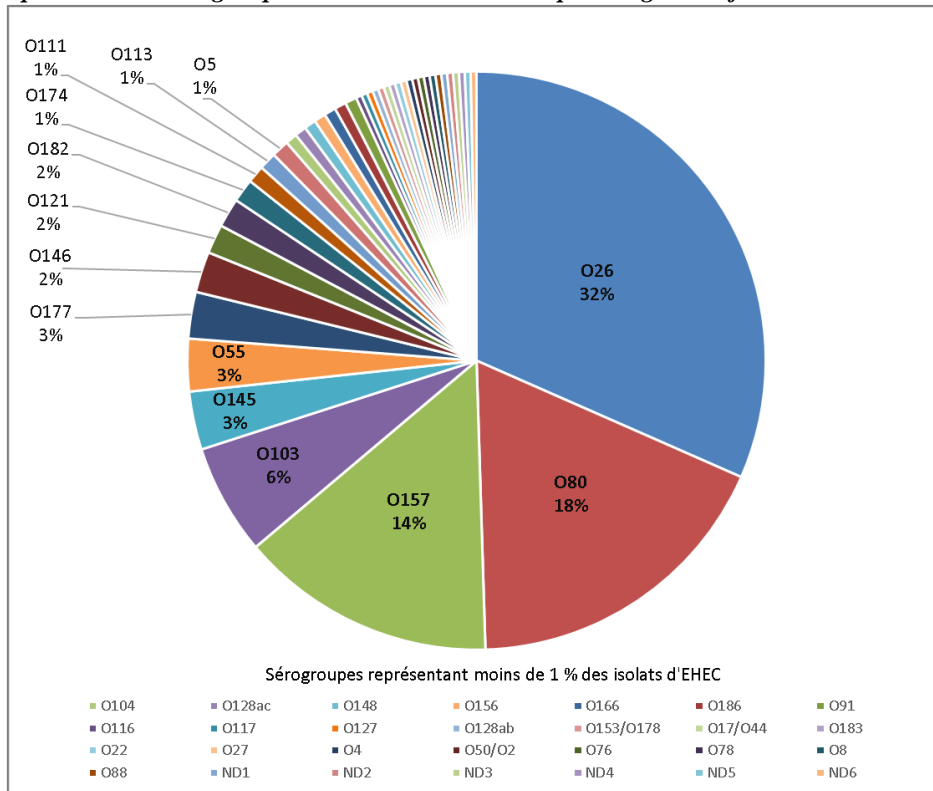
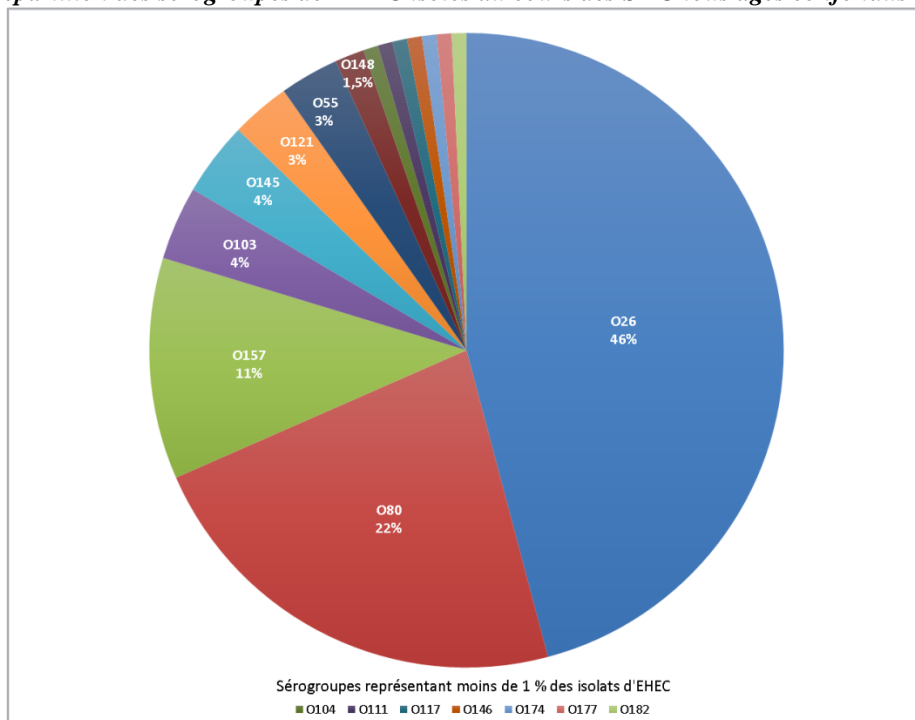


Figure 36. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés au cours des SHU tous âges confondus en 2019



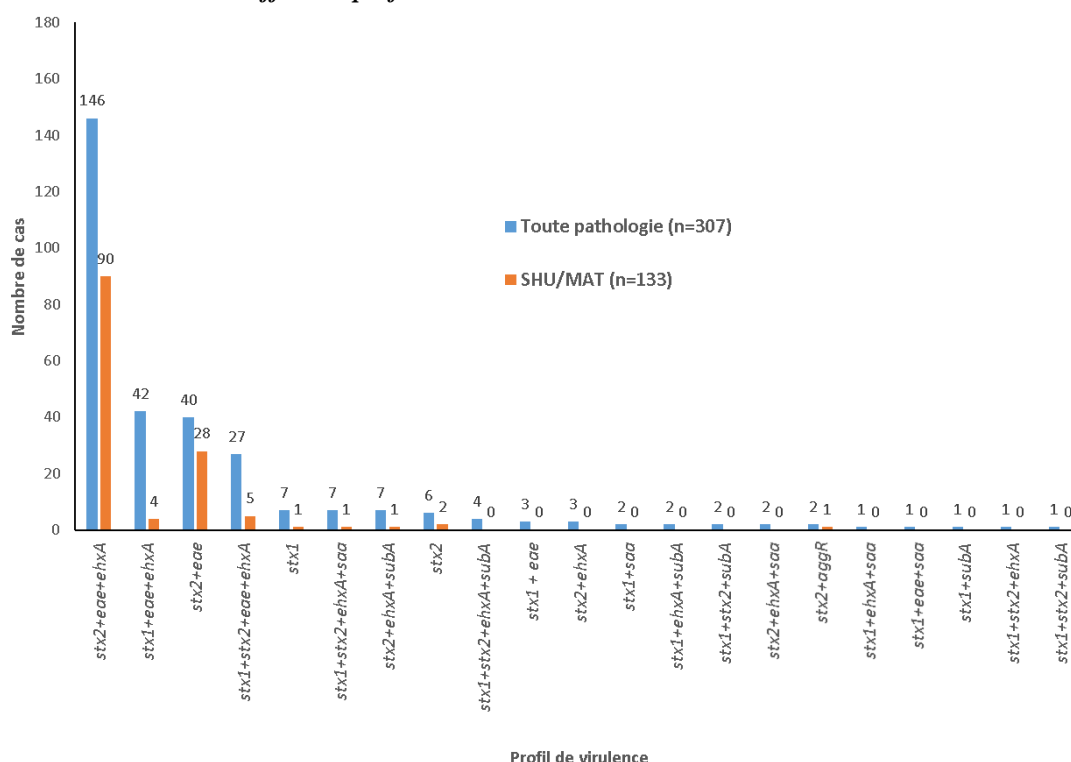
4.2.2.4.3.2 Analyse des profils de virulence

En 2019, le profil le plus souvent retrouvé est le **profil *stx2+eae+ehxA*** avec **47,5 %** des souches, tous sérotypes confondus et toutes pathologies confondues. Il est retrouvé dans **67,6 %** 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* sauf dans un cas.

Les gènes *aggR*, *saa* et le gène de la subtilase *subA* sont retrouvés respectivement chez 2, 11 et 19 souches

La distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2019 est indiquée dans la **figure 37**.

Figure 37. Distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2019



La répartition des **profils de virulence des souches de EHEC** (n = 307) en fonction du sérotype est représentée respectivement dans :

- le **tableau 55**: souches de EHEC appartenant aux sérotypes les plus fréquemment incriminés dans les infections à EHEC (\geq trois souches isolées en 2019) et regroupant un total de 272 souches.
- le **tableau 56**: souches de EHEC appartenant aux sérotypes les moins fréquemment rencontrés (< trois souches isolées en 2019) et regroupant un total de 29 souches.
- le **tableau 57**: souches de EHEC non sérotypables par méthode moléculaire WGS (6 souches) ; aucune de ces souches n'a été responsable de SHU

Le profil *stx2+eae+ehxA* est retrouvé chez 100 % des souches de sérotype O80. Il est majoritaire dans le sérotype O157 (52,7 % des souches). Dans le sérotype O26, il est retrouvé dans 36% des souches et le profil *stx2 + eae* (40,2 % des souches).

Tableau 55 : Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les plus fréquemment isolés en 2019

Profil de virulence	Sérogroupes d'EHEC														Total
	O26	O80	O157	O103	O145	O55	O177	O146	O121	O182	O174	O111	O113	O5	
<i>stx2+eae+ehx</i>	35	55	23		9	8	8		5						143
<i>stx1+eae+ehx</i>	18			16	1					5		1			41
<i>stx2+eae</i>	39		1												40
<i>stx1+stx2+eae+ehxA</i>	3		20	3								1			27
<i>stx1</i>								1							1
<i>stx1+stx2+ehxA+saa</i>											2			3	5
<i>stx2+ehx+sub</i>								3							3
<i>stx2</i>											1		1		2
<i>stx1+stx2+ehxA+subA</i>								2			1				3
<i>stx1 + eae</i>	2					1									3
<i>stx1+stx2+subA</i>													2		2
<i>stx2+ehxA+saa</i>															0
<i>stx1+ehxA+saa</i>															0
<i>stx1+subA</i>								1							1
<i>stx1+stx2+ehxA</i>												1			1
Total	97	55	44	19	10	9	8	7	5	5	4	3	3	3	272

Tableau 56 : Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les moins fréquemment isolés en 2019

Profil de virulence	Sérogroupes d'EHEC																		Total					
	O104	O128 ac	O148	O156	O166	O186	O91	O116	O117	O127	O128 ab	O153/O178	O17/O44	O183	O22	O27	O4	O50/O2		O76	O78	O8	O88	
<i>stx2+eae+ehx</i>				2													1							3
<i>stx1+eae+ehx</i>																			1					1
<i>stx1</i>								1													1	1		3
<i>stx1+stx2+ehxA+saa</i>											1		1											2
<i>stx2+ehx+sub A</i>		2									1													3
<i>stx2</i>			2				1								1									4
<i>stx1+stx2+ehxA+subA</i>					1																			1
<i>stx2+ehxA</i>							1									1		1						3
<i>stx1+saa</i>						2																		2
<i>stx1+ehxA+subA</i>					1															1				2
<i>stx2+ehx+saa</i>													1											1
<i>stx2+aggR</i>	2																							2
<i>stx1+eae+saa</i>									1															1
<i>stx1+stx2+subA</i>							1																	1
Total	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	29

Tableau 57 : Profil de virulence des EHEC non sérogroupables par méthode moléculaire WGS en 2019

WGS_O	WGS_H	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>ehxA</i>	<i>saa</i>	<i>aggR</i>	<i>subA</i>
ND	fliC_H16	+	-	-	-	-	-	-
ND	fliC_H20	-	+	-	+	+	-	-
ND	fliC_H20	+	-	-	+	+	-	-
ND	fliC_H7	+	-	-	-	-	-	-
ND	fliC_H28	-	+	-	+	-	-	+
ND	fliC_H20	+	-	-	-	-	-	-

Pour 227 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 eux, 49 patients présentaient un SHU/MAT.

Parmi les selles de ces 227 patients, 72 selles avec une PCR positive provenaient de LBM utilisant une PCR multiplex entérique automatisée. 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. Pour 33 d'entre ces 72 patients, la PCR n'a pas été contrôlée et les selles ont été gardées au congélateur à -80°C pour des investigations complémentaires si nécessaire. 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 80 patients, la PCR temps réel avait un CT très tardif (> 30) et la PCR conventionnelle des gènes de virulence n'a pas été réalisée. Pour ces patients, les résultats de la PCR temps réel sur les selles montrent la prédominance du gène *stx2* (n = 49). Le gène *stx1* est retrouvé dans 19 cas et l'association *stx1+stx2* dans 12 cas.

Pour les patients atteints de SHU/MAT (n = 49) et de DGS (n = 56), le profil de virulence par PCR conventionnelle figure dans le **tableau 58** ci-dessous. Le profil *stx2+eae+ehxA* est très largement majoritaire.

Tableau 58 : Profil de virulence directement par PCR sur les selles sans isolement de souches en 2019

Profil de virulence	Total	%
<i>stx2+eae+ehxA</i>	41	39,0
<i>stx2+eae</i>	20	19,0
<i>stx1+eae+ehxA</i>	12	11,4
<i>stx2</i>	11	10,5
<i>stx1+stx2+eae+ehxA</i>	8	7,6
<i>stx1+eae</i>	5	4,8
<i>stx1+stx2+eae</i>	3	2,9
<i>stx2+ehxA</i>	2	1,9
<i>stx1+stx2</i>	2	1,9
<i>stx1</i>	1	1,0
Total	105	

Pour ces 105 patients, la PCR détectant les sérogroupes majeurs a également été réalisée et a permis d'obtenir des résultats pour 28 patients. En ce qui concerne les SHU, le séro groupe O80 est retrouvé dans 1/3 des cas (**tableau 59**).

Tableau 59 : Résultats du sérogroupage par PCR directe sur selles sans souche isolée en 2019

Séro groupe	SHU	DGS
	N	N
O80	6	1
O91	3	3
O103	2	2
O111	2	1
O145	2	1
O26	2	0
O121	1	1
O104	1	0
Total	19	9

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 307 souches isolées en 2019.

La répartition globale des variants est représentée sur le **tableau 60**.

La répartition des profils des variants en tenant compte des sérogroupes les plus fréquents et les plus rares sont regroupés respectivement dans les **tableaux 61 et 62**.

Chacun des trois sérogroupes majoritaires est fortement associé à un sous type particulier de gène *stx* :

- séro groupe O26 : sous type *stx2a* dans 76,3% des cas
- séro groupe O80 : sous type *stx2d* dans 96,4 % des cas
- séro groupe O157 : sous type *stx2c* dans 50% des cas

Tableau 60 : Répartition globale des variants *stx* en 2019

Variants <i>stx</i>	N	%
<i>stx2a</i>	105	34,2
<i>stx1a</i>	91	29,6
<i>stx2d</i>	66	21,5
<i>stx2c</i>	23	7,5
<i>stx2b</i>	13	4,2
<i>stx2a</i>	12	3,9
<i>stx1c</i>	11	3,6
<i>stx2c</i>	11	3,6
<i>stx2a</i> + <i>stx2c</i>	8	2,6
<i>stx2d</i>	3	1,0
<i>stx1d</i>	1	0,3
<i>stx2b</i>	1	0,3
<i>stx2f</i>	1	0,3
Total	307	

Tableau 61 : Répartition des profils de variants *stx* en fonction des sérogroupes de EHEC les plus fréquents des souches isolées en 2019

Variants <i>stx</i>	Sérogroupes d'EHEC															Total
	O26	O80	O157	O103	O145	O55	O177	O146	ND	O121	O182	O174	O111	O113	O5	
<i>stx2a</i>	74	2	1	3	7	4				5		1	2			99
<i>stx1a</i>	23		20	19	1	1			2		5	3	3		3	80
<i>stx2d</i>	3	53			1	3			1			2		1		64
<i>stx2c</i>			22				1									23
<i>stx2b</i>								5	1					2		8
<i>stx2a</i>			11				1									12
<i>stx1c</i>								4	2					2		8
<i>stx2c</i>			2		1		6					1				10
<i>stx2a</i> + <i>stx2c</i>			8													8
<i>stx2d</i>																0
<i>stx1d</i>																0
<i>stx2b</i>																0
<i>stx2f</i>						1										1
Total	97	55	44	19	10	9	8	7	6	5	5	4	3	3	3	278

Tableau 62 : Répartition des profils de variants stx en fonction des sérogroupes de EHEC les plus rares isolés en 2019

Variants stx	Sérogroupes d'EHEC																	Total						
	O104	O128 ac	O148	O156	O166	O186	O91	O116	O117	O127	O12 8ab	O153/ O178	O17/ O44	O183	O22	O27	O4		O50 /O2	O76	O78	O8	O88	
stx2a	2							1				1		1				1						6
stx1a				2		2	1		1	1		1		1					1		1			11
stx2d													1				1							2
stx2c																								0
stx2b		2					1				1					1								5
stx2a																								0
stx1c					2																1			3
stx2c															1									1
stx2a + stx2c																								0
stx2d			2				1																	3
stx1d																							1	1
stx2b					1																			1
stx2f																								0
Total	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	29

4.2.2.4.3.4 Analyse des variants des gènes *eae* par WGS

Parmi les 307 souches, 263 souches possédaient le gène *eae* (85,6 %).

Les principaux variants sont :

- le variant *eae* β : 42,2 % des souches et majoritairement dans le sérotype O26 (100 %)
- le variant *eae* γ : 19,8 % des souches et majoritairement dans le sérotype O157 (100 %).
- le variant *eae* ξ : 24 % des souches et dans 100 % des sérotypes O80 et O55

La répartition des variants en fonction du sérotype est représentée dans le **tableau 63** suivant.

Tableau 63 : La répartition des variants du gène *eae* en fonction du sérotype EHEC en 2019

Sérotypes d'EHEC	Variants du gène <i>eae</i>							<i>eae</i> neg	Total
	<i>eae</i> β	<i>eae</i> γ	<i>eae</i> ξ	<i>eae</i> ε	<i>eae</i> ζ	<i>eae</i> θ2	<i>eae</i> θ		
O26	97								97
O80			55						55
O157		44							44
O103				19					19
O145	3	7							10
O55		1	8						9
O177	8								8
O146								7	7
ND								6	6
O121				5					5
O182					5				5
O174								4	4
O111						1	2		3
O113								3	3
O5	3								3
O104								2	2
O128ac								2	2
O148								2	2
O156					2				2
O166								2	2
O186								2	2
O91								2	2
O116								1	1
O117								1	1
O127						1			1
O128ab								1	1
O153/O178								1	1
O17/O44								1	1
O183								1	1
O22								1	1
O27								1	1
O4				1					1
O50/O2								1	1
O76						1			1
O78								1	1
O8								1	1
O88								1	1
Total général	111	52	63	25	7	3	2	44	307

4.2.2.4.3.5 Autres facteurs de virulence

Les gènes codant pour les facteurs de virulence des *E. coli* enteroaggrégants (*aggR*), le gène *saa* et le gène codant la subtilase ont été retrouvés chez 30 des 307 souches EHEC.

Le gène *aggR* a été identifié chez **deux souches de EHEC O104**, l'une responsable d'une DGS avec douleurs abdominales chez un enfant de 12 ans et l'autre responsable de SHU chez un enfant de 12 ans qui est décédé.

Sur les **11 souches porteuses du gène *saa***, une seule portait un variant du gène *eae* (*eae* θ). Une seule a été responsable de SHU post infection urinaire chez un adulte. Deux autres souches possédaient également le gène de la subtilase et le variant stx2d. (**Tableau 64**)

Le gène *subA* a été retrouvé chez **17 souches** responsables d'un cas de SHU (EHEC O146), 6 cas de DGS, 9 cas de diarrhée simple, un cas de diarrhée chronique. Les souches subtilase positive possèdent les gènes *stx1* seul (n = 3), *stx2* seul (n = 8) ou l'association *stx1+stx2* (n = 6). Le sous type *stx2b* est le seul retrouvé, tandis que le sous types *stx1c* prédomine largement. Aucune souche ne possédait le gène *eae*. Le sérotype le plus représenté est le sérotype O146 (n = 6) (**Tableau 65**).

Tableau 64 : Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène saa en 2019

Age	Symptômes	WGS_O	WGS_H	WGS_MLST	stx1	stx2	eae	ehxA	saa	subA
1A	DGS	O186	H16	ST10	stx1a	-	-	-	+	-
2A	DIARRHÉE CHRONIQUE	O174	H2	ST661	stx1a	stx2a	-	+	+	-
2A	DIARRHÉE	ND	H20	ST691	stx1a	-	-	+	+	-
2A	DIARRHÉE	O153/O178	H19	ST443	stx1a	stx2a	-	+	+	-
2A	DIARRHÉE	O186	H16	ST10	stx1a	-	-	-	+	-
3A	DIARRHÉE ET DOULEUR ABDOMINALES	ND	H20	ST691	-	stx2d	-	+	+	-
5A	DGS	O127	H40	ST10	stx1a	-	eae θ2	-	+	-
25A	DGS	O183	H18	ST657	stx1a	stx2a	-	+	+	-
55A	DIARRHÉE	O174	H2	ST661	stx1a	stx2d	-	+	+	+
58A	SHU POST INFECTION URINAIRE	O174	H2	ST661	stx1a	stx2d	-	+	+	-
86A	DIARRHÉE	O17/O44	H18	STNEW	-	stx2d	-	+	+	+

Tableau 65 : Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène subA en 2019

Age	Symptômes	WGS_O	WGS_H	WGS_MLST	stx1	stx2	eae	ehxA	saa	subA
3J	DIARRHÉE	O91	H14	ST33	stx1a	stx2b	-	-	-	+
1M	DGS	O146	H21	ST442	-	stx2b	-	+	-	+
1A	DIARRHÉE CHRONIQUE	O78	H4	ST3101	stx1c	-	-	+	-	+
2A	DIARRHÉE	O128ab	H2	ST25	-	stx2b	-	+	-	+
3A	DIARRHÉE	O128ac	H2	ST25	-	stx2b	-	+	-	+
4A	SHU	O146	H21	ST442	-	stx2b	-	+	-	+
4A	DIARRHÉE	O27	H30	ST753	-	stx2b	-	-	-	+
6A	DGS	O113	H4	ST10	stx1c	stx2b	-	+	-	+
18A	DIARRHÉE	O146	H21	ST442	stx1c	stx2b	-	+	-	+
53A	DIARRHÉE	O128ac	H2	ST25	-	stx2b	-	+	-	+
62A	DGS	O146	H21	ST442	stx1c	-	-	+	-	+
63A	DGS	O166	H28	ST1819	stx1c	stx2b	-	+	-	+
67A	DIARRHÉE	O166	H28	ST1819	stx1c	-	-	+	-	+
73A	DGS	O146	H28	ST738	-	stx2b	-	+	-	+
74A	DIARRHÉE	O113	H4	ST10	stx1c	stx2b	-	+	-	+
85A	DGS	ND	H28	ST738	-	stx2b	-	+	-	+
99A	DIARRHÉE	O146	H21	ST442	stx1c	stx2b	-	+	-	+

4.2.2.4.3.6 Analyse des MLST

L'analyse MLST des 307 souches a permis de mettre en évidence **42 ST** dont 6 représentent 73,9 % des souches (**tableau 66**).

Tableau 66 : La répartition des ST en fonction du sérotype (≥ 10 souches par ST)

MLST	Sérogroupes d'EHEC								N	%
	O26	O80	O157	O103	O145	O55	O177	O5		
ST21	77								77	25,1
ST301		55				8			63	20,5
ST11			41						41	13,4
ST17				17					18	5,9
ST29	18								18	5,9
ST342					3		4	3	10	3,3

Les souches appartenant aux sérogroupes O80 et O55, O103, O145, se distribuent dans un seul ST (ST301, ST17, ST342, respectivement) contrairement à celle au séro groupe O26 qui se répartissent majoritairement dans le ST21 (n = 77), le ST29 (n = 18), une souche pour le ST705 et un STnew. Les souches du séro groupe O157 appartiennent majoritairement au ST11 (41 sur 44).

4.2.2.4.3.7 Analyse des cgMLST-HC5

Cette analyse a été réalisée uniquement pour les sérogroupes 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 67** page suivante

Pour les 97 souches de O26, on observe 53 cgMLST-HC5 différents parmi lesquels 42 ne sont représentés que par une seule souche. Onze clusters contiennent 55 souches soit 56,7 % des souches de O26. Le cluster HC5_75047 est prédominant et significativement associé à un SHU (32,7%) et ne faisait pas partie des clusters prédominant en 2018. Ce cluster a été responsable de l'épidémie liée à la consommation de fromage au lait cru en 2019 (St Félicien) A noter que le cluster HC5-65006 prédominant en 2018 a été retrouvé que dans 4 cas dont 3 SHU en 2019.

Pour les 55 souches de séro groupe O80, on observe 35 cgMLST-HC5 différents parmi lesquels 29 ne sont représentés que par une seule souche. Six clusters avec plus d'une souche ont été identifiés et contiennent 27 souches soit 49 % des souches de O80. Le cluster HC5-35179 est le plus fortement associé au SHU (33%) comme en 2018.

Pour les 44 souches de séro groupe O157, on observe 41cgMLST-HC5 différents parmi lesquels 28 ne sont représentés que par une seule souche. Seuls 3 clusters sont représentés par deux souches chacun, responsables de 4 SHU sur les 13 autres SHU dus à ce séro groupe. Une grande diversité est observée pour les souches O157.

Tableau 67 :Analyse des cgWGS HC5 des sérogroupes O26, O80 et O157 en 2019

cgWGS HC5	Symptômes					Total
	DGS	SHU	CONTACT	DIARRHEE	DIARRHEE CHRONIQUE	
EHEC O26						EHEC O26
75047*		20		3		23
83592*	1	2	2	3	1	9
65006*		3		1		4
99010*		4				4
38792*		3				3
86325*		2				2
93633*		2				2
105049*	2					2
109355*			1	1		2
112794*		2				2
124217*		1	1			2
Total 11 clusters*	3	39	4	8	1	55
Autres clusters cgWGS HC5	7	22		13		42
					Total O26	97

cgWGS HC5	Symptômes					Total
	DGS	SHU	CONTACT	DIARRHEE	DIARRHEE CHRONIQUE	
EHEC O80						EHEC O80
35179*	4	10		2		16
80832*		3				3
74950*		1	1			2
96671*		1	1			2
98407*		1		1		2
114994*				2		2
Total 6 clusters*	4	16	2	5		27
Autres clusters cgWGS HC5	3	14		7	4	28
					Total O80	55

cgWGS HC5	Symptômes					Total
	DGS	SHU	CONTACT	DIARRHEE	DIARRHEE CHRONIQUE	
EHEC O157						EHEC O157
70662*		1	1			2
105991*		1		1		2
115318*		2				2
Total 3 clusters*		4	1	1		6
Autres clusters cgWGS HC5	14	9	2	13		38
					Total O157	44

*Cluster : cgWGS-HC5 > 1souche

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 14 cas de SHU, soit 41 personnes prélevées dans l'entourage familial. Parmi elles, 14 (34 %) étaient positives (12 souches isolées et 2 PCR positives dans les selles). Les souches isolées présentaient le même profil que celle du cas index de SHU.

Pour les patients atteints de SHU typique à EHEC et pour leurs contacts positifs, 21 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 21 cas.

4.2.2.5 Bilan des activités 2019 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 **11** souches de *E. coli* isolées du LCR de 10 enfants et 1 adulte. Parmi les 10 enfants, 9 étaient des nouveau-nés âgés de 1 jour à 16 jours et un était un nourrisson âgé de 1 mois. Quatre nouveau-nés étaient des prématurés (29 à 34 SA). Trois nouveau-nés sont décédés. Le patient adulte était âgé de 55 ans.

Les résultats de l'étude des facteurs de virulence sont présentés dans le **tableau 68** et permettent d'incrémenter la base de données française des méningites à *E. coli*. Pour 4 patients, le LA-RD a reçu également les souches isolées des hémocultures qui présentaient les mêmes caractéristiques que celles isolées du LCR.

Tableau 68 : Facteurs de virulence des *E. coli* responsables de méningites en 2019 (LA-RD)

Souche	sexe	age (j/m/a) / PL	Groupe phylogénétique	PCR nonaplex wzy	PCRK1	ChuA	Hra	YjaA	TSPE4.C2	fyuA	Hly	sfa/foc	PAP C	Aer	PAP G	cnf1	ibeA	iroN
474	F	8 jours	B21	O1	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+		-	-	+
475	M	5 jours	B21	O1	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+		-	-	+
477	F	1 jour	D	O45	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+		-	-	+
478	M	10 jours	B2	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
479	M	7 jours	D	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
481	F	1 jour	B21	O18	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
482	M	8 jours	F	O7	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+		-	-	-
483	M	1 jour	F	O1	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
484	F	1 mois	A	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
485	F	16 jours	F	O7	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+		-	-	-
487	M	55 ans	C	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+

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 77 souches d'EXPEC hors méningites isolées des prélèvements suivants :

- Hémoculture n = 48
- Urines n = 16
- Pus superficiel n = 2
- Placenta n = 2
- Abscès hépatique n = 1
- Aspiration bronchique n = 1
- Aspiration trachéale n = 2
- Selles n = 1
- Liquide gastrique n = 1
- Moelle n = 1
- PDP n = 1
- Prélèvement vaginal n = 1

Ces souches ont été isolées chez 72 patients présentant :

- Sepsis à point de départ inconnu n = 10
- Pyélonéphrite/SHU n = 8
- Chorio-amnionite n = 6
- Infections materno-fœtales n = 6 (2 décès)
- Pyélonéphrite n = 6
- Sepsis à point de départ digestif n = 5 (1 décès)
- Méningite n = 4
- Pyélonéphrite/MAT n = 4
- Mort subite du nourrisson n = 3
- Sepsis avec insuffisance rénale n = 3
- Choc septique fulgurant n = 3
- Urosepsis n = 2
- Sepsis avec signes méningés n = 2
- Dermo-hypodermite n = 1
- DGS n = 1
- Fasciite nécrosante- Décès n = 1
- Malakoplakie rénale n = 1
- Nécrose médullaire septique n = 1
- Néphrite emphysémateuse n = 1
- SHU / Abscès hépatique n = 1
- Sepsis /Prostatite n = 1
- SHU/Prostatite n = 1
- Non renseigné n = 1

Les caractéristiques de ces souches sont indiquées dans le **tableau 69**

Tableau 69 : Caractéristiques des souches de ExpEC hors méningites en 2019 LA-RD

n° RDB	Sexe	age	origine du prélèvement	Groupe phylogénétique	pcr K1	ChuA	Hra	YjaA	TSR4/G2	YyuA	Hly	sfz/loc	PAP C	Aer	PAP G	ent1	lbaA	iroN
RDEx595	M	2 ans	Urines	B2	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx596	M	78 ans	Hémoculture	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx597	F	1 jour	Hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	II	-	-	+
RDEx598	F	34 ans	Placenta	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	II	-	-	+
RDEx599	M	58 ans	Urines	B1	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx600	M	61 ans	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx601	F	3 jours	Pus superficiel	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx602	M	73 ans	Aspiration bronchique	A	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx603	M	73 ans	Hémoculture	A	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx604	M	1 jour	Hémoculture	D	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx605	F	38 ans	Hémoculture	B2	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx606	F	38 ans	Selles	B2	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
RDEx607	F	28 ans	Prélèvement vaginal	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	-	+
RDEx608	M	1 jour	Hémoculture	D	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	II	-	-	-
RDEx609	F	27 ans	Hémoculture	D	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	II	-	-	-
RDEx610	M	63 ans	Hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
RDEx611	F	62 ans	Hémoculture	A	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx612	F	64 ans	Hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
RDEx613	M	77 ans	Prélèvement cutané	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
RDEx614	M	77 ans	Hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
RDEx615	M	1 mois	Urines	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	II+III	+	-	+
RDEx616	M	1 mois	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	II+III	+	-	+
RDEx617	F	53 ans	Urines	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx618	M	11 jours	Urines	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx619	M	60 ans	Hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+
RDEx620	M	60 ans	PDP	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
RDEx621	M	5 mois	Hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	-	+
RDEx622	M	14 jours	Hémoculture	B2	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	III	+	-	+
RDEx623	F	75 ans	Hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx624	M	9 jours	Urines	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
RDEx625	M	14 jours	Urines	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
RDEx626	F	1 jour	Hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
RDEx627	M	3 mois	Hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	II	-	-	+
RDEx628	M	86 ans	Urines	D	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx629	M	1 jour	Hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
RDEx630	F	35 ans	Hémoculture	F	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	II	-	-	+
RDEx631	M	6 jours	Hémoculture	F	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	II	-	-	+
RDEx632	F	20 ans	Placenta	F	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
RDEx633	M	8 jours	Hémoculture	F	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	II	-	-	-
RDEx634	M	67 ans	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	II	-	-
RDEx635	F	39 ans	Hémoculture	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx636	M	78 ans	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-
RDEx637	F	64 ans	Hémoculture	B1	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx638	F	14 ans	Urines	F	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	II	-	-	-
RDEx639	M	26 jours	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx640	M	26 jours	Urines	D	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx641	F	1 jour	Hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
RDEx643	M	4 mois	Urines	A	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx644	F	20 jours	Hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
RDEx645	F	82 ans	Hémoculture	F	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx646	M	9 jours	Hémoculture	F	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
RDEx647	M	48 ans	Hémoculture	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx648	M	56 ans	Moelle	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	-	+	+
RDEx649	M	70 ans	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx650	F	39 ans	Hémoculture	B1	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx651	F	36 ans	Urines	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx652	M	1 jour	Liquide gastrique	D	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx653	F	86 ans	Hémoculture	B1	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx654	M	2 mois	Urines	F	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	II	-	-	-
RDEx655	M	4 jours	Hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
RDEx656	M	8 jours	Aspiration trachéale	B2	d	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	-	-
RDEx657	M	54 ans	Hémoculture	B1	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx658	M	77 ans	Hémoculture	B1	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx659	M	76 ans	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
RDEx660	F	8 mois	Urines	A	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
RDEx661	F	26 ans	Hémoculture	D	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx662	F	4 ans	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx663	M	8 jours	Urines	A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx664	M	8 jours	Hémoculture	A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx665	M	49 ans	Abcès hépatique	A	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx666	M	2 mois	Hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	II	-	-	-
RDEx667	M	6 mois	Aspiration trachéale	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+
RDEx668	F	68 ans	Urines	C	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx669	M	1 an	Hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	-	+
RDEx670	F	1 mois	Hémoculture	D	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx671	F	18 ans	Hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	II	-	-	+
RDEx672	M	60 ans	Hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+

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 307 souches de EHEC isolées en 2019, 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 2019

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 beta-lactamines est stable depuis l'année 2017.

La prévalence de la résistance exprimée en pourcentage est indiquée dans le **tableau 70**.

Tableau 70 : Prévalence de la résistance (en %) aux antibiotiques des souches EHEC en 2019(LA-RD)

% de Résistance	AMX	CRO	Aminosides	SXT	NAL	CIP
O157 (n = 44)	13%	0 %	2,3	11,4 %	0	0
Non O157 (n = 263)	43,7 %	1,2 %	1,9 %	25.1 %	26,2 %	0

Parmi les souches non O157 résistantes à l'AMX (n = 115), 55 appartenait au sérotype O80 et 28 au sérotype O26. Une résistance associée aux aminosides, à l'acide nalidixique et au cotrimoxazole était retrouvée chez 72 souches dont 53 souches appartenant au sérotype O80, 9 au sérotype O55. Trois souches productrices de BLSE ont été isolées en 2019 avec une résistance associée à l'acide nalidixique, au cotrimoxazole et au chloramphenicol; elles appartenait toutes au sérotype O55 et ont été isolées chez un enfant atteint de SHU originaire du département 64 et chez une fratrie avec une diarrhée dans le département 33.

En raison des fortes concentrations intraluminales de l'azithromycine (AZM), les CMI AZM ont été déterminées vis-à-vis des souches isolées en 2019 par la méthode de l'Etest et figurent dans le **tableau 71** ci-dessous. Une seule souche résistante à l'azithromycine a été détectée (CMI>256 mg/L)

Tableau 71 : CMI à l'azithromycine des souches EHEC isolées en 2019 au LA-RD

	CMI 50 (mg/L)	CMI 90 (mg/L)	Intervalle (mg/L)
O157 (n = 44)	4	4	2 - 4
Non O157 (n = 263)	4	6	2 - >256

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 2019 (**tableau 72**).

Tableau 72 : Prévalence de la résistance (en %) aux antibiotiques des souches EXPEC (2019, LA-RD)

	AMX	CTX	SXT	NAL	CIP	GEN
ExpEC méningites (n = 11)	45,4	9	27,3	27,3	9	9
ExpEC hors méningites (n = 77)	57,2	6,5	41	22	6,5	5,2

En 2019, une seule souche productrice de BLSE 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 sécurisée

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 Epidémies nationales

- **Épidémie à EHEC O26 liée à la consommation de Saint Félicien/Saint Marcellin**

Entre le 10 avril et le 18 avril 2019, le LA-RD a reçu les selles de 5 patients atteints de SHU chez lesquels ont été isolés une souche EHEC O26. Les souches ont été séquencées par le CNR-ESS qui a signalé avoir détecté un cluster génomique (**HC5_75047**) pour ces cinq cas de SHU pédiatrique. Ces souches EHEC appartenaient au sérotype O26:H11, au séquençotype ST21 (MLST7) et portaient les gènes de pathogénicité *stx2a*, *eae β* et *ehxA*.

Au total, ce clone a été retrouvé entre le 10 avril et le 8 septembre 2019 chez 23 patients dont 22 enfants et un adulte. Parmi les 22 enfants (âge médian : 22 mois), 20 patients ont déclaré un SHU et deux une diarrhée simple. L'adulte a présenté une diarrhée simple. Tous les cas de SHU ont été hospitalisés, dont six cas avec des complications neurologiques. Dix-neuf cas se sont produits entre le 10 avril et le 27 mai 2019. Les quatre autres cas sont survenus entre juin et septembre.

Dès le 18 avril, Santé publique France a débuté les premières investigations épidémiologiques auprès des familles des premiers signalements reçus. Au total, la consommation de fromages Saint Félicien et/ou Saint Marcellin a été rapportée pour 15 cas soit par le cas soit par l'entourage familial. La traçabilité des achats a identifié un lien possible avec un producteur commun de ces fromages dans la Drôme et l'achat de fromages issus de ce producteur a pu être documenté sur les cartes de fidélité de sept cas. Des mesures de retrait-rappel ont été mises en place dès le 27 avril, sans attendre les résultats de séquençage des souches humaines et les investigations microbiologiques chez le producteur. Les investigations au sein du site de production (fromages, ...) n'ont pas permis d'identifier l'origine de la contamination ; aucune souche de STEC O26 appartenant au cluster incriminé n'a été identifiée.

Les fromages suspectés étaient exportés dans 27 pays à travers le monde: l'Autriche, la Belgique, le Canada, la Tchéquie, la Côte d'Ivoire, le Danemark, l'Allemagne, la Hongrie, l'Irlande, l'Italie, la Lituanie, la Malaisie, les Pays-Bas, la Nouvelle-Zélande, les Philippines, la Pologne, le Portugal, le Qatar, Saint Barthélemy, Singapour, l'Afrique du Sud, l'Espagne, la Suède, la Suisse, l'Ukraine, les Émirats arabes unis et le Royaume-Uni (RASFF 2019.1615). Une alerte européenne a été déposée le 30/04/2019 sur la **plateforme EPIS-FWD de l'ECDC (UI-555**, « Pediatric HUS cases due to STEC O26 and associated with the consumption of raw cow's milk Saint Felicien and Saint Marcellin cheeses »). Les séquences des souches du cluster ont été mises à la disposition des autres pays pour permettre une recherche de cas infectés par cette souche dans d'autres pays. Aucun cas d'infection à EHEC O26 en lien avec cette épidémie n'a été signalé de l'étranger.

Un article a été publié (Jones *et al.* Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O26 paediatric haemolytic uraemic syndrome (HUS) cases associated with the consumption of soft raw cow's milk cheeses, France, March to May 2019. Eurosurveillance 2019).

- **Cluster génomique de EHEC O80 d'origine inconnue**

Parmi le sérotype O80, le cluster **HC5_35179** est majoritaire et regroupe 16 souches isolées tout au long de l'année 2019 et responsables de :

- 10 cas de SHU : deux cas chez des adultes (départements 63 et 64), huit cas de SHU pédiatrique (tous < 3 ans) dans les départements 6,13,25,63,69,74,80
- Quatre cas de DGS dans les départements 33,74,75, chez trois enfants < 3 ans et un adulte
- Deux cas de diarrhée simple chez deux enfants < 3 ans dans les départements 33 et 8

Aucune source connue d'infection n'a été mise en évidence pour ces patients.

Ce cluster était également majoritaire en 2018.

4.3.2 Epidémies internationales

En 2019, le CNR-ESS a émis une alerte sur la plateforme EPIS-FWD de l'ECDC (UI-555, voir paragraphe précédent 4.3.1) et a répondu à 10 alertes concernant des cas groupés à STEC. La France n'a détecté aucun cas associé à ces épidémies.

- UI-549 (Etats-Unis/CDC): épidémie à *E. coli* **O103:H2**, stx1+, eae+, ehxA+, **HC5_92890, HC10_92890**. Un total de 209 cas (dont 29 hospitalisations) rapportés par le CDC dans 10 états différents. Suspicion d'infection en lien avec une consommation de **viande hachée**. Deux compagnies américaines ont rappelé des lots de viande hachée non cuite par précaution. Aucun producteur ou distributeur précis n'a été identifié. <https://www.cdc.gov/ecoli/2019/o103-04-19/index.html>
- UI-562 (Royaume-Uni) : cluster de cinq cas d'infection à STEC **O157:H7**, PT2, eae+ stx2a+ stx2c+, **HC5_98077, HC10_98077**.
- UI-566 (Allemagne) : six cas de SHU à STEC **O26:H11**, stx2+, eae+, en lien avec un **retour d'Egypte**. Les investigations ont conclu à différents sites d'infection (stations balnéaires de Marsa Alam, Hurgada et Charm el-Cheikh). **Aucune séquence** disponible pour comparaison.
- UI-567 (Autriche): cluster de trois cas d'infection à STEC **O157:H7**, ST11, stx1a+, stx2c+ dans trois provinces autrichiennes. **Aucune séquence** disponible sur Enterobase.
- UI-575 (Danemark): cluster de 10 cas d'infection à STEC **O157:H7**, ST11, stx1a+ stx2a, eae+ ehxA+, **HC5_30410, HC10_30410**.
- UI-585 (Royaume-Uni): cluster de six cas de STEC O117:H7, stx1a+, **HC5_53287, HC10_30575**. Un cas était co-infecté par *Shigella flexneri*. Ce clone est décrit dans cette alerte comme circulant au Royaume-Uni parmi la communauté **HSH**.
- UI-596 (Norvège) : cluster de cinq cas de STEC O?:H2, stx2a+, eae+, ehxA+, résidant dans 4 villes de Norvège, **HC5_110989, HC10_110989**. Aucun cas ne reportait de voyage hors de Norvège.
- UI-598 (Royaume-Uni): cluster de six cas d'infection à STEC **O157:H7**, PT 21/28 stx2a+ stx2c+, **HC5_109194, HC10_4816**.

- UI-610 (Royaume-Uni): cluster de 30 cas d'infections à STEC **O26:H11**, ST21, stx1a+, eae+, **HC5_73277**, **HC10_36719**. Les cas étaient répartis en Angleterre, Ecosse et pays de Galles et ne rapportaient pas de voyage à l'étranger. **Sex-ratio_{H/F} = 20/10 = 2,0**.
- UI-612 (Finlande): la Finlande a rapporté une épidémie locale à STEC **O26:H11**, ST21, stx2a+, eae+, chez des enfants fréquentant la même crèche. **Aucune séquence** disponible sur Enterobase.

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

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

Sophie Lefèvre : cours sur « *Salmonella* et salmonelloses » aux Master 2 Microbiologie et génie biologique (C. Sola). Université Paris Sud, Campus Orsay, 7 février 2019.

Sophie Lefèvre : cours sur « Epidémiologie des salmonelloses mineures » aux Master 2 de microbiologie (Guillaume Arlet), UFR de médecine, Sorbonne Université, Paris, 4 octobre 2019.

François-Xavier Weill : cours sur « Structure des populations et évolution des agents des salmonelloses majeures » aux Master 2 de microbiologie, UFR de médecine, Sorbonne Université, Paris, 3 octobre 2019.

María Pardos de la Gándara : cours sur « *Salmonella* et salmonelloses » aux Master Sciences, Technologies, Santé ; Mention Biologie moléculaire et cellulaire ; Parcours QUESS : Qualité, environnement et sécurité sanitaire (Jean-Pierre GRILL). CFA des Sciences, Sorbonne Université et CCI Paris Île-de-France. Campus Jussieu, 14 janvier 2020.

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 2019 :

- Emna SIALA, biologiste à l'Institut Pasteur de Tunis, stage du 14 au 25 janvier 2019, dans le cadre du Programme RESER de la Direction Internationale de l'Institut Pasteur.
- Marguerite NIKIEMA, étudiante en thèse l'Université de Ouagadougou, stage du 04 mars au 31 mai 2019, sur la caractérisation phénotypique et génotypique des souches de *Salmonella* non-Typhi et non-Paratyphi au Burkina Faso.
- William MBANZOUEN, Technicien de laboratoire au Centre Pasteur de Yaoundé au Cameroun, stage du 1er avril au 26 avril 2019, dans le cadre du Programme RESER de la Direction Internationale de l'Institut Pasteur.
- Julie KLEIN, en 1^{ère} année de BTS Bioanalyses et contrôles, stage du 20 mai au 28 juin 2019, sur l'optimisation de l'analyse des résistances antimicrobiennes chez *Salmonella enterica* par WGS. Elle est revenue poursuivre ses travaux pendant sa 2e année de BTS Bioanalyses et contrôles lors de son stage du 28 octobre au 20 décembre 2019.
- Alexandre KOUAKOU, Technicien de laboratoire à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, stage du 3 juin au 28 juin 2019 dans le cadre du Programme RESER de la Direction Internationale de l'Institut Pasteur.

- Clément CAPORAL, étudiant à l'ENSTA ParisTech, stage opérateur du 1^{er} au 31 juillet 2019.
- Vérane GAULMIN, étudiante en 1^{ere} année d'études d'ingénieur à l'Université technologique de Compiègne, stage opérateur du 1^{er} au 31 août 2019.
- Hilde ANGERMEIER, docteur en microbiologie, stage du 02 septembre au 29 novembre 2019, sur le projet : « Genomic investigation of annually re-occurring infections caused by *Salmonella enterica* serotype Napoli in France » dans le cadre de son stage à l'Institut Pasteur avec sa bourse EUPHEM de l'ECDC.
- Iman YASSINE, étudiante en thèse (Cotutelle internationale entre le Liban et la France), stage du 16 septembre au 13 décembre 2019, sur l'analyse génomique de la structure des populations de *Shigella*.
- Saidou DEME, technicien de laboratoire à l'Institut Pasteur de Dakar, stage du 28 septembre au 26 octobre 2019, dans le cadre du Programme RESER de la Direction Internationale de l'Institut Pasteur.
- Bakary DOUKOURE, biologiste à l'Institut Pasteur de Guinée, stage du 28 septembre au 26 octobre 2019, dans le cadre du Programme RESER de la Direction Internationale de l'Institut Pasteur.
- Julie KLEIN, en 2^e année de BTS Bioanalyses et contrôles, stage du 28 octobre au 20 décembre 2019, sur l'optimisation de l'analyse des résistances antimicrobiennes chez *Salmonella enterica* par WGS.
- Lova ANDRIANONIMIADANA, Technicien de laboratoire à l'Institut Pasteur de Madagascar, stage du 2 décembre au 20 décembre 2019, dans le cadre du Programme RESER de la Direction Internationale de l'Institut Pasteur.
- Clara MARTIN-CREUZE, élève de 3^{ème}, stage d'observation du 16 décembre au 20 décembre 2019, dans le cadre de la découverte du milieu professionnel.
- Participation du CNR-ESS à la formation des stagiaires reçus au CNR-VC (hébergé par la même unité) dans le cadre du Programme RESER de la Direction Internationale de l'Institut Pasteur. (Jean-Claude ANNÉ, Leila AICHA OUMAR, Koichi N'DIN)

5.1.2.2 Liste des stagiaires au LA-RD en 2019

- 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 »
- Etienne BIZOT, Master 2 Sciences du médicament "Parcours : "Microbiologie (bactéries, virus, parasites) : microbiotes, agents pathogènes et thérapeutiques anti-infectieuses".

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>

Deux suppléments ont été publiés depuis :

- n. 47 en 2009 : <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2009.10.002>
- n. 48 en 2014 : <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2014.07.004>

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

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 2019, nous avons participé aux activités suivantes :

María Pardos de la Gándara, Sophie Lefèvre et François-Xavier Weill, Réunion CNR–LNR : réunion de mise à jour des avancements sur les analyses épidémiologiques basés sur le WGS. La réunion organisée par Christophe CORDEVANT s'est déroulée à l'Institut Pasteur de Paris, France, le 25 novembre.

María Pardos de la Gándara, Atelier ENTEROBASE : Réunion de formation et discussion pour des utilisateurs habituels de l'outil Enterobase, organisé par son créateur, le Professeur Mark Achtman. Université de Warwick, Royaume-Uni, 12–13 novembre.

María Pardos de la Gándara, Réunion ECDC–FWD200 : Réunion pour analyser les résultats des contrôles de qualité sur la détection des résistances aux antibiogrammes et de clustérisation pour les salmonelles. Stockholm, Suède, 6–8 février.

François-Xavier Weill, conférence sur "L'interaction entre l'épidémiologie et le séquençage du génome de l'agent dans l'identification d'une source d'épidémie : l'exemple de *Salmonella* Poona" lors des Rencontres de Santé publique France, Paris, France, du 4 au 6 juin 2019.

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

François-Xavier Weill, conférence grand public sur "Alimentation : la menace des salmonelles" lors des Journées découvertes de l'Institut Pasteur, Paris, France, 12 octobre 2019.

François-Xavier Weill, communication orale sur "La résistance aux agents antimicrobiens" lors de la conférence débat sur « Relever les défis scientifiques et sanitaires du monde d'aujourd'hui », Institut Pasteur, Paris, France, 2 avril 2019

François-Xavier Weill, conférence sur les "Infections alimentaires et hydriques : comprendre les épidémies" lors de réunions annuelles des grands donateurs et amis de l'Institut Pasteur, Paris, France, 24 janvier et 5 février 2019

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 2019, 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

Objectif : 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 C, Concord, et Panama, *S. sonnei* et *flexneri* 2a dans certaines communautés, ...).

« Optimisation de l'analyse des résistances antimicrobiennes chez *S. enterica* par WGS »

Une étudiante BTS, Julie KLEIN, a réalisé des analyses sur des souches multi-résistantes de *S. Typhimurium*. Cela a permis de mieux connaître un clone particulier de CT_72, producteur d'une BLSE du type CTX-M-9.

- **Etude phylogéographique des populations de *S. enterica* sérotype Paratyphi B** – F.-X. Weill, M. Pardos de la Gándara – collaboration PHE, Royaume-Uni, RKI, Allemagne, NUI, Irlande, Monash University, Australie

S. enterica sérotype Paratyphi B (dt-) (ST86) est un sérotype invasif responsable de fièvres paratyphoïdes. Paradoxalement, ce sérotype est mal connu sur le plan génomique.

Objectif : Décrire les populations et la phylogéographie de *S. enterica* sérotype Paratyphi B (dt-) (ST86)

Matériel : 387 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi B, isolées des différentes parties du monde entre 1898 et 2020, ont été séquencées au CNR-ESS ou par les laboratoires partenaires.

Méthodes : Microbiologie classique, WGS et bioinformatique.

Ce travail a pour but de mieux comprendre l'origine et l'évolution de ce sérotype.

- **Développement d'un 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 : 450 souches de la collection du CNR-ESS pour couvrir la diversité génétique des différents sérotypes et biotypes de *Shigella* et 3800 souches de routine ayant été sérotypées, pour pouvoir comparer les données WGS aux données de sérotypage.

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

Cet outil, initialement développé à partir de séquences de type Illumina HiSeq[®], a nécessité une adaptation pour pouvoir être utilisé avec les séquences issues de la plateforme de séquençage P2M de l'Institut Pasteur (Illumina NextSeq 500[®]). En effet, plusieurs cibles du schéma d'identification des sérotypes de *Shigella* n'étaient pas bien détectées à cause d'un problème de sous-couverture des régions riches en A/T. Cet outil, basé sur plusieurs cibles (*rfb*, *fliC*, CRISPR, ST7) complété par le HierCC de cgMLST (HC2000, HC1100 et HC400), remplacera la séro-agglutination au CNR-ESS courant 2020. Une publication est en cours d'écriture.

- **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 : Microbiologie classique, 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, Suisse.

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 Napoli et identifier un réservoir animal.

Matériel : 700 souches humaines et non humaines isolées en France, Italie et Suisse entre 1945 et 2018 ont été séquencées au CNR-ESS. Trois campagnes de prélèvement de batraciens et de reptiles sauvages ont été réalisées en 2019 par Hilde Angermeier (stagiaire EUPHEM) pendant son stage.

Méthodes : Microbiologie classique, 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 isolements 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 : Microbiologie classique, WGS et bioinformatique, ingénierie moléculaire, biochimie

Le projet a été approuvé à la fin de 2019, et son début était prévu pour le début de 2020.

- **Etude génomique des populations de EPEC historiques** – F.-X. Weill, S. Lefèvre

Les EPEC sont une cause importante de diarrhées dans les pays en voie de développement. En France, avant les années 1980, ces mêmes bactéries étaient une cause de diarrhées infantiles sévères et avaient été soumises à une forte pression antibiotique. Depuis les années 1980, ces bactéries ne sont plus isolées dans notre pays.

Objectif : Connaître les populations historiques de EPEC ayant circulé en France et au-delà, documenter l'acquisition de leurs premiers déterminants de résistance aux antibiotiques et étudier leurs relations phylogénétiques avec les populations actuelles circulantes en milieu tropical.

Matériel : 500 souches de EPEC, isolées de 1950 à la fin des années 1970, en France et en Europe (collection dite de Mme S. Le Minor, CNR-ESS), seront séquencées.

Méthodes : Microbiologie classique, WGS et bioinformatique.

Ce travail a pour but de mieux comprendre l'évolution de ces pathogènes sur le plan global.

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 Aurélie 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 2019, 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. Mollo B, Hobson CA, Le Hello S, Azria E, Le Monnier A, Pilmis B, Mizrahi A. Intrauterine infection caused by nontyphoidal *Salmonella*: a literature review. J Matern Fetal Neonatal Med. 2019 Dec 18:1-5.
2. Breurec S, Reynaud Y, Frank T, Farra A, Costilhes G, Weill FX, Le Hello S. Serotype distribution and antimicrobial resistance of human *Salmonella enterica* in Bangui, Central African Republic, from 2004 to 2013. PLoS Negl Trop Dis. 2019 Dec 2;13(12):e0007917.
3. Ville S, Ydee A, Garandau C, Canet E, Tissot A, Cantarovich D, Frémeaux-Bacchi V, Mariani-Kurkdjian P, Provôt F, Fakhouri F. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*-associated hemolytic uremic syndrome in solid organ transplant recipients. Kidney Int. 2019 Dec;96(6):1423-1424

4. Gardette M, Le Hello S, Mariani-Kurkdjian P, Fabre L, Gravey F, Garrivier A, Loukiadis E, Jubelin G. Identification and prevalence of in vivo-induced genes in enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. *Virulence*. 2019 Dec;10(1):180-193
5. Genuini M, Bidet P, Benoist JF, Schlemmer D, Lemaitre C, Birgy A, Bonacorsi S. ShiF acts as an auxiliary factor of aerobactin secretion in meningitis *Escherichia coli* strain S88. *BMC Microbiol*. 2019 Dec 17;19(1):298
6. Radomski N, Cadel-Six S, Cherchame E, Felten A, Barbet P, Palma F, Mallet L, Le Hello S, Weill FX, Guillier L, Mistou MY. A Simple and Robust Statistical Method to Define Genetic Relatedness of Samples Related to Outbreaks at the Genomic Scale - Application to Retrospective *Salmonella* Foodborne Outbreak Investigations. *Front Microbiol*. 2019 Oct 24;10:2413.
7. Chung The H, Boinett C, Pham Thanh D, Jenkins C, Weill FX, Howden BP, Valcanis M, De Lappe N, Cormican M, Wangchuk S, Bodhidatta L, Mason CJ, Nguyen TNT, Ha Thanh T, Voong VP, Duong VT, Nguyen PHL, Turner P, Wick R, Ceyskens PJ, Thwaites G, Holt KE, Thomson NR, Rabaa MA, Baker S. Dissecting the molecular evolution of fluoroquinolone-resistant *Shigella sonnei*. *Nat Commun*. 2019 Oct 23;10(1):4828.
8. Pouzol S, Tanmoy AM, Ahmed D, Khanam F, Brooks WA, Bhuyan GS, Fabre L, Bryant JE, Gustin MP, Vanhems P, Carman B, Weill FX, Qadri F, Saha S, Endtz H. Clinical Evaluation of a Multiplex PCR for the Detection of *Salmonella enterica* Serovars Typhi and Paratyphi A from Blood Specimens in a High-Endemic Setting. *Am J Trop Med Hyg*. 2019 Sep;101(3):513-520.
9. Pulford CV, Perez-Sepulveda BM, Rodwell EV, Weill FX, Baker KS, Hinton JCD. *Salmonella enterica* Serovar Panama, an Understudied Serovar Responsible for Extraintestinal Salmonellosis Worldwide. *Infect Immun*. 2019 Aug 21;87(9):e00273-19.
10. Nadimpalli ML, de Lauzanne A, Phe T, Borand L, Jacobs J, Fabre L, Naas T, Le Hello S, Stegger M. *Escherichia coli* ST410 among humans and the environment in Southeast Asia. *Int J Antimicrob Agents*. 2019 Aug;54(2):228-232.
11. Criscuolo A, Issenhuth-Jeanjean S, Didelot X, Thorell K, Hale J, Parkhill J, Thomson NR, Weill FX, Falush D, Brisse S. The speciation and hybridization history of the genus *Salmonella*. *Microb Genom*. 2019 Aug;5(8):e000284.
12. Guyomard-Rabenirina S, Weill FX, Le Hello S, Bastian S, Berger F, Ferdinand S, Legreneur P, Loraux C, Malpote E, Muanza B, Richard V, Talarmin A, Breurec S. Reptiles in Guadeloupe (French West Indies) are a reservoir of major human *Salmonella enterica* serovars. *PLoS One*. 2019 Jul 19;14(7):e0220145.

13. Pijnacker R, Dallman TJ, Tijmsa ASL, Hawkins G, Larkin L, Kotila SM, Amore G, Amato E, Suzuki PM, Denayer S, Klamer S, Pászti J, McCormick J, Hartman H, Hughes GJ, Brandal LCT, Brown D, Mossong J, Jernberg C, Müller L, Palm D, Severi E, Gołębiowska J, Hunjak B, Owczarek S, Le Hello S, Garvey P, Mooijman K, Friesema IHM, van der Weijden C, van der Voort M, Rizzi V, Franz E; International Outbreak Investigation Team. An international outbreak of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis linked to eggs from Poland: a microbiological and epidemiological study. *Lancet Infect Dis*. 2019 Jul;19(7):778-786.
14. Hawkey J, Le Hello S, Doublet B, Granier SA, Hendriksen RS, Fricke WF, Ceyskens PJ, Gomart C, Billman-Jacobe H, Holt KE, Weill FX. Global phylogenomics of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198. *Microb Genom*. 2019 Jul;5(7):e000269.
15. Birgy A, Levy C, Nicolas-Chanoine MH, Cointe A, Hobson CA, Magnan M, Bechet S, Bidet P, Cohen R, Bonacorsi S. Independent Host Factors and Bacterial Genetic Determinants of the Emergence and Dominance of *Escherichia coli* Sequence Type 131 CTX-M-27 in a Community Pediatric Cohort Study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019 Jun 24;63(7):e00382-19
16. Aldrich C, Hartman H, Feasey N, Chattaway MA, Dekker D, Al-Emran HM, Larkin L, McCormick J, Sarpong N, Le Hello S, Adu-Sarkodie Y, Panzner U, Park SE, Im J, Marks F, May J, Dallman TJ, Eibach D. Emergence of phylogenetically diverse and fluoroquinolone resistant *Salmonella* Enteritidis as a cause of invasive nontyphoidal *Salmonella* disease in Ghana. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019 Jun 20;13(6):e0007485.
17. Jones G, Lefèvre S, Donguy MP, Nisavanh A, Terpent G, Fougère E, Vaissière E, Guinard A, Mailles A, de Valk H, Fila M, Tanné C, Le Borgne C, Weill FX, Bonacorsi S, Jourdan-Da Silva N, Mariani-Kurkdjian P. Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O26 paediatric haemolytic uraemic syndrome (HUS) cases associated with the consumption of soft raw cow's milk cheeses, France, March to May 2019. *Euro Surveill*. 2019 May;24(22).
18. Sévellec Y, Felten A, Radomski N, Granier SA, Le Hello S, Petrovska L, Mistou MY, Cadel-Six S. Genetic Diversity of *Salmonella* Derby from the Poultry Sector in Europe. *Pathogens*. 2019 Apr 4;8(2):46.
19. Jones G, Pardos de la Gandara M, Herrera-Leon L, Herrera-Leon S, Varela Martinez C, Hureaux-Roy R, Abdallah Y, Nisavanh A, Fabre L, Renaudat C, Mossong J, Mattheus W, Huard C, Le Borgne C, de Valk H, Weill FX, Jourdan-Da Silva N. Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Poona in infants linked to persistent *Salmonella* contamination in an infant formula manufacturing facility, France, August 2018 to February 2019. *Euro Surveill*. 2019 Mar;24(13).
20. Caméléna F, Birgy A, Smail Y, Courroux C, Mariani-Kurkdjian P, Le Hello S, Bonacorsi S, Bidet P. Rapid and Simple Universal *Escherichia coli* Genotyping Method Based on Multiple-Locus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis Using Single-Tube Multiplex PCR and Standard Gel Electrophoresis. *Appl Environ Microbiol*. 2019 Mar 6;85(6):e02812-18.

21. Cavaco LM, Hansen F, Mushtaq S, Hill RLR, Woodford N, Le Hello S, Hendriksen RS, Hammerum AM, Hasman H. Evaluation of temocillin for phenotypic carbapenemase screening of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolates in relation to the presence of genes encoding ESBLs and carbapenemase production. *J Antimicrob Chemother.* 2019 Mar 1;74(3):639-644.
22. Bruyand M, Mariani-Kurkdjian P, Le Hello S, King LA, Van Cauteren D, Lefevre S, Gouali M, Jourdan-da Silva N, Mailles A, Donguy MP, Loukiadis E, Sergentet-Thevenot D, Loirat C, Bonacorsi S, Weill FX, De Valk H; Réseau Français Hospitalier de Surveillance du Shu Pédiatrique. Paediatric haemolytic uraemic syndrome related to Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, an overview of 10 years of surveillance in France, 2007 to 2016. *Euro Surveill.* 2019 Feb;24(8).
23. Frémeaux-Bacchi V, Sellier-Leclerc AL, Vieira-Martins P, Limou S, Kwon T, Lahoche A, Novo R, Llanas B, Nobili F, Roussey G, Cailliez M, Ulinski T, Deschênes G, Alberti C, Weill FX, Mariani P, Loirat C. Complement Gene Variants and Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*-Associated Hemolytic Uremic Syndrome: Retrospective Genetic and Clinical Study. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2019 Mar 7;14(3):364-377.
24. Bruyand M, Mariani-Kurkdjian P, Le Hello S, King LA, Van Cauteren D, Lefevre S, Gouali M, Jourdan-da Silva N, Mailles A, Donguy MP, Loukiadis E, Sergentet-Thevenot D, Loirat C, Bonacorsi S, Weill FX, De Valk H; Réseau Français Hospitalier de Surveillance du Shu Pédiatrique. Paediatric haemolytic uraemic syndrome related to Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, an overview of 10 years of surveillance in France, 2007 to 2016. *Euro Surveill.* 2019 Feb;24(8)
25. Nadimpalli M, Fabre L, Yith V, Sem N, Gouali M, Delarocque-Astagneau E, Sreng N, Le Hello S; BIRDY study group. CTX-M-55-type ESBL-producing *Salmonella enterica* are emerging among retail meats in Phnom Penh, Cambodia. *J Antimicrob Chemother.* 2019 Feb 1;74(2):342-348.
26. Nadimpalli M, Vuthy Y, de Lauzanne A, Fabre L, Criscuolo A, Gouali M, Huynh BT, Naas T, Phe T, Borand L, Jacobs J, Kerléguer A, Piola P, Guillemot D, Le Hello S, Delarocque-Astagneau E; BIRDY study group. Meat and Fish as Sources of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli*, Cambodia. *Emerg Infect Dis.* 2019 Jan;25(1):126–31.
27. Ung A, Baidjoe AY, Van Cauteren D, Fawal N, Fabre L, Guerrisi C, Danis K, Morand A, Donguy MP, Lucas E, Rossignol L, Lefèvre S, Vignaud ML, Cadel-Six S, Lailler R, Jourdan-Da Silva N, Le Hello S. Disentangling a complex nationwide *Salmonella* Dublin outbreak associated with raw-milk cheese consumption, France, 2015 to 2016. *Euro Surveill.* 2019 Jan;24(3).
28. 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

6.2.3 Communications nationales

François-Xavier Weill, communication orale sur "*Salmonella* et lait infantile : un concentré de données" lors du 9ème Séminaire des Centres Nationaux de Référence, Paris, France, 15 Novembre 2019

Sophie Lefèvre, communication orale sur le « Bilan du CNR-ESS » au Collège de Bactériologie de Virologie et d'Hygiène des hôpitaux (Col.BVH), Paris, 21 juin 2019

Sophie Lefèvre, communication orale sur « *Shigella*, émergence de résistance aux antibiotiques: France, de 2005 à aujourd'hui » lors de la 39ème Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), Paris, 17 décembre 2019.

6.2.4 Communications internationales

François-Xavier Weill, conférence sur "Genomic insights into *Shigella dysenteriae*", Department of Veterinary Medicine, University of Copenhagen, Danemark, 20 décembre 2019.

François-Xavier Weill, conférence sur "Genomic insights into the Shiga's bacillus" lors du CIET/Institut Pasteur Joint Symposium: Current Challenges on Infectious Diseases in Central America, San Jose, Costa Rica, du 20 au 22 février 2019.

6.2.5 Conférences sur invitations

Sophie Lefèvre, orateur invité « Systèmes de PCR multiplex et approche syndromique « *Salmonella*, *Shigella*, entre sous et sur détection ». Congrès Microbes de la Société Française de Microbiologie, 1 octobre 2019.

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

7.1 Salmonella

Le CNR-ESS poursuit 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. Depuis 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, comme pour l'épidémie à *S. enterica* sérotype 4,[5],12:i:- ST19 CT_1, HC5_88279, identifiée par l'Anses grâce aux génomes d'origine humaine déposés par le CNR-ESS sur Enterobase.

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.

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 reblochons, une étude a été initiée en 2018. Toutes les souches de STEC O26 isolées de la filière lait entre 2015 et 2019 (n = 52) 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 validée en diagnostic. Aucune technique sérologique alternative n'existe par ailleurs.
- **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 continuera à étudier la sensibilité des souches de *E. coli* intestinaux et extra-intestinaux aux principales familles d'antibiotiques. En particulier la résistance à l'amoxicilline, l'amoxicilline/acide clavulanique, la céfotaxime, les aminosides et la 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 (**voir le paragraphe 3.1.1 Évolutions des techniques**) permettra de l'utiliser dans le cadre de la surveillance de routine dès la fin de l'année 2020. 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 sur toutes les souches de *Salmonella*. 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, la mutation sur gène de la déhydrase du d-tartrate (dTar-) et les espaceurs 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 génétiquement homogènes ou issues d'une investigation épidémiologique continueront à être soumises sur Enterobase pour le suivi des populations par l'approche cgMLST. Lors des investigations d'alertes internationales sur EPIS-FWD, un génome représentatif des épidémies sera aussi déposé sur EBI/ENA pour disponibilité immédiate aux autres laboratoires participant du réseau.

- **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 (disques BioRad, Marnes-la-Coquette) ou la détermination des CMI par microdilution (Sensititre®, Trek), suivant les recommandations du CA-SFM-EUCAST, sur une collection d'environ 10 % des souches de *Salmonella* des sérotypes mineurs, ainsi que sur toutes les souches des sérotypes majeurs.

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 toujours 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 et l'alerte, en lien avec Santé publique France

- **En transmettant à Santé publique France, en temps réel, les cas groupés notifiés ou identifiés au CNR des EHEC, *Salmonella* ou *Shigella***

Le CNR-ESS et le LA-RD continueront à transmettre quotidiennement à Santé publique France tous les phénomènes d'importance par téléphone ou par courriel. Cela comprend :

- 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, ou identifiés par le CNR-ESS et le LA-RD.
- Tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles...), apparition de souches inhabituelles.

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.

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. Ainsi, lors des phases initiales de l'investigation d'une épidémie, le CNR-ESS pourra être amené à réaliser un sérotypage, de façon à confirmer le plus rapidement possible les cas en vue de leur interrogatoire. Ces sérotypages préliminaires seront confirmés et complétés par la suite avec les résultats du séquençage par WGS.

Les souches EHEC, d'origine humaine ou non, continueront à être étudiées par WGS. Ainsi, toutes les souches continueront d'être envoyées par le LA-RD au CNR-ESS.

- **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 le Centre hospitalo-universitaire vétérinaire de VetAgro Sup à Lyon (Dr Delphine Sergentet) et l'Anses à 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 annuel 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 annuellement 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. Cette collaboration sera maintenue en 2020.

- **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.

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 (léthalité, 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 publique France au réseau européen de 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 Vibriions 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
PARDOS DE LA GÁNDARA María	Ingénieure de recherche experte (Responsable adjointe)	0,50
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	Technicienne administrative	1,00
JUGLAS Florence	Technicienne supérieure administrative	0,30
TOTAL ETP :		9,5

*jusqu'au 07/06/19

(†) 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).

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), Doctorat d'Université de Microbiologie Médecine Préventive et Santé Publique par l'Université de Sarosse (Espagne), ancienne Assistante Hospitalière (CHU Lozano Blesa à Saragosse, Espagne).

Charlotte Renaudat (jusqu'au 07/06/19)

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

- **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

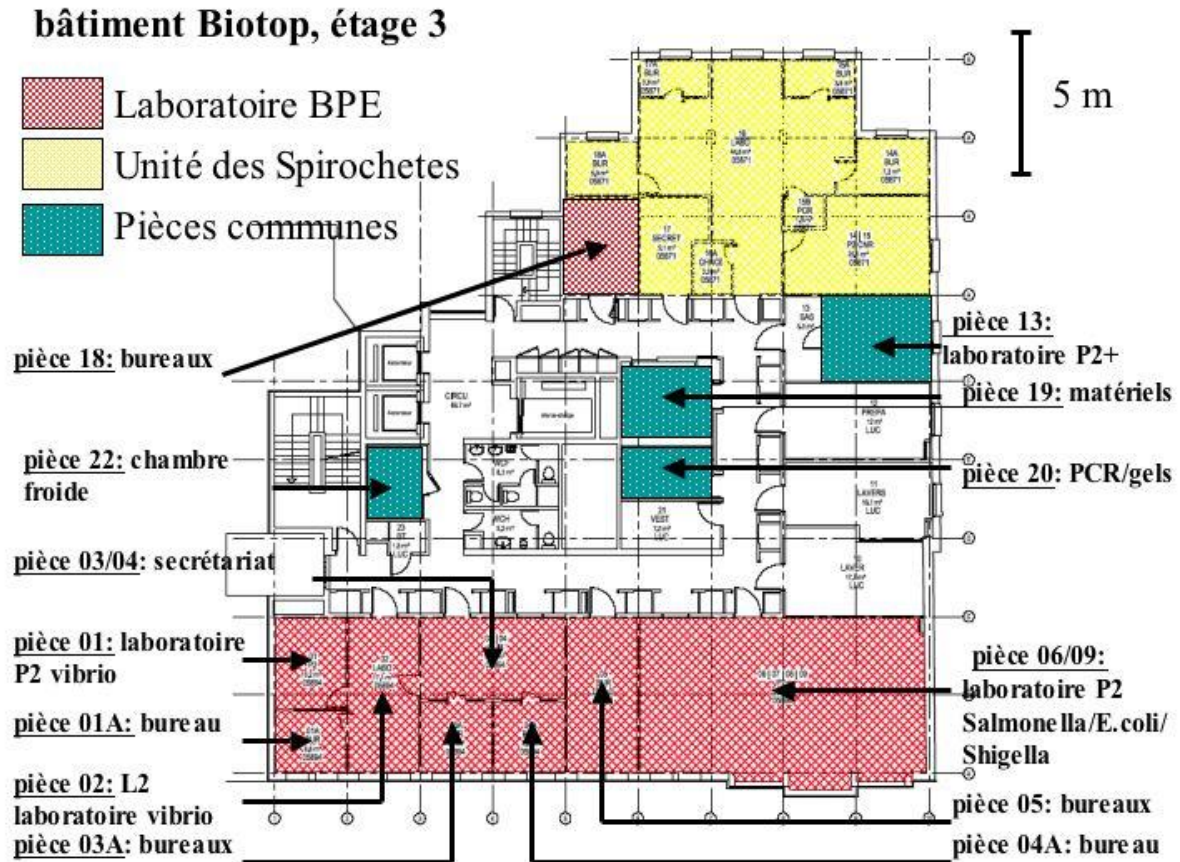
A1.3.1 CNR-ESS (Institut Pasteur)

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 principalement au 3^e étage du bâtiment Biotop et dans quelques pièces situées 1^{er} et au 4^e étage de ce bâtiment.

Au 3^e étage, 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 4ème étage, deux bureaux d'une superficie de 5 m² chacun donnant respectivement sur un laboratoire et un bureau de 11 m² chacun. Les deux bureaux de 5m², numérotés 4A et 3A, peuvent accueillir 2 personnes chacun. Ils sont occupés par une technicienne supérieure dédiée à l'activité de recherche et développement du CNR-ESS (4A) et une ingénieure de recherche de l'Unité BPE (3A). Le deuxième poste de chaque bureau est disponible pour des stagiaires travaillant avec elles.

Pendant l'été 2019, des travaux ont été réalisés pour transformer le laboratoire du 4e étage en deux pièces distinctes pour créer un bureau de six personnes tout en conservant une partie laboratoire. Le bureau créé, attendant au bureau 4A, est destiné à l'accueil des stagiaires (étudiants de master, de doctorat, collaborateur du RIIP...). En 2019 il comprenait 3 postes informatiques fonctionnels.

Le laboratoire, attendant au bureau 3A, est fonctionnel et consacré aux activités de recherche (PCR, techniques MLST, CRISPR, MLVA...). Il est équipé du matériel suivant :

- 2 congélateurs à -20°C
- 1 réfrigérateur à +4°C
- 1 hotte à UV
- 2 balances de précision

Au 1^{er} étage, l'Unité BPE possède des locaux partagés avec le CNR des Leptospires (Unité des Spirochètes). Depuis 2019 ces locaux sont également partagés avec les CNR corynebactéries et Bordetella. 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 permettant 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 initialement équipés par les deux premières 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-TOF).
- 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 Microflex® de Bruker 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, en dehors des investigations épidémiologiques internationales, il est exigé 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 participe 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.

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 du LA-RD dans le mandat 2017-2022, il s'avère que cette technique de PCR n'est plus utilisée au sein du CNR-ESS. Le diagnostic de première et deuxième intention des STEC est désormais strictement effectué par le LA-RD, qui transmet les souches confirmées au CNR-ESS. Le CNR-ESS effectue alors le séquençage complet du génome des souches du LA-RD. L'analyse des séquences génomiques permet la détection et la surveillance des épidémies (voir Annexe 2). **Le CNR-ESS a donc arrêté de maintenir l'accréditation sur la technique de PCR diagnostique.**

Depuis le 1^{er} juillet 2018, toutes les souches de *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella* analysées au sein du CNR-ESS sont séquencées par WGS (voir Annexe 2). La surveillance épidémiologique est strictement effectuée par l'analyse du génome.

Aucune technique ne fait donc plus l'objet d'une demande d'accréditation par le COFRAC.

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, de gestion et traçabilité du matériel, des réactifs et des consommables, et de gestion des échantillons.

Par exemple, si lors de la réception des souches, le CNR-ESS a besoin de contacter les laboratoires expéditeurs pour compléter des informations manquantes, soit immédiatement par téléphone soit par courrier ou par email, des « **non-conformités** » sont émises.

En 2019, le CNR-ESS a édité 2 431 **non-conformités** pour les dossiers de *Salmonella*, dont 2 428 étaient en rapport avec des informations épidémiologiques ou administratives manquantes ou erronées (soit 85,4 % des non-conformités, et 26 % des souches reçues). Jusqu'à trois non-conformités différentes peuvent être enregistrées pour un même dossier.

Évaluation externe de la qualité :

En 2019, le CNR-ESS a participé comme chaque année, aux contrôles de qualité externe européens proposés par l'ECDC via le Statens Serum Institut (Copenhague, Danemark).

- Pour *Salmonella* :
 - EQA5-AST *Salmonella* : l'étude de la sensibilité aux antibiotiques par méthode de diffusion en milieu gélosé, en microdilution, et par détection des gènes de résistance. Les résultats étaient conformes aux résultats attendus.
 - EQA-10-clustering *Salmonella* : l'identification de groupements génomiques parmi un échantillon de souches de *Salmonella* était conforme aux résultats attendus.
- Pour *E. coli* producteur de Shiga-toxines (STEC), la participation à l'EQA-9 a été effectué à partir de l'analyse des séquences de génome complet :
 - 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.
 - L'étude de clusterisation des souches de STEC a été effectuée par une analyse cgMLST suivie d'une confirmation par une analyse des SNP. Les résultats étaient conformes aux résultats attendus.

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 classiques 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).

Méthodes moléculaires de différenciation d'espèces et de sous-espèces

- **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.

Le séquençage complet du génome (WGS)

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 séquençage complet du génome (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.

Le WGS offre la possibilité d'identifier les salmonelles au niveau moléculaire par l'identification des espèces et sous-espèces de *Salmonella*.

Des techniques de spectrométrie de masse

La plateforme P2M propose également une analyse des échantillons par MALDI-TOF, mais très peu utile en routine pour l'identification des types de *Salmonella*.

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 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).

Le (séro)typage moléculaire

Quatre 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*.

Le (séro)typage par séquençage du génome entier (whole-genome sequencing ou WGS)

En juillet 2018, le typage génomique a définitivement remplacé le sérotypage classique par agglutination comme technique de première intention pour le typage de *Salmonella* reçues au CNR-ESS. Il obtient en une seule analyse les informations **MLST, *fliC fliB*, O:5, dt+/dt-** et **HC_2850** pour la sous-espèce.

A2.1.1.2 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).

- Le Hierarchical clustering appliqué au cgMLST (**HierCC-cgMLST**). Depuis octobre 2018, les sérotypes prévalents ayant une forte homogénéité génétique (Typhimurium-ST19, son variant monophasique-ST34, Enteritidis-ST11) et les sérotypes impliqués dans des épidémies d'envergure (Poona-ST308, Dublin-ST10, Mikawasima-1815) 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 (2 055 pour 2019 ; 1 1659 depuis septembre 2018) les résultats HC5, HC10, HC20 et HC50 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, et les institutions de surveillance des salmonelles dans le réseau EPIS-FWD) dans le cadre des alertes européennes.
- **Phylogénie basée sur les SNP.** 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.

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). Depuis l'utilisation du WGS pour le sous-typage, la totalité des gènes de résistance acquis et des mutations connues sur des gènes chromosomiques (*gyrA*, *parC*) est détectée en utilisant l'outil Resfinder, du site Center for Genomic Epidemiology (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>), ou par son intégration dans les scripts développés au CNR-ESS.

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. Cette analyse n'est plus réalisée qu'exceptionnellement. Elle est remplacée par le WGS. L'**analyse MLVA** pour le sérotype Typhimurium et Enteritidis est standardisée et harmonisée. Cette analyse n'est plus réalisée qu'exceptionnellement. Elle est remplacée par le WGS.

La **méthode CRISPOL, méthode de sous-typage à haut débit** de *S. enterica* sérotype Typhimurium et de ses variants monophasiques était utilisée en routine au CNR-ESS (Institut Pasteur, Paris), avant de devenir une analyse *in silico* à partir des séquences WGS.

Le **séquençage des génomes entier (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 et son variant monophasique, le contenu en gènes de résistance, le contenu en plasmides 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 des *Shigella*/EIEC

Bactériologie classique (utilisée en routine au CNR-ESS)

- 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).

Méthodes moléculaires de différenciation d'espèces (utilisées en routine au CNR-ESS)

- La recherche par **PCR du gène *uidA*, codant pour la bêta-glucuronidase**, différenciant l'espèce génomique *E. coli-Shigella* des autres *Escherichia* et des autres genres d'entérobactéries (Bej A.K. Applied Environmental Microbiology 1991; 57(4): 1013–1017).
- La détection par **PCR des gènes codant pour l'invasivité (*ial* et *ipaH*)** permettant de différencier une souche de *Shigella*/EIEC d'un autre *E. coli* (Frankel G. et al. Molecular Microbiology. 1989; 3(12):1729-1734) (Sethabutr O. et al. The Journal of Infectious Disease. 1993; 167:458-461).

Autres méthodes de différenciation d'espèces (pour mémoire)

Pour mémoire, le séquençage du gène *rpoB* (codant pour la sous-unité bêta de l'ARN polymérase) permettait de vérifier l'appartenance des souches à l'espèce génomique *E. coli-Shigella* ou de les classer avec les autres entérobactéries grâce à la comparaison aux bases de données de l'Unité BPE. L'usage de cette technique a été abandonné par le CNR-ESS au profit de l'analyse du génome complet.

A2.2.1.2 Techniques de typage des *Shigella*/EIEC

Le sérotypage classique (utilisé en routine au CNR-ESS)

Le sérotypage classique 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 ensuite divisées en 5 biotypes en fonction des caractères biochimiques. Les antisérums utilisés sont commercialisés par Eurobio ou Sifin, quelques antisérums spécifiques peuvent être fabriqués chez le lapin dans l'Unité BPE.

Le sérotypage moléculaire (pour mémoire)

L'usage de cette technique a été abandonné par le CNR pour se consacrer au développement d'une méthode de sérotypage *in silico*.

Pour mémoire le sérotypage moléculaire était utilisé quand les souches n'étaient pas sérotypables (nouveaux sérotypes en l'absence d'antisérums spécifiques ou quand les souches étaient 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*.

Le sérotypage *in silico* (déploiement en cours au CNR-ESS)

Cette technique est actuellement utilisée en routine pour l'identification du sérotype des EIEC (détermination des antigènes somatique O et flagellaire H). Il consiste en l'analyse des séquences du génome complet via l'outil SerotypeFinder de la plateforme web européenne Center for Genomic Epidemiology (CGE).

SerotypeFinder ne comprend pas à ce jour de base de données spécifique pour *Shigella*. C'est pourquoi nous sommes en cours de développement d'une méthode interne de sérotypage *in silico* des souches de *Shigella* :

Des scripts automatiques actuels nous permettent d'automatiser les analyses suivantes par BLAST sur des banques de données publiques (<http://www.genomicepidemiology.org/>): détermination du séquençotype MLST7, étude du contenu en gènes de virulence et de résistance aux antibiotiques. La technique du MLST7 ('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). Quand le profil obtenu n'existe pas dans notre base de données, nous vérifions systématiquement la profondeur de couverture des SNPs (<https://www.sanger.ac.uk/science/tools/artemis>) avant de soumettre les reads filtrés sur la plateforme Enterobase (<http://enterobase.warwick.ac.uk>) qui attribue alors un nouveau séquençotype. Certains séquençotype MLST7 pouvant correspondre à plusieurs sérotypes de *Shigella*, le géosérotype ne peut pas être déduit de ce seul paramètre. Nous avons donc étudié des cibles supplémentaires comme le séquençotype **cgMLST et ses valeurs associées de hierarchical clustering (HC)** obtenus sur la plateforme Enterobase, ainsi que la **région *rfb*** codant pour l'antigène de surface O, le **gène flagellaire *fliC***, les **régions CRISPR** (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) et différents **gènes de prophages** chez *S. flexneri* pour inférer de manière robuste un géosérotype à partir de chaque séquence WGS.

A l'été 2020, un script permettant d'**inférer un sérotype *in silico*** à toutes les souches de *Shigella* a été validé au sein du CNR-ESS (voir travail de thèse d'Iman Yassine). Nous attendons la mise à jour du script de routine pour passer au géosérotypage exclusif et abandonner en routine les techniques d'identification par tests biochimiques et agglutination.

A2.2.1.4 Techniques de sous-typage des *Shigella*/EIEC

L'électrophorèse en champ pulsé (PFGE) à l'aide de différentes endonucléases (méthode standardisée PulseNet), n'est plus utilisée au sein du CNR-ESS.

Depuis octobre 2018, le sous-typage des souches de *Shigella*/EIEC est effectué par l'analyse des séquences de génome complet. Tous les génomes sont soumis en routine sur la plateforme Enterobase (<http://enterobase.warwick.ac.uk>) pour détermination de leur séquençotype **cgMLST** et des **HC** associés. Ces HC proposent des regroupements de souches selon le nombre de différences alléliques. L'utilisation d'une nouvelle valeur de HC en tant qu'outil de clustering est validée après comparaison avec une **analyse du polymorphisme nucléotidique** (voir l'outil « SNP project » de la plateforme Enterobase). Cette nouvelle méthode de sous-typage permet de définir et de suivre les **clusters épidémiques** ainsi que de simplifier les échanges avec SpF, et les institutions européennes ou internationales.

A2.2.1.3. Détection des gènes de pathogénicité des *Shigella*

En plus des gènes d'invasivité *ial* et *ipaH* permettant le diagnostic du pathovar *Shigella*/EIEC (voir ci-dessus les méthodes moléculaires décrites parmi les « Techniques d'identification »), nous recherchons par PCR le gène *stx1a* de la Shiga-toxine 1 caractéristique des souches épidémiques de *Shigella dysenteriae* 1 (voir ci-dessous la plateforme <http://www.genomicpidemiology.org/> citée dans le paragraphe « A2.2.1.6. Séquençage du génome entier des *Shigella* »).

A2.2.1.5 Techniques d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des *Shigella*

- 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) pour la détermination de l'expression phénotypique des résistances.
- 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 (voir le paragraphe « A2.2.1.6. Séquençage du génome entier des *Shigella* »).

A2.2.1.6. Séquençage du génome entier des *Shigella*/EIEC

L'Institut Pasteur de Paris est doté d'une plateforme dite Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M) ouverte à l'ensemble de ses CNRs 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 d'extraction à haut débit MagNAPure 96[®] (Roche Diagnostics), les banques sont ensuite préparées avec le kit Nextera XT[®] (Illumina) puis séquencées sur un appareil NextSeq 500[®] (Illumina). Des contrôles de qualité sont effectués tout au long du processus de fabrication des séquences. Des robots pipeteurs et extracteurs permettent d'homogénéiser et de normaliser les ADN et amplicons avant d'entrer dans le pipeline de production.

Un bioinformaticien du Centre de Bio-informatique, Bio-statistique et Biologie Intégrative (C3BI) réalise une analyse de premier niveau (contrôle qualité et assemblage) pour nous fournir des reads filtrés et des assemblages en parallèle des reads bruts.

Une ingénieure de recherche (Laetitia FABRE) est également dédiée à 50 % pour faire le lien entre le CNR-ESS et P2M pour les phases pré- et post-analytique (organisation de la préparation des échantillons, vérification de la qualité des séquences, écriture de scripts automatiques, formation de l'équipe du CNR-ESS).

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 étant 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 (voir le paragraphe A2.2.1.4 Techniques de sous-typage des *Shigella*/EIEC).

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 méthode de typage de référence. L'expertise fine des souches de *Shigella* est désormais effectuée par l'analyse du génome complet.

A2.3 Pour *Escherichia coli*

A2.3.1 Liste des techniques de référence

A2.3.1.1 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

A2.3.1.2 Techniques du CNR-ESS

Les souches de STEC isolées et confirmées par le LA-RD sont ensuite transmises au CNR-ESS pour sous-typage, détection et suivi des épidémies. Pour cela, toutes les souches de STEC sont séquencées par WGS.

Séquençage du génome entier (WGS) des STEC

La technologie de WGS utilisée est la même que pour les *Shigella*/EIEC : voir paragraphe A2.2.1.6. « Séquençage du génome entier des *Shigella*/EIEC ».

Sous-typage des STEC

L'électrophorèse en champ pulsé (PFGE) à l'aide de différentes endonucléases (méthode standardisée PulseNet), n'est plus utilisée au sein du CNR-ESS.

Comme pour les *Shigella*/EIEC, le sous-typage des souches de STEC est effectué, depuis octobre 2018, par l'analyse des séquences de génome complet. Tous les génomes sont soumis en routine sur la plateforme Enterobase (<http://enterobase.warwick.ac.uk>) pour détermination de leur séquençotype **cgMLST** et des **HC** associés. Ces HC proposent des regroupements de souches selon le nombre de différences alléliques. L'utilisation d'une nouvelle valeur de HC en tant qu'outil de clustering est validée après comparaison avec une **analyse du polymorphisme nucléotidique** (voir l'outil « SNP project » de la plateforme Enterobase). Cette nouvelle méthode de sous-typage permet de définir et de suivre les **clusters épidémiques** ainsi que de simplifier les échanges avec SpF, et les institutions européennes ou internationales.

Les analyses bio-informatiques réalisées au CNR-ESS permettent également de détecter les principaux gènes de résistance et de virulence (*stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*, *aggR*, *saa*, *subA*) des STEC, via les outils ResFinder et VirulenceFinder de la plateforme <http://www.genomicepidemiology.org/>.

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.