



Rapport d'activité 2009

Centre National de Référence *Escherichia coli* / *Shigella*

Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques

Institut Pasteur

Et

Laboratoire associé

Service de Microbiologie

Hôpital Robert - Debré - Paris

Responsables :

CNR-IP :

Weill François-Xavier

Filliol Ingrid

Téléphone : 0145688339 (Secrétariat)

Tél : 0145688345

Tél : 0145688344

Télécopie : 0145688837

colishig@pasteur.fr

francois-xavier.weill@pasteur.fr

ingrid.filliol-toutain@pasteur.fr

Laboratoire associé (HRD) :

Bingen Edouard

Mariani-Kurkdjian Patricia

Stéphane Bonacorsi

Téléphone : 0140032340 (Secrétariat)

Tél : 0140032340

Tél : 0140032341

Tél : 0140035792

Télécopie : 0140032450

edouard.bingen@rdb.aphp.fr

patricia.mariani@rdb.aphp.fr

stephane.bonacorsi@rdb.aphp.fr

Sommaire :

<u>1- Introduction</u>	4
1.1-Missions et Objectifs du CNR.....	4
1.2- Résumé des activités 2009.....	5
1.3- Les équipes.....	6
a- Le CNR (IP) : Effectif / Qualification du Personnel	6
b- Le laboratoire associé (RD) : Effectif / Qualification du Personnel	6
c- Démarche qualité	7
1.4- Les locaux et équipements	8
a- Institut Pasteur.....	8
b- Hôpital Robert Debré.....	9
<u>2- Activités d'expertise</u>	10
<u>2.1- Capacité techniques du CNR</u>	10
a- Techniques de référence	10
b- Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles.....	14
c- Collection de souches.....	14
d- techniques recommandées par le CNR.....	14
<u>2.2- Activités d'expertise de l'année 2009</u>	15
<u>A- <i>E. coli</i></u>	16
a- Inventaire global des souches de <i>E. coli</i> et selles analysées en 2009.....	16
b- Résultats obtenus sur les prélèvements de selles.....	16
c- Analyse des souches de <i>E. coli</i> d'origine humaine productrices de Shigatoxines	17
d- Sérotypage moléculaire des souches STEC non sérotypables	20
e-Analyses de la répartition des symptômes donnant lieu à une analyse de selles ou souches.....	21
f- Sérodiagnostic des syndromes hémolytiques et urémiques (IP).....	22
g- Souches d' <i>E. coli</i> extra intestinaux.....	24
<u>B-<i>Shigella</i></u>	26
a-Analyse des 671 souches reçues de 671 patients de France métropolitaine en 2009.....	26
b- Bilan des feuilles d'informations reçues au CNR (237 fiches pour 237 patients)	29
c- Souches reçues des DOM-TOM (140 souches pour 140 patients) et de l'étranger (1 souche d'Italie)	30
d- <i>Shigella</i> d'origine non humaine (12 souches).....	30
<u>C- Analyse de l'évolution des tendances de l'activité du CNR</u>	31
<u>3. Activités de Surveillance</u>	32
<u>3.1- Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections</u>	32
A- Réseau partenaire.....	32
B- Analyse de la distribution des différents agents et analyses des tendances.....	32
C- Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS	37
D- Collaboration avec des partenaires nationaux : animal, alimentaire, Environnement	37
E- Collaboration avec des partenaires internationaux	38
<u>3-2 Surveillance de la résistance aux anti-infectieux</u>	38
A- Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches STEC	38
B- Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>E. coli</i> d'origine extra-intestinale	39
C- Étude de la résistance aux antibiotiques de souches de <i>Shigella</i>	39
a- Surveillance globale.....	39
b- Surveillance de <i>S. sonnei</i>	42

<u>3-3 Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux</u>	43
A- <i>E. coli</i>	43
a- Alerte aux steaks hachés contaminés dans la Marne	43
b- Cas de contamination par O157 dans la Seine Maritime.....	44
c- Suspicion de cas groupé dans la région Lyonnaise	44
d. Investigation d'une épidémie de souches de <i>E. coli</i> BLSE à dans l'unité de néonatalogie de l'hôpital Trousseau à Paris).....	45
e. Analyse des souches O157 reçues en 2009.....	45
B- <i>Shigella</i>	46
a- Surveillance des épidémies.....	46
b- Surveillance des biotypes de <i>S. sonnei</i>	46
<u>3-4 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier Européens</u>	47
<u>4- Alerte</u>	47
<u>5- Activités d'information, de formation et de conseil</u>	48
a-Enseignement / formation.....	48
b-Information et conseil aux biologistes et praticiens.....	49
c-Diffusion des données de surveillance à l'InVS.....	50
d- Activités d'expertises après du ministère chargé de la santé, de l'InVS, la DGS, l'AFSSA, l'OMS.....	50
<u>6- Travaux de recherche en lien direct avec l'activité du CNR</u>	50
<u>A- <i>E. coli</i> : (IP)</u>	50
a. <i>E. coli</i> extra intestinaux	50
b. <i>E. coli</i> intestinaux	51
<u>B-<i>Shigella</i> (IP)</u>	52
a- Diagnostic rapide.....	52
b- Antibiorésistance.....	52
c- Etude de structure de population de <i>Shigella</i>	54
d- Méthode de typages des souches de <i>Shigella</i>	55
e- Etude des nouveaux sérotypes de <i>Shigella</i>	56
<u>7- Liste des publications et communications 2009</u>	57
<u>8- Programme de travail 2009-2010</u>	58
A/ Pour les <i>E. coli</i> responsables d'infections digestives.....	58
B/ Pour les <i>E. coli</i> responsables de méningites néonatales.....	60
C/ Pour les <i>Shigella</i>	62
<u>9- Collaboration avec la PF8</u>	63
ANNEXES	65

1- Introduction

1.1-Missions et Objectifs du CNR

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

Le cahier des charges du CNR-ECS réparti les missions entre le CNR de l'Institut Pasteur (CNR-IP) et le laboratoire associé au CNR situé à l'Hôpital Robert Debré (RD) de la façon 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 Shigatoxines (STEC) dans les laboratoires de diagnostic : (IP, RD).
- Contribuer à la surveillance des infections à STEC et du syndrome hémolytique et urémique (SHU) en lien avec l'Institut de Veille Sanitaire (InVS), en confirmant l'infection à STEC par sérologie (IP), et/ou mise en évidence de STEC dans les selles (RD, IP).
- Participer, en lien avec l'InVS, à l'investigation de cas groupés par typage des souches et comparaison de souches isolées chez les malades et dans d'autres sources (IP, RD 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, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments...).
- Contribuer à des études de recherche appliquée (IP, RD).
- Contribuer avec l'InVS aux réseaux de surveillance internationaux et en particulier européen (Enter-Net) notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonoses 2003/99/CE (IP, RD).
- Contribuer à l'alerte en signalant à l'InVS tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, survenue de cas groupés, apparition de souches inhabituelles, etc. (IP, RD).

Pour les E. coli responsables de méningites néonatales : (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 l'InVS 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 l'InVS tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, cas groupés, formes cliniques ou souches inhabituelles, etc.

Pour les Shigella (IP)

- Suivre les tendances évolutives temporelles des différentes espèces de *Shigella*, en s'appuyant sur un réseau de laboratoires d'analyses de biologie médicale sur tout le territoire,
- Suivre l'évolution de la résistance des *Shigella* aux antibiotiques et des mécanismes de résistance en liaison avec le CNR de la résistance aux antibiotiques,
- Contribuer à la détection et l'investigation des cas groupés en lien avec l'InVS,
- Contribuer à des études de recherche appliquée,
- Participer, en lien avec l'InVS, aux réseaux de surveillance et d'alerte internationaux et en particulier européens
- Contribuer à l'alerte en signalant à l'InVS, tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, survenue de cas groupés, modification des profils de résistance, apparition de souches inhabituelles, etc...

Toutes ces missions sont possibles avec la collaboration de nombreux hôpitaux et laboratoires répartis dans toute la France, et à une collaboration étroite avec l'InVS.

1.2- Résumé d'activité 2009

Concernant l'ensemble de l'activité du CNR et du laboratoire associé : un total de **1553** souches, **288** selles et **474** sérums ont été analysés.

L'activité globale *E. coli* et *Shigella* est restée stable en 2009 par rapport à 2008. On note toutefois des disparités selon les activités.

Concernant l'activité *E. coli* :

Depuis début 2009, l'activité *E. coli* du CNR-ESC a été recentrée sur le diagnostic des souches EHEC d'origine intestinale, les souches extra-intestinales ont été réorientées vers le laboratoire associé qui effectue des analyses spécialisées sur la virulence de ces souches. Dans ce but, un courrier a été envoyé aux laboratoires du réseau entre septembre 2008 et juin 2009.

Une augmentation globale d'activités de 25,7% a été notée en 2009. Le nombre de sérologies *E. coli* a fortement augmenté (+25,1%), le nombre de selles reçues a légèrement augmenté (+10,3%) alors que le nombre de souches reçues a diminué de 9,6%.

Aucune épidémie majeure n'a été relevée mais plusieurs épidémies familiales ont été investiguées dont une qui a permis de mettre en évidence une souche STEC de sérotype rare (O123:H- [H2 en sérotypage moléculaire]) à la fois chez 2 enfants et dans le lot de steak haché à l'origine de la contamination.

Concernant l'activité *Shigella* :

On note une légère diminution du nombre de *Shigella* envoyées au CNR ou déclarées, de 1077 en 2008 à 1056 en 2009 soit -1,95%.

Le nombre de laboratoires du réseau ayant adressé des souches ou des notifications est resté stable en 2009 (n=686) par rapport à 2008 (n=664).

Concernant l'organisation du CNR-IP, un changement de système informatique a eu lieu en novembre 2009 afin de simplifier la saisie des analyses, des résultats et la recherche de résultats. Ce système « Lagon » (Epiconcept) qui fonctionne sur PC est maintenant utilisé en routine et remplace entièrement le logiciel Bactéricentre.

1.3- Les équipes

a- Le CNR (IP) : Effectif / Qualification du Personnel

✓ Effectif par catégories de fonctions

Le Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques (BPE) dirigé par le Dr François-Xavier Weill a été créé en janvier 2008. Ce laboratoire regroupe les CNR *E. coli* et *Shigella*, *Salmonella*, vibrions et choléra et le CCOMS des *Salmonella*. Le personnel du CNR *E. coli* et *Shigella* se répartissant de la façon suivante:

Nom - Prénom	Libellé Emploi	ETP
M. WEILL François-Xavier	Médecin biologiste	0,30
Melle FILLIOL Ingrid	Pharmacien, biologiste	1,00
Mme CARLE Isabelle	Technicien supérieur de laboratoire	1,00
Mme ISSENHUTH-JEANJEAN Sylvie*	Technicien supérieur de laboratoire	0,50
Mme LEFEVRE Martine	Technicien supérieur de laboratoire	1,00
Mme LEJAY-COLLIN Monique	Technicien supérieur de laboratoire	0,90
Melle ROUX Chrystelle	Technicien de laboratoire	0,10
Mme ABIHSSIRA Marie-Valerie	Secrétaire	0,20
Melle PRETESAC Annie	Responsable de préparation	0,10
M. TOMMASINO Patrice puis P. DENIS	Agent de Laboratoire	0,10
TOTAL ETP		5,20

* du 01-01-2009 au 01-03-2009

✓ Qualification du personnel cadre

- **François-Xavier Weill**, Médecin-biologiste, Doctorat d'Université, ancien interne et Assistant Hospitalier Universitaire.
- **Filliol Ingrid**, Doctorat en Pharmacie, Doctorat d'Université.

b- Le laboratoire associé (RD) : Effectif / Qualification du Personnel

✓ Effectif par catégories de fonctions

Nom - Prénom	Libellé Emploi	ETP
M. BINGEN Edouard	PU-PH	0,2
Mme MARIANI-KURKDJIAN Patricia	PH	0,4
M. BONACORSI Stéphane	MCU-PH	0,2
Melle AIT-IFRANE Shadia	Technicienne	1

c- Démarche qualité

Le CNR-IP est engagé dans une **démarche Qualité** pour ses activités d'identification, de sérotypage, d'antibiogramme, et de typage moléculaire: la totalité des membres du personnel impliqué dans ces activités a suivi une formation à l'Assurance Qualité depuis 2000 et un **correspondant qualité** a été nommée pour animer le projet qualité du CNR. Le référentiel choisi est le Guide de Bonne Exécution des Analyses de Biologie Médicale (GBEA), (Arrêté du 26 Novembre 1999 paru au Journal Officiel du 11 Décembre 1999).

Ces actions s'inscrivent dans le cadre de la **Démarche qualité** de l'Institut Pasteur qui a pris son essor en Février 1998 par la mise en place de la **Mission Qualité**, mission transformée en **Service Qualité** en janvier 2000 puis en **direction déléguée Hygiène Sécurité Qualité Environnement Développement durable (HSQEDD)**. Ce service a notamment la charge de coordonner les démarches des différents services de l'Institut Pasteur parmi lesquels les Centres Nationaux de Référence. Le Service HSQEDV propose des procédures générales répondant aux diverses exigences des référentiels normatifs. Ces procédures sont mises en place au fur et à mesure de nos disponibilités. Un laboratoire de métrologie a également été créé à l'Institut Pasteur pour répondre aux besoins des laboratoires en contrôle de température et de volume. Des procédures spécifiques à l'activité du CNR ont été rédigées :

- modes opératoires, procédures générales (protocoles de milieux de culture, tampons...) et spécifiques (protocoles PCR...).
- suivi du matériel scientifique avec une grande mise à jour lors du déménagement du laboratoire.

Une étude réalisée par la direction déléguée HSQEDD de l'IP en 2009 dans tous les CNR a permis de mettre en évidence un certain nombre de mises à jour à effectuer au sein du système Qualité. De plus le déménagement du laboratoire en 2009 a entraîné la nécessité de mise à jour de l'organisation Qualité.

Depuis janvier 2010, une grande campagne de normalisation des procédures Qualité est en cours au sein de l'Institut Pasteur. Une personne a été recruté par la direction déléguée HSQEDD afin d'accompagner les CNR de l'IP dans la mise a jour des procédures Qualité avec des réunions régulière et programmé dans chaque CNR.

Afin de s'assurer de ses compétences, CNR-IP participe depuis 2005 à des **contrôles de qualité** externes internationaux organisés par le **Réseau européen de Surveillance aux infections à EHEC** (Enter-Net) : « **Enter-Net ring trial** » sur le sérotypage (1), détection de gènes de virulence (2).

En 2009, les scores ont été de :

(1) 100% de réussite pour le sérogroupage « O » par agglutination ou *rfb*-RFLP, et 100% pour le type flagellaire « H » par *fliC*-RFLP et/ou séquençage *fliC*.

(2) 100% de réussite pour la détection PCR des gènes *stx*, *eae*, *hlyA* recherchés

Le laboratoire associé est également engagé dans une démarche Qualité au sein du service de Microbiologie de l'hôpital Robert Debré, qui a par ailleurs été engagé dans la démarche d'accréditation dès 2003. Le référentiel choisi est le GBEA.

Le laboratoire associé participe depuis 2005 à des **contrôles de qualité** externes internationaux organisés par le **Réseau européen de Surveillance aux infections à EHEC** (Enter-Net) : « **Enter-Net ring trial** » sur détection de gènes de virulence (score 100% en 2009).

1.4- Les locaux et équipements

a-Institut Pasteur

Suite à des travaux de rénovation au sein de l'Institut Pasteur, le laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques (BPE) qui regroupe le CNR ECS, le CNR Vibriion et Cholera et le CNR et le CCOMS des *Salmonella*, a déménagé en février 2009.

Locaux

L'ensemble de des locaux du laboratoire BPE se situe au 3^{ème} étage du bâtiment Biotop (Cf. plan du laboratoire en **annexe 1**)

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

- Pièce bureaux* : directeur du CNR (pièce 4a), directeur adjoint (pièce 3a), secrétariat (pièce 03/04), et 3 techniciennes (pièce 5) avec un ordinateur par personne
- Laboratoire P2 avec PSM (pièce 06/09)*
- Une petite pièce climatisée les PCR et électrophorèses en agarose et en champ pulsé (pièce partagée avec les autres CNR et laboratoires de l'étage)

* Commun aux autres CNR de BPE.

Pour réduire les coûts, le circuit des souches est commun pour tous les CNR du laboratoire BPE (ouverture des paquets en P2+, enregistrement des informations épidémiologiques au secrétariat, local commun pour conserver les souches, pièce matériels et chambre froide commune).

Matériel, équipement de la structure actuelle

- Équipement habituel de laboratoires 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*
- Thermocyclers (x 5), *
- Appareil d'électrophorèse en champ pulsé Biorad DRIII (x2)*
- Système automatisé de lecture et d'interprétation d'antibiogrammes OSIRIS (Bio-Rad) avec logiciel d'épidémiologie *
- Équipement informatique : 4 ordinateurs Macintosh en réseau protégé, sauvegardes des données assurées sur serveur, 3 PC*
- Congélateurs à -80°C (x4) *
- Laverie et autoclaves. *

* Partagé avec les autres CNR de l'Unité

Moyens extérieurs à la structure :

- Collaboration importante avec la Plateforme de génotypage des pathogène et de Santé Publique de l'Institut Pasteur (PF8) pour les différents projets de recherche impliquant du séquençage et aussi pour l'identification de souches à problèmes par séquençage *rpoB*. (cf. paragraphe 9)
- Structures transversales notamment (CIBU, Plate-forme génomique Puces à ADN, séquences, Coordination épidémiologique), mais aussi les structures disponibles sur le campus (animaleries, etc...) et nécessaires aux missions du CNR.
- Réseau informatique de l'IP.
- L'assistance d'Épiconcept 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.

b- Hôpital Robert Debré

Locaux

Le laboratoire associé est situé au sein du Service de Microbiologie du Pr Bingen à l'hôpital Robert Debré à Paris dont il utilise une partie de la structure, en particulier :

- Une pièce pour l'étude des selles avec un poste de sécurité microbiologique (isolement et identification des *E. coli*)
- Un poste de sécurité PCR
- Une pièce dédiée aux électrophorèses en agarose et au champ pulsé

Matériels et Equipements de la structure actuelle

Locaux en propre

- Poste de sécurité microbiologique de type II
- Étuve
- Microscope
- Centrifugeuse
- Réfrigérateur
- Congélateur à -20°C

Locaux communs

- Pièce pré PCR avec poste de sécurité PCR
- Une pièce climatisée comprenant :
 - Thermocyclers (x 3)
 - 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 universitaire EA 3105
- Utilisation d'un prestataire de service (Génome Express) pour des séquençages

2- Activités d'expertise

Actuellement, la seule connaissance du sérotype d'une souche d'*E. coli* ne permet pas de dire si celle-ci est pathogène. Pour pouvoir affirmer son caractère pathogène, il est nécessaire de mettre en évidence les gènes de pathogénicité.

Bien que la virulence de chaque pathovar soit multi factorielle, l'identification courante repose sur la recherche d'un facteur de virulence caractéristique de l'effet pathogène ou des gènes qui en contrôlent l'expression, et parfois sur la recherche d'une caractéristique phénotypique associée à la virulence.

2.1- Capacité technique du CNR

a- Techniques de référence

- Méthodes d'identification

Bactériologie classique pour l'isolement et la différenciation d'espèce

- Possibilité de culture sur différents milieux (Drigalski, TSA, BCP, XLD, Hektoen, Kligler Hajna, Mannitol-Mobilité, Mac Conkey-sorbitol).

- 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 beta-glucuronidase. Possibilité de réalisation de micro-galerie (API 20E, Biomérieux).

Remarque : les *Shigella* sont des *E. coli* adaptés à l'homme. L'identification des *E. coli* et *Shigella* s'effectue habituellement à l'aide des caractères biochimiques, mais les caractères différentiels entre *E. coli* et *Shigella* sont parfois peu nombreux, en particulier dans le cas des variants immobiles et agazogènes de *E. coli*. Une première différenciation par tests biochimiques des serogroupes de *Shigella* reste essentielle.

Autres méthodes de différenciation d'espèces utilisées en routine

- La recherche par PCR du gène *iudA*, codant pour le bêta-glucuronidase, la présence de ce gène permet de valider l'identification *E. coli* –*Shigella*.

- La détection par PCR des gènes codant pour l'invasivité (*ial* et *ipaH*) pour différencier une souche déficiente d'*E. coli* d'une *Shigella*. Ces gènes sont aussi présents chez les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC), mais ces derniers sont plus rares.

Autres méthodes de différenciation d'espèces utilisables si besoin

- Le séquençage du gène *rpoB* (codant pour la sous unité bêta de l'ARN polymérase) permet de vérifier l'appartenance des souches aux genres *E. coli*-*Shigella* ou de les classer avec les autres entérobactéries correspondantes grâce à la comparaison aux bases de données. Le séquençage est effectué à la PF8.

- Méthodes de typage

Le sérotypage par agglutination

* *E. coli*

Il est très difficile d'obtenir des sérums spécifiques de bonne qualité pour le sérotypage des *E. coli*. Les sérums utilisés par le CNR IP proviennent de différents fournisseurs (Eurobio, Biorad, Sifin). Chaque sérum est testé à réception avec les souches témoins du sérotype afin d'être validé.

Les sérotypes testés en routine au laboratoire sont : O25, O26, O44, O55, O78, O86, O91, O103, O111, O114, O118, O119, O124, O125, O126, O127, O128, O142, O145, O157, O158, O164.

Les antisérums O1, O2, O18 sont maintenant disponibles commercialement

La méthode immunologique est très souvent mise en défaut pour les souches d'*E. coli* car le nombre des sérotypes potentiels est élevé et le schéma antigénique n'est pas exhaustif.

L'agglutination avec le sérum anti-capsulaire K1 est aussi effectuée ponctuellement sur demande (femmes enceintes, nouveau-nés)

* *Shigella*

Concernant les *Shigella*, les sérums utilisés sont commercialisés par Eurobio ou Sifin, quelques sérums spécifiques sont fabriqués au CNR-IP.

Le sérotypage permet d'identifier 20 sérotypes de *S. boydii*, 17 sérotypes de *S. dysenteriae* et 8 sérotypes de *S. flexneri*. Les souches de *S. sonnei* sont divisées en 5 biotypes en fonction des caractères biochimiques.

Pour les *Shigella*, certains antigènes somatiques O sont identiques ou apparentés à ceux de certaines souches d'*E. coli*. La diversité antigénique de *Shigella* s'exprime par la possible émergence de nouveaux sérotypes de *Shigella*.

Le sérotypage moléculaire par PCR-RFLP (*rfb*-RFLP) et séquençage (*fliC*)

L'agglutination des souches de *E. coli* est la technique de base, mais cette méthode immunologique est très souvent mise en défaut pour *E. coli* en raison d'un nombre de sérotypes très élevé (plus de 170 antigènes O et 50 antigènes H connus) et le schéma antigénique n'est pas exhaustif (à la différence des *Salmonella*). Pour les *E. coli stx+* et *Shigella*, le sérotypage moléculaire est utile quand les souches ne sont pas sérotypables (nouveaux sérotypes en l'absence d'antisérums spécifiques ou quand les souches sont autoagglutinables [rough]).

- Le sérotypage moléculaire O des *E. coli* et *Shigella* par *rfb*-RFLP, mis au point à l'IP, 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 regroupant 250 profils déterminés pour 148 sérogroupes O d'*E. coli* et 35 sérotypes de *Shigella*. Les antigènes O déterminés de façon moléculaire sont notés R (et non « O »).

Afin d'assurer la pérennité de cette base, qui fonctionnait à l'aide du logiciel Taxotron un transfert vers le logiciel Bionumerics a été effectué en 2009.

Les souches qui sont testées en priorité sont les EHEC responsables de SHU. Cette méthode développée dans notre laboratoire ne permet pas toujours d'obtenir des résultats du fait de la diversité des souches cliniques. Mais les résultats restent supérieurs au typage classique par agglutination.

- Le sérotypage moléculaire de l'antigène H par séquençage du gène *fliC*

Une base de données de séquences de référence pour 92 sérotypes d'*E. coli* et près de 40 sérotypes de *Shigella* permet de comparer les séquences obtenues par alignement afin de déterminer le « H » moléculaire (F). Pour *Shigella*, la base est pratiquement complète, mais les comparaisons sont plus difficiles pour certains sérotypes du fait de l'insertion fréquente de séquences d'insertion (IS) intra-

géniques. L'identification, bien que plus laborieuse, reste le plus souvent possible. Le séquençage est effectué à la PF8.

Le sous-typage moléculaire par électrophorèse en champ pulsé (PFGE) avec l'endonucléase XbaI pour E. coli et Shigella

Cette méthode a fait l'objet d'une standardisation par le réseau PulseNet USA puis PulseNet Europe afin de pouvoir effectuer des comparaisons de profils inter-laboratoires. Cette méthode permettant de vérifier la clonalité des souches est utilisée au CNR-IP et au laboratoire associé en cas d'épidémie, particulièrement à EHEC. La méthode reste longue et fastidieuse (environ 3 jours). D'autres endonucléases peuvent aussi être utilisées si nécessaire, telle que *BlnI*.

Le typage moléculaire par Multi Locus Sequence Typing (MLST)

La technique MLST est une méthode de référence en génétique des populations bactériennes. Elle consiste en la caractérisation par séquençage de sept gènes «dits de ménage» non soumis à une pression de sélection. Nous utilisons le protocole développé par M. Achtman de l'Environmental Research Institute, University College Cork, Cork, Irlande pour *E. coli* et *Shigella* (gènes *adh*, *fumC*, *gyrB*, *icd*, *mdh*, *purA*, *recA*) et les résultats sont comparés avec ceux de la base de données «*Escherichia coli* MLST database » (<http://mlst.ucc.ie/mlst/dbs/Ecoli>). Le séquençage est effectué à la PF8.

- Détection par PCR des gènes de pathogénicité

La panoplie des gènes de pathogénicité présents chez *E. coli* est imposante. La détection par PCR de tous ces gènes s'effectue sur souches isolées ou directement sur les selles. Des systèmes de PCR multiplex sont utilisés pour certains gènes.

Depuis début 2009, l'activité *E. coli* du CNR-ECS a été recentrée sur le diagnostic des souches EHEC d'origine intestinale, les souches extra-intestinales sont réorientées vers le laboratoire associé.

Ainsi 3 PCR sont effectuées en routine au CNR-ECS :

- La détection des gènes *stx* (**vt**) codant pour les Shiga-toxines ou Vérotoxines chez les *E. coli* producteurs de Shigatoxines (STEC ou EHEC) ou encore chez *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga-toxine 1). Il nous est possible de sous-typier le gène *stx* en 6 variants par un système de PCR et restriction enzymatique.

- La détection du gène d'adhésion *eae* codant «l'attachement et l'effacement aux cellules épithéliales». Ce gène est reconnu comme facteur de pathogénicité important chez les STEC et les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC).

- La détection du gène *ehlyA* (*hlyA*) codant pour l'entérohémolysine. Ce gène est présent dans 90% des cas chez les STEC.

Le laboratoire associé réalise la PCR *stx*, *eae* et *hlyA*, pour le diagnostic EHEC ainsi que des PCR différentielles de certains sérotypes d'EHEC. Pour les souches extra-intestinales le laboratoire associé réalise la PCR spécifique du clone hypervirulent O45:K1, responsable de méningite néonatale en France ainsi qu'une de détection du sous groupe d'ExPEC hautement virulent (ribotype B2₁ / ST 29)

Le CNR-ECS a gardé la possibilité de faire l'ensemble des PCR de gènes de virulence des différents pathovars sur demande lors de suspicion d'épidémie ou de clinique aggravée et selon le type de prélèvement. Ces gènes sont : le locus *ial* (Invasion Associated Locus) et le gène *ipaH* l'identification des *Shigella* et des *E. coli* entéroinvasifs (EIEC), Les gènes de toxine *st* et *lt* des *E.*

coli entérotoxigènes (ETEC), le gène *astA* et le gène *aggA* des *E. coli* entéroaggrégants (EAggEC), les gènes codant pour les adhésines PAP, SFA, AFA chez des souches responsables de diarrhées ou uropathogènes (UPEC), les gènes *cnf1* et *aer* chez des souches responsables de septicémie.

- Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

Un antibiogramme est réalisé en routine depuis 2006 sur toutes les souches de *Shigella* reçues au CNR. Cet antibiogramme comprend les antibiotiques suivants :

Amoxicilline	Acide nalidixique
Ceftriaxone	Ofloxacine
Ceftazidime	Ciprofloxacine
Streptomycine	Chloramphénicol
Spectinomycine	Tétracycline
Kanamycine	Sulfamides
Gentamicine	Triméthoprim
Amikacine	Cotrimoxazole

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques s'effectue par la méthode de diffusion selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Dans certains cas, la méthode de l'E-test (AB-Biodisk) est utilisée pour déterminer les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI).

Suite à l'épidémie à *S. sonnei* résistante à l'amoxicilline, au cotrimoxazole et à l'azithromycine survenue en 2007, la sensibilité à l'azithromycine est testée pour toutes les souches de *Shigella sonnei* résistantes à l'amoxicilline et au cotrimoxazole.

- Sérodiagnostic :

Seule la recherche dans le sérum des patients d'anticorps anti-LPS (IgA et IgM) dirigés contre un panel de 23 sérogroupes d'*E. coli* fréquemment associés à la survenue de SHU est effectuée. Le diagnostic se base sur la recherche d'anticorps anti-LPS car le taux d'anticorps anti-Shiga-toxine est trop faible pour être détectable. La technique de « line-blot » avec 8 LPS purifiés (liste réduite) ou 24 LPS (liste complète) est utilisée. La recherche est effectuée sur 2 sérums de malades : le 1^{er} prélevé le plus tôt possible après le début du SHU (J-0) et le 2nd prélevé environ 15 jours après (J-15). Cette méthode est très utile dans la surveillance des SHU quand la bactérie n'est plus retrouvée dans les selles.

Liste réduite des LPS

E. coli O26
E. coli O55
E. coli O91
E. coli O103
E. coli O111
E. coli O128
E. coli O145
E. coli O157

Liste complètes des LPS

E. coli O1 ; *E. coli* O2 ; *E. coli* O4
E. coli O14 ; *E. coli* O26 (x2) ; *E. coli* O29
E. coli O55 ; *E. coli* O91 ; *E. coli* O103
E. coli O104 ; *E. coli* O105 ; *E. coli* O111
E. coli O113 ; *E. coli* O115 ; *E. coli* O118
E. coli O127 ; *E. coli* O128 ; *E. coli* O136
E. coli O145 ; *E. coli* O153 ; *E. coli* O157
E. coli O163 ; *E. coli* O164

Contrôles : *Shigella dysenteriae* 1, *Salmonella enterica* sérotypes Enteritidis et Urbana

b- Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles

Lors d'investigations d'épidémies, la plupart des techniques exposées précédemment sont utilisables pour le suivi de l'épidémie. Pour *E. coli*, nous réalisons en priorité le sérotypage (par agglutination ou moléculaire) et effectuons la recherche des gènes de virulence. Par la suite, l'empreinte génétique des souches est réalisée par PFGE.

Dans le cas de *Shigella*, le sérotypage est lui aussi essentiel pour vérifier que c'est bien le même sérotype et le PFGE peut aussi être utilisé pour vérifier la clonalité des souches mais la diversité est moins grande que celle observée chez *E. coli*. Il peut être très intéressant dans certains cas de se baser aussi sur le profil de sensibilité aux antibiotiques.

Toutes les techniques décrites précédemment peuvent être utilisées en association comme marqueurs épidémiologiques.

c- Collection de souches

Au CNR-IP, toutes les souches d'*E. coli* et *Shigella* ont été conservées au laboratoire depuis plus de 30 ans, ce qui représente plusieurs dizaines de milliers de souches conservées avec leurs informations microbiologiques et cliniques (si disponible). Ceci permet des études rétrospectives sur l'évolution des types ou des résistances aux antibiotiques. Les souches importantes sont conservées à -80°C , parmi ces souches, on trouve :

- les souches de référence pour les gènes de pathogénicité d'*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,
- les souches de *S. dysenteriae* de type 1.
- les souches de *Shigella* présentant une résistance particulière aux antibiotiques

Pour les autres souches, elles sont ensemencées en gélose de conservation et une pièce climatisée est réservée aux collections de souches des CNR.

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 :

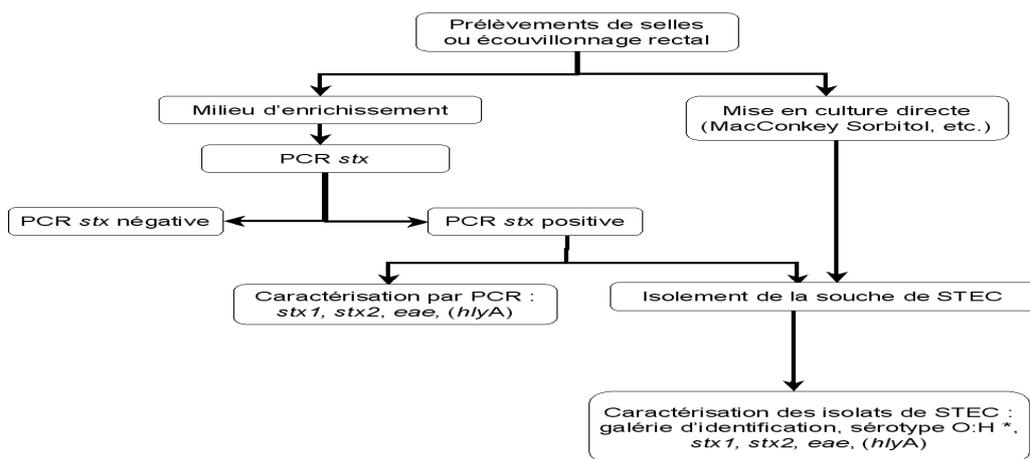
- Les souches d'*E. coli* responsables de SHU de l'enfant.
- Les souches d'*E. coli* responsables de méningites néonatales
- Les souches d'*E. coli* responsables d'infections urinaires de l'enfant.

d- Techniques recommandées par le CNR :

Concernant le diagnostic des EHEC : un article a été rédigé par l'InVS, le CNR et le laboratoire associé en 2008 (E. Espié, P. Mariani-Kurkdjian, I. Filliol, V. Vaillant et H. de Valk. **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 permet aux laboratoires d'avoir toutes les informations concernant la détection des souches STEC et particulièrement le schéma d'isolement décrit ci dessous (**figure 1**)

Concernant les *Shigella* la caractérisation biochimique suivie de la séroagglutination reste la seule méthode diagnostic utilisable en laboratoire.

Figure 1: Procédures d'isolement des souches STEC :



2.2- Activités d'expertise de l'année 2009

Un total de 1387 souches, 58 selles et 454 sérums ont été reçus et analysés au CNR-IP en 2009.

Un total de 164 souches, 230 selles ou prélèvements ont été reçus et analysés au laboratoire associé RD en 2009.

Soit globalement, **1551** souches, **288** selles et **454** sérums analysés par le CNR-ESC en 2009.

La répartition de ces prélèvements est décrite dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : répartition des prélèvements reçus au CNR :

	France métropolitaine	DOM-TOM	Étranger	Total
Selles IP	58	0	0	58
Selles ou prélèvements RD	230	0	0	230
Total Selles ou prélèvements	288	0	0	288
Souches <i>E. coli</i> IP	498	17	0	515
Souches <i>E. coli</i> RD	164	2	0	166
Total souches <i>E. coli</i>	662	19	0	681
Absence de culture ou non <i>E. coli-Shigella</i>	38	3	1	42
Sérums	449	5	0	474
<i>Shigella</i>	689	140	1	830

En plus de ces prélèvements, 237 feuilles d'informations concernant des cas de *Shigella* ont été adressées au CNR. (Exemple de feuille d'information : cf. **annexe 2**)

A- E. coli

a- Inventaire global des souches de E. coli et selles analysées en 2009

Le CNR-IP a reçu au total 515 souches et 58 selles, et le laboratoire associé (RD) a reçu 164 souches et 230 selles ou prélèvements, adressées par de nombreux laboratoires hospitaliers, laboratoires d'analyses médicales, facultés de médecine, centres de santé, laboratoires départementaux, et Instituts médicaux ou vétérinaires (liste exhaustive en **annexe 3**).

Parmi les 679 souches reçues au CNR-ESC, 655 provenaient de métropole, 19 des DOM-TOM et 5 étaient d'origine alimentaire. Les caractéristiques des **655 souches provenant de 599 patients de France métropolitaine** seront analysées dans la suite de ce rapport.

Tableau 2 : Inventaire des analyses E. coli de France métropolitaine (souches et selles)

	IP	RD	Total
Souches d'origine humaine	497 (463 patients)	158 (147 patients)	655 (599 patients)
Souches d'origine animale ou alimentaire	1 (envoyée / RD)	4	4 (steaks hachés)
Souches isolées de selles	414 (383 patients)	103 (99 patients)	517 (482 patients)
Souches urinaires	23 (23 patients)	31 (31 patients)	54 (54 patients)
Souches sanguines	10 (10 patients)	29 (29 patients)	39 (39 patients)
Souches isolées de LCR	0	10 (10 patients)	10 (10 patients)
Souches d'autres origines (vaginale, biopsies, articulaire, pus, bile...)	15 (14 patients)	43 (43 patients)	58 (57 patients)
Souches d'origine non précisée	35 (33 patients)	3 (3 patients)	38 (36 patients)
Selles et / prélèvements	58 selles et/ou écouvillons rectaux (53 patients dont 20 dans le cadre de la surveillance du SHU)	228 prélèvements dont : 194 selles, 2 biopsies et 32 écouvillons rectaux (206 patients dont 131 selles dans le cadre de la surveillance du SHU et 29 selles pour l'entourage de patients atteint de SHU)	286 (259 patients dont 180 selles dans le cadre de la surveillance du SHU)

b- Résultats obtenus sur les prélèvements de selles

Sur les 286 prélèvements de selles reçues, la recherche directe des gènes de pathogénicité par amplification génique *in vitro* a été positive dans 33 cas avec les profils de virulence suivants :

- 1 profil *stx2+* *eae+* *hlyA* pour 1 patient
- 1 profil *stx1+* *stx2+* *hlyA* pour 1 patient
- 5 profils *stx2* pour 5 patients
- 23 profils *stx2* + *eae* pour 22 patients
- 2 profils *stx1* + *eae* pour 2 patients
- 1 profil *stx1* + *stx2* + *eae* pour 1 patient

Les résultats de la PCR directe sur les selles ont été corrélés aux résultats obtenus après culture des selles sauf dans 16 cas pour lesquels la PCR directe était négative en raison de la présence d'inhibiteurs dans les selles alors que la PCR sur culture était positive et a permis de mettre en évidence 6 souches de *E. coli* O157, 7 souches de *E. coli* non sous typable (NST), une souche de *E. coli* O26, une souche de *E. coli* O55 et une souche de *E. coli* O91 .

Dans 2 cas où les PCR directes étaient positives, aucune souche n'a pu être isolée.

Les deux selles présentait le gène *stx2*. Le premier cas était un homme de 50 ans résidant dans le département des Côtes d'Armor (22) et présentant un SHU. Le second cas était un garçon de 8 ans résidant à Paris (75) et présentant des selles sanglantes.

Les caractéristiques des souches isolées à partir des selles ont été analysées avec les autres souches reçues au CNR et au laboratoire associé (**tableau 4**).

De plus, afin d'étudier la prévalence des STEC dans la population d'enfants consultants aux urgences de l'hôpital pour une diarrhée, la recherche de *E. coli* O157:H7 a été systématiquement réalisée sur les selles aqueuses, et les selles glairo-sanglantes soit, en 2009, 435 selles sur les 1952 selles reçues dans le service de Microbiologie pendant cette période.

c- Analyse des souches d'*E. coli* d'origine humaine productrices de Shigatoxines

La présence des gènes codant les **Shigatoxines ou Vérotoxines Stx1 (VT1), Stx2 (VT2)** et variants, produites par les *E. coli* responsables de Colite Hémorragique (CH) et de SHU a été recherchée dans tous les prélèvements reçus. Le **gène *eae***, codant l'attachement et l'effacement aux cellules épithéliales présents chez les EHEC et les EPEC, a également été recherché.

En incluant les souches isolées à partir des selles, l'analyse de la présence des différents gènes précédemment cités, a porté sur **703** souches correspondant à **631** patients de France métropolitaine.

En ne considérant qu'une souche par patient, **93** souches STEC ou VTEC ont été mises en évidence (15,2%). Leur répartition est indiquée dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : Répartition des souches STEC par sérotype

	O26	O55	O86*	O91	O114	O126	O128	O145	O157	NT ou rough	Total
<i>stx1, stx2, eae</i>									3		3
<i>stx1, stx2, eae, ehlyA</i>									1		1
<i>stx1, stx2,, ehlyA</i>										2	2
<i>stx1</i>										5	5
<i>stx1, ehlyA</i>	2								1		3
<i>stx1, eae</i>	4					1				1	6
<i>stx1, stx2, ehlyA</i>									1		1
<i>stx1, eae, ehlyA</i>	5										5
<i>stx2</i>				1			1			6	9
<i>stx2, ehlyA</i>							1		1		2
<i>stx2, eae</i>	3	1	1					1	19	9	35
<i>stx2, eae, ehlyA</i>	6				1				8	8	23
TOTAL	20	1	1	1	1	1	2	1	34	31	93

NT = *E. coli* non sérotypable

* agglutination fine.

Sérotype O55

Souche isolée chez un garçon de 4 ans présentant une diarrhée.

Sérotype O86

Souche isolée chez un garçon de 6 ans décédé des suites d'un SHU.

Sérotype O91

Souche isolée chez un homme de 80 ans vivant en maison de retraite et présentant un purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT).

Sérotype O114

Souche isolée chez un garçon de 4 ans présentant un SHU.

Sérotype O126

Souche isolée chez un garçon de 1 an présentant un SHU.

Sérotype O128

Souche isolée chez une fillette de 15 jours dont les symptômes n'étaient pas précisés, et chez une fille de 1 an présentant une diarrhée.

Sérotype O145

Souche isolée chez une fille de 1 an présentant un SHU.

Sérotype O26

Les 20 patients pour lesquels des souches de sérotype O26 ont été isolées se répartissaient en :

- 1 garçon de 2 mois présentant un SHU
- 15 enfants de 1 à 5 ans (7 filles et 8 garçons) dont les symptômes étaient :
 - o un SHU chez 4 filles et 3 garçons
 - o une diarrhée chez 2 filles et 2 garçons dont l'un avait une sœur atteinte de SHU
 - o une diarrhée sanglante suivie d'un SHU chez 1 fille
 - o symptômes non précisés pour 3 garçons
- 3 enfants de 6 à 14 ans (1 fille et 2 garçons) dont les symptômes étaient :
 - o un SHU chez 1 garçon présentant une leucémie
 - o une diarrhée chez une greffée rénale
 - o symptômes non précisés pour 1 garçon
- 1 homme de 33 ans qui présentait une micro-angiopathie thrombotique (MAT)

Sérotype O157

Les 34 patients pour lesquels des souches de sérotype O157 ont été isolées se répartissaient en :

- 1 fille de 9 mois présentant un SHU
- 18 enfants de 1 à 5 ans (8 filles et 10 garçons) dont les symptômes étaient :
 - o une diarrhée sanglante chez 1 fille.
 - o une diarrhée chez 3 garçons dont l'un avait une sœur atteinte de SHU
 - o une diarrhée sanglante suivie d'un SHU chez 1 fille et 1 garçon dont le frère avait un SHU
 - o un SHU chez 6 filles et 5 garçons
 - o une pancolite étendue chez 1 garçon.
- 8 enfants de 6 à 14 ans (2 filles et 6 garçons) dont les symptômes étaient :
 - o symptômes non précisés pour 1 garçon
 - o un SHU chez 2 filles et 5 garçons
- 4 adultes de 17 à 56 ans (3 femmes et 1 homme) dont les symptômes étaient :
 - o symptômes non précisés pour 3 femmes
 - o un SHU chez 1 homme
- 3 femmes de 67 à 85 ans qui présentaient des symptômes différents :
 - o une diarrhée
 - o une diarrhée sanglante
 - o un SHU

***E. coli* non sérotypable (NT) ou rough**

Les 31 patients pour lesquels des souches non sérotypables ont été isolées se répartissaient en :

- 4 enfants de moins de un an (2 à 10 mois, 2 filles et 2 garçons)
 - o un SHU chez 1 fille et 2 garçons.
 - o symptômes non précisés pour 1 fillette
- 12 enfants de 1 à 5 ans (8 filles, 4 garçons) dont les symptômes disponibles étaient :
 - o un SHU chez 6 filles et 2 garçons
 - o 2 filles ayant une sœur atteinte d'un SHU
 - o un SHU avec pyélonéphrite et sepsis chez 1 garçon
 - o symptômes non précisés pour 1 garçon
- 6 enfants de 6 à 14 ans (3 filles et 3 garçons) dont les symptômes étaient :
 - o une diarrhée sanglante chez 1 fille
 - o un SHU chez 2 filles et 3 garçons
- 8 adultes de 19 à 52 ans (4 femmes et 4 hommes) dont les symptômes disponibles étaient :
 - o un SHU chez 1 femme
 - o un SHU chez 1 homme greffé du rein et du pancréas
 - o une diarrhée chez 2 femmes, et chez 1 homme
 - o une diarrhée sanglante suivie d'un SHU chez 1 homme
 - o asymptomatique chez 1 homme ayant une fille atteinte d'un SHU
 - o symptômes non précisés pour 1 femme
- 1 femme de 88 ans présentant un SHU

Analyse des variants du gène *stx2* (RD)

La mise en évidence de 2 des variants du gène *stx2* (*stx2c*, *stx2d*) a été réalisée sur 44 souches isolées en 2009 possédant le gène *stx2* selon la méthode J. Osek (Journal of Applied Microbiology 2003).

Parmi ces 44 souches, les profils de virulence étaient les suivants : *eae+stx2* (n=32), *eae+stx1+stx2* (n= 5), *stx1+stx2* (n=2), *stx2* (n=5).

Les résultats de la recherche des variants *stx2* sont reportés dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : Analyse des variants *stx*

STEC	N	Variants <i>stx2</i>			
		<i>stx2c</i>	<i>stx2d</i>	<i>stx2c+ stx2d</i>	négatif
O157	21			8	13
NST	9			5	4
O26	4				4
O121	3				3
O123	2				2
O126	1				1
O80	1			1	
O76	1		1		
O55	1			1	
O91	1			1	

NST= non sérotypable

Le profil *stx2c+stx2d* a été retrouvé le plus fréquemment. Cette recherche sera étendue aux autres variants *stx* afin de corréliser la présence d'un variant *stx* à la survenue de complications majeures au décours d'une infection à STEC

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

La mise en évidence des STEC a été réalisée dans l'entourage de 10 cas de SHU soit 29 personnes prélevées. Seules les personnes vivant sous le même toit ont eu un prélèvement de selles. Les souches retrouvées dans l'entourage présentaient le même profil de virulence que celle du cas de SHU de la même famille (voir analyse des souches en PFGE). Il s'agissait dans tous les cas de frères ou de sœurs de patients présentant un SHU. Une seule souche de STEC a été retrouvée chez un adulte.

d- Sérotypage moléculaire des souches STEC non sérotypables

Les résultats du sérotypage moléculaire de 26 souches de 2009 (sur les 31 souches non sérotypables par agglutination isolées en 2009) sont présentés dans le **tableau 5**.

Il est intéressant de noter l'appartenance à des sérotypes variés avec pour les plus fréquents : 5 souches de sérotype O117 et 4 de sérotype O121. Des agglutinations fines ont été observées avec certaines souche de sérotypes O86, et O91. Des agglutinations aspécifiques ont été notées avec les sérums O18 et O114.

Tableau 5 : Résultats du sérotypage moléculaire de 26 souches non sérotypables

N° CNR	N° RD	Agglutinations		Sérotypage moléculaire		PCR virulence
		Sérotype RD	Sérotype IP	<i>rfb</i> -RFLP "O"	<i>fliC</i> "H"	
Ec 09-8373	29375	NST	NST	NST	F25	stx2; eae; hlyA
Ec 09-7899	39720	NST	NST	R80	F2	stx2; eae; hlyA
Ec 09-7900	29735	NST	NST	R80	F2	stx2; eae; hlyA
Ec 10-645	29795	NST	NST	NST	F2	stx2; eae; hlyA
Ec 09-8372/09-1728	28623	NST	O18*	R123	F2	stx2; eae; hlyA
Ec 10-649	28732	NST	NST	R123	F2	stx2; eae; hlyA
Ec 09-8368/Ec 10-654	28448	NST	O91*	R91	F14	stx2
Ec09 2678	Ec 09 2678		NST	R117	F7	stx1
Ec09 5138	Ec 09 5138		NST	R117	F7	stx1
Ec 10-653/Ec 09-8369	28452	NST	NST	R7	F6	stx2
Ec09 0492	Ec 09 0492		NST	R117	NST*	stx1
Ec09 2172	Ec 09 2172		NST	R117	F7	stx1
Ec09 0022	Ec 09 0022		NST	NST	F25	stx2; eae; hlyA
Ec 09-8371/09-4444	29231	NST	NST	R 121	F19	stx2; eae; hlyA
Ec 09-8374	29177	NST	O114*	R 121	F2	stx2; eae; hlyA
Ec 09-7901	29688	NST	rough	NST	F2	stx2
Ec 10-646	29972	NST	NST	NST	F2	stx2; eae; hlyA
Ec 09-8375	28461	NST	O114*	R 121	F19	stx2; eae; hlyA
Ec 10-652/Ec 09-8370	28811	NST	NST	R76	F19	stx1; stx2; hlyA
Ec 10-647	29913	NST	NST	R174	F21	stx2
Ec09 6404	Ec 09 6404		NST	R 117	F7	stx1
Ec09 8837	Ec 09 8837		NST	R 174	F2	stx1; stx2; hlyA
Ec 10-648	30001	NST	NST	R121	F19	stx2; eae; hlyA
Ec 10-650	28649	NST/O111 ^a	rough	R111	F8	stx1; eae
Ec 10-651	28941	NST/O91 ^a	O91	R91	F10	stx2
Ec 10-644	29714	NST/O86*	NST	R86	F27	stx2; eae

NST= non sérotypable, pas de profils correspondant dans la base de données, NST*= pas d'amplification

* = agglutinations fines, ^a = résultats obtenus par PCR spécifique de sérotype (RD)

Pour 5 souches non sérotypables, l'identification du « O » par sérotypage moléculaire n'a pas donné de résultats car les profils obtenus n'existaient pas dans la base de données moléculaires.

e- Analyses de la répartition des symptômes donnant lieu à une analyse de selles ou souches.

Les prélèvements de selles humaines provenaient de patients ayant différentes symptomatologies (quand précisées), qui sont détaillées dans le **tableau 6**.

Tableau 6 : Symptomatologies des patients ayant motivé une analyse de selles ou un envoi de souche:

Etiologie	N patients
Suspicion de SHU	109
Sujets contacts patients SHU	29
Contrôle après traitement par azithromycine	6
SHU à pneumocoque et H1N1	3
SHU atypique	2
SHU post pyélonéphrite	2
Micro angiopathie thrombotique (MAT)	27
MAT post pyélonéphrite	1
MAT secondaire à un sepsis	3
MAT secondaire à un cancer	2
Diarrhée glairo sanglante	55
Diarrhée sans précision	67
Diarrhée liquide	7
Diarrhée contexte de TIAC	2
Diarrhée de retour de voyage	5
Colite hémorragique	26
Entérocolite	5
Pancolite étendue	2
Pyélonéphrite	8
Maladie de Crohn	8
Sepsis	15
Purpura thrombotique thrombocytopenique	3
Anémie hémolytique avec schizocytes	1
Thrombopénie avec diarrhée	2
Hypertension artérielle et anémie	2
Insuffisance rénale aigue	2
Pancréatite	1

f- Sérodiagnostic des syndromes hémolytiques et urémiques (IP)

Un total de **454 sérums**, reçus de différents services pédiatriques et de laboratoires d'analyses médicales ayant participé au réseau de surveillance des SHU, ont été analysés. Parmi ces sérums, 5 sérums provenaient de Guadeloupe pour 3 patients. Soit 449 sérums provenant de France métropolitaine pour 330 patients.

Le CNR-ESC a recherché les anticorps anti-LPS, appartenant aux 2 classes d'immunoglobulines IgA et IgM, dirigés contre 8 sérogroupes d'*E. coli* (O157, O26, O55, O91, O103, O111, O128, O145) dans la majorité des cas.

En considérant un sérum par patient (le positif en cas de discordance), soit **333 sérums**, le bilan des résultats obtenus est le suivant :

60 des 330 patients (18,2%) ont révélé la présence d'anticorps anti-LPS, avec des anticorps anti O157 pour 71,6% des positifs (43 patients).

Pour les 103 patients pour lesquels au moins 2 sérums ont été prélevés :

- 17 ont présenté 2 sérums ou plus positifs (16,5%)
- 16 ont présenté un premier sérum positif et un deuxième négatif (15,5%)
- 70 ont présenté deux sérums ou plus négatifs (68%)

La répartition par âge et par sexe des 60 patients avec une sérologie positive est indiquée dans le **tableau 7**.

Tableau 7: Répartition par âge et sexe des résultats de sérologie anti-LPS

	< 1 an		1-5 ans			6-15 ans		16-64 ans		> 65 ans		NR		Total
	M	F	M	F	NR	M	F	M	F	M	F	M	F	
IgA anti-O103											1			1
IgA anti-O128			1					1						2
IgA anti-O128, IgA anti-O157			1											1
IgA anti-O128, IgM anti-O157				1										1
IgA anti-O145								1						1
IgA anti-O157									1					1
IgA anti-O157, IGM anti-O157,			10	10	1	4	5		5				1	36
IgA anti-O91								1						1
IgM anti-O103									1					1
IgM anti-O103, IgA anti-O103				1										1
IgM anti-O103, IgA anti-O103, IgM anti-O157, IgA anti-O157			1											1
IgM anti-O111, IgA anti-O111						1	1							2
IgM anti-O145, IgA anti-O145			1	1		1			1					4
IgM anti-O157			1	1		2			1	1				6
IgM anti-O91									1					1
	0	0	15	14	1	8	6	3	10	1	1	0	1	60

M= Masculin, F= Féminin, NR = non renseigné

Comparaison des résultats obtenus à partir des sérums et des selles ou des souches chez un même patient :

Pour 131 patients, les analyses ont été effectuées à la fois sur la souche (ou les selles) et sur le sérum (**tableau 8**).

La sérologie ne permettant que la détection des sérotypes O26, O55, O91, O103, O111, O128, O145 et O157, les résultats étaient concordants pour 67 patients (en gras).

Pour 41 patients les PCR sur selles étaient négatives et aucune souche n'a été isolée (en italique), alors que la sérologie s'est révélée positive pour 5 cas (une O103, trois O145 et une O157)

Des résultats discordants ont été obtenus chez 22 patients avec :

- 9 patients avec une sérologie positive alors que les souches isolées étaient non sérotypables et sans shigatoxine, ce qui peut s'expliquer par le fait les *E. coli* sont nombreux dans les selles et que la souche isolée n'était pas celle détectée en sérologie.

- 1 patient avec une discordance entre le sérotype de la souche et la sérologie (O55/O157)

- 12 patients avec une sérologie négative alors que les souches isolées avaient des sérotypes détectables en sérologie :O26, O55, O157.

La plus faible sensibilité du line blot lors des infections à *E. coli* O26 est connue et c'est pour pallier à cela que 2 préparations de LPS O26 sont déposées sur les bandelettes.

Tableau 8: Comparaison des résultats obtenus pour les souches et sérums de 131 patients

Nombre de patients	PCR sur selles ou souches	Sérotype "O"	Sérologie	Nombre de patients	PCR sur selles ou souches	Sérotype "O"	Sérologie
1	<i>eae</i>	NI	<i>négative</i>	1	<i>stx1, stx2, eae</i>	O157	O157
1	<i>hlyA</i>	NI	<i>négative</i>	14	<i>stx2, eae</i>	O157	O157
34	<i>négative</i>	NI	<i>négative</i>	1	<i>stx2, eae, hlyA</i>	O157	O157
1	<i>stx2</i>	NI	<i>négative</i>	1	<i>eae</i>	O26	<i>négative</i>
1	<i>négative</i>	NI	O103	1	<i>stx1, eae</i>	O26	<i>négative</i>
3	<i>négative</i>	NI	O145	3	<i>stx2, eae</i>	O26	<i>négative</i>
1	<i>négative</i>	NI	O157	5	<i>stx2, eae, hlyA</i>	O26	<i>négative</i>
2	<i>eae</i>	NT	négative	1	<i>stx2, eae</i>	O55	<i>négative</i>
29	négative	NT	négative	1	<i>négative</i>	O55	O157
1	<i>négative</i>	NT	O111	1	<i>stx2</i>	R7	négative
1	<i>eae</i>	NT	O157	1	<i>stx1, stx2, hlyA</i>	R76	négative
7	<i>négative</i>	NT	O157	1	<i>stx2, eae, hlyA</i>	R80	négative
1	<i>stx2, eae, hlyA</i>	NT*	négative	1	<i>stx2, eae</i>	R86	négative
3	<i>stx2, eae</i>	NT**	négative	1	<i>stx2, eae</i>	R121	négative
2	<i>stx2</i>	NT***	négative	3	<i>stx2, eae, hlyA</i>	R121	négative
1	<i>stx2, eae, hlyA</i>	O114	négative	2	<i>stx2, eae, hlyA</i>	R123	négative
1	<i>stx2, eae</i>	O145	O145	1	<i>stx1, stx2, hlyA</i>	R174	négative
1	<i>stx2, eae</i>	O157	<i>négative</i>	1	<i>stx2</i>	R174	négative

NT= non sérotypable

NI= pas de souche isolée des selles

NT* : non sérotypable par sérotypage moléculaire (nouveau profil moléculaire)

NT** : non sérotypable, par sérotypage moléculaire pour 2 souches sur 3

NT*** : non sérotypable, par sérotypage moléculaire pour 1 souches sur 2

g- Souches d'*E. coli* extra intestinales (EXPEC)

Etude des facteurs de pathogénicité des souches d'*E. coli* responsables de méningites néonatales (ECM).

Le laboratoire associé a reçu 10 souches d'*E. coli* isolées de LCR de nouveau-nés atteints de méningites néonatales. Les caractéristiques de ces souches sont représentées ci-dessous (**tableau 9**). La PCR spécifique O45 a été réalisée sur les souches appartenant au groupe B21 (n=2) et seule une souche était positive. Ces résultats permettent d'incrémenter la base de données française des méningites néonatales à *E. coli*.

Tableau 9 : Résultats de l'étude des souches de méningites néonatales.

Souche	age/PL	gp	PCR O45	PCR nonaplex wzy	Phage K1	agg K1	KpsM	14.9 Kb	ChuA	Hra	yjaA	TSPE4.C2	fyuA	Hly	sfa/foc	PAP C	Aer	PAP G	cnf1	ibeA	iron
284	6 jours	B2	neg	neg	+	+			+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-		+
286	10 jours	A	neg	neg	-	-			-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-		+
287	4 jours	B21	neg	O1	+	+			+	-	+	+	+	-	-	+	+		-		+
288	2 mois	D	neg	O7	+	+			+	-	-	-	+	-	-	+	+		-		-
289	9 jours	B2	neg	O83	+	+			+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-		+
292	16 jours	B21	pos	O45	+	+			+	-	+	+	+	-	-	+	+		-		+
293	11 jours	B2	neg	O83	+	+			+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+
294	5 jours	B2	neg	O83	+	+			+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
296	2 jours	B2	neg	neg	+	+			+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
297	3 jours	B21	neg	O2	+	+			+	-	+	+	+	-	-	+	-		-	-	+

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

Le laboratoire associé a reçu 48 souches d'EXPEC non méningites isolées des prélèvements suivants

- hémocultures (n=20)
- urines (n= 16)
- prélèvements vaginaux (n= 6)
- abcès hépatique (n=1)
- prélèvements périphériques de nouveau-nés (n= 3)
- liquide articulaire (n=2)

Les caractéristiques de ces souches sont représentées ci-dessous (**tableau 10**)

Tableau 10 : Facteurs de pathogénicité des souches d'*E. coli* responsables de pathologies extra-intestinales autres que les méningites

n° RDB	ville/HOP	Sexe	age	origine du prélèvement	groupe phylogénétique	phage K1	aggl K1	ChuA	Hra	yjaA	TSPE4.C2	fyuA	Hly	sfa/foc	PAP C	Aer	PAP G	cnf1	ibeA	iroN
RDEx30	CHRU Dijon	M	56 ans	fasciite nécrosante	D	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-
RDEx34	CH Ambroise Paré - Boulogne	M	10 jours	urines	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	-	+
RDEx35	Aulnay sous bois	F	27 ans	prélèvement vaginal	B21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	-	+
RDEx36	Franconville	F	28 ans	prélèvement vaginal	B2	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	III	+	-	-
RDEx37	Franconville	F	27 ans	prélèvement vaginal	A	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+
RDEx39	Trousseau	M		liquide gastrique	B2	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx40	LABM St Leu	F	31 ans	prélèvement vaginal		-	-													
RDEx41	CHU Caen	M	1 mois	hémoc, selles, urines	B21	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
RDEx42	CH Gonesse	F	2 mois	hémoculture, urines	D	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-
RDEx43	CH Laval	F	50 ans	ecbu	B2	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
RDEx44	Cochin	F	33 ans	prélèvement vaginal		-	-													
RDEx45	CHU Nantes	F	23 ans	ecbu	B2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
RDEx46	CH Nice	M	1 mois	hémoculture	B1	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx47	Jean Verdier	M	40 ans	hémoculture	B2	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	III	+	-	+
RDEx48	Cochin	F	61 ans	hémoculture	B1	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx64	CH Lille	F	34 ans	abcès hépatique	B2	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	II	+	-	+
RDEx65	CH Briançon	F	42 ans	urines	B2	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
RDEx66	CH Aubagne	M	?	urines	B2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	-	+
RDEx67	CH Giens	F	86 ans	urines	B2	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	II	-	-	-
RDEx68	CHU Besançon	M	1 jour	liquide gastrique	A	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx69	CHU Besançon	F	?	prélèvement vaginal	A	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx70	CHU Besançon	F	?	ecbu	A	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx71	CHU Besançon	F	?	hémoculture	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx72	CHU Besançon	F	?	ecbu	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx73	CH Valenciennes	M	11 jours	hémoculture	B21	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
RDEx74 (9)	Nice - fondation Lenal	M	7 jours	hémoculture	D	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-
RDEx75	Bicêtre	M	7 jours	hémoculture	B2	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx76	CHRU Lille	M	2 jours	hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
RDEx77	Mantes la Jolie	M	2 mois	ecbu	B2	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx78	Cochin	M	82 ans	prélèvement per op jambe	B2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	-	+
RDEx79	CH Antibes	F	49 ans	hémoculture	D	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	II	-	-	-
RDEx80	Kremlin Bicêtre	M	?	hémoculture	B2	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	II	-	-	+
RDEx81	Kremlin Bicêtre	M	?	ecbu	B2	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	II	-	-	+
RDEx82	Mantes la Jolie	M	9 jours	ecbu	B21	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
RDEx83	Lille	F	10 jours	hémoculture	A	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx84	Lille	M	5 jours	hémoculture	B21	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	II	-	-	-
RDEx85	GH Paris Saint-Joseph	M	1 jour	hémoculture	B21	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx86	CHR Bagnols	F	26 ans	ecbu	B2	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
RDEx87	HEGP	F	60 ans	hémoculture	D	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-
RDEx88		M	1 jour	liquide gastrique	B2	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
RDEx89	Beaumont/Oise	M	79 ans	sonde urinaire	B1	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx90	CH St Joseph	F	14 jours	hemoculture	B21	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	II	-	-	+
RDEx91	CH Laval	F	25 ans	ecbu	B2	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx92	CH F.Joly GUYANE	F	48 ans	ecbu	B1	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx93	CH F.Joly GUYANE	F	94 ans	ecbu	B1	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx94	CH F.Joly GUYANE	F	71 ans	hemoculture	D	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx95	CH La Rochelle	F	39 ans	hemoculture	B2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
RDEx96	Bichat	M	16 jours	hemoculture	B2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	II	+	-	+

B- Shigella

Durant l'année 2009, le CNR-ESC a reçu et étudié 922 souches envoyées comme appartenant au genre *Shigella*. Sur ces 922 souches, 830 ont été identifiées comme *Shigella*, 75 comme *E. coli* (9,4%) et 17 comme n'étant ni *E. coli*, ni *Shigella* (2,1%). Parmi les 830 souches de *Shigella*, 689 souches ont été identifiées chez 683 patients de France métropolitaine, 138 souches chez 138 patients originaires de Guyane française, 1 souche chez un patient originaire de Martinique, 1 souche chez un patient originaire de la Réunion et 1 souches chez 1 patient vivant à l'étranger (Italie)

De plus, **237** fiches d'informations ont été envoyées au CNR pour signaler une infection à *Shigella*. En compilant informations et souches et après élimination des doublons, un total de **1056** souches de *Shigella* a été répertorié au CNR en 2009 (dont 915 en France métropolitaine réparties en 671 souches humaines, 12 souches isolées de fèces de singes et 232 informations sur des souches humaines).

a- Analyses des 671 souches reçues de 671 patients de France métropolitaine en 2009

La répartition des différents sérotypes de *Shigella* est indiquée dans les **tableaux 11 à 15**.

- Tableau 11 : *Shigella boydii* (39 souches pour 39 patients)

Sérotype	Nombre de cas	Département d'isolement () ^a	Epidémie ^b	Voyage, pays potentiel d'origine () ^a
1	9	33, 38, 44, 63, 65, 69(2), 93, 94		Inde, Maroc (32), Sénégal (2)
2	14	27, 57, 69 (4), 75 (2), 76, 78, 88, 94, 95 (2)		Guinée, Irak, Mauritanie, Ouzbékistan, République Centrafricaine
4	7	31, 38, 62, 86, 91, 95 (2)		Egypte, Madagascar, Mali
8	2	64,88		
10	1	51	Familiale (?, 51, Sénégal)	Sénégal
18	2	59, 78		Afrique, Burkina Faso
19	1	77		
20	3	38, 93, 95		Cambodge

a - nombre de cas dans le département ou le pays si >1

b - caractéristiques connues de l'épidémie (nombre de cas, département, voyage ou lien ou circonstance de la contamination)

- Tableau 12 : *Shigella dysenteriae* (42 souches pour 42 patients)

Sérotype	Nombre de cas	Département d'isolement () ^a	Epidémie ^b	Voyage, pays potentiel d'origine () ^a
1	1	38		Népal
2	11	01, 16, 17, 32, 43, 57, 63, 68, 69, 72, 95		Burkina, Maroc, Tunisie
3	11	22, 69 (2), 73 (2), 74, 75, 78, 91, 93, 94		Maghreb, Maroc (2)
4	2	35, 93		République Centrafricaine
4 (indole +)	1	44		Afrique
5	1	76		Maroc
6	1	33		Mali
9	1	78		Burkina Faso
12	1	75		Inde
97-10607	12	5, 44 (3), 59, 60, 38, 75, 76, 78, 84, 93		Mali, Maroc (2), Sénégal

a - nombre de cas dans le département ou le pays si >1

b - caractéristiques connues de l'épidémie (nombre de cas, département, voyage ou lien ou circonstance de la contamination)

- Tableau 13 : *Shigella flexneri* (286 souches pour 286 patients*)

Sérotype	Nombre de cas	Département d'isolement () ^a	Epidémie ^b	Voyage, pays potentiel d'origine () ^a
1	2	92 (2)		Bali, Sénégal
1a	5	13, 31, 75(2), 93		Inde (2)
1b	50	06 (2), 10, 13, 17, 24 (2), 26, 30 (2), 31, 35, 38 (2), 42, 45, 51, 54, 59 (2), 64, 66, 68, 69, 75 (7), 76 (5), 78 (3), 80, 90, 91, 92 (3), 93 (3), 95 (2)	Familiale (? , 24, frère-sœur, Algérie), Familiale (? , 24, Egypte), Familiale (? , 38, Maroc)	Afrique, Afrique du sud, Algérie (4), Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Egypte (3), Inde, Mali, Maroc, Pérou (2), Sénégal (2), République Centrafricaine, Thaïlande
1c ou 7	11	44, 51, 66, 69, 73, 75 (4), 91, 93,		Côte d'Ivoire (2), Egypte, Inde
2	2	75, 95		Maldives, Tchad
2a	92	6 (2), 7, 10, 13 (2), 18, 20, 25, 28, 30, 31(3), 32, 33 (2), 34, 35, 37, 38 (3), 44 (3), 48, 50, 56, 57 (2), 59 (2), 60 (2), 64, 67, 68, 69 (12), 73 (2), 74 (2), 75 (9), 76 (2), 77, 78, 79, 81, 83, 84, 85 (2), 86, 91 (5), 92 (2), 93 (6), 94, 95 (4)	Familiale (2, 91, USA), Familiale (? , 93, réfugié roumain), Familiale (? , 92, Pérou), Familiale (? , 69), Sexuelle (2, 75, transmission homosexuelle)	Afrique, Afghanistan, Bangladesh (+Malaisie), Cameroun, Cap Vert, Comores, Egypte (2), Ethiopie, Inde, Madagascar (3), Mali (2), Maroc (2), Mayotte, Pérou, République Dominicaine, Roumanie, Sénégal (3), Sri Lanka, Togo (2), USA (2)
2b	21	06, 22, 29, 31, 33, 38 (2), 59, 72, 73 (2), 75 (2), 76, 77 (2), 78, 79, 85 (2), 91	Familiale (? , 76, Maroc)	Afrique, Algérie, Madagascar, Maroc (3), Portugal, Sénégal, Tunisie (3)
3a	37	01, 02 (2), 38 (2), 44, 45, 49, 54, 57 (3), 68, 69 (4), 71, 73, 75 (5), 76, 80, 89, 91, 92 (2), 93 (2), 94, 95 (4)	Familiale (2, 57, frère et sœurs et 1, 54, parent), Familiale (? , 93, Egypte), Familiale (? , 95)	Algérie, Bali, Chili, Egypte, Inde (6), Mali, Togo
3b	4	27, 68, 69, 93		
4	6	2, 55, 67, 76, 82, 92		Burkina Faso, Egypte
4c	8	44, 69 (2), 75 (2), 78, 91, 93		Afrique, Cameroun, Ghana, Mali, Mongolie
4 variété Saigonensis	1	93		Congo
6 Boyd 88	39	03, 06, 14, 17, 21, 24, 30, 34, 35, 38(2), 43, 45, 49, 51, 52, 59, 68(2), 69 (5), 75 (6), 76, 77, 79, 84, 91, 92, 93 (2), 95	Familiale (? , 03, Maroc), Familiale (? , 69), Familiale (? , 75, Mali)	Algérie (2), Côte d'Ivoire, Gambie, Jordanie, Mali, Maroc, Nigeria, Sénégal (2), Tunisie
6 Boyd 88 man-	1	78		
6 Herfordshire	1	69		
6 Manchester	2	38, 69	Familiale (? , 69, Cambodge)	Cambodge
X	3	28, 45, 94		Chine + Mongolie, Erythrée
Non sous typable	1	75		

a - nombre de cas dans le département ou le pays si >1

b - caractéristiques connues de l'épidémie (nombre de cas, département, voyage ou lien ou circonstance de la contamination)

- Tableau 14 : *Shigella sonnei* (299 souches pour 299 patients*)

biotypes	Nombre de cas	Département d'isolement () ^a	Epidémie ^b	Voyage, pays potentiel d'origine () ^a
<i>a</i>	16	10, 25, 29, 34, 75 (5), 78 (2), 86 (2), 94 (2), 95	Familiale (? , 10), Familiale (2, 78)	Colombie, Inde, Mayotte, République Dominicaine
<i>a (Man-)</i>	1	77		
<i>f(ODC-)</i>	1	38		
<i>g</i>	161	01 (2), 02 (2), 03 (3), 04, 05, 06, 07, 10, 13(2), 14, 17 (5), 21, 22, 25, 26(3), 28, 29 (2), 31 (4), 32, 33 (3), 34 (2), 35 (2), 40, 44 (6), 45, 49, 51, 53, 57 (2), 59 (5), 60(2), 66, 68 (4), 69, 70, 72(2), 73 (4), 74, 75 (20), 76, 77 (5), 78 (4), 79, 80, 82, 83 (5), 85 (3), 86 (3), 91 (2), 92 (10), 93 (12), 94(11), 95 (7)	Familiale (? , 92, Egypte), Familiale (? , 73, Inde), Familiale (2, 86, Inde), Familiale (? , 77, Jordanie), Familiale (2, 17), Familiale (2, 26), Familiale (? , 75), Familiale (? , 77), Familiale (2, 83), Familiale (3, 94), Familiale (? , 94), Familiale (? , 95)	Afrique (2), Albanie, Algérie, Amazonie, Cambodge, Cameroun (2), Cuba, Djibouti, Egypte (11), Ile Maurice (2), Iles Canaries, Inde (23), Jordanie, Maroc (3), Pérou, République Dominicaine, Sénégal, Sri Lanka, Thaïlande, Tunisie (2), Vietnam
<i>g (Man-)</i>	47	01, 13 (2), 15, 17, 20 (2), 25 (5), 30 (2), 31, 35, 44 (2), 47, 59, 61, 65, 67, 69, 72 (2), 73 (2), 75 (7), 76, 83 (2), 90, 91 (4), 92 (3), 95	Familiale (? , 92, Maroc)	Madagascar, Maroc (9), USA
<i>g (ONPG-)</i>	73	13 (4), 18 (2), 22 (7), 24, 26, 31 (4), 34 (2), 37, 42, 44 (4), 45 (2), 54, 57 (2), 59, 66, 68 (4), 69 (3), 73 (2), 74, 75 (6), 76 (4), 77, 78 (2), 80, 84, 85, 91 (5), 92 (2), 93 (2), 94, 95 (3)	Familiale (? , 84, Sénégal), Familiale (2, 13, Père-fils), Familiale (? , 18), Familiale (2, 22, mère-fils), Familiale (? , 31), Familiale (2, 69, fratrie)	Afrique (3), Burkina Faso, Madagascar, Mali (3), Maroc (9), Sénégal (8), Tchad, Tunisie (5), USA

a - nombre de cas dans le département ou le pays si >1

b - caractéristiques connues de l'épidémie (nombre de cas, département, voyage ou lien ou circonstance de la contamination)

- Tableau 15 : *Shigella* non sérogroupables (5 souches pour 5 patients):

Sérogroupe	Nombre de cas	Département d'isolement () ^a	Epidémie ^b	Voyage, pays potentiel d'origine () ^a
<i>Non sérogroupable</i>	2	17, 35		
Rough	3	38, 51, 66		

a - nombre de cas dans le département ou le pays si >1

b - caractéristiques connues de l'épidémie (nombre de cas, département, voyage ou lien ou circonstance de la contamination)

b- Bilan des feuilles d'informations reçues au CNR-IP (237 fiches pour 237 patients)

Ces feuilles d'informations ont été établies pour répertorier les cas de *S. sonnei* au niveau de la France métropolitaine. Sur ces feuilles d'informations deux cases permettent de noter le caractère ONPG et Rhamnose de la souche, ce qui permet de définir le biotype. Le **tableau 16** présente les résultats obtenus à partir de ces fiches pour 232 patients sur les 237 (pour 5 patients, les souches ont été envoyées en parallèle et ont été comptabilisées dans le **tableau 14**).

**Tableau 16 : Résultats des feuilles d'information *Shigella*
(232 souches/232 patients)**

Sérogroupe	Sérovar	Nombre de cas	Département d'isolement () ^a	Epidémie ^b	Voyage, pays potentiel d'origine () ^a
<i>boydii</i>	non précisé	2	67, 73	Familiale (?, 67)	Egypte
<i>flexneri</i>	non précisé	8	51, 67 (2), 69, 75, 76 (2), 91	Familiale (?, 67)	Equateur, Maroc, Tchad
<i>sonnei</i>	g	24	29, 31, 35 (2), 38, 49, 51, 59, 67 (3), 69 (2), 73, 74 (2), 75 (3), 76, 83, 93, 94, 95	Familiale (2, 74, mère de retour Ethiopie-fils), Familiale (2, 94, tante-nièce), Familiale (2, 75, frère-sœur)	Egypte, Inde, Sénégal, sri Lanka, Tunisie, USA
<i>sonnei</i>	a	6	42, 67, 74, 76, 77, 93	Collective (?, 93, gens du voyage)	Mayotte
<i>sonnei</i>	g (ONPG-)	28	11, 17, 22, 25, 27, 28, 29, 31, 38 (4), 53, 59, 69 (2), 75 (3), 76 (2), 77, 78, 84, 86, 93 (2), 95	Familiale (2, 53, frère-sœur), Familiale (2, 59), Familiale (3, 93, père-enfants), Collective (4, 25, ?)	Algérie (2), Bénin, Maroc, Mauritanie (2) Tunisie
<i>sonnei</i>	g (man-)	13	17, 33, 42, 59, 67 (2), 72, 73, 74 (2), 76, 93, 95	Familiale (2, 95, frère-sœur), Familiale (2, 76, sœurs)	Maroc (2)
<i>sonnei</i>	g (ONPG?/man?)	30	27 (2), 29, 31 (4), 44, 50, 56, 59 (3), 60, 63, 69, 70 (2), 72 (2), 75 (4), 78, 79, 90, 93, 95 (2)	Collective (4, 25, ?), Familiale (2, 59, ?)	Egypte (2), Inde, Mauritanie, Sénégal, Tunisie
<i>sonnei</i>	non précisé	121	01 (2), 06, 07, 10, 14, 17 (2), 19, 20, 22, 24, 25 (2), 26, 29, 31 (8), 32, 33, 38, 40(2), 44, 45 (2), 49 (2), 51 (2), 52, 53, 59, 62, 67 (6), 69 (5), 70 (2), 71, 72 (4), 73 (2), 74 (5), 76 (4), 77 (7), 78 (4), 82, 83, 85 (5), 87 (2), 91 (5), 92 (8), 93 (10), 94 (2), 95 (5), ?	Familiale (2, 31, conjointe de retour du Sénégal), Familiale (2, 31, sœurs), Familiale (2, 77, conjoints Tunisie), Familiale (2, 78, sœurs)	Algérie, Burkina Faso, Cameroun, Egypte (4), Inde (2), Maroc (6), Mauritanie, Mexique (2), Sénégal (3), Tunisie (5)

a - nombre de cas dans le département ou le pays si >1

b - si épidémie connue : caractéristiques (nombre de cas, département, voyage ou lien ou circonstance de la contamination si précisé)

c- Souches reçues des DOM-TOM (140 souches pour 140 patients) et de l'étranger (1 souche d'Italie)

Parmi les souches des DOM ont été reçues: 138 souches de Guyane française, 1 souche de Martinique et 1 souche de la Réunion (tableau 17).

- Tableau 17: Répartition des souches reçues d'outre mer et de l'étranger

Sérogroupe	Sérovar ou biotype pour <i>S. sonnei</i>	Guyane française	Martinique	La Réunion	Italie
<i>S. boydii</i>	4			1	
<i>S. flexneri</i>	1b	12			
<i>S. flexneri</i>	2a	55			1
<i>S. flexneri</i>	3a	39			
<i>S. flexneri</i>	3b	4			
<i>S. flexneri</i>	Y	1			
<i>S. sonnei</i>	a		1		
<i>S. sonnei</i>	g	27			

d- Shigella d'origine non humaine (12 souches)

Douze souches non-humaines de *Shigella* isolées de fèces de singe ont été étudiées en 2009 (tableau 18). Parmi ces souches, celles isolées à Paris et dans le Cher provenaient de singes importés de l'île Maurice. Pour celles isolées dans l'Ain l'origine des singes n'était pas précisée.

- Tableau 18 : Analyse des souches de *Shigella* d'origine non humaine

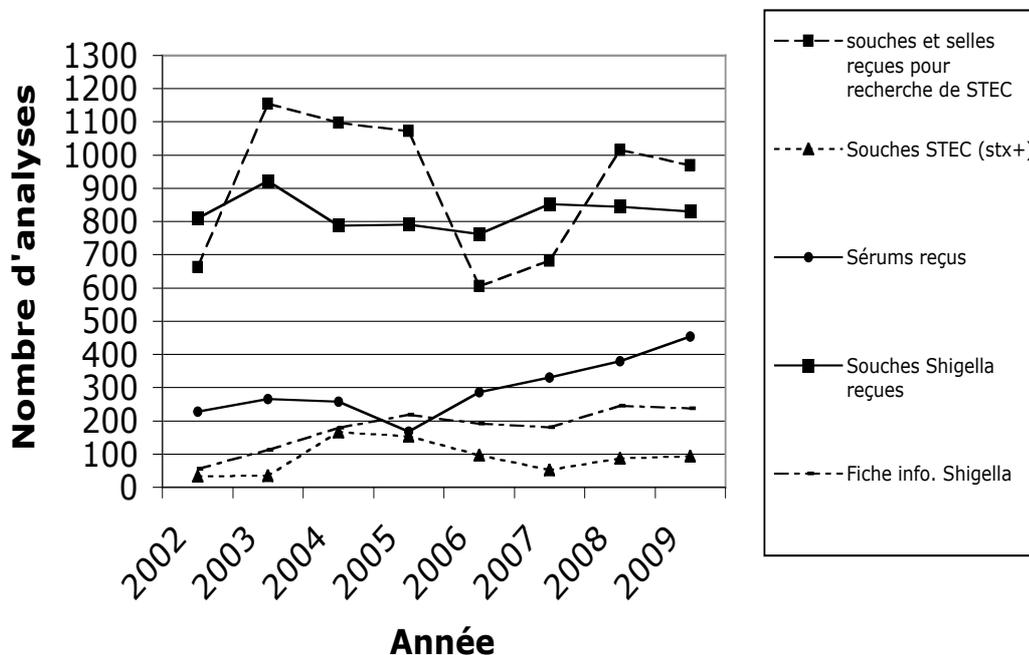
Sérogroupe	Sérovar	Prélèvement d'origine	Nombre de souche	Département du laboratoire () ^a
<i>S. flexneri</i>	2a	Fèces de singe	2	75
<i>S. flexneri</i>	3a	Fèces de singe	4	01 (2), 75 (2)
<i>S. flexneri</i>	6 Boyd 88	Fèces de singe	3	18, 75 (2)
<i>S. flexneri</i>	Y	Fèces de singe	3	75 (3)

a - nombre de cas dans le département si >1

C- Analyse de l'évolution des tendances de l'activité du CNR ECS

Une analyse de l'activité du CNR depuis 2002 dans les différents domaines d'expertise est représentée dans la **figure 2**.

Figure 2 : Courbe d'analyse de tendance des activités du CNR depuis 2002 :



Globalement l'activité du CNR-ESC est restée stable en 2009 par rapport à 2008. Cette stabilité est particulièrement visible au niveau des *Shigella*, un peu moins au niveau des *E. coli* avec une forte augmentation du nombre de sérologie *E. coli* (+25,1%) et une légère augmentation du nombre de selles reçues (+10,3%) compensé par une diminution (-9,6%) du nombre de souches reçues.

En regardant l'activité propre à chaque partenaire des disparités sont notées :

- L'augmentation globale du nombre de selles pour recherche d'*E. coli* de 10,3% se traduit en une augmentation de 3,6% pour RD et de 48,7% pour IP
- La diminution du nombre de souches d'*E. coli* de 9,7% se traduit en une augmentation de 80,4% pour RD et une diminution de 22,2% pour IP.

Pour les activités spécifiques à l'IP : on note une augmentation de 25,1% du nombre de sérologies reçues (379 en 2008, 474 en 2009) et une légère baisse des *Shigella* (info + souches) : -5% (1089 en 2008, 1067 en 2009).

L'augmentation du nombre de sérologies *E. coli* ne s'explique pas par la présence d'épidémies mais par le fait que de plus en plus de sérologies et de selles sont envoyées lors d'épisodes diarrhéiques simples et pas forcément lors de suspicions d'EHEC.

3. Activités de Surveillance

3.1- Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

A- Réseau partenaire

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

La liste des laboratoires expéditeurs est présentée en **annexe 3**.

B- Analyse de la distribution des différents agents et analyses des tendances

- Distribution des souches d'*E. coli stx+*:

Tableau 19: Répartition des différents sérotypes de STEC par âge et par sexe des patients

	< 1 an		1 – 5 ans		6 – 14 ans		15 – 64 ans		> 65 ans		Total
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
O26	1		8	7	2	1	1				20
O55			1								1
O86					1						1
O91									1		1
O114			1								1
O126			1								1
O128		1									1
O145				1							1
O157		1	10	8	6	2	1	3		3	34
NST	2	2	4	8	3	3	4	4		1	31
Total	3	4	25	24	12	6	6	7	1	4	92

Figure 3 : Répartition par âge et par sexe des patients chez qui une souche de STEC a été isolée

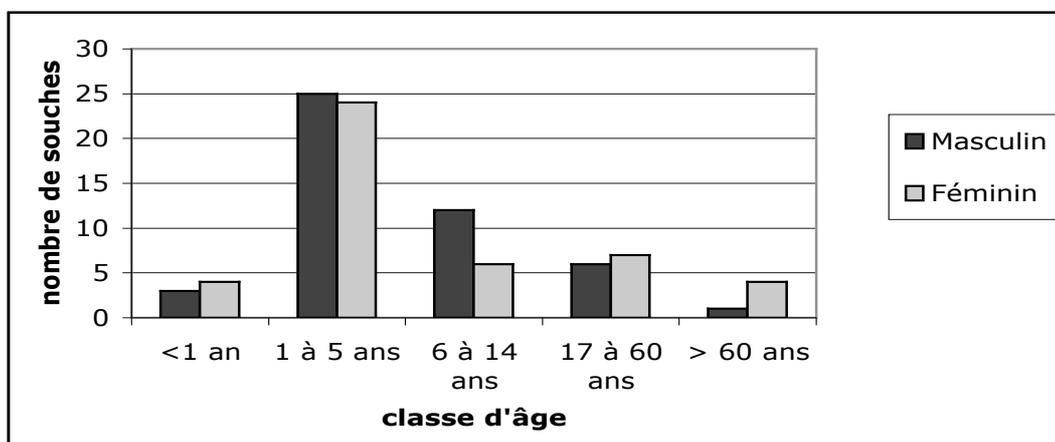
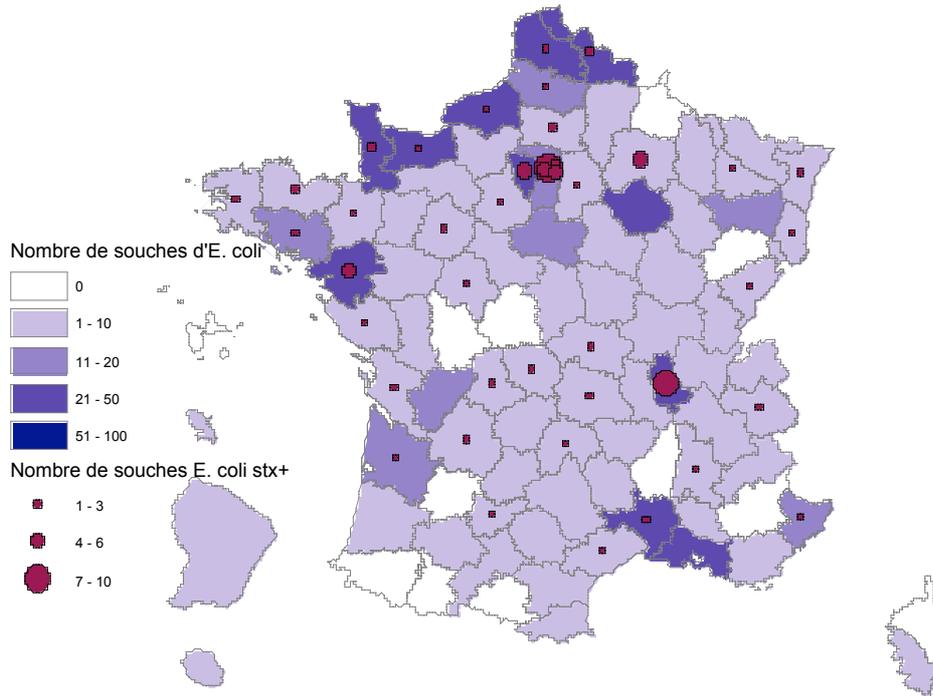
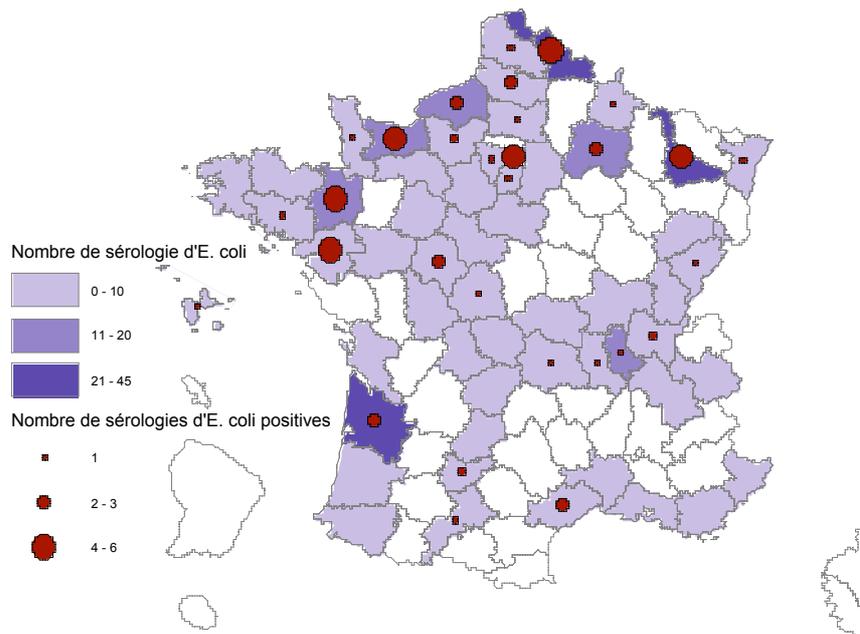


Figure 4: Répartition par département du nombre de souches et prélèvements reçus pour sérotypage et/ou caractérisation des gènes de virulence d'*E. coli* (un par patient), et du nombre de souches et prélèvements contenant un STEC (*stx+*) en 2009 (département de domiciliation du patient ou à défaut département du laboratoire expéditeur).



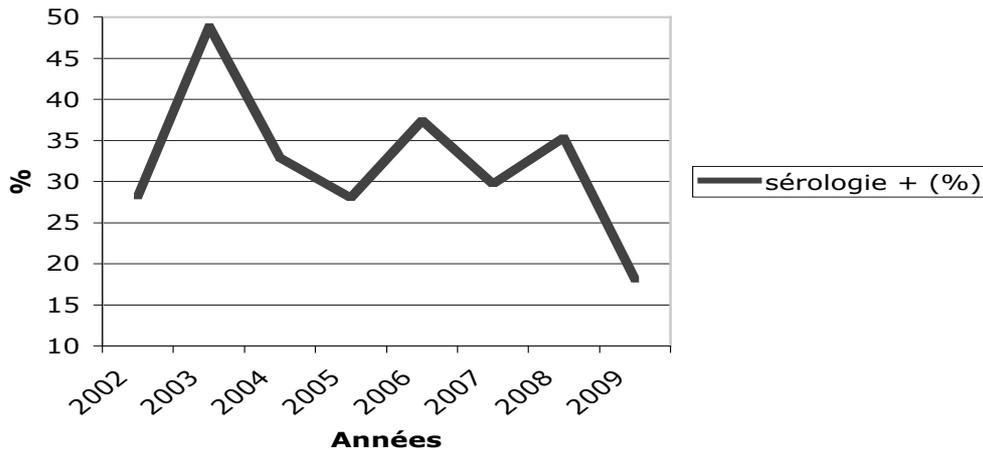
- Répartition des analyses sérologiques :

Figure 5 : Répartition par département du nombre de sérologies *E. coli* reçues et du nombre de sérologies positives en 2009 (département de domiciliation du patient ou à défaut département du laboratoire expéditeur).



Répartition des sérologies positives par âge et sexe (60 patients), cf. tableau 7 paragraphe 2-2-A-f.

Figure 6 : Évolution des résultats de sérologies depuis 2002



L'augmentation du nombre de sérologie reçue en 2009 se traduit par une baisse du pourcentage de positivité car de nombreuses sérologies sont envoyées lors de **diarrhées simples et non de suspicion de SHU**.

- Distribution des souches de *Shigella* :

Des souches de *Shigella* d'origine humaine ou des fiches d'information ont été adressées par 86 départements de France métropolitaine et 3 DOM. Le détail des laboratoires est disponible en **annexe 3** et le détail de la répartition par département selon les sérotypes est disponible dans les **tableaux 11 à 17**. Seuls 10 départements (08, 09, 12, 2b, 23, 36, 39, 41, 46, 58), n'ont pas déclaré d'isollements de *Shigella* (souches ou de feuilles d'information).

Figure 7 : Répartition par département du nombre de souches de *Shigella* et d'information sur les *Shigella* reçues en 2009 (département de domiciliation du patient ou à défaut département du laboratoire expéditeur).

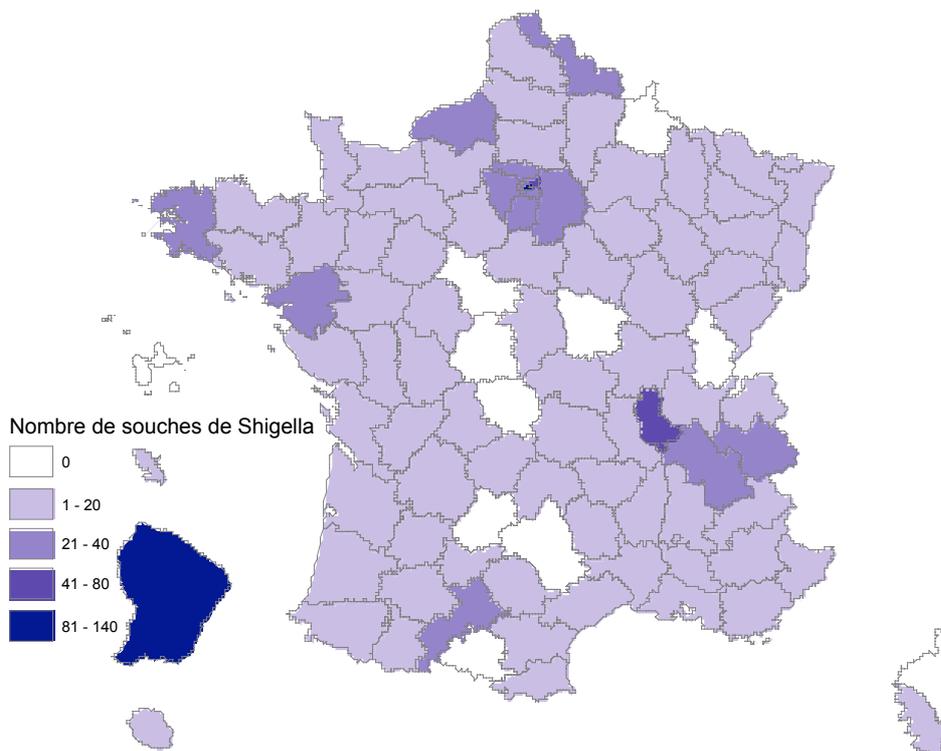


Tableau 20 : Distribution des principaux sérogroupes de *Shigella* isolées en France métropolitaine chez l'homme par âge et par sexe (souches reçues + fiches d'info)

	Patients	F	M	NR	Total
<i>S. sonnei</i>	< 1 an	5	3	3	11
	1-5 ans	45	38	2	85
	6-14 ans	42	42	4	88
	15-64 ans	194	118	3	315
	>65 ans	12	3		15
	NR	3	2	2	7
	Total	301	206	14	521
<i>S. flexneri</i>	< 1 an		2		2
	1-5 ans	25	16	2	43
	6-14 ans	22	16	1	39
	15-64 ans	92	100	1	193
	>65 ans	7	8		15
	NR	1		1	2
	Total	147	142	5	294

Figure 8 : Distribution globale des sérotypes de *Shigella* reçues au CNR-IP depuis 2002 :

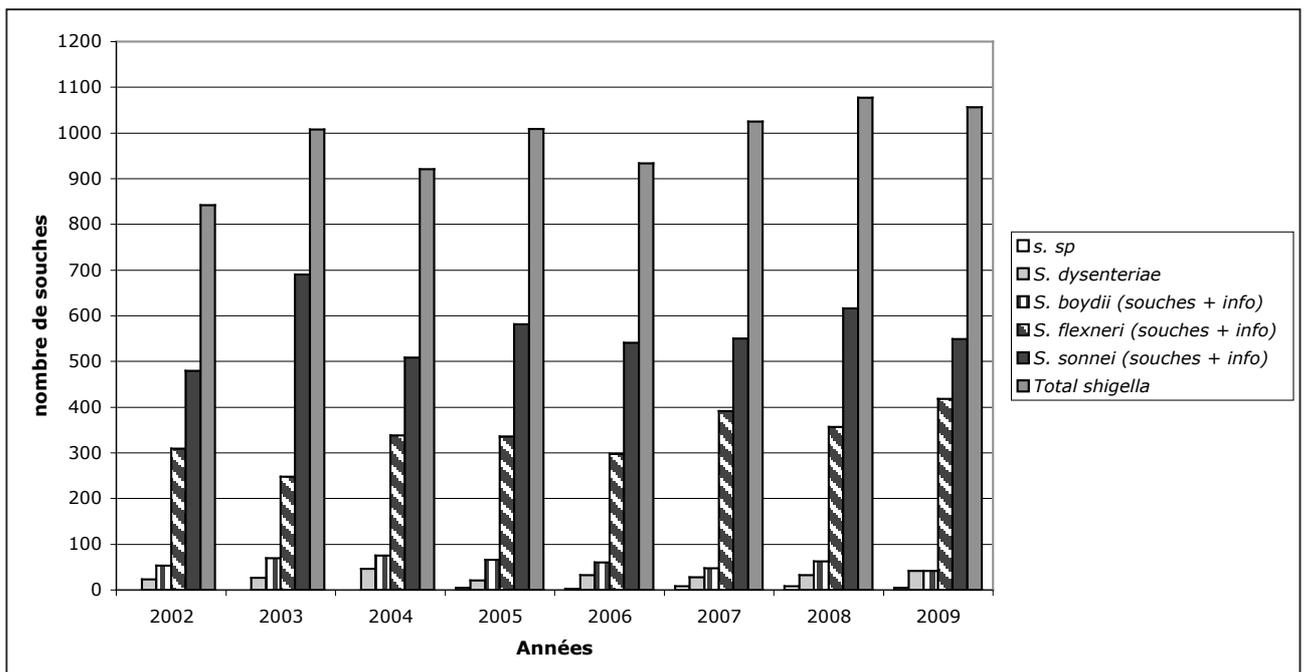
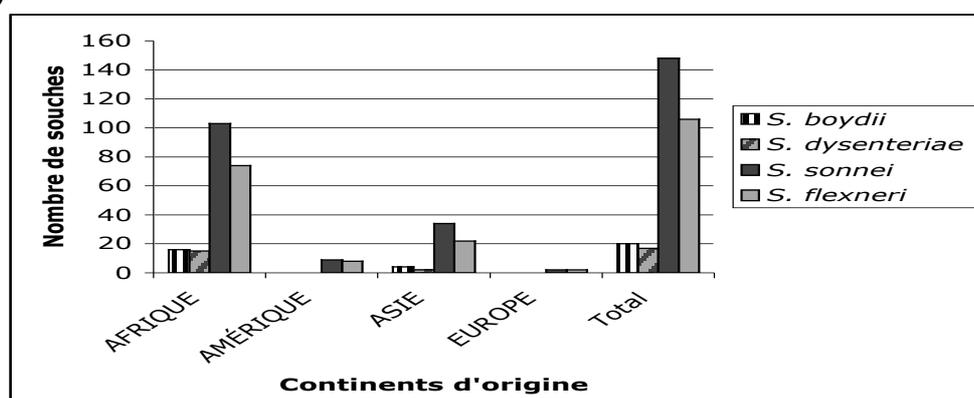


Tableau 21 : Distribution des 291 souches de *Shigella* signalées comme importées en France de l'étranger par continent d'origine

	AFRIQUE	AMÉRIQUE	ASIE	EUROPE	Total
<i>S. boydii</i> 1	5		1		6
<i>S. boydii</i> 2	3		2		5
<i>S. boydii</i> 4	3				3
<i>S. boydii</i> 10	1				1
<i>S. boydii</i> 11	1				1
<i>S. boydii</i> 18	2				2
<i>S. boydii</i> 20			1		1
<i>S. boydii</i> info	1				1
Total <i>S. boydii</i>	16	0	4	0	20
<i>S. dysenteriae</i> 1			1		1
<i>S. dysenteriae</i> 2	3				3
<i>S. dysenteriae</i> 3	3				3
<i>S. dysenteriae</i> 4	2				2
<i>S. dysenteriae</i> 5	1				1
<i>S. dysenteriae</i> 6	1				1
<i>S. dysenteriae</i> 9	1				1
<i>S. dysenteriae</i> 12			1		1
<i>S. dysenteriae</i> 97-10607	4				4
Total <i>S. dysenteriae</i>	15	0	2	0	17
<i>S. sonnei</i> a	1	2	1		4
<i>S. sonnei</i> g	26	4	27	2	59
<i>S. sonnei</i> g (Man-)	10	1			11
<i>S. sonnei</i> g (ONPG-)	22				22
<i>S. sonnei</i> info	44	2	6		52
Total <i>S. sonnei</i>	103	9	34	2	148
<i>S. flexneri</i> 1	17	2	5		24
<i>S. flexneri</i> 2	31	4	5	2	42
<i>S. flexneri</i> 3	4	1	7		12
<i>S. flexneri</i> 4	6		1		7
<i>S. flexneri</i> 6	10		2		12
<i>S. flexneri</i> 1c ou 7	3		1		4
<i>S. flexneri</i> X	1		1		2
<i>S. flexneri</i> info	2	1			3
Total <i>S. flexneri</i>	74	8	22	2	106
Total <i>Shigella</i>	208	17	62	4	291

Figure 9 : Distribution des 291 souches de *Shigella* contractées à l'étranger en 2009 (selon le continent d'origine)



C- Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS

Une fiche de renseignements spécifique au CNR-ESC doit accompagner chaque souche ou prélèvement reçu au CNR (**annexe 2**). 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 l'InVS à différents niveaux :

- Signalements systématiques de tous les cas de SHU chez les enfants de moins de 15 ans à l'InVS.

- En ce qui concerne la surveillance des *E. coli* STEC, toute souche ou selle porteuse de gènes *stx* est immédiatement signalée à l'InVS par l'envoi d'une copie du résultat par FAX.

- Concernant les résultats de sérologie pour la surveillance de SHU, une copie de tous les résultats concernant des enfants de moins de 15 ans (positifs ou négatifs), sont faxés à l'InVS dès leurs éditions.

- Concernant les *Shigella*, la surveillance se fait à la signature des résultats avec une signalisation par téléphone ou courrier électronique de toute épidémie signalée ou remarquée au laboratoire par les responsables. 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. Dans ce cadre, le CNR et le laboratoire associé ont signalé, le 24 janvier 2007, les premières souches de l'épidémie de *S. sonnei* en Ile de France et l'apparition de souches résistantes à l'azithromycine. Un programme de surveillance mensuelle des *Shigella* par sérotype et par département est à l'étude par l'InVS.

- La surveillance des *Shigella* se fait aussi par la compilation des fiches de renseignement reçues pour *S. sonnei* et le signalement de la même façon des épidémies potentielles.

- Réponses à des demandes d'informations émanant du Réseau européen de surveillance des *E. coli* entérohémorragiques (ECDC-FWD).

De plus le CNR a participé en 2009 au **Contrôle National de Qualité (CNQ) de l'AFSSAPS** en fournissant deux souches de *Shigella* (*dysenteriae* 2 et *flexneri* 2a). Chaque laboratoire français a reçu une des deux souches pour identification, cette souche était accompagnée d'un petit questionnaire sur le nombre de *Shigella* de chaque sérotype identifié par le laboratoire en 2008. **Ce CNQ a permis d'évaluer les capacités des laboratoires et d'évaluer la représentativité des souches reçues au CNR par rapport au nombre global de *Shigella* identifiées en France. L'analyse des résultats est en cours d'étude à l'InVS. Une synthèse des résultats a été faite par le CNR lors du compte-rendu du CNQ à l'ensemble des biologistes (cf. paragraphe 5-b).**

D- Collaboration avec des partenaires nationaux: animal, alimentaire , environnement

- Une collaboration a été engagée et se poursuivra avec les réseaux nationaux en charge de la surveillance comme les Ecoles Vétérinaires de Lyon (LNR *E. coli*) et de Maisons-Alfort, ou pour des études ponctuelles sur les STEC, dans les aliments, chez l'animal et dans l'environnement avec échange et comparaison de souches. En 2009, la collaboration avec le LNR a permis de vérifier la contamination de 2 patients par des steaks hachés congelés, la même souche ayant été retrouvée dans les steaks et chez les patients.

E- Collaboration avec des partenaires internationaux (projets détaillés dans le paragraphe 6-b)

- **Réseau des Instituts Pasteur : un projet ACIP *Shigella*** “Epidémiologie moléculaire de la multirésistance aux antibiotiques chez *S. flexneri* en Afrique et en Asie” sous la direction du Dr A. Ngandjio du Centre Pasteur du Cameroun. Trois pays africains (Cameroun, République centrafricaine, Sénégal) et un pays asiatique (Vietnam) sont impliqués dans ce projet avec le CNR.

- **Collaboration avec le Pr G. Dougan du Wellcome Trust Sanger Institute à Cambridge (RU) et le Dr J. Yu de l’Université de Strathclyde à Glasgow (RU).** “Etude de la structure de la population des *S. sonnei*”

- **Collaboration avec le Dr C. S. Chiou du CDC de Taichung, Taiwan.** “Multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) de *Shigella sonnei*.”

- **Collaboration avec le Dr Kaiser Ali Talukder, de l’ICDDR, Dhaka, Bangladesh et le Dr N. Strockbine du CDC, Atlanta, USA.** Etude et description de souches de *Shigella* présentant de nouveaux sérotypes non reconnus par les sérums utilisés en agglutination classique.

3-2 Surveillance de la résistance aux anti-infectieux

A- Sensibilité aux antibiotiques des souches STEC (HRD)

Bien que l’utilisation des antibiotiques soit controversée dans les infections à STEC, l’étude de la sensibilité des souches présente un intérêt épidémiologique. Le laboratoire associé a étudié la sensibilité des souches isolées en 2009, vis-à-vis des antibiotiques suivants :

- β lactamines : amoxicilline (AMX), cefixime (CFM), ceftriaxone (ROC)
- triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT)
- fluoroquinolones : ofloxacin (OFL), ciprofloxacine (CIP)

La prévalence de la résistance exprimée en pourcentage est représentée dans le **tableau 22**.

Tableau 22: Prévalence de la Résistance des souches aux antibiotiques (%)

	AMX	CFM	ROC	SXT	CIP
Sérotype O157:H7 (n=22)	9	4	4	0	0
Sérotypes non-O157 (n=26)	22	0	0	13	0

En raison des fortes concentrations intraluminales de l’azithromycine, les CMI de l’azithromycine ont été déterminées vis à vis des souches isolées en 2009 par la méthode de l’E-test (**tableau 23**).

Tableau 23 : CMI des souches STEC à l’azithromycine

Azithromycine	CMI ₅₀ (mg/l)	CMI ₉₀ (mg/l)	Range (mg/l)
Sérotype O157:H7 (n=22)	4	8	3 - 8
Sérotypes non-O157 (n=26)	6	8	2 -12

B- Sensibilité aux antibiotiques des souches de *E. coli* responsables de pathologies extra-intestinales

La sensibilité des souches aux principales familles d'antibiotiques en particulier amoxicilline (AMX), cefixime (CFM), céfotaxime (CTX), gentamicine (GEN), acide nalidixique (Nal) et ciprofloxacine (CIP) a été étudiée par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA-SFM.

Parmi les souches isolées de patients atteintes de méningites (n=10), neuf souches étaient sensibles à tous les antibiotiques testés et seule une souche présentait une beta-lactamase à spectre étendu.

Pour les souches isolées d'autres pathologies (n=48), la prévalence de la résistance aux antibiotiques testés est détaillée dans le **tableau 24**.

Tableau 24 : prévalence de la résistance des souches EXPEC non méningites

	AMX	CFM	CTX	Nal	CIP	SXT	G
%R	58,3	10,4	8,3	16,6	10,4	35,4	6,25

C- Étude de la résistance aux antibiotiques des souches de *Shigella* (CNR-IP)

a- Surveillance globale

De 2002 à 2005, la surveillance de la résistance était basée sur la surveillance des *Shigella sonnei* résistantes à 2 antibiotiques : l'amoxicilline et le cotrimoxazole. Depuis 2006, un antibiogramme est réalisé sur toutes les souches de *Shigella* identifiées au CNR, à l'aide de 16 disques d'antibiotiques.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques s'effectue par la méthode de diffusion selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Dans certains cas, la méthode de l'E-test est utilisée pour déterminer les CMI.

Un antibiogramme a été réalisé en 2009 sur toutes les souches de *Shigella* reçues au CNR-IP. Les résultats de la résistance aux principaux antibiotiques des 671 souches humaines isolées en France métropolitaine sont présentés dans le **tableau 25**.

Tableau 25 : Pourcentage de souches de *Shigella* résistantes aux antibiotiques.

	nombre de souche:	AMX	CRO	CAZ	K	GM	NA	CIP	C	TE	SSS	TMP	SXT	AMX + SXT
<i>S. boydii</i>	39	28,2	2,6	2,6	0,0	0,0	12,8	0,0	2,6	76,9	76,9	82,1	71,8	25,6
<i>S. dysenteriae</i>	42	69,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	59,5	81,0	61,9	61,9	59,5	50,0
<i>S. flexneri</i>	286	61,5	0,7	0,3	0,7	3,1	7,0	4,2	55,6	72,7	55,2	58,4	54,5	41,3
<i>S. sonnei</i>	299	14,0	0,7	0,7	0,3	0,0	18,1	6,7	2,3	78,3	83,3	90,6	85,6	12,0
<i>S. non sérotypable</i>	5	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	40,0	60,0	80,0	40,0	60,0	60,0
S. Total	671	39,2	0,7	0,6	0,4	1,3	11,8	4,8	28,9	75,9	69,6	74,2	69,7	28,0

AMX=Amoxicilline, CRO=Ceftriaxone, CAZ=Ceftazidime, K=Kanamycine, GM=Gentamicine, NA=Acide nalidixique, CIP=Ciprofloxacine, C=Chloramphénicol, TE=Tétracycline, SSS=Sulfamides, TMP=Triméthoprime, SXT=Cotrimoxazole.

Pour les souches résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G^R) tel que la ceftriaxone (CRO et/ ou le céftazimide (CAZ), un autre antibiogramme complémentaire a été effectué ainsi que les CMI à CRO et CAZ par méthode E-test.

Pour les souches résistantes à la ciprofloxacine (CIP^R) les CMI à NA et CIP ont effectuées par E-test.

L'analyse des antibiogrammes depuis 2005 à permis de mettre en évidence une augmentation du nombre de souches C3G^R par production d'une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) (**figure 10**), ainsi que du nombre de souches CIP^R particulièrement chez les patients de retour d'Inde ou de pays limitrophes de l'Inde (**figure 11**).

Figure 10: Evolution du nombre de *ShigellaE* C3G^R:

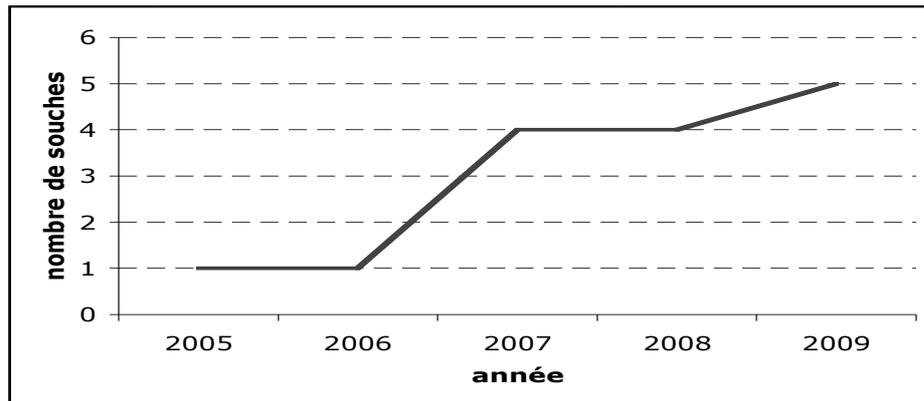
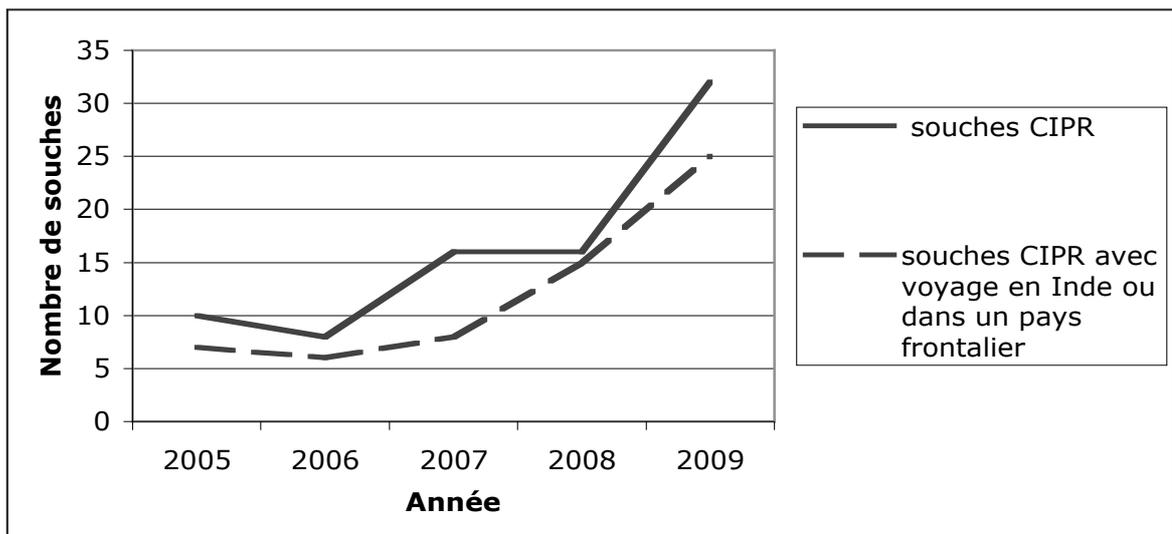


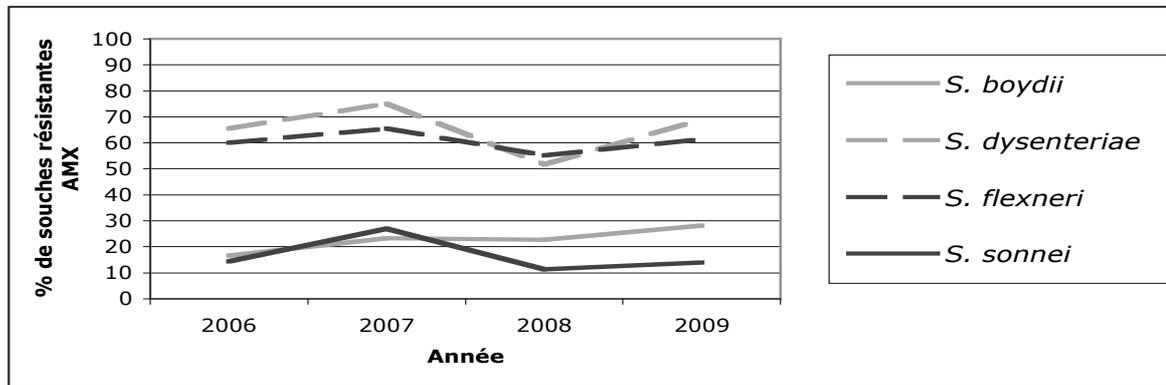
Figure 11: Evolution du nombre de *Shigella* CIP^R:



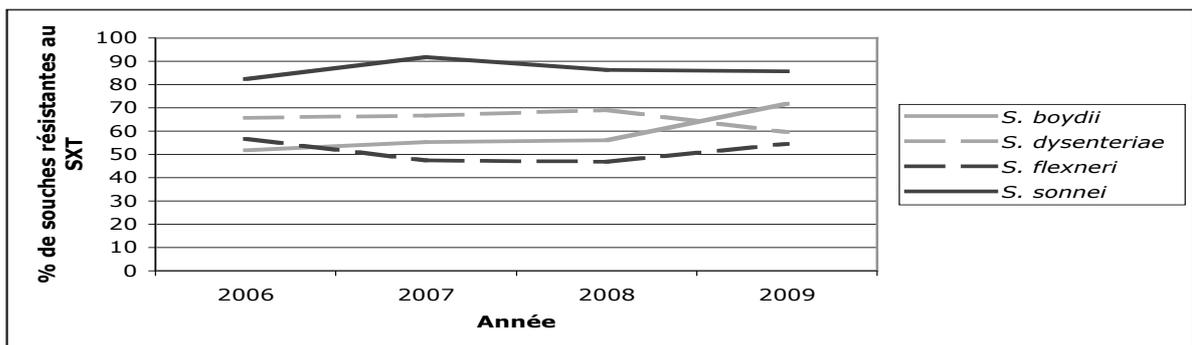
L'évolution de la résistance à l'amoxicilline (AMX), au cotrimoxazole (SXT) et aux tétracyclines (TE) chez les différents sérogroupes de *Shigella* entre 2006 et 2009 est indiquée dans la **figure 12a,b,c**.

Figure 12: Evolution de la résistance à AMX (a), SXT (b) et TE (c) en fonction des sérotypes de *Shigella*.

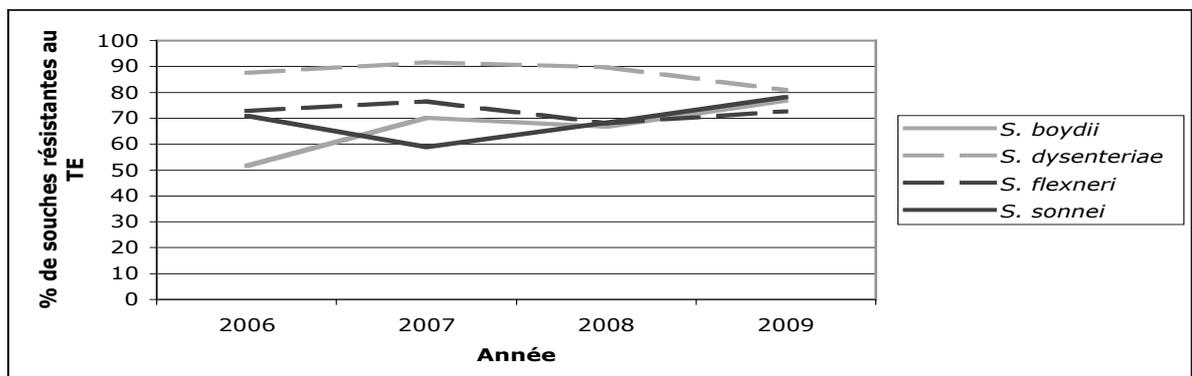
(a)



(b)



(c)



b- Surveillance de *S. sonnei*

La surveillance particulière de la résistance des *S. sonnei* à l'amoxicilline et au cotrimoxazole à partir des antibiogrammes effectués au CNR-IP et à partir de ceux signalés dans les feuilles d'information, est toujours d'actualité.

Figure 13: Répartition des souches de *S. sonnei* en France avec mise en évidence des souches résistantes à l'amoxicilline et au cotrimoxazole (souches RR).

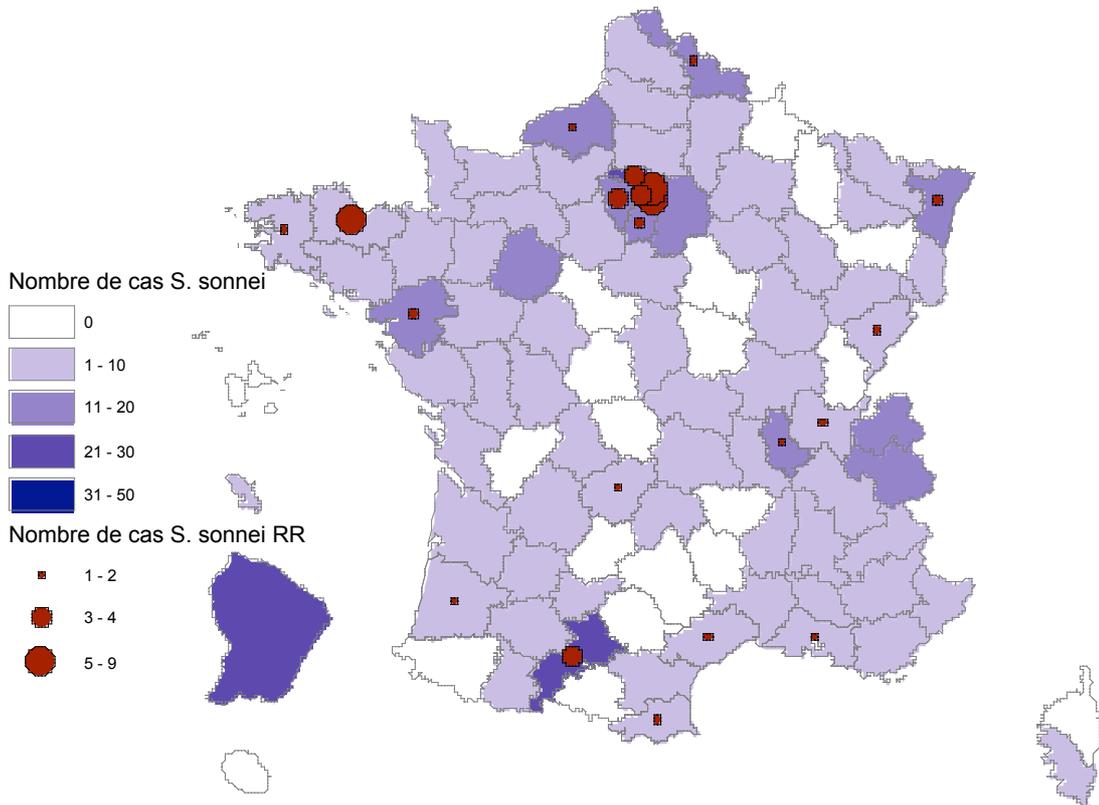
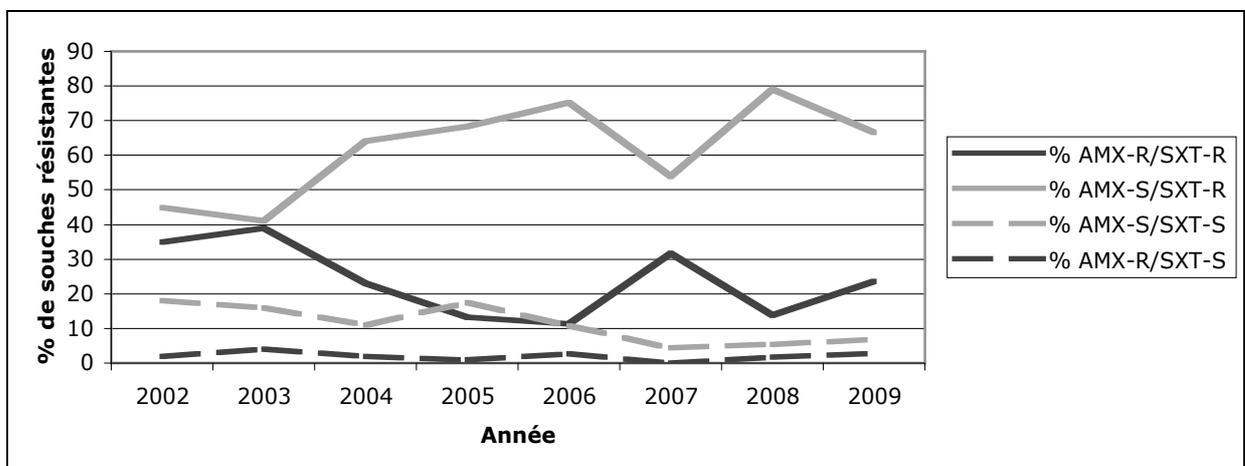


Figure 14 : Analyse des tendances de résistance à l'amoxicilline (AMX) et au cotrimoxazole (SXT) chez *S. sonnei* biotype g



R= résistant, S= sensible

Une augmentation du nombre des souches résistantes simultanément à l'amoxicilline et au cotrimoxazole (AMX^R-SXT^R) a été notée en 2002, 2003 et 2007 (périodes épidémiques chez des enfants de la communauté juive d'Ile de France). L'augmentation pour 2009 n'a pas été associée à un pic épidémique.

Lors du premier pic épidémique, début 2007, une résistance à l'azithromycine (AZM) avait été mise en évidence avec une CMI ≥ 256 $\mu\text{g/ml}$.

Suite à l'apparition de cette résistance, un antibiogramme complémentaire à l'AZM a été mis en place pour toutes les souches de *S. sonnei* AMX^R-SXT^R, en utilisant à la fois la méthode de diffusion (détermination du diamètre de la zone d'inhibition) et la méthode de l'E-test (détermination des CMI).

Dans ce cadre toutes les *S. sonnei* g AMX^R-SXT^R reçues en 2009 au CNR ont été testées et **aucune résistance à l'AZM n'a été observée en 2009. Une souche de *S. sonnei* biotype (a) AMX^R-SXT^R résistante à l'AZM (CMI $\geq 256\mu\text{g/ml}$), a été retrouvée chez une patiente de 34 ans dans le Val de Marne.**

3-3 Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux

A- *E. coli* :

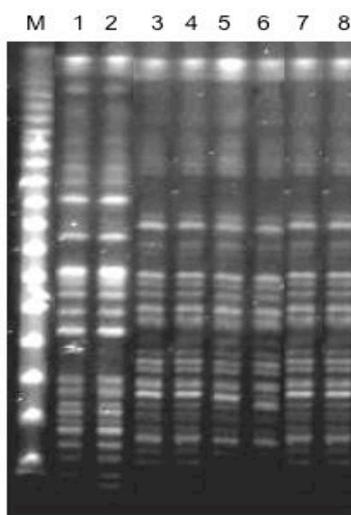
a- Alerte aux steaks hachés contaminés dans la Marne

Le 11 février 2009, le service de néphrologie pédiatrique de l'hôpital Necker Enfants Malades à Paris signale à l'InVS un cas de SHU post-diarrhée chez un enfant de 2 ans avec une diarrhée chez sa sœur de 6 ans. Les deux enfants résidant dans la Marne (51). Une suspicion de toxi-infection alimentaire (TIAC), a permis à la DDASS du 51 d'identifier une contamination probable par des steaks hachés surgelés grâce à un questionnaire alimentaire.

Une souche d'*E. coli* non sous typable possédant les gènes *stx2*, *eae* et *hlyA* été isolée dans le lot de steak haché par le LNR de l'école nationale vétérinaire de Lyon (ENVL) et le même type de souche a été isolé dans les selles des deux enfants au laboratoire associé.

La comparaison par PFGE *XbaI* des souches alimentaires et humaines a montré que ces souches étaient génétiquement reliées (**figure 15**)

Figure 15 : PFGE *XbaI* des souches alimentaires et humaines isolées dans la Marne



1. Souche non reliée enfant X
2. Souche non reliée sœur enfant X
3. Souche enfant Y (SHU)
4. Souche sœur enfant Y
- 5 à 8. Souches isolées de steaks hachés par ENVL

Une souche humaine et une souche alimentaire ont été envoyées au CNR-IP pour sérotypage moléculaire. Le CNR-IP a confirmé la présence des gènes *stx2*, *eae* et *hlyA*. Le sérotypage moléculaire a confirmé que les deux souches appartenaient au même sérotype : R123:F2 qui est un sérotype très rare n'appartenant pas au 5 sérotypes STEC définis comme pathogènes pour l'homme en 2008 par l'AFSSA.

Deux autres cas dans une famille de la Meuse ont été investigués car potentiellement reliés. Mais aucune souche STEC n'a pu être isolée.

Les sérologies réalisées chez ces enfants ont été négatives, l'antigène O123 n'étant pas présent sur les bandelettes de line-blot.

Les souches R123:F2 (immobile) étant rares, elles ont été envoyées au CCOMS des *E. coli* (Dr. F. Scheutz, Copenhague, DK) pour expertise. Le CCOMS a confirmé le sérotype O123:H- par agglutination.

b- Cas de contamination par O157 dans le département de la Seine Maritime

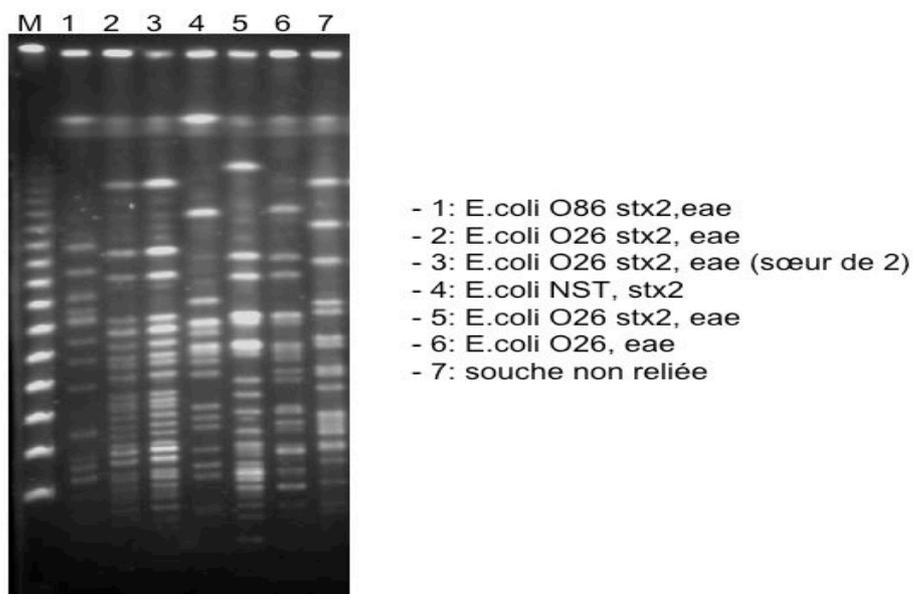
Le 10 avril 2009 a été signalé à l'InVS, un cas de SHU chez un enfant de 2 ans au CHU de Rouen dont le frère jumeau présentait une diarrhée (non-glairo-sanglante). Les coprocultures ont été adressées au laboratoire associé et ont permis de mettre en évidence une souche O157 avec les gènes *stx2* et *eae* chez les deux enfants. Les sérologies ont été réalisées au CNR-IP et ont permis de confirmer la présence d'anticorps anti LPS O157 chez l'enfant présentant un SHU, mais pas chez celui présentant une diarrhée.

L'analyse des steaks hachés potentiellement vecteur de la contamination par l'ENVL n'a pas donné de résultats.

c- Suspicion de cas groupés dans la région lyonnaise

Des cas groupés SHU, dont un décès, dans la région lyonnaise entre fin août 2009 et septembre 2009 ont été investigués afin de vérifier la présence ou non d'une TIAC. Au niveau du CNR, le typage de 6 souches ainsi que le PFGE *NotI* a permis d'obtenir le résultat présenté en **figure 16**. Seules 2 souches génétiquement reliées ont été retrouvées chez des patients d'une même famille (2 et 3)

Figure 16 : PFGE *NotI* des souches de la région lyonnaise



Les sérologies réalisées n'ont pas donné de résultat car la sérologie O26 est peu sensible.

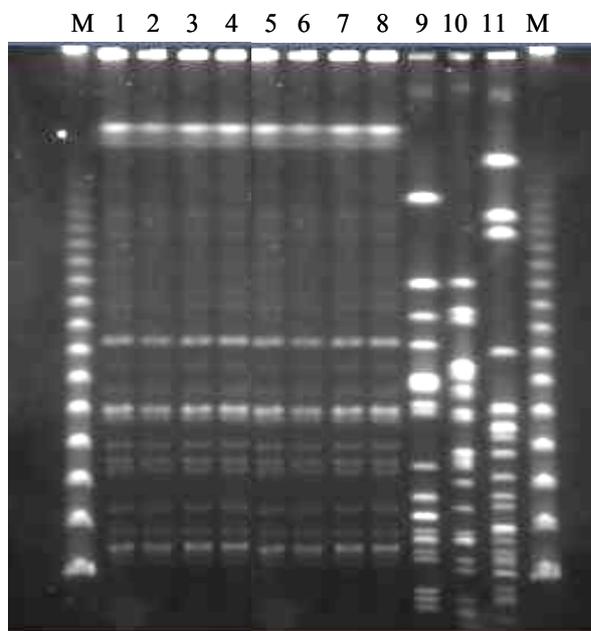
d. Investigation d'une épidémie de souches d'*E. coli* BLSE dans l'unité de néonatalogie de l'hôpital Trousseau à Paris

Une épidémie liée à des souches d'*E. coli* productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) a eu lieu dans l'unité de néonatalogie de l'hôpital Trousseau (Paris) sur une période d'un mois (24/03/2009 au 27/04/2009). Parmi les 59 patients, 26 souches d'*E. coli* ont été isolées de prélèvements rectaux. Un nouveau-né a développé une méningite d'évolution favorable après un traitement associant l'imipénème, la ciprofloxacine et la gentamicine. .

L'analyse des 26 souches en PFGE a démontré qu'elles étaient génétiquement reliées entre elles (pistes 1 à 8) et non reliées aux souches contrôles (pistes 9 à 11). La souche responsable de l'épidémie produisait une BLSE de type TEM-52. Elle appartenait au groupe phylogénétique B1 et possédait les gènes de virulence *fuyA*, *aer* et *iron*

Cette étude a fait l'objet d'un article soumis à publication.

Figure 17 : PFGE *Xba*I des souches d'*E. coli* BLSE :



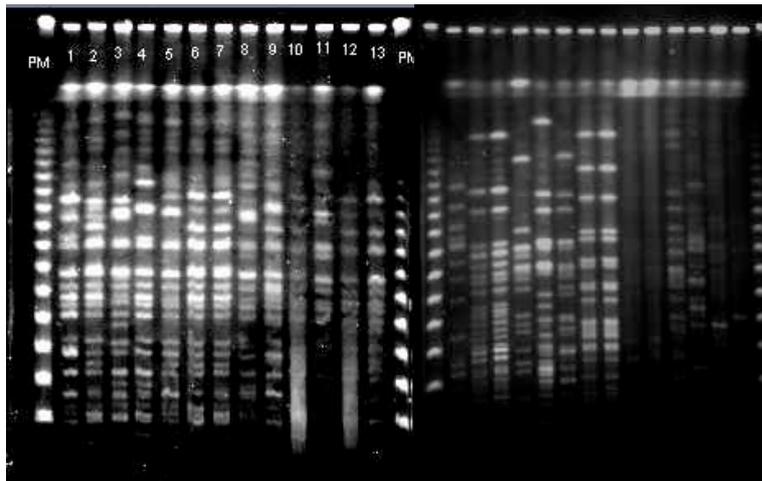
Pistes 1 à 8 : Souches de *E. coli* BSE / Trousseau
Pistes 9 à 11 : souches non reliées

e. Analyse des souches O157 reçues en 2009

En 2009, 22 souches d'*E. coli* O157 ont été répertoriées par le laboratoire associé. Une analyse de toutes les souches par PFGE après digestion par l'enzyme *Xba*I est en cours afin de connaître la diversité des profils des souches circulantes en France et d'incrémenter ainsi une base de données moléculaire avec la méthode de PFGE avec numérisation des profils. Afin de constituer une banque de données de profils types d'*E. coli* O157:H7. Ces profils pourraient être comparés avec les autres banques de données internationales, américaines (PulseNet) et européennes (EnterNet) afin d'identifier la circulation de clones en Europe et avec les USA.

Les souches isolées en 2009 montrent une diversité génétique (**figure 18**)

Figure 18 : PFGE *Xba*I de 22 des souches de *E. coli* O157 isolées en 2009 au laboratoire associé



B- Shigella

a- Surveillance des épidémies:

L'activité de surveillance des Shigelloses a été régulière tout au long de l'année 2009 avec des contaminations familiales ponctuelles. La surveillance des souche de *S. sonnei* AMX^R-SXT^R a permis de mettre en évidence 61 souches dont 35 en île de France. Les 61 cas ont été signalés à l'InVS ainsi que tous les cas signalés comme épidémie familiale. Les investigations effectuées par l'InVS et les DDASS sur ces cas ont permis de mettre en évidence une épidémie infantile dans la communauté juive d'île de France mais peu de souches ont été investiguées dans le cadre de cette épidémie.

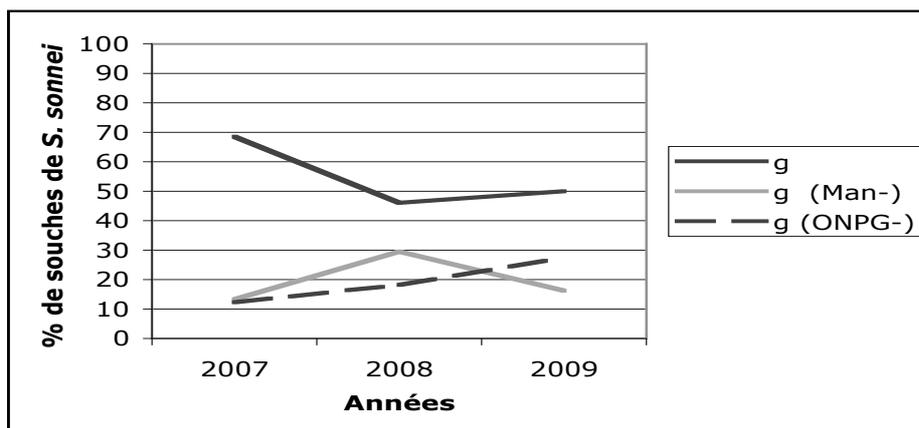
Cette épidémie a été mise en évidence par signalement de l'hôpital Robert Debré à la DDASS de Paris d'un cas de *S. sonnei* AMX^R-SXT^R (RR) chez un enfant de 1 an, le 19 mai 2009. Une enquête a été mise en place auprès de la crèche. Le 28 mai le CNR-IP a signalé un autre cas dans une crèche du Val de Marne. Le 8 juin la DDSV a signalé une suspicion de TIAC à *S. sonnei* RR dans une école privé juive de Seine-Saint-Denis. (8 cas). Les enquêtes de la CIRE IDF ont permis de mettre en évidence un total de 45 cas dont 31 confirmé entre le 15 mai et le 30 juin 2009, ces cas étaient répartis en 5 école et crèches et 3 département (75, 94, 95). Le CNR n'a reçu que peu de souches de cette épidémie pour expertise (6 entre mai et juin 2009).

b- Surveillance des biotypes de *S. sonnei* :

La surveillance des biotypes circulants de *S. sonnei* a permis de mettre en évidence depuis 2007 des souches de *S. sonnei* de biotype g mais avec des variantes biochimiques du type ONPG- et Mannitol- (Man-), (**figure 19**).

Après la nette augmentation des souches Man- en 2008, on observe une diminution en 2009. La proportion de souche ONPG- continue de croître progressivement.

Figure 19 : Analyse de l'évolution des biotypes principaux de *S. sonnei*



Une analyse de l'origine des souches de *S. sonnei* g Man- a montré que, pour 11 souches sur les 13 comportant une notion de voyage en 2009, il était signalé un voyage au Maroc.

Une analyse de l'origine des souches de *S. sonnei* g ONPG- a montré que, pour 38 souches sur les 39 comportant une notion de voyage en 2009, il était signalé un voyage dans un pays d'Afrique.

3-4- Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier Européens

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

4-Alerte

L'alerte s'effectue auprès de l'InVS par différentes interventions :

- Signalement systématique de tous les cas de SHU chez les enfants de moins de 15 ans à l'InVS.
- En ce qui concerne la surveillance des *E. coli* STEC, toute souche ou selle porteuse de gènes *stx* est immédiatement signalée à l'InVS par l'envoi d'une copie du résultat par FAX.
- Concernant les résultats de sérologie pour la surveillance de SHU, une copie de tous les résultats concernant des enfants de moins de 15 ans (positifs ou négatifs), est faxée à l'InVS dès son édition.
- Concernant les *Shigella*, la surveillance se fait à la signature des résultats avec une signalisation par téléphone ou courrier électronique de toute épidémie signalée ou remarquée au laboratoire par les responsables.
- La surveillance des *Shigella* se fait aussi par la compilation des fiches de renseignements reçues pour *S. sonnei* et le signalement de la même façon des épidémies potentielles.
- Signalement au Réseau Européen de surveillance des *E. coli* entérohémorragiques (ECDC-FWD) de souches ayant le même sérotype que certaines souches épidémiques signalées en Europe.

5- Activités d'information, de formation et de conseil

a- Enseignement / formation

- Cours de Bactériologie médicale de l'Institut Pasteur le 19 février 2009 : Le genre *Shigella*. (I. Filliol).
- Cours Le point sur les principaux micro-organismes pathogènes, *Campylobacter*, *Vibrio* et *Shigella*: Institut Pasteur de Lille, le 08 décembre 2009: Bactériologie et épidémiologie des *Shigella* (I. Filliol)
- 12^{ème} réunion technique couvoir, Laboratoire Bio Chêne Vert, Châteaubourg (35), le 09 décembre 09 : Méthodes de typage des *E. coli* (I. Filliol)

- Participation à l'enseignement universitaire sur les *E. coli* intestinaux et extraintestinaux (E. Bingen et P. Mariani-Kurkdjian): DCEM1, DES de Biologie, DIU de Pathologie infectieuse pédiatrique (organisé par le Groupe De Pathologie Infectieuse Pédiatrique) Hôpital Saint Vincent de Paul Paris (3 heures par an), Internes de Pédiatrie et de Biologie au sein de l'hôpital Robert Debré
- Participation à l'enseignement du cours de Bactériologie médicale à l'Institut Pasteur
- Formation continue en médecine ambulatoire (E. Bingen et P. Mariani-Kurkdjian) (participation aux journées de pathologie infectieuse pédiatrique ambulatoire organisées par le Dr Cohen)
- Formation continue aux techniciens de laboratoire (E. Bingen et P. Mariani-Kurkdjian)
- Participation à la journée d'enseignement du groupe STEC EXPERT – Expert regroupant les industriels de la viande (P. Mariani-Kurkdjian) en juin 2009 à Angers
- Formation continue des biologistes à la faculté de Pharmacie Paris V (Bioforma)
- Participation à l'enseignement de la **Recherche** pour la formation de stagiaires et la préparation de DEA et de thèses d'université

Stagiaires : le CNR-IP reçoit de nombreux stagiaires étrangers, dont certains du réseau international des Instituts Pasteurs, qui viennent acquérir des techniques de sérotypage et de caractérisation des gènes de virulence afin de travailler sur des souches prévalentes dans leur pays aussi bien humaines qu'alimentaires.

Liste des stagiaires du CNR-IP en 2009:

En 2009, 2 stagiaires ont été reçus dans le cadre du projet ACIP A-10

- Thi Van Phuong TRAN, du 04/05 au 26/06, Institut National d'Hygiène et d'épidémiologie - Hanoi-Vietnam. Sujet : Analyse de la biodiversité de souches de *S. flexneri* multi-résistantes aux antibiotiques par la technique PFGE.

- Antoinette N'GANDJIO, du 24/07 au 28/09, Centre Pasteur du Cameroun. Sujet : Support de la résistance aux antibiotiques de *S. flexneri*.

Liste des stagiaires du laboratoire associé RD en 2009

- Typhaine BILLARD – Pomares. Rôle intrinsèque du nouvel antigène somatique O45_{S88} dans la virulence méningée du clone d'*E. coli* O45:K1:H7- Master M2 – Paris XI - 2009

- Farah MESSAI-MAHJOUR. Analyse fonctionnelle d'un plasmide ColV impliqué dans la virulence des souches d'*E. coli* O45:K1:H7 responsables de méningite néonatale. Doctorat Sciences de la Vie et de la Matière Ecole doctorale Gc2ID

b- Information et conseil aux biologistes et praticiens

La plupart des informations concernant le CNR (analyses réalisées, fiche de renseignements à compléter, condition d'envoi, de transport...) sont accessibles par le biais d'une page Internet sur le site de l'Institut Pasteur <http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadre/cnr/ecolishig-index.html>

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

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 presque quotidienne par téléphone ou courrier électronique. Les appels reçus sont notés dans un cahier avec la date, l'heure, le laboratoire et le type d'information demandée. Le volume des demandes est très variable et peut aller de 1 à 20 appels par jour.

Des échanges et réponses aux questions se font aussi par Internet par l'intermédiaire du forum du réseau de microbiologie médicale (Réseau-microbiologie-medicale@yahoogroupes.fr) ou de l'adresse colishig@pasteur.fr.

De plus l'article a été rédigé par l'InVS, le CNR et le laboratoire associé permet aux laboratoires d'avoir toutes les informations concernant la détection des souches STEC. (**E. Espié, P. Mariani-Kurkdjian, I. Filliol, V. Vaillant et H de Valk. 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.**)

Le CNR a participé en 2009 au **Contrôle National de Qualité (CNQ) de l'AFSSAPS (opération 09 BAC1)** en fournissant deux souches de *Shigella* (*dysenteriae* 2 et *flexneri* 2a). Chaque laboratoire français a reçu une des deux souches pour identification. En parallèle, une enquête sur le nombre d'isolement de *Shigella* en 2008 a été adressée aux 3168 laboratoires. La réponse à cette enquête permettra d'évaluer les capacités des laboratoires et la représentativité des souches reçues au CNR par rapport au nombre global de *Shigella* identifiées en France (résultats en cours d'analyse).

Le bilan des identifications bactériennes transmises par les laboratoires participants est le suivant :

La souche du lot 1 de l'opération 09BAC1 était une *Shigella flexneri* 2a.

La présence d'une *Shigella* a été retrouvée chez 98% (1587/1620) des laboratoires. Le séro groupe *S. flexneri* n'a été trouvé quant à lui que par 20,9% des laboratoires alors que 0,7% des laboratoires ont rendu de façon erronée un autre séro groupe de *Shigella*. L'analyse des résultats obtenus lors des cinq opérations de contrôle précédentes, réalisées entre 1984 et 1995, montre que l'identification précise du séro groupe *S. flexneri* est en constante diminution. Il est passé de 55% en 1984 à 32% en 1995 puis à 20,9% en 2009.

La souche du lot 2 de l'opération 09BAC1 était une *Shigella dysenteriae* 2.

La présence d'une *Shigella* a été retrouvée chez 98% (1517/1548) des laboratoires. Le séro groupe *S. dysenteriae* n'a été trouvé quant à lui que par 16,2% des laboratoires alors que 2,3% des laboratoires ont rendu de façon erronée un autre séro groupe de *Shigella*. L'identification précise du séro groupe *S. dysenteriae* a baissé de moitié depuis 2003 (33%).

Lors de cette opération de contrôle, la grande majorité des laboratoires (94%) ont utilisé soit des galeries API, soit le système Vitek. Ces deux systèmes n'ont dans leur base de données que «*Shigella* sp» ou «*S. sonnei*» (du fait de caractères particuliers pour *S. sonnei* : ODC+, ONPG+, rhamnose-), à confirmer par sérotypage.

L'absence de réalisation du sérotypage par la majorité des laboratoires, explique vraisemblablement les résultats de cette opération, c'est-à-dire une excellente identification du «genre» *Shigella* mais une mauvaise identification de ces 2 «espèces» différentes de *S. sonnei*.

c- Diffusion des données de surveillance à l'InVS

Les résultats obtenus concernant la surveillance du SHU des enfants de moins de 15 ans (selles, souches et sérologie) SHU sont communiqués dès signature à l'InVS par téléphone ou par Fax.

Les épidémies potentielles détectées sont signalées par téléphone à l'InVS afin de vérifier si l'épidémie est connue et s'informer de l'enquête éventuellement en cours à leur niveau.

La diffusion de données de surveillance aux professionnels se fait lors de cours ou communication spécifiques, le cours de bactériologie médicale ou encore les journées de veille sanitaire. En cas d'épidémie, la diffusion des données se fait par l'intermédiaire de l'InVS, à la DGS, et aux DDASS.

d- Activités d'expertises après du ministère chargé de la santé, de l'InVS, la DGS, l'AFSSA, l'OMS... :

- Expertise dans le sérotypage et la comparaison au niveau moléculaire des souches par sérotypage moléculaire, MLST ou PFGE qui permet de vérifier l'appartenance des souches à une même épidémie.

- Participation à des conférences téléphoniques ponctuelles en cas d'épidémie pour valider les méthodes de diagnostic, de prévention et de traitement.

- Le laboratoire associé participe au groupe de travail de l'AFSSA, créé en 2004, sur l'appréciation quantitative des risques liés à *E. coli* O157:H7 dans les steaks hachés surgelés consommés en restauration familiale en France par les enfants de moins de 16 ans. Les différentes étapes de la démarche d'AQR travaux ont été l'évaluation de la contamination des viandes, les données relatives à la consommation, l'évaluation de la destruction thermique et l'établissement d'une loi dose-réponse. Le groupe propose deux lois dose-SHU spécifiques pour les classes d'âge 0-5 ans et 5-10 ans.

Le rapport a été présenté le 25 janvier 2008 à la DGAL le 25 janvier 2008 de façon à réaliser un bilan de la mise en œuvre sur le terrain du plan d'actions global pour la prévention et la maîtrise du danger STEC par l'ensemble des acteurs de la filière steaks hachés. Il a également fait l'objet d'une publication (Delignette-Muller Ml et al. Quantitative risk assessment for *E. coli* O157:H7 in frozen ground beef patties consumed by young children in French households. Int J Food Microbiol. 2008 Nov 30;128(1):158-64.)

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

A- *E. coli* :

a. *E. coli* extra intestinaux (laboratoire associé) (RD)

- Etude clinico-biologique des méningites néonatales à *E. coli* en France

Nous avons reçu l'accord du GPIP pour effectuer le recueil exhaustif des données cliniques auprès de chaque service clinique. Cette étude porte 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 le décès ou l'apparition de complications et localisations parenchymateuses. Le bilan infectieux réalisé est détaillé ainsi que l'antibiogramme de chaque souche. Enfin la prise en charge thérapeutique est étudiée en particulier avec le type, la dose, et la durée des antibiotiques.

- Mise au point une technique de détermination de l'antigène somatique O par PCR.

- PCR multiplex permettant de détecter les 9 sérogroupes les plus fréquents dans les pathologies liées aux *E. coli* extra intestinaux (O1, O2, O4, O6, O7, O16, O18, O45, O83) ainsi que le sérotype capsulaire K1

- PCR multiplex permettant de détecter les sérotypes les plus fréquents dans les pathologies liées aux *E. coli* entérohémorragiques (O157, O26, O55, O91, O103, O111 et O145). Ce travail a fait l'objet d'une communication affichée au congrès VTEC 2009 à Buenos Aires et au congrès français RICAI 2009 à Paris

b. *E. coli* intestinaux (CNR-IP):

Concernant les *E. coli*, de nombreux laboratoires se basent sur la réaction au sorbitol (gélose Mac Conkey sorbitol), pour mettre en évidence les souches O157:H7 (absence de fermentation du sorbitol ; sorbitol-). Le CNR reçoit chaque année de nombreuses souches envoyées comme potentiellement O157 car sorbitol- mais qui s'avèrent ne pas être des O157. Ainsi en 2009, un total de 47 souches sorbitol- ont été reçues dont seulement 13 étaient des O157 (27,7%). Les sérotypes des souches sorbitol- non O157 étaient variés (O25, n=3; O26, n=2; O44, n=1; O55, n=2; O78, n=1; O103, n=1; O114, n=1; O119, n=1; O126, n=1; O128, n=2; NST, n=19).

Pour les 19 souches sorbitol- non sérotypables (NST) par agglutination, un sérotypage moléculaire a été effectué, les résultats sont présentés dans le **tableau 26**.

Tableau 26 : Résultats du typage des 19 souches d'*E. coli* sorbitol négatives non agglutinables reçues au CNR-IP en 2009:

Souche	Gène de virulence	<i>rfb</i> -RFLP "O"	<i>fliC</i> "H"
#09 1250		NST	H30
#09 3290		R102	H6
#09 3862		R128	H26
#09 4191		NST	H21
#09 5095		R43	H7
#09 5209		NST*	H5
#09 5213	eae	R101/162	H33
#09 5367		NST	H19
#09 5730	eae	R 125	H6
#09 5952	eae	R154	H33
#09 6327	eae	NST	NST
#09 6685		R101/162	H5
#09 8076	eae	O 123	H9
#09 8554		R 21	H4
#09 8555		NST	H19
#09 8883		R2a/5b/50	H7
#09 8927	eae	R132	H34 (H31*)
200908988		NST	H5
200909003		NST	H21

NST= non sérotypable (profil non présent dans la base de données), NST*= amplification aspécifique empêchant la restriction.

* profil proche mais non identique dans la base de données.

Les sérotypes retrouvés sont très variés ce qui prouve qu'il est important de ne pas baser le diagnostic des souches O157 uniquement sur le test au sorbitol. De plus, une souche O157 sorbitol- ne présentait pas de gènes *stx*.

Dans aucun cas, le test au sorbitol ne peut suffire à établir le diagnostic. Le sérotypage et surtout la mise en évidence des gènes de virulence sont essentiels pour l'identification des souches STEC.

B- Shigella (CNR-IP) :

a. Diagnostic rapide

*** le CNR-IP a participé au projet « diagnostic d'urgence de la dysenterie et des diarrhées hémorragiques » (PTR 179) de 2005 à 2009:**

Dans le cadre de la lutte contre les maladies infectieuses dans les pays en développement, l'IP projette de réaliser le diagnostic rapide (10 minutes) sur le terrain (au pied du malade) des principales étiologies de la dysenterie et des colites hémorragiques à l'aide d'un outil simple à utiliser, peu onéreux et robuste. Deux objectifs sont définis :

- (1) Développer des épreuves immunochromatographiques (captures antigéniques) sur bandelettes pour différents agents de diarrhée dont *S. dysenteriae* 1, *S. flexneri* 2a, *Shigella* sp, les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC).
- (2) Valider ces épreuves en conditions réelles sur le terrain.

Dans ce cadre le CNR a :

- fourni les souches de référence après contrôle de leurs sérotypes et compositions en gènes de virulence
- fourni les protocoles de validations des résultats par PCR et agglutination
- préparé les souches pour les tests en aveugle.

Différentes bandelettes ont été mises au point et leur évaluation sur le terrain est en cours d'analyse (*S. dysenteriae* 1, *S. flexneri* 2a, *S. sonnei* et *Shigella* générique).

b. Antibiorésistance

***Participation au projet ACIP A-10 (2008-2009) *Shigella*.** Le projet ACIP-A-10-2007 intitulé "Epidémiologie moléculaire de la multirésistance aux antibiotiques chez *Shigella flexneri* en Afrique et en Asie" est réalisé dans 3 Instituts Pasteur africains (IP Bangui, IP Dakar, CP Cameroun) et un Institut asiatique (INHE de Hanoi). Il est coordonné par le CPC et bénéficie de l'encadrement technique du CNR-IP.

L'objectif de cette étude était de rechercher les déterminants génétiques de la résistance aux antibiotiques chez des souches de *S. flexneri* simultanément résistantes à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la streptomycine, aux sulfamides et à la tétracycline, isolées en 2004-2005 sur les différents sites et d'étudier la diversité génétique de ces souches.

La première année de l'étude consistait en la détection de gènes de résistance à l'ampicilline, principal marqueur de cette multirésistance, suivie de la recherche des supports génétiques de résistance et des essais de transfert de la résistance par conjugaison. La deuxième année a été réservée au typage de plasmides, à la caractérisation du support chromosomique de la résistance et à la caractérisation moléculaire des souches au CNR-IP.

***Etude de l'évolution de l'antibiorésistance en France entre 2005 et 2008 :**

L'ensemble des souches de *Shigella* reçues au CNR entre 2005 et 2008 a été analysé pour la sensibilité aux antibiotiques. Deux résistances émergentes ont été mises en évidence: les souches résistantes au céfalosporine de 3^{ème} génération (C3G^R) et les souches résistantes à la ciprofloxacine (CIP^R), (évolution cf paragraphe 3-2-C).

Pour l'étude des souches C3G^R (10 souches) différentes méthodes ont été employées. L'ensemble des résultats est indiqué dans le **tableau 27**.

Tableau 27 : Analyse des 10 souches C3G^R isolées entre 2005 et 2008 :

Numéro	Espèce	Bio / Séro	Sexe	Age (Ans)	Dépt	Voyage	Résistances associées	CMI (µg/ml)				βéta-lactamases	Support plasmidique de la résistance	
								CAZ	CRO	CIP	AZM		taille	groupe
#05 7958	<i>S. sonnei</i>	g	F	16 à 64	91	Non	ASGSulTmpTe	8	>256	nd	4	CTX-M-15	70	I1; FrepB
#06 5380	<i>S. sonnei</i>	g	M	16 à 64	54	Chine	ASGNaSulTmpTe	2	>256	nd	48	CTX-M-14a	90	FrepB
#07 1244	<i>S. sonnei</i>	g	F	16 à 64	29	Egypte	ASSulTmpTe	32	128	nd	24	CTX-M-15, TEM	90	I1
#07 3084	<i>S. flexneri</i>	1b	F	1 à 5	67	Egypte	ASCTmpTe	2	64	nd-	8	CTX-M-14b, OXA-30	50	-
#07 5535	<i>S. sonnei</i>	g	F	16 à 64	13	Népal	ASNaSulTmpTe	>256	>256	0,25	16	CTX-M-15	140	A/C
#07 5956	<i>S. sonnei</i>	g	F	16 à 64	33	Non	ASGSulTmpTe	4	64	nd	16	CTX-M-15	100	I1
#08 7227	<i>S. sonnei</i>	g	F	15 à 64	57	Inde	ASNaSulTmpTe	96	>256	0,19	12	CTX-M-15, TEM	90	I1
#08 7785	<i>S. sonnei</i>	a ODC-	M	15 à 64	67	Suisse	A	12	>256	nd	8	CTX-M-55	90	I1
#08 7891	<i>S. sonnei</i>	g	M	1 à 5	59	Non	ASSulTmpTe	16	>256	nd	24	CTX-M-15, TEM	90	I1
#08 8848	<i>S. boydii</i>	20	F	15 à 64	60	Turquie	ASNaTmpSxtTe	24	>256	0,13	2	CTX-M-15	90	-

A= amoxicilline, S= streptomycine, G= gentamicine, Na= acide nalidixique, C= chloramphénicol, Sul= sulfamide, Tmp= triméthoprim, Sxt = cotrimoxazole, Te= tetracycline, CAZ= céftazimide, CRO= ceftriaxone, CIP= ciprofloxacine, AZM= azithromycine.
nd= non déterminé

Pour l'étude des souches CIP^R (46 souches) différentes méthodes ont été employées, l'ensemble des résultats est disponible dans le **tableau 28**.

Tableau 28 : Analyse des 46 souches CIP^R isolées entre 2005 et 2008 :

Nombre de souche par année				Sérotype	Résistances associées	CMI (µg/ml)		substitutions dans les gènes chromosomique cibles				gènes plasmidique	Voyage (nbr de souches)
2005	2006	2007	2008			NA	CIP	<i>gyrA</i>	<i>gyrB</i>	<i>parC</i>	<i>parE</i>	<i>qnr</i>	
			1	<i>S. boydii</i> 19	SSulTmpTe	> 256	4	S83L, D87N	-	S80I	408D	-	Inde, Népal
			1	<i>S. dysenteriae</i> 1	ACSSulTmpTe	>256	3	S83L, D87N, A196V	-	S80I	408D	-	Inde
1				<i>S. dysenteriae</i> 1	ACSTmpTe	>256	3	S83L, D87N, A196V	-	S80I	408D	-	Madagascar
3		4	3	<i>S. flexneri</i> 2a	ACSTmpTe	>256	2 à 4	S83L, D87N, H211Y	-	S80I	408G	-	Inde (8), Népal, Inde & Népal
	1	1	1	<i>S. flexneri</i> 6 <i>boyd</i> 88	SSulTmpTe	> 256	3 à 32	S83L, D87Y	-	E84K	408D	-	Inde (2), Chine
		1	1	<i>S. flexneri</i> 2a	ACSSulTmpTe	> 256	4	S83L, D87G, H211Y	-	S80I	408G	-	Océan Indien, Inde
6		8	4	<i>S. flexneri</i> 2a	ACSSulTmpTe	> 256	2 à 8	S83L, D87N, H211Y	-	S80I	408G	-	Inde (11), Maldives (2), Congo, Maroc, Sénégal, aucun (2)
	3			<i>S. flexneri</i> 2a	ASSulTmpTe	> 256	3 à 8	S83L, D87N, H211Y	-	S80I	408G	-	Inde (2), Comores
	1			<i>S. flexneri</i> 2a	ASTmpTe	> 256	6	S83L, D87N, H211Y	-	S80I	408G	-	Inde
		1	2	<i>S. flexneri</i> 3a	CSSulTmpTe	> 256	6 à 12	S83L, D87G	-	S57R, S80I	408D	-	Inde (2), aucun
	1			<i>S. flexneri</i> 3a	SSulTmpTe	> 256	32	S83L, D87G	-	S57R, S80I	408D	-	Inde
			1	<i>S. sonnei</i> g	SSulTmpTe	> 256	3	S83L, D87G	-	S80I	408D	-	Inde
			1	<i>S. sonnei</i> g	SSulSxtTe	> 256	4	S83L, D87G	-	S80I	408D	-	Inde

A= amoxicilline, S= streptomycine, G= gentamicine, Na= acide nalidixique=NA, C= chloramphénicol, Sul= sulfamide, Tmp= triméthoprim, Sxt = cotrimoxazole, Te= tetracycline, CIP= ciprofloxacine, -= absence de mutation pour *gyrA* ou de gène pour *qnr*.

On peut noter que 70% des souches CIP^R ont été isolées de patient de retour d'un voyage en Inde.

Tous ces résultats sont en cours d'analyse et une prochaine publication en cours de rédaction décrira la situation en France du point de vue des infections à *Shigella* et de l'évolution de la résistance.

c. Étude de structure des populations de *Shigella*

* **Étude de la structure de la population des *S. sonnei*** : ce projet a été initié par le Wellcome Trust Sanger Institute à Cambridge (Royaume Uni) afin d'étudier un grand nombre de souches de *S. sonnei* du monde entier en utilisant différentes méthodes moléculaire : le "Multi Locus Sequence Typing" (MLST), des PCR ciblant des régions d'évolution rapide (surtout phagiques), séquençage Solexa, études de plasmides de virulence.

Le CNR a participé à la première phase de cette étude en envoyant de l'ADN d'une collection d'environ 150 souches de *S. sonnei*, isolées entre 1943 et 2007.

Les premières analyses ont permis d'observer une variabilité des plasmides de virulence qui pourrait être associée à un phénotype non-virulent. La distribution de cette forme avirulente est en cours d'étude au CNR sur des souches Françaises.

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

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

Nous avons initié une étude de génétique des populations de cet agent pathogène à partir d'une collection de 100 souches issues du CNR-IP, du CDC d'Atlanta et de l'ICDDR, Dhaka, Bangladesh, collection représentant la plus grande biodiversité possible (souches isolées de 1918 à nos jours sur les différents continents). Toutes ces souches ont été caractérisées par les méthodes traditionnelles et par PFGE, méthode de sous-typage souvent prise en défaut du fait de nombreuses séquences d'insertion mobiles dans le génome de Sd1.

L'analyse de la sensibilité aux antibiotiques de cette collection a permis d'identifier les 1ères souches multirésistantes lors de la grande épidémie d'Amérique centrale en 1969-1972. Cette résistance à la streptomycine, aux sulfamides, au chloramphénicol et à la tétracycline était médiée par un plasmide de type incB. De 1972 à 1981, plusieurs autres plasmides, de types incX ou incI1, entraînant une résistance additionnelle aux aminopénicillines et au cotrimoxazole ont été identifiés. Nous avons mis en évidence qu'au cours des années 1980 à partir de l'Inde, la très grande majorité des souches avait acquis dans le chromosome un îlot de pathogénicité (le SRL-PAI) comportant une région de multirésistance aux antibiotiques.

Pour connaître les relations entre les différentes populations bactériennes circulant à l'heure actuelle ou au cours des dernières décennies, notamment leur dynamique au regard des stratégies antibiotiques, il est nécessaire de pouvoir disposer d'une méthode de sous-typage informative sur le plan phylogénétique. Une analyse préliminaire par la méthode de référence de génétique des populations bactériennes, le MLST, sur 38 souches n'avait montré la présence que de deux séquençotypes, ST146 et ST260 (ne différant que par une mutation ponctuelle [ou Single Nucleotide Polymorphism, SNP] dans le gène *fumC*). Du fait de cette homogénéité génétique, il a été nécessaire d'identifier de nombreux autres gènes susceptibles de posséder des SNPs. L'inventaire de ces gènes est réalisé en collaboration avec la Plateforme de Génotypage et de Santé Publique PF8 et le Centre National de Génotypage d'Evry. Dans ce but, 21 souches représentatives ont été séquencées par la méthode Illumina/Solexa. L'analyse bioinformatique à la recherche de SNPs informatifs est en cours.

d. Méthodes de typage des souches de *Shigella*

*** Validation et mise en place d'une nouvelle technique de typage des souches de *S. sonnei* : le « Multi Locus Variable number of tandem repeats Analysis (MLVA/VNTR) »**

Cette technique, développée au CDC de Taiwan, serait susceptible d'être plus discriminante et aussi plus simple à utiliser que le PFGE pour *S. sonnei*. La validation de la méthode, passe par le typage avec 26 loci d'un grand nombre de souches de différentes origines. Afin d'évaluer cette méthode, 150 souches de *S. sonnei* du CNR-IP, isolées entre 1943 et 2007 ont été envoyées au CDC de Taïwan. Les résultats sont en cours d'analyse et devraient permettre d'apprécier le pouvoir discriminatif et la reproductibilité de cette méthode avant d'envisager son utilisation comme alternative au PFGE.

*** Caractérisation des séquences du gène *fliC* chez *Shigella*:**

Les souches de *Shigella* étant immobiles, le gène de la flagelline est considéré comme cryptique. Il existe une corrélation entre les allèles de *fliC* et le sérotype des *Shigella*. Ceci a été démontré au CNR-IP par analyse des profils de restriction de *fliC* (Roney et al. J Clin Microbiol. 2001).

En 2009, le CNR a continué à compléter sa base de séquences *fliC* avec 158 souches représentatives des différents sérotypes de *Shigella*. L'analyse des résultats a permis de mettre en évidence la présence de séquences d'insertion (IS) chez différents sérotypes (*S. boydii* 7, 16 & 17; *S. dysenteriae* 1, 9, 11 & 13). Après suppression des IS, des clusters de séquences *fliC* ont été mis en évidence :

- cluster 1 : *S. boydii* 1-4, 6, 8, 10, 14, 18-20 ; *S. dysenteriae* 3-7, 9, 11-15, sérotypes provisoires 93-119 et 97-10607 ; *S. flexneri* 6.
- cluster 2 : *S. boydii* 5, 7, 9, 11-12 sérotype provisoire E1621-54; *S. flexneri* 1-5
- cluster 3 : *S. boydii* 15-17
- cluster 4 : *S. sonnei* des différents biotypes.

Certain sérotypes ont des séquences *fliC* spécifiques: *S. boydii* 13; *S. dysenteriae* 1, 8, 10.

Certain sérotypes n'ont pas pu être amplifiés par PCR malgré différents essais avec différentes amorces : *S. dysenteriae* 2, sérotype provisoire BEDP 02-5104, et quelques *S. boydii* 12. L'explication la plus probable est que le gène *fliC* ou une région du gène soit délété pour ces sérotypes de *Shigella*.

*** Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR) : étude de la présence de séquences répétées dans le génome de *Shigella* :**

Le terme CRISPR désigne une famille de séquences génomiques répétées. Cette famille se caractérise par des séries de répétitions directes, courtes (de 21 à 37 paires de bases) et régulièrement espacées par des séquences, généralement uniques et non codantes, de 20 à 40 paires de bases (espaces ou spacers).

Un locus CRISPR avait été mise en évidence chez *E. coli* par Jensen et al, en 2002 (Mol. Microbiology). Nous avons évalué sa présence dans les génomes publiés d'*E. coli* et *Shigella*. Deux loci CRISPR (1 et 2) ont été mis en évidence. En 2009, le CNR a amplifié et séquencé 185 souches représentatives des différents sérotypes de *Shigella* pour le locus 1 et 29 souches pour le locus 2. L'analyse des résultats obtenus sur le locus 1 de 125 souches a permis de définir 2 importants clusters présentant une identité parfaite dans la composition en espaces du locus 1 :

- cluster 1 : *S. boydii* 1-5, 6-8, 1, 14, 18-20 ; *S. dysenteriae* 3-6, 9, 11-13, 15 sérotypes provisoires 97-10607 ; *S. flexneri* 6.
- cluster 2 : *S. boydii* 12, sérotype provisoire E1621-54, *S. flexneri* 1-5.

Les autres sérotypes montrent des variations dans le nombre et/ou la composition en espaces.

L'analyse des résultats des autres souches est en cours.

*** Construction d'une base de données de « Multi Locus Sequence Typing » (MLST) pour les différents sérotypes de *Shigella***

Le CNR est en train de développer une base de données MLST en suivant le protocole du «Cork College University» (<http://mlst.ucc.ie/>) utilisant 7 gènes de ménage :

adk (adenylate kinase), *fumC* (fumarate hydratase), *gyrB* (DNA gyrase), *icd* (isocitrate/isopropylmalate dehydrogenase), *mdh* (malate dehydrogenase), *purA* (adenylosuccinate dehydrogenase), *recA* (ATP/GTP binding motif)

Le séquençage de souches de *Shigella* de différents sérotypes a débuté en 2009, et se poursuivra en 2010 afin d'obtenir une base représentative de tous les profils MLST (séquencotype, ST) des *Shigella*. Pour 194 souches, les 7 gènes ont été séquencés et l'analyse des séquences est en cours. Le séquençage est effectué à la PF8.

e. Etude des nouveaux sérotypes de *Shigella*

*** Caractérisation des nouveaux sérotypes de *Shigella*.**

Chaque année le CNR-IP isole des souches de *Shigella* non sérotypables (NST) en agglutination classique avec les sérums disponibles.

Les souches de *Shigella* NST sont analysées par des méthodes moléculaires, telles que le sérotypage moléculaire par *rfb*-RFLP, séquençage *fliC* et parfois le PFGE et/ou le typage MLST. Un sérotype nouveau peut être défini à partir du moment où au moins 2 souches non épidémiologiquement liées présentent des profils moléculaire et biochimique identiques. Dans ce cadre, 3 nouveaux sérotypes ont pu être répertoriés au CNR :

- Le sérotype provisoire *S. dysenteriae* 93-119 : sérotype décrit pour la première fois en 1997 au Japon chez un patient de retour d'Inde et du Népal (souche transmise au CNR). Une collaboration en 2007 avec l'ICDDR de Dhaka (Bangladesh) a permis de relier cette souche 93-119 avec des souches isolées au Bangladesh (article en cours). De plus l'analyse rétrospective des souches de *Shigella* NST du CNR a permis de relier 4 autres souches à ce même sérotype (une en 2002 originaire du Sénégal, une en 2004 avec un voyage au Burkina Faso, une en 2008 sans voyage précisé et une en 2009 sans voyage précisé).
- Le sérotype provisoire *S. dysenteriae* BEDP-02-5104 : sérotype décrit pour la première fois en 2005 au Canada (souche et antisérum transmis au CNR). Six souches de *Shigella* NST (1 en 2005, 2 en 2007, 2 en 2008 et 1 en 2009) ont pu être reliées par *rfb*-RFLP et agglutination à ce sérotype (*rfb*-RFLP identique à *S. dysenteriae* 2 et agglutination avec l'antisérum BEDP-02-510). La description de ce sérotype variant de *S. dysenteriae* 2 est en cours.
- Un nouveau sérotype non décrit a été retrouvé chez 3 souches de *Shigella* NST du CNR (2 en 2007 et 1 en 2008) présentant un même profil en *rfb*-RFLP et qui ne se rapproche d'aucun profil connu. Ce nouveau sérotype est en cours de description.

Concernant les 5 souches NST de 2009, l'analyse *rfb*-RFLP a permis de les rapprocher:

- d'une souche du sérotype *S. dysenteriae* 93-119 (profil identique),
- d'une souche du sérotype *S. dysenteriae* 2 ou *S. dysenteriae* BEDP-02-5104 (profil identique),
- d'une souche de *S. sonnei* (profil proche),
- d'une souche du sérotype *S. dysenteriae* 97-10607 (96/204), (profil proche)

Une souche présentait un profil nouveau inconnu ne ressemblant à aucun des sérotypes décrits jusqu'à ce jour.

7- Liste des publications et communications 2009

Publications

Farfán MJ, Garay TA, Prado CA, Filliol I, Ulloa MT, Toro CS. *A new multiplex PCR for differential identification of Shigella flexneri and Shigella sonnei and detection of Shigella virulence determinants.* **Epidemiol Infect**, 2009, Sep 18:1-9.

Bonacorsi S, Bidet P, Mahjoub F, Mariani-Kurkdjian P, Ait-Ifrane S, Courroux C, Bingen E. *Semi-automated rep-PCR for rapid differentiation of major clonal groups of Escherichia coli meningitis strains.* **Int J Med Microbiol.** 2009 Aug;299(6):402-9.

Pignato S, Coniglio MA, Faro G, Weill FX, Giammanco G. *Plasmid-mediated multiple antibiotic resistance of Escherichia coli in crude and treated wastewater used in agriculture.* **J Water Health.** 2009 Jun;7(2):251-8.

Peigne C, Bidet P, Mahjoub-Messai F, Plainvert C, Barbe V, Médigue C, Frapy E, Nassif X, Denamur E, Bingen E, Bonacorsi S. *The plasmid of Escherichia coli strain S88 (O45:K1:H7) that causes neonatal meningitis is closely related to avian pathogenic E. coli plasmids and is associated with high-level bacteremia in a neonatal rat meningitis model.* **Infect Immun.** 2009 Jun;77(6):2272-84.

Badri S, Fassouane A, Filliol I, Hassar M, Cohen N. *Molecular typing of Escherichia coli strains isolated from food in Casablanca (Morocco).* **Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)**, 2009, Jun 15;55 Suppl:OL1132-7.

King LA, Mailles A, Mariani-Kurkdjian P, Vernozy-Rozand C, Montet MP, Grimont F, Pihier N, Devalk H, Perret F, Bingen E, Espie E, Vaillant V. *Community-wide outbreak of Escherichia coli O157:H7 associated with consumption of frozen beef burgers.* **Epidemiol Infect.** 2009; 137: 889-896.

Congrès nationaux ou internationaux en relation avec le CNR

P.Mariani-Kurkdjian, S. Ait - Ifrane, P Bidet, C.Courroux, S. Bonacorsi, E. Bingen. Multiplex PCR for fast and easy O serogroup determination in STEC in HUS patients E.coli National Associated Reference Center , Robert-Debre University Hospital, Paris, France. **VTEC 2009, Buenos Aires.**

Lisa King, E. Espié, S. Haeghebaert, F. Grimont, P. Mariani-Kurkdjian, I. Filliol-Toutain, Edouard Bingen, F-X. Weill, C. Loirat, H. de Valk, V. Vaillant & pediatric nephrology network. Surveillance of Haemolytic Uremic Syndrome in France, 1996-2007. **VTEC 2009, Buenos Aires.** 11/05/2009 .

Lisa King, E. Espié, S. Haeghebaert, F. Grimont, P. Mariani-Kurkdjian, I. Filliol-Toutain, Edouard Bingen, F-X. Weill, C. Loirat, H. de Valk, V. Vaillant & pediatric nephrology network. Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France, 1996-2007. Séminaire de Néphrologie Pédiatrique, 24/03/2009.

8- Programme de travail 2010-2011

A/ Pour les *E. coli* responsables d'infections digestives

Dans le but de confirmer l'identité des souches reçues au niveau de l'espèce génomique *E. coli/Shigella* le CNR continuera son activité tel qu'en 2009 c'est à dire :

- le CNR-IP et le laboratoire associé réaliseront la recherche par PCR du gène *uid* codant la beta-glucuronidase et différenciant les *E. coli / Shigella* des autres *Escherichia*
- le CNR-IP réalisera dans le cas de souches difficilement identifiables le séquençage du gène *rpoB* permettant de confirmer l'identité de la souche en déterminant le genre ou l'espèce grâce à sa banque de données pour toutes les Entérobactéries.

Puis le CNR-IP effectuera de façon systématique :

- **l'agglutination des souches d'origine intestinale** avec les antisérums : O25, O26, O44, O55, O78, O86, O91, O103, O111, O114, O118, O119, O124, O125, O126, O127, O128, O142, O145, O157, O158, O164,
- **la recherche par PCR, des gènes de virulence: *stx1*, *stx2*, *eae*, et *hlyA* sur souches bactériennes d'origine intestinale et dans les selles d'adultes,**
- **la recherche d'anticorps anti-LPS (IgA et IgM) des principaux sérotypes d'EHEC (O26, O55, O91, O103, O111, O128, O145 et O157) dans le sérum par la méthode de line-blot.**

Les autres gènes de virulence seront recherchés après entente préalable et en connaissance du contexte clinique ou épidémiologique.

La recherche par PCR des gènes de virulence dans les selles d'enfant ainsi que dans les souches d'origine extra-intestinale (méningite néonatale, urine ou de sang...) , et les demandes de recherche d'*E. coli* K1 seront adressées au laboratoire associé RD.

Point 1- Contribution 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 :

Développement et/ou amélioration des méthodes diagnostiques :

PCR multiplex pour la détermination de l'antigène somatique O des principaux sérotypes d'EHEC.

Développement de l'information des laboratoires et de leur formation par la diffusion de guides techniques :

Dans ce cadre un article permettant aux laboratoires d'avoir toutes les informations concernant les souches STEC a été rédigé par l'InVS, le CNR-IP et le laboratoire associé en 2008.

De plus, le CNR-IP et le laboratoire associé vont continuer le travail d'information des laboratoires et de formation de stagiaires déjà entrepris.

Point 2- Contribution à la surveillance des infections à STEC et du syndrome hémolytique et urémique (SHU) en lien avec l'Institut de Veille Sanitaire, en confirmant l'infection à STEC

Le CNR-IP et le laboratoire associé vont poursuivre la surveillance des infections à STEC, en collaboration avec l'InVS:

- Par la détection de gènes de pathogénicité sur les souches isolées ou directement à partir des selles particulièrement *stx* et *eae*, afin d'établir le lien avec le diagnostic SHU.
- **Par le sérodiagnostic (CNR-IP)** avec la technique de line-blot utilisant 8 sérogroupes d'*E. coli* fréquemment associés à la survenue de SHU (O26, O55, O91, O103, O111, O128, O145, et O157) **voir les 23 sérogroupes si nécessaire.**
- **Par la participation au Réseau Français de surveillance du syndrome hémolytique et urémique** en collaboration avec la Société Française de Néphrologie Pédiatrique et au **réseau Européen de surveillance des *E. coli* entérohémorragiques (ECDC)**
- **La surveillance et l'alerte** s'effectueront comme décrit précédemment avec des possibilités d'adaptation en fonction des épidémies et des besoins diagnostiques et à la demande de l'InVS.

Point 3- Participation, en lien avec l'Institut de Veille Sanitaire, à l'investigation de cas groupés

Le CNR-IP et le laboratoire associé vont poursuivre leur participation à l'investigation des cas groupés, en collaboration avec l'InVS, par : **Typage des souches et comparaison des souches isolées chez les malades et d'autres sources (alimentaire ou animale):**

Les souches STEC suspectées groupées sont étudiées par PFGE selon un protocole standardisé internationalement.

Point 4- Collaboration avec les structures en charge de la surveillance chez l'animal, dans les aliments

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

Point 5- Contribution à des études de recherche appliquée

• Sérotypage moléculaire des *E. coli* (CNR-IP) :

Le sérotypage des *E. coli* étant difficile (peu de sérums commercialisés, sérums non absorbés, nombreuses réactions croisées et incertitudes, prix des sérums élevés), avec une grande complexité du système de sérotypage (plus de 170 antigènes O et plus de 20 antigènes H connus) et l'émergence de nouveaux sérotypes, les méthodes de sérotypage moléculaire ont été développées au CNR (*rfb*-RFLP et séquençage *fliC*) et seront utilisées pour le typage des souches STEC non sérotypables.

Point 6- Contribution avec l'Institut de Veille Sanitaire aux réseaux de surveillance internationaux et en particulier européens

• Le CNR a participé plusieurs années au réseau européen de surveillance Enter-Net qui est chargé de la surveillance internationale des infections gastro-intestinales humaines (*E. coli* entérohémorragiques), et continuera de participer au réseau européen ECDC-FWD.

• Le CNR répond aux demandes d'information émanant de l'ECDC ou d'autorités sanitaires des états de l'Union Européenne et des pays de l'espace économique européen.

• Le CNR-IP et le laboratoire associé participent chaque année à des **contrôles de qualité** externes internationaux sur le « sérotypage, détection de gènes de virulence et PFGE de souches STEC ou *E. coli* » organisés par le **Réseau Européen de Surveillance aux infections à EHEC** (Enter-Net puis ECDC-FWD)

Point 7- Contribution à l'alerte en signalant à l'Institut de Veille Sanitaire tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, survenue de cas groupés, apparition de souches inhabituelles

Le CNR et le laboratoire associé transmettent et continueront à transmettre quotidiennement par fax, téléphone, email et/ou par courrier tous les foyers de cas groupés à un même groupe de STEC (épidémies familiales, hospitalières, scolaires, crèches, toxi-infections alimentaires collectives, infections collectives) signalés par les laboratoires correspondants.

B/ Pour les *E. coli* responsables de méningites néonatales (laboratoire associé)

Point 1- 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 :

- Typage et génotypage d'*E. coli* responsables de méningite néonatale (ECMN)

Les souches sont caractérisées d'une part par leur appartenance à un groupe phylogénétique et d'autre part par leur empreinte de virulence.

Le **groupe phylogénétique** sera déterminé par un PCR multiplex permettant de distinguer les 4 principaux groupes (A, B1, B2, D). Les sous groupes phylogénétiques seront déterminés par ribotypage.

Les **empreintes de virulence** comporteront la recherche par PCR des gènes de virulence suivant :

- Adhésines : Pfimbriae (*papC*, *papGII*, *papGIII*), Sfimbriae (*sfaS*, *sfa/foc*)
- Toxines : Hémolysines (*hlyC*), cytotoxique necrotising factor (*cnf1*)
- Systèmes de captation du fer: yersiniabactine (*fyuA*), aerobactine (*iucC*), salmocheline (*iroN*)
- Invasines : invasive brain endothelial cell (*ibeA*)

L'ensemble de ces caractéristiques associé à la recherche phénotypique du séro-groupe capsulaire K1 et des principaux antigènes somatiques O (83, 45, 18, 16, 7, 1) permettra d'affilier chaque souche à un groupe clonal. Ce résultat sera confronté aux données cliniques de chaque patient.

De plus dans le cadre d'un projet collaboratif avec l'unité INSERM U722 du Pr Denamur, notre souche de référence O45 a été séquencée au Génoscope. L'analyse de la séquence a permis de développer une PCR spécifique du locus codant pour l'antigène O45.

- Investigation de cas groupés

Le laboratoire 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 champ-pulsé. Ces investigations bénéficieront de l'expérience du laboratoire depuis une quinzaine d'années dans le domaine de l'épidémiologie moléculaire ce qui nous a permis de constituer une banque de profils type.

Point 2- Développement du réseau national de surveillance en lien avec l'InVS

Le Pr E. Bingen est coordinateur avec le Pr Aujard (Chef de service de Néonatalogie) de l'Observatoire national des méningites bactériennes de l'enfant. Cet observatoire a été 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). Cet observatoire comprend un réseau 259 services de pédiatrie et 168 services de bactériologie répartis dans toutes la France.

Une meilleure prévention et l'amélioration de la prise en charge thérapeutique des méningites à *E. coli* nécessitent l'établissement de **facteurs de risque prédictifs d'infection d'une part et prédictifs d'évolution péjorative** d'autre part. A ce jour il n'existe aucune étude nationale ou internationale ayant permis d'établir de tels facteurs.

Nous nous sommes proposés à travers une enquête nationale d'établir des facteurs prédictifs de risque en intégrant les données cliniques et microbiologiques moléculaires des méningites néonatales à *E. coli*.

Point 3- Etude et suivi de la résistance des souches aux antibiotiques

La sensibilité des souches aux principales familles d'antibiotiques en particulier amoxicilline, amoxicilline/acide clavulanique, céfotaxime, aminosides et ciprofloxacine sera étudiée par la méthode de l'antibiogramme et la détermination des CMI. Ces techniques sont réalisées quotidiennement au laboratoire. La prévalence de la résistance pour chacun de ces antibiotiques pourra ainsi être déterminée.

Point 4- Expertise pour une aide au diagnostic des méningites décapitées par antibiothérapie

Le laboratoire apportera une expertise pour l'aide au diagnostic des méningites néonatales décapitées par une antibiothérapie par la réalisation de PCR spécifique 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 2004) et à ce titre a obtenu l'appel d'offre pour l'innovation technologique de l'APHP.

Le laboratoire, de part son rôle de référent en thérapeutique anti-infectieuse au sein de l'hôpital Robert-Debré, pourra apporter son aide dans la prise en charge thérapeutique et le suivi du traitement antibiotique des méningites néonatales.

Point 5 -Contribution à l'alerte en signalant à l'InVS tout événement inhabituel

Grâce au réseau de l'Observatoire national des méningites, le laboratoire associé pourra signaler à l'INVS toute augmentation significative de cas liés à un clone ainsi que la survenue de formes cliniques particulières ou de souches inhabituelles.

Point 6 - Mise en place d'un réseau de surveillance des infections materno-fœtales à *E. coli* au sein des maternités de l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris. Ce réseau est constitué de l'ensemble des laboratoires de ces hôpitaux qui adresseront les souches isolées pour une caractérisation moléculaire. Ce réseau permettra d'établir l'épidémiologie moléculaire des souches d'*E. coli* responsables d'IMF et permettra d'établir une incidence de ces IMF. Il pourra ultérieurement être étendu à tout le territoire

Point 7 : Microévolution de clones virulents de *E. coli* O157:H7 et K1 (laboratoire associé)

Le laboratoire associé participera au projet coordonné par la plateforme PF8 de l'institut Pasteur dans le cadre de l'appel à projet du DIM Maladies infectieuses, Parasitaires et nosocomiales émergentes (Ile de France). Le projet consistera à étudier la microévolution de clones virulents d'*E. coli* O157:H7 et K1

- **O157:H7** - Séquençage des souches de *E. coli* productrices de Vérotoxines, en particulier les souches O157:H7 dans un but d'épidémiologie génomique permettant de caractériser les clones présents en France et de mettre en évidence des marqueurs génomiques caractéristiques. De plus, en cas d'épidémie, le séquençage pourrait servir de méthode de génotypage de recours.

- ***E. coli* K1** - Le NGS sera appliqué à différentes souches représentatives des clones de *E. coli* responsables de méningites néonatales (ECMN), ceci permettrait d'avoir une vision exhaustive des éléments génétiques acquis par les ECMN comparativement aux souches commensales et aux autres

souches appartenant à un autre pathotype et déjà séquencées. L'étude portera plus particulièrement sur le sous-groupe hautement virulent d'*E. coli* K1 responsable d'infections extraintestinales (ExPEC) défini par le séquence-type ST29 (méthode MLST de Whittam), ST95 (MLST de Achtmann), « groupe IX » (MLST de Denamur) ou le ribotype B21 (Bonacorsi). Ce sous-groupe se compose en particulier de souches de sérotype O2 responsables de septicémies d'origine urinaire (urosepsis). Sans méningite, de souches de sérotype O18 responsables de méningites mais pas d'urosepsis et de souches de sérotype O45 responsable à la fois de méningites et d'urosepsis. La comparaison exhaustive du génome de 20 souches devrait permettre de mieux appréhender la physiopathologie des différentes infections liées à ce sous-groupe.

C/ Pour les *Shigella* (CNR-IP)

Point 1- Suivi des tendances évolutives temporelles des différentes espèces de *Shigella*, en s'appuyant sur le réseau de LABM sur tout le territoire :

- Le CNR-IP poursuivra le **sérotypage systématique de toutes les souches adressées**.
- **Un relevé hebdomadaire** des souches de *S. sonnei* sera envoyé à l'InVS.

Point 2- Suivi de l'évolution de la résistance des *Shigella* aux antibiotiques et des mécanismes de résistance en liaison avec le CNR de la résistance aux antibiotiques :

La surveillance de la résistance aux antibiotiques des *Shigella* est réalisée en routine pour toutes les souches. Une attention particulière est portée aux souches de *S. sonnei* résistantes à AMX et SXT avec la mise en place en routine pour ces souches d'un antibiogramme complémentaire à l'AZM. Le suivi des souches résistantes aux C3G et fluoroquinolones sera poursuivi.

Point 3 - Contribution à la détection et à l'investigation des cas groupés en lien avec l'Institut de Veille Sanitaire

Le CNR continuera de communiquer à l'InVS tous les cas groupés d'infections à *Shigella* (épidémies familiales, hospitalières, scolaires, crèches, toxi-infections alimentaires collectives, infections collectives) signalés par les laboratoires de son réseau.

En cas d'investigation de cas groupés, le CNR communiquera aux autorités sanitaires, aussi fréquemment qu'il est nécessaire, les informations épidémiologiques essentielles sur les nouvelles souches identifiées par le CNR comme appartenant au sérotype épidémique. Le CNR mettra en œuvre toutes les techniques de typage nécessaires à l'identification d'un clone épidémique.

Point 4- Contribution à des études de recherche appliquée

Le CNR poursuivra ses travaux de recherche appliquée sur :

- **Le sérotypage moléculaire**

Le CNR continuera à effectuer le sérotypage moléculaire de toutes les souches de *Shigella* non agglutinables.

- **L'étude des nouveaux sérotypes de *Shigella***

Le CNR continuera à étudier les nouveaux sérotypes de *Shigella*, les décrire et si besoin fabriquer les sérums spécifiques.

- **L'étude de l'évolution de l'antibiorésistance:**

Le CNR finira l'analyse de l'étude de l'évolution des résistances émergentes : souches résistantes au C3G et souches résistantes à la ciprofloxacine.

- **L'étude de la structure de la population des *S. sonnei* :**

La collaboration avec le Wellcome Trust Sanger Institute à Cambridge sera poursuivie. Le CNR participera à l'analyse des résultats de l'étude génétiques des populations de *S. sonnei*, et réalisera des PCR sur des souches de *S. sonnei* reçues au CNR afin de vérifier la présence de deux types de plasmide de virulence (virulent et avirulent).

- **L'étude de la séquence *fliC* chez *Shigella*:**

La base de données de séquence sera complétée et analysée en détail.

- **L'étude du polymorphisme des loci CRISPR chez *Shigella*:**

L'analyse de la diversité des espaceurs obtenue sur l'ensemble des sérotype de *Shigella* sera complétée.

- **L'étude des sous types de *S. sonnei* par MLVA :**

Les résultats obtenus seront analysés et le pouvoir discriminant sera comparé à celui du PFGE.

- **La construction d'une bases de données MLST *Shigella*:**

L'analyse de la diversité des séquenotypes (ST) obtenue sur l'ensemble des sérotype de *Shigella* sera complétée.

- **L'étude de l'évolution génomique de *S. dysenteriae* de type 1**

Poursuite de l'analyse bioinformatique par la sélection des gènes contenant des SNPs informatifs sur les 21 génomes séquencés. L'analyse des gènes contenant des SNPs informatifs sera ensuite réalisée sur les 80 souches additionnelles de la collection et l'histoire évolutive de cet agent pathogène pourra être reconstituée.

Point 5- Participation aux réseaux de surveillance et d'alerte internationaux et européens

Le CNR-IP continuera de participer activement au réseau européen de surveillance ECDC-FWD. Ses responsables poursuivront leur implication dans le réseau Global Foodborne Infections (ex GlobalSalm-Surv) de l'Organisation Mondiale de la Santé dédié aux maladies entériques d'origine alimentaire.

Point 6- Contribution à l'alerte en signalant à l'InVS tout événement inhabituel (augmentation du nombre de cas, survenue de cas groupés, modification des profils de résistance..)

Le CNR-IP va poursuivre ses collaborations quotidiennes avec l'InVS

9- Collaboration avec la PF8

La collaboration avec la plateforme Génotypage des Pathogènes et Santé Publique PF8 est essentielle au CNR-ECS et ceci à différents niveaux :

- **CNR IP :**

- diagnostic différentiel *E. coli-Shigella* et autres bactéries : dans le cas de souches ayant des propriétés biochimiques ne permettant pas une identification formelle nous réalisons une PCR *rpoB* et le séquençage réalisé par la PF8 permet de déterminer ou non l'appartenance à la famille *E. coli* et *Shigella*. Ainsi en 2009, 41 souches envoyées au CNR comme *E. coli* ou *Shigella* ont été attribuées à d'autres genres, et 19 souches d'*E. coli* possédant un profil biochimique atypique ont été vérifiées en *rpoB*.

- Le sérotypage moléculaire de l'antigène H de toutes les souches d'*E. coli* non agglutinables *stx+* est réalisé par séquençage du gène *fliC* à la PF8. Les séquences obtenues sont comparées à la base de données du CNR.

- Dans le cadre de plusieurs projets de recherche la PF8 est un élément essentiel au CNR :

- Caractérisation des gènes de résistances aux antibiotiques de *Shigella* par séquençage des différents gènes responsables de la résistance.
- Mises en place d'une base de séquences MLST et CRISPR pour les différents sérotypes de *Shigella* (cf paragraphe 8-C point 4)
- Séquençage des génomes de *S. dysenteriae* 1 et analyse bioinformatique des gènes contenant des SNPs informatifs (cf paragraphe 8-C point 4)

- **Laboratoire associé RD :**

Dans le cadre de l'appel à projet du DIM Maladies infectieuses, Parasitaires et nosocomiales émergentes (Ile de France), la plateforme PF8 de l'Institut Pasteur coordonnera un projet de séquençage consistant à étudier la microévolution de clones virulents d'*E. coli* O157:H7 et K1 auquel RD participera (cf paragraphe 8-B point 7)

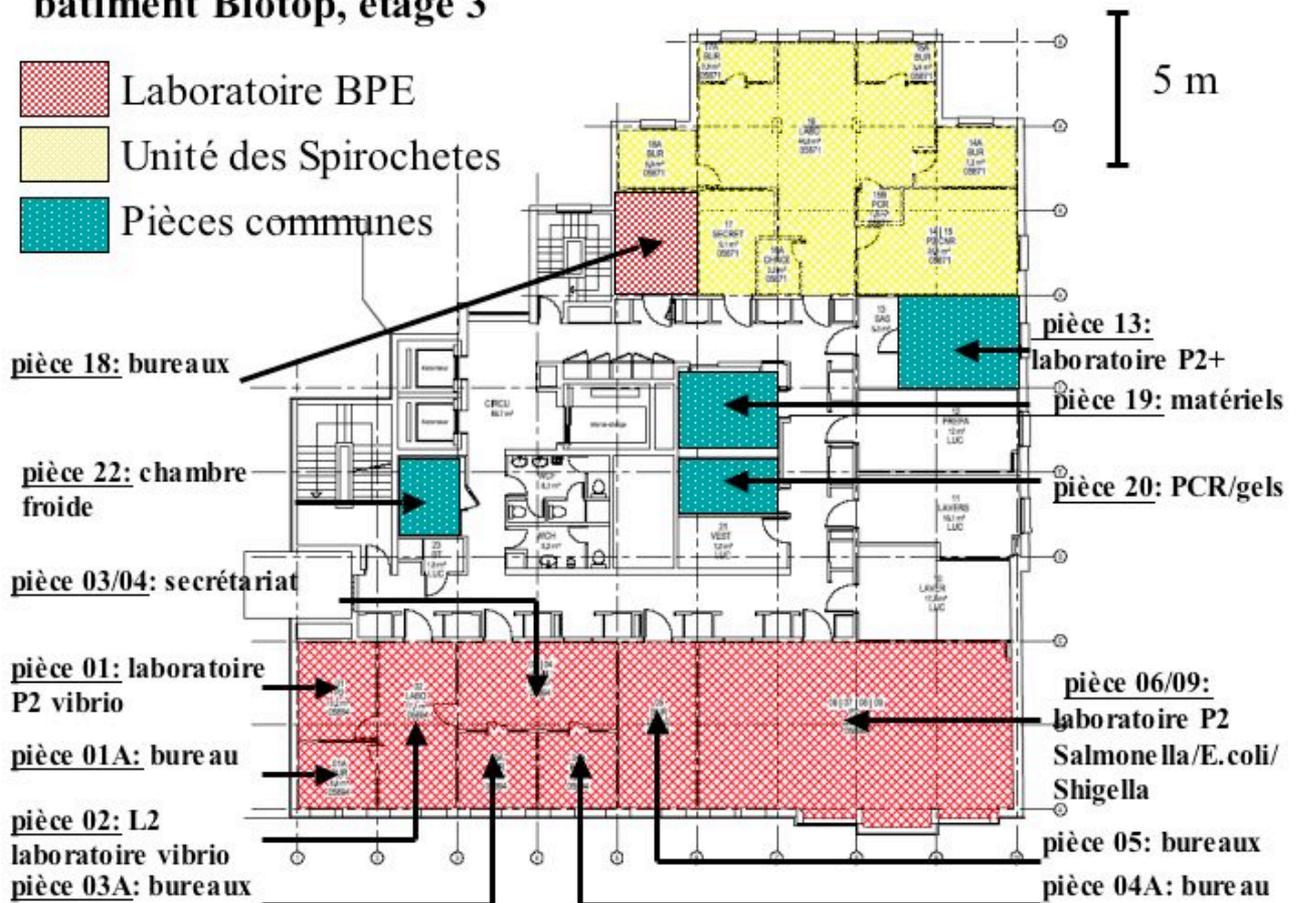
ANNEXES

Annexe 1 :

Plan du laboratoire des bactéries pathogènes Entériques

bâtiment Biotop, étage 3

-  Laboratoire BPE
-  Unité des Spirochetes
-  Pièces communes



Annexe 2 :

Fiches d'informations à joindre avec toutes demandes d'analyses.



Centre National de Référence des *Escherichia coli* et *Shigella*
Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques
Institut Pasteur - 28, rue du Docteur Roux - 75724 PARIS CEDEX 15
TEL : 01 45 68 87 39 (*) - FAX : 01 45 68 88 37 - e-mail : colishig@pasteur.fr
Dr. François-Xavier WEILL - Dr. Ingrid FILLIOL



Fiche de renseignement devant accompagner chaque envoi (téléchargeable à partir de notre site internet : <http://www.pasteur.fr/sante/dre/cadrecnr/ecolishig-index.html>)

Laboratoire Une seule adresse complète et lisible du laboratoire expéditeur Nom complet ou cachet du laboratoire : N° et rue [] [] [] [] [] Ville : E-mail : TEL :	Renseignements épidémiologiques ESSENTIELS ▲ Prélèvement humain - Nom, prénom du patient ou Réf. Age [] [] ou date de naissance [] [] / [] [] / [] [] Sexe : F / M Code postal du domicile du patient [] [] [] [] [] Statut : Malade <input type="checkbox"/> Porteur <input type="checkbox"/> inconnu <input type="checkbox"/> - Origine de la souche : Selles <input type="checkbox"/> Autre - Date d'isolement : [] [] [] [] [] et précisions : - Manifestations cliniques : Diarrhée <input type="checkbox"/> Date de début: / / Diarrhée sanglante <input type="checkbox"/> Date de début: / / SHU <input type="checkbox"/> Date de début: / / Asymptomatique <input type="checkbox"/> inconnu <input type="checkbox"/> autre - Cas isolé <input type="checkbox"/> Voyage récent (pays, date) - Cas groupés : <input type="checkbox"/> Nombre de cas : Hôpital <input type="checkbox"/> Familial <input type="checkbox"/> Ecole <input type="checkbox"/> Crèche <input type="checkbox"/> Colonie de vacances <input type="checkbox"/> T.I.A.C. <input type="checkbox"/> Autres - Aliment suspecté :
<i>Escherichia coli</i> • SOUCHE de <i>E. coli</i> entérohémorragique <input type="checkbox"/> Détection des facteurs de virulence (<i>stx</i> , <i>eae</i> , <i>hlyA</i>) <input type="checkbox"/> Sérotypage • SOUCHE : autres pathovars : (examen réalisé au CNR après entente préalable) Les souches de méningite néonatale ou pour typage K1 sont à adresser au laboratoire associé * • SELLES : recherche d' <i>E. coli</i> entérohémorragique <input type="checkbox"/> examen réalisé sur les selles d'adultes Les selles d'enfant sont à adresser au laboratoire associé au CNR* • SERUM POUR SERODIAGNOSTIC (Syndrome Hémolytique et Urémique=SHU) > 200 µl de sérum (sang coagulé ET centrifugé et non hémolysé) date de prélèvement : / / [] J0 [] J +15	▲ Prélèvement non humain (facturé) - Référence de la souche : - Date d'isolement : [] [] [] [] [] - Nature exacte du prélèvement : Vétérinaire : ; Alimentaire : Environnement - Origine géographique du prélèvement (département) :
<i>Shigella</i> • SOUCHE de <i>Shigella</i> , Identification antigénique <input type="checkbox"/> • INFORMATION pour <i>Shigella sonnei</i> seulement <input type="checkbox"/> (aucune souche envoyée) préciser +, -, ? pour les tests biochimiques suivants : ONPG <input type="checkbox"/> Rhamnose <input type="checkbox"/> Mannitol <input type="checkbox"/>	Prrière de joindre une copie de l'ANTIBIOGRAMME
* Laboratoire associé au CNR des <i>Escherichia coli</i> et <i>Shigella</i> : Patricia MARIANI, Service de Microbiologie Hôpital Robert Debré, 48 Bd Serurier 75019 Paris Cedex 19, Tel : (1) 40 03 23 41, Fax : (1) 40 03 25 50, e-mail : patricia.mariani@rdb.aphp-paris.fr Pour toute demande concernant le suivi des dossiers, nous vous prions de nous contacter : par fax (01 45 68 88 37) ou par E-mail (colishig@pasteur.fr) Merci de votre compréhension. Nous vous remercions pour votre collaboration à la surveillance épidémiologique des infections dues aux <i>E. coli</i> et <i>Shigella</i> . Le CNR étant informatisé et n'ayant pas de contact direct avec les patients, nous vous remercions d'informer ceux-ci de leur droit d'accès et de rectification des informations les concernant (Loi N°78-17 du 6 janvier 1978).	

Annexe 3 :

CNR-IP: Liste des laboratoires expéditeurs et répartition par type d'analyse.

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP						RD
			<i>Shigella</i>	<i>info Shigella</i>	<i>E. coli</i>	Selles	Sérums	<i>non E. coli-Shigella</i> ou souches mortes	selles et/ou souches pour <i>E. coli</i>
C.H. de Belley	01	BELLEY	2						
C.H Bourg en Bresse	01	BOURG EN BRESSE					3	1	1
L.A.M. Lalande	01	BOURG EN BRESSE	1						
Laboratoire Départemental d'Analyses	01	BOURG EN BRESSE	2						
C.H. du Haut-Bugey	01	OYONNAX			3				
C.H. de Chateau-Thierry	02	CHATEAU-THIERRY	2						
C.H. de Laon	02	LAON							2
L.A.M. Pokorny	02	SAINT QUENTIN	1						
L.A.M.de la Polyclinique Saint-Claude	02	SAINT-QUENTIN	1						
C.H. de Saint-Quentin	02	SAINT-QUENTIN			1				
L.A.M. Lapalisse	03	LAPALISSE	1						
C.H. de Montluçon	03	MONTLUÇON					1		1
C.H. de Moulins Yzeure	03	MOULINS			1				1
L.A.M. Recoules-Andrianony	03	MOULINS	1		3			1	
C.H. de Vichy	03	VICHY	1						
C.H. de Sisteron	04	SISTERON	1						
C.H. de Gap	05	GAP	2						
C.H. d'Antibes-Juan-Les-Pins	06	ANTIBES			1	2			2
L.A.M. Mannant-Beyrac	06	BEAUSOLEIL				4			
C.H. des Escartons	06	BRIANCON			1				
L.A.M. Baudinetto	06	CANNES			3				
C.H.G Grasse	06	GRASSE				1			
L.A.M. Pastorello	06	MOUANS-SARTOUX			1				
C.H. Fondation Lenval	06	NICE	1		1				
C.H.U. de l'Archet	06	NICE	4			1	3		2
L.A.M. Barla	06	NICE			1				
L.A.M. March	06	NICE			1				
C.H.G. d'Aubenas	07	AUBENAS	1						
C.H.G. de Privas-J.L. Bogdanovscky	07	PRIVAS	1						
L.A.M. du Champ de Mars	09	SAINT-GIRONS	1						
L.A.M. De La Gare	10	ROMILLY-SUR-SEINE			1				
C.H.G. de Troyes	10	TROYES	1		18	1	2	1	1
L.A.M. Hurdebourg-Continant	10	TROYES	1						
L.A.M. Plas et Mollet	10	TROYES	1						
L.A.M. Manton-Marty	11	CASTELNAUDARY			1				
L.A.M André Perucho	11	LEZIGNAN CORBIERE		1					
L.A.M. Pouillot Mairie	11	TROYES		1					
C.H. de Rodez	12	RODEZ			1				

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP					non <i>E. coli</i> - <i>Shigella</i> ou souches mortes	RD selles et/ou souches pour <i>E. coli</i>
			<i>Shigella</i>	info <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	Selles	Sérums		
C.H. Emile Borel	12	SAINT-AFFRIQUE	1						
C.H.G. d'Aix-en-Provence	13	AIX-EN-PROVENCE	3						
C.H.G. d'Arles	13	ARLES	2						
C.H.G. d'Aubagne	13	AUBAGNE			1				3
C.H. de la Timone	13	MARSEILLE					5		
C.H.U. Marseille	13	MARSEILLE							3
C.H. Nord	13	MARSEILLE					4		
C.H. Saint-Joseph	13	MARSEILLE			13				
L.A.M. Duval	13	MARSEILLE	1						
L.A.M. Hemobio	13	MARSEILLE	2						
L.A.M. Santini-Mespiedre-Seas	13	MARSEILLE			1			1	
L.A.M. Zeroukian	13	MARSEILLE					1		
C.H. de Martigues Les Rayettes	13	MARTIGUES	2						
L.A.M. Goffart	13	MIRAMAS						1	
L.A.M. de Welle	13	VELAUX			2			2	
C.H. du Bessin	14	BAYEUX			1				
C.H.R.U. de Caen	14	CAEN				8	22		17
Groupement Biologique des Carnes	14	CAEN					1		
L.A.M. Letard	14	DIVES-SUR-MER			1				
C.H. G. Robert Bisson	14	LISIEUX				1			
L.A.M. Lexobio/Sébé-Visseaux	14	LISIEUX	2						
L.A.M. Charbonnier-Rougery-Roche-Serres	15	AURILLAC	1		2				
C.H. Barbezieux St-Hilaire	16	BARBEZIEUX-ST-HILAIRE			1				
L.A.M. C.J. BIO	16	CHATEAUBERNARD			1				
L.A.M. C.J. BIO	16	COGNAC	1		6				2
C.H.G. de Girac	16	SAINT MICHEL			1				
C.H. Saint-Louis	17	LA ROCHELLE		4		1	1		
L.A.M.Ferrandier Belbeoch	17	LA ROCHELLE	1						
L.A.M. Prouteau-Dugaz	17	LA ROCHELLE	1						
L.A.M. Labiomas	17	ROYAN	2		1				
C.H. de Saintonge	17	SAINTES	4						
L.A.M. Colin et Haas/Bio3R	17	SAINT-MARTIN-DE-RE	1						
L.A.M. Ré-Bio Océan	17	SAINT-MARTIN-DE-RE	1						
C.H. Jacques Coeur	18	BOURGES	2						
Laboratoire Vétérinaire Départemental	18	BOURGES	1						
L.A.M. Lardy-Harriau-Ruffel	18	SAINT-AMAND-MONTROND	1		2				
C.H. de Brive	19	BRIVE-LA-GAILLARDE	3	2			1		1
L.A.M. Galtier	19	TULLE			1				
L.A.M. de L'Ospedale	2A	PORTO-VECCHIO	2						
L.A.M. du Golfe	2A	PORTO VECCHIO	1						
C.H.U de Dijon	21	DIJON	1						2

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP					RD	
			Shigella	info Shigella	E. coli	Selles	Sérums	non E. coli-Shigella ou souches mortes	selles et/ou souches pour E. coli
L.A.M. Jannin-Robert	21	DIJON			1				
Laboratoire Régional De Biologie Médicale	21	FONTAINE LES DIJON							1
L.A.M. Grenier-Quillec	22	GUINGAMP	5						
L.A.M. Spillemaecker-Vest	22	LAMBALLE	2						
C.H. de Lannion - P. Le Damany	22	LANNION	2						
L.A.M. Rebour - Jezequel	22	LANNION			1				
L.A.M. Treguier-Lemoine	22	LANNION			4				
LAM Auffret Morvan	22	LOUDEAC		1					
C.H. "Yves Le Foll"	22	SAINT-BRIEUC	2	3		2	2		2
C.H.U. Jean Minjoz	25	BESANCON			2		4		5
L.A.M. Merle Lombardot	25	GRAY					1		
L.A.M. Saint-Hillier	25	MAICHE	1						
L.A.M. du Chateau	25	MONTBELIARD	5						
L.A.M. Mougey	25	ORNANS			1				
L.A.M. Millon	25	PONTARLIER			2				
L.A.M. Mathieu-Arnuti	26	CREST			2				
C.H. de Montélimar	26	MONTELMAR		2	1	1	2		
L.A.M. Bourg	26	MONTELMAR	1		1				
L.A.M. Grosjean	26	MONTELMAR	2						
L.A.M. Unibio	26	ROMANS	1						
CHI Eure -seine/ Evreux et vernois	27	EVREUX		1					
L.A.M. Lorgnier	27	EZY SUR EURE							1
C.H.G. de Gisors	27	GISORS				1	2		
LAM Haimart	27	GISORS		1					
L.A.M. Rivemale	27	VERNEUIL-SUR-AVRE			1			1	
L.A.M. Laumonier	28	AUNEAU			1				
C.H Louis Pasteur	28	CHARTRES	2	1					
L.A.M. Chauvin	28	EPERNON	2		1				
L.A.M. Girard Philippe	28	LUISANT			3			1	
L.A.M. Foret	28	VERNOUILLET			1				
C.H.U. Cavale Blanche	29	BREST			1	2	3		
C.H.U. de Brest	29	BREST							3
C.H.U. Morvan	29	BREST					1		
L.A.M. Brinquin	29	BREST			1				
L.A.M. Monard	29	BREST	1						
C.H.I. des Armées "Clermont-Tonnerre"	29	BREST NAVAL	1	1	1				
C.H.G. de Morlaix	29	MORLAIX		2		1			
C.H. Hôtel Dieu	29	PONT-LABBE	1						
L.A.M. Guesnier-Le Fauchoux	29	SAINT-POL-DE-LEON	1						
Centre Hospitalier D'Ales	30	ALES	2						
C.H.G. Louis Pasteur	30	BAGNOLS-SUR-CEZE	2		5				
L.A.M. de la Gardonnenque	30	LA CALMETTE			5				
L.A.M. des Hauts d'Avignon	30	LES ANGLES			5				
L.A.M. Crampette/Galtier/pages	30	ST-HIPPOLYTE-DU-FORT			7	1		4	

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP					RD	
			Shigella	info Shigella	E. coli	Selles	Sérums	non E. coli-Shigella ou souches mortes	selles et/ou souches pour E. coli
L.A.M Mourret	30	UZES	1		1				
L.A.M. Bio-Pole Labège	31	LABEGE	1						
L.A.M. Montrabe	31	MONTRABE	1	3					
L.A.M. du C.M.B. de Muret	31	MURET	2						
L.A.M. Astié	31	SAINT-ALBAN	3		1				
L.A.M. Larrard	31	SAINT-GAUDENS			1				
C.H. Joseph Ducuing	31	TOULOUSE	1						
C.H.U Purpan /I.F.B. Purpan	31	TOULOUSE	4	11			9		
L.A.M. CEDIBIO	31	TOULOUSE		1					
L.A.M. Montagut-Prola-Rousselle-De Mas	31	TOULOUSE	1		1	4			
L.A.M. Ferrandery	31	TOURNEFEUILLE	2	1					
L.A.M. Gagliano-Bousquet	31	VILLEMUR-SUR-TARN						1	
L.A.M. Froment-Fernandez	32	AUCH	1						
C.H.R. Pellegrin	33	BORDEAUX		1	3	1	20		8
L.A.M. Bionor	33	BORDEAUX					8		
L.A.M. Dutilh-Robert	33	BORDEAUX			1				
L.A.M. Exalab	33	BORDEAUX	1		1				
L.A.M. Pouget-Rechenmenn	33	BORDEAUX	1						
L.A.M. Taupin	33	BORDEAUX	2		1				
L.A.M. Selarl La Bonnaly/M. Onnaly	33	CAVIGNAC			2				
L.A.M. des Hauts-de-Garonne	33	CENON	1						
L.A.M. Roussille-Erny/Biolib Coutras	33	COUTRAS	1	1			1		
L.A.B.M. Iefrançois-Velez	33	EYSINES					1		
L.A.M. Sarthou-Berger-Tietard	33	GRADIGNAN			1				
L.A.M. Sicard	33	LANGON			1				
L.A.M. Beau-Bouchareinc	33	LATRESNE	1		1		1		
L.A.M. Dennery-Crockett	33	LE BOUSCAT	1		1				
C.H.G. Robert-Boulin	33	LIBOURNE			1				
L.A.M. Biomed	33	SAINT MEDARD EN JALLES						1	
I.D.R.P.H.T.	33	TALENCE			1				
LAM Bouvier-Berthet-Gossart	34	AGDE			1				
L.A.M. Meunier-Teulade-Poujol	34	AGDE			1				
L.A.M. C.Gilles	34	MARSILLARGUES	1						
C.H.U. Arnaud de Villeneuve	34	MONTPELLIER					10		
C.H.U. de Saint-Eloi	34	MONTPELLIER					2		
C.H.U. Lapeyronie	34	MONTPELLIER					4		
L.A.M. Illes et Mion /OC BIOLOGIE	34	MONTPELLIER	2		2			2	
L.A.M. Pontello-Candille	34	POUSSAN			1				
L.A.M. Bodart /Centre Biologique Setois	34	SETE	2						
L.A.M. Decraene	35	PACE			1				

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP						RD
			<i>Shigella</i>	info <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	Selles	Sérums	non <i>E. coli</i> - <i>Shigella</i> ou souches mortes	selles et/ou souches pour <i>E. coli</i>
C.H.R. Sud de Rennes	35	RENNES			3		27		3
L.A.M Delanoë - Yven - Combeau - Mesnard/ polyclinique st laurent	35	RENNES	2		2				
L.A.M. des Olympiades	35	RENNES	2						
L.A.M. Selarl Biolib	35	RENNES	1						
L.A.M. Selarl Henry- Hérisset-Mom	35	RENNES	2		1				
L.A.M. Villejean	35	RENNES			2				
C.H.U. Bretonneau	37	TOURS			2		6		
C.H.U. de Tours	37	TOURS							1
C.H.R.U. Trousseau	37	TOURS					3		
L.A.M. Paubiel-Aycardi- Thomas	37	TOURS	1						
C.H. Pierre Oudot	38	BOURGOIN-JALLIEU					1		2
L.A.M. Crozier-Vidon	38	BOURGOIN JALLIEU			1				
L.A.M. Medibio Ciapa	38	ECHIROLLES	1	1					
C.H.R.U. de Grenoble	38	GRENOBLE	5	1	3		2		
L.A.M. Bio Mérieux	38	LA-BALME-LES- GROTTE			1				
C.H.G. Lucien Hussel	38	VIENNE	1						
C.H.G. de Voiron	38	VOIRON	3						2
C.H.G. de Lons-le-Saunier	39	LONS-LE-SAUNIER					2		1
CH de Dax	40	DAX		1					
L.A.M. Bidegain	40	HOSSEGOR	1						
L.A.M. le Centre Du Lac Micots	40	SOUSTONS		1					
C.H.G. de Blois	41	BLOIS					1		
L.A.M. des Bords du loir	41	VENDOME			1				
L.A.M. Medibio	41	VENDOME				1			
C.H.G. de Firminy	42	FIRMINY			1				
C.H.G. de Roanne	42	ROANNE			1		2		
L.A.M. Seneterre et Associés	42	SAINT-CHAMOND	1						
C.H.U. Nord-St Etienne	42	SAINT-ETIENNE	1		1		5		
C.H. de Saint Priest en Jarez	42	SAINT-PRIEST-EN- JAREZ							1
C.H. Emile Roux	43	LE PUY-EN-VELAY	1						
L.A.M. Attiogbe-Hue-Seon	44	BOUGUENAI / LA MONTAGNE	2						
L.A.M. Biomedilam	44	CHATEAUBRIANT	1						
L.A.M. Garnier-Yonger- Langeard	44	CHATEAUBRIANT	2	1					
L.A.M. Birgand Priet	44	CLISSON	1						2
L.A.M. Dehorne et Associés	44	LA CHAPELLE-SUR- ERDRE	1						
L.A.M. Grandjean/Brousse/Lebreton	44	LE LOROIX- BOTTEREAU			1				
C.H.U. de Nantes	44	NANTES	4	1	1		15		12
L.A.M. Herbretreau-Leroux	44	NANTES			1				
L.A.M Lomondais, CBMS	44	NANTES	3						
L.A.M. Ruffin	44	NANTES	3						

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP					non <i>E. coli</i> - <i>Shigella</i> ou souches mortes	RD selles et/ou souches pour <i>E. coli</i>
			<i>Shigella</i>	info <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	Selles	Sérums		
L.A.M. Legrand	44	PORNICHET	1						
L.A.M. Bioloire	44	REZE	2						
L.A.M. Tharreau-Caudal	44	REZE	1		3				
C.H.G. de Saint-Nazaire	44	SAINT-NAZAIRE	2						
L.A.M. Biolam	44	SAINT-NAZAIRE	1						
L.A.M. Thomas	44	SAVENAY			1				
L.A.M. Petat	45	BELLEGARDE			1				
L.A.M. de la Guinarière	45	CHECY	2						
L.A.M. Selafo Eslab	45	CHECY	1						
L.A.M. Graveron-David/ clinique de la Présentation	45	FLEURY LES AUBRAIS	2						
C.H. de Gien	45	GIEN							1
L.A.M. du Chinchon	45	MONTARGIS				1			
C.H.R. d'Orléans / la source	45	ORLEANS	1	2		1	2		4
L.A.M. Desson	45	ORLEANS	1						
C.H.G. de Pithiviers	45	PITHIVIERS			5				
L.A.M Diep-Leroy	45	SAINT JEAN DE LA RUELLE							1
C.H. de Cahors	46	CAHORS			1	1	1		
L.A.M. de Saint-Céré	46	SAINT-CERE			1				
C.H.I. Marmande-Tonneins	47	MARMANDE	1						
L.A.M. Ferret-Fabre-Astruc	48	MARJEVOLS	1						
C.H. de Mende	48	MENDE			1				
C.H.U. d'Angers	49	ANGERS	2				10	1	2
L.A.M. Percheron-Roussel	49	BEAUPREAU			1				
C.H. d'Avranches-Granville	50	AVRANCHES		2			2		1
C.H. de Cherbourg	50	CHERBOURG							1
C.H. Louis Pasteur	50	CHERBOURG					1		
C.H. Public du Cotentin	50	CHERBOURG OCTEVILLE					2		
L.A.M. Laforest-Roblin	50	COUTANCES	1						
L.A.M. Dynabio	50	EQUEURDREVILLE	1						
C.H. Mémorial France-Etats Unis	50	SAINT-LO	1						
C.H. de Saint Lo	50	SAINT-LO							29
L.A.M. Biocentre Manche	50	SAINT-LO			2				
C.H. de Chalons-en- Champagne	51	CHALONS-EN- CHAMPAGNE					1		
C.H.G. Auban Mo't	51	EPERNAY CEDEX	1						
C.H.U. Robert Debré	51	REIMS	4	1			13		2
L.A.M.Gillard et Associés	51	REIMS	2	3					
L.A.M. Lahitete-Tang	51	VITRY-LE-FRANCOIS			1				
C.H.G. de Saint-Dizier	52	SAINT-DIZIER	1	1					
L.A.B.M. Bio Santé	52	SAINT-GEOSMES			4				
C.H. de Laval	53	LAVAL		2		1			
L.A.M. Biolaris	53	LAVAL	1			1			
C.H.U. de Nancy- Hopital central	54	NANCY	2		3	1	8		7
LABM Siest	54	PONT A MOUSSON					1		
CHU Nancy-Brabois	54	VANDOEUVRE LES NANCY					40		

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP						RD
			Shigella	info Shigella	E. coli	Selles	Sérums	non E. coli-Shigella ou souches mortes	selles et/ou souches pour E. coli
L.A.M. Le Roux-Barreteau	56	QUEVEN	1						
L.A.M. Fontaine-James-Fontenelle-Subilleau	56	PLOERMEL	1		15				
L.A.M. Goussé-Péron	56	RIANTEC			2				
C.H. Bretagne Atlantique	56	VANNES					3		1
C.H. Alpha Santé	57	HAYANGE			1				
C.H.I. des Armées Legouest	57	METZ	3						
C.H.R. de Metz-Thionville	57	METZ	4						
L.A.M. de la Tannerie	57	METZ	1						1
L.A.M. Pax	57	METZ	1						
L.A.M. Humbert	57	SARRALBE	1		1				
L.A.M.B. des Faïenceries	57	SARREGUEMINES			1				
L.A.M. Argenson-de Monchy	57	THIONVILLE	1						
L.A.M. Ferrand	58	NEVERS	1						
L.A.M. Centre Sambre Avesnois	59	AVESNELLES			1				
C.H. de Cambrai	59	CAMBRAI					1		
C.H. de Dunkerque	59	DUNKERQUE		2	1				1
L.A.M. Le Guilette/Biocerf Associés	59	DUNKERQUE	2						
LAM GAUQUIER	59	GRANDE SYNTHÉ	1						3
L.A.M. Biopath /Lavieville-Coppé	59	GRAVELINES			3				13
L.A.M. SOUPISON	59	LA MADELEINE	2		3				
L.A.M. Binois-Voisin	59	LAMBERSART	1						
C.H.R.U. Albert Calmette	59	LILLE	1		1		12		
C.H.R.U. Jeanne Flandre	59	LILLE			1				
C.H.U de Lille	59	LILLE							1
C.H.R.U. de Lille /H Roger Salengro	59	LILLE					7		
Institut Pasteur de Lille	59	LILLE					11		
L.A.M. Biolille	59	LILLE	2				3		
L.A.M. Daligault / Bio Qualys	59	LILLE FIVES	2		2				
C.H. de Sambre Avesnois	59	MAUBEUGE	1						
L.A.M Biofrance / CBM	59	MAUBEUGE	1		1				
L.A.M. Degaey-Martin	59	MAUBEUGE			1				
C.H. Gustave Dron	59	TOURCOING	2	3				1	
L.A.M. BIOCENTRE	59	TOURCOING		2					
C.H. de Valenciennes	59	VALENCIENNES				3	3		
L.A.M Debeaumont-Loonis	59	WATTRELOS			1				
C.H. Beauvais	60	BEAUVAIS		1			1		1
Centre de Biologie Oise-Picardie	60	BEAUVAIS	1						
C.H.G. de Compiègne	60	COMPIEGNE	1		1		1		
C.H. Creil	60	CREIL			3				3
L.A.M. Mbaloula	60	LIANCOURT	1						
L.A.M. Team	60	LIANCOURT	1						
C.H. de Senlis	60	SENLIS	2						
L.A.M. d'Argentan	61	ARGENTAN			1		1		
L.A.M. Moulin-Huart	61	LAIGLE	1						

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP					RD	
			Shigella	info Shigella	E. coli	Selles	Sérums	non E. coli-Shigella ou souches mortes	selles et/ou souches pour E. coli
C.H. d'Alençon	61	ALENCON		1		1			
C.H. d'Arras	62	ARRAS		1	4				4
C.H. de Bethune	62	BETHUNE			13	1	1		2
C.H. Duchenne	62	BOULOGNE-SUR-MER					2		
L.A.M. de Calais Nord	62	CALAIS			4				
L.A.M. Selarl Biopath	62	CALAIS			2				
L.A.M. Moriamez-Schmitt	62	CARVIN	1						
L.A.M. CARMI Nord/Pas de Calais	62	DIVION			1				
L.A.M. Polyclinique de Riaumont	62	LIEVIN			1				
L.A.M. du C.H.A.M	62	RANG DU FLIERS			1				
L.A.M. Chapy-Valleix	63	BEAUMONT					2		
C.H.U. Gabriel Montpied	63	CLERMONT-FERRAND			1		10		
L.A.M. Deléglise	63	CLERMONT-FERRAND	1						
L.A.M. de Montferrand	63	CLERMONT FERRAND	1						
CH Guy Thomas	63	RIOM		1					
L.A.M. Clavere Cous Bourrinet	64	BAYONNE	1						
L.A.M. Couture-Reutin	64	MORLAAS					1		
L.A.M. Riera-Puyade-Vidouse	64	MOURENX	1						
C.H. Lourdes	65	LOURDES	1						
C.H.I. de Tarbes	65	TARBES	1						
L.A.M. Daubin	66	CABESTANY			1				
L.A.M. Médipole	66	CABESTANY	1						
L.A.M. Biolab 66	66	CANET EN ROUSSILLON	2						
L.A.M. Mouliade-Pasquie	66	CANET EN ROUSSILLON						1	
C.H. Saint Jean	66	PERPIGNAN	1						
C.H.G. Mar_chal-Joffre	66	PERPIGNAN	1						
L.A.M. Darbois	67	BISCHHEIM			1				
C.H. d'Hagueneau	67	HAGUENAU			1				
LAM GINTZ	67	MUTZIG		2					
CH Ste catherine	67	SAVERNE		1					
C.H.G. de Sélestat	67	SELESTAT			1				
C.H.U. Strasbourg-Pr. B. Jaulhac	67	STRASBOURG	1	6	1				
Faculté de Médecine-Pr. H. Monteil	67	STRASBOURG	2						
Hopital Civil	67	STRASBOURG					1		
L.A.M. Schuh-Ebla/Biosphère	67	STRASBOURG	1	6	3				
L.A.M. Monnier	68	CERNAY	1		7				
L.A.M. Eimer-Lenys	68	COLMAR	10		1				
L.A.M. du Vignoble / Selarl Cab	68	KAYSERSBERG	1	1					
L.A.M. de la Croix Blanche	68	MULHOUSE							1

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP					RD	
			Shigella	info Shigella	E. coli	Selles	Sérums	non E. coli-Shigella ou souches mortes	selles et/ou souches pour E. coli
L.A.M. Bassin Potassique/Bihl	68	WITTENHEIM	1						
G.H Est / Hopital Femme-Mere-Enfant	69	BRON	8	5		2	21		
Hopital Neuro-Cardio Biochimie	69	BRON					1		
Hospices Civils de Lyon	69	BRON	2						
L.A.M. Francheville / Romelot	69	FRANCHEVILLE LE BAS	3						
C.H. de la Croix Rousse	69	LYON	5						
C.H.I.A. Desgenettes	69	LYON	1	2					
C.H.U. de Lyon	69	LYON							13
C.H. St Joseph-St Luc	69	LYON	1						
ENVL	69	LYON							4
Institut Hématologie et Oncologie Pédiatrique	69	LYON					1		
L.A.M. Biomnis	69	LYON	40	24	13		1		13
L.A.M. Dynabio	69	LYON	5						
L.A.M. Cornet-Dumont	69	MORNANT		1	3				1
C.H.G. de Villefranche-sur-Saône	69	VILLEFRANCHE - SUR-SAONE					4		2
L.A.M. Ingels-Vignon	69	VILLEFRANCHE-SUR-SAONE	1						
L.A.M. Merlé Lombardot	70	GRAY	1						
L.A.M. Benlarbi	70	HERICOURT	1						
C.H. Paul Morel	70	VESOUL	1						
C.H.I de la haute saône / William Morey	71	CHALON-SUR-SAONE	1	1	1	1	2		
L.A.M. Boucicaut	71	CHALON-SUR-SAONE		1					
L.A.M. Pole Santé Sarthe et Loir	72	LA FLECHE	2	1					
C.H. du Mans	72	LE MANS	3	1	1		2		4
L.A.M. Biomaine/Selca	72	LE MANS	1	5					
L.A.M. Duprey Sigogneau Groussin	72	LE MANS							5
L.A.M. SCP Duffournet Suermondt	73	BOURG ST MAURICE	1		1				
C.H. de Chambéry	73	CHAMBERY	1	2	6	1	5		1
L.A.M. du Grand Verger	73	CHAMBERY	2						
L.A.M. Bravais	73	LA MOTTE-SERVOLEX	10						
C.H. de la Région d'Annecy	74	ANNECY / PRINGY	3	5				1	
L.A.M. Michel	74	CHAMONIX	1		1				
L.A.M. Louveau	74	CLUSES			1				
C.H. du Léman	74	THONON LES BAINS / SAINT JULIEN EN GENEVOIS	1	3					
L.A.M. Bore-Guillin	74	THONON-LES-BAINS			5				
APHP - Hospitalisation A Domicile	75	PARIS							1
C.H. Armand Trousseau	75	PARIS		1			6		10
C.H. Bichat	75	PARIS							2

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP						RD
			<i>Shigella</i>	info <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	Selles	Sérums	non <i>E. coli</i> - <i>Shigella</i> ou souches mortes	selles et/ou souches pour <i>E. coli</i>
C.H. Cochin-St-Vincent de Paul	75	PARIS	1						7
C.H. de la Croix-Saint-Simon- Diaconesses	75	PARIS	1		1				
C.H. Européen Georges Pompidou	75	PARIS					1		
C.H. Hotel Dieu	75	PARIS	2						2
C.H. Lariboisière	75	PARIS							1
C.H. Léopold Bellan	75	PARIS	1						
C.H. Necker-Enfants Malades	75	PARIS	1			1	18		19
C.H. Notre-Dame du Bon Secours	75	PARIS				1			
C.H. Pitié Salpêtrière	75	PARIS	3	1	2				1
C.H. Raymond Poincaré	75	PARIS							2
C.H. Robert Debré	75	PARIS	8	6	18		8	1	66
C.H. Saint-Antoine	75	PARIS	2	5			1		2
G.H. Saint-Joseph	75	PARIS						1	
C.H. Saint-Louis	75	PARIS			1				4
C.H. Tenon	75	PARIS	4	1	2				5
Clinique La Jonquiere	75	PARIS							1
Institut Alfred Fournier	75	PARIS	2		1				
Institut Pasteur	75	PARIS	18		3				
L.A.M. Aim	75	PARIS			1				
L.A.M. Ana 11 Voltaire	75	PARIS	2						
L.A.M. Benassaya	75	PARIS	2						
L.A.M. Berthemy	75	PARIS	2						
L.A.M. Biocell	75	PARIS	3						
L.A.M. Bio Etoile	75	PARIS			1				
L.A.M. Bio Horizon	75	PARIS	6		2		2		
L.A.M. BPA	75	PARIS			1				
L.A.M. Centre Biologique Tolbiac	75	PARIS	5						
L.A.M. Cosem	75	PARIS	4						
L.A.M. Crimée-Curial	75	PARIS	1						
L.A.M. de la Scala	75	PARIS			1				
L.A.M. des Olympiades	75	PARIS	4						
L.A.M. Dorra	75	PARIS						1	
L.A.M. Drouot/Cassuto	75	PARIS	1					1	
L.A.M. du Centre Médical des Entreprises/CMETE	75	PARIS	3						
L.A.M. du Parc Monceau	75	PARIS	1						
L.A.M. du Pont des Loges	75	PARIS	1						
L.A.M. Gambetta	75	PARIS	1						
L.A.M. Gascon Selarl	75	PARIS			1		3		
L.A.M. Gendrault	75	PARIS							3
L.A.M. Gérard Noet	75	PARIS	2		5				
L.A.M. Guirao-Devilaine	75	PARIS			1				
L.A.M. Kleinmann	75	PARIS						1	
L.A.M. La Fourche	75	PARIS	2						
L.A.M. Magenta	75	PARIS	2						

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP						RD
			<i>Shigella</i>	info <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	Selles	Sérums	non <i>E. coli</i> - <i>Shigella</i> ou souches mortes	selles et/ou souches pour <i>E. coli</i>
L.A.M. Maublanc	75	PARIS	2						
L.A.M. Nation	75	PARIS			1			1	
L.A.M. Nordman	75	PARIS	1						
L.A.M. Richelieu	75	PARIS	4		1				
L.A.M. Royer	75	PARIS			1				
L.A.M. S.N.C.F. Paris Ile de France	75	PARIS	2						
L.A.M. Selarl Laboratoire Bionord	75	PARIS	1						
L.A.M. Spontini-Georges Mandel	75	PARIS					1		
L.A.M. Vauvenargues	75	PARIS	1						
L.A.M. Leroy et Dircks Dilly	76	BOLBEC	1		3				
C.H.G. de Dieppe	76	DIEPPE	1		7				1
C.H.I. Elbeuf/Louvier/Val-de-Reuil	76	ELBEUF	2	2					
L.A.M. Selca Label bio	76	ELBEUF		1					
L.A.M. Bioval Andriau	76	ISNEAUVILLE	1						
C.H.G. Jacques Monod	76	LE HAVRE /MONTIVILLIERS					5		
C.H. Le Havre	76	LE HAVRE							6
L.A.M. Selarl Solabio/Boudhabhay	76	LILLEBONNE	1						
L.A.M. Loisel	76	MONTIVILLIERS		2					
L.A.M. Le Portal	76	PAVILLY						1	
C.H.U. Charles Nicolle	76	ROUEN	9	4			14		
C.H.R.U. de Rouen	76	ROUEN			2				3
L.A.M. de l'Europe	76	ROUEN	1						
L.A.M. Mathilde	76	ROUEN	5		1				
L.A.M. Boyer	76	SAINT ETIENNE-DU-ROUVRAY	2	3	1				
L.A.B.M. Delastre	76	SAINT ROMAIN COLBOSC			1				
L.A.M. Serent Mariette et Lemeteil Denis (SCP)	76	SAINT VALERY EN CAUX							1
L.A.M. Saal	77	CHELLES			1				
C.H. de Fontainebleau	77	FONTAINEBLEAU							1
C.H.G. de Lagny	77	LAGNY-SUR-MARNE	5	1	1	1			
L.A.M. Kinix	77	LE MEE-SUR-SEINE	1						
L.A.B.M. Polibio	77	MEAUX			1				
C.H. de Melun	77	MELUN		2			1		
L.A.M. Medibio 45	77	MELUN	1						
C.H. Nemours	77	NEMOURS			1				
C.H. de Provins	77	PROVINS							1
L.A.M. du Centre/Nozach	77	SAINT-GERMAIN-SUR-MORIN	2		2				
L.A.M./Selarl d'Armainvilliers	77	TOURNAN-EN-BRIE			1				
L.A.M. Bio VSM	77	VAIRES SUR MARNE	2	5					
L.A.M. Andresy	78	ANDRESY			2				
L.A.M. Carillon	78	CHATOU	1						

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP						RD
			<i>Shigella</i>	info <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	Selles	Sérums	non <i>E. coli</i> - <i>Shigella</i> ou souches mortes	selles et/ou souches pour <i>E. coli</i>
L.A.M. Romagné	78	CONFLANS SAINT HONORINE							1
L.A.M. Sainte Beuve	78	GUYANCOURT			1				
LABM Harrewyn Symbiolab	78	ELANCOURT					1		
L.A.M. Guyancourt/Morgano	78	GUYANCOURT			2				
L.A.M. la Caravelle	78	LA CELLE-SAINT-CLOUD	1		6				
C.H.G. André Mignot de Versailles	78	LE CHESNAY	1	2		1			
L.A.M. Gillette-Dumont-Cadenet	78	LE PORT-MARLY			4			1	
L.A.M. Gambetta	78	LES MUREAUX	1						
Clinique Médical de la M.G.E.N.	78	MAISONS-LAFFITTE	1						
C.H. François Quesnay	78	MANTES-LA-JOLIE	1				3		
C.H. De Mantes la Jolie	78	MANTES-LA-JOLIE							2
L.A.M. Selarl SBD / L.A.M. Dalbi	78	MANTES-LA-JOLIE	1						
L.A.M. Lemercier-Salomon-Volle	78	MONTVILLE			1				
L.A.M. Mathonnet	78	NOISY LE ROI				1			
C.H.I. de Poissy	78	POISSY	2	1					
C.H. de Rambouillet	78	RAMBOUILLET	1						
L.A.M. Marie-Thérèse/Lalanne	78	SAINT-GERMAIN-EN-LAYE	3		1				
L.A.M. Lucas	78	SARTROUVILLE			2				
L.A.M. Guy	78	TRAPPES	1						
L.A.M. Nalpas	78	VERNOUILLET	1						
C.H. de Versailles	78	VERSAILLES							1
L.A.M. Alpha	78	VERSAILLES	1						
L.A.M. Delage- Pimpin	78	VERSAILLES	2		2			2	
L.A.M. Delamare	78	VILLEPREUX			3			1	
L.A.M. Neuville-Guillot-Aguilera	79	BRESSUIRE	1						
C.H. de Niort	79	NIORT		1	1				
L.A.M. Bottos-Michaud-Lelong	79	NIORT	2						
C.H. Nord Deux Sèvres	79	THOUARS	1						
C.H.R.U. Nord	80	AMIENS	2			1	10		
C.H.U. d'Amiens	80	AMIENS							9
L.A.M. Drelon	80	AMIENS			1				
L.A.M. Montieres	80	AMIENS			1				
L.A.M. du Doulennais/Selarl	80	DOULLENS	1		2				2
L.A.M. Ducos-Arnaudis	81	CASTRES			1				
L.A.M. Henryon-Lecat	82	MOISSAC	1						
C.H. de Montauban	82	MONTAUBAN		1	2				
L.A.M. Laran-Castelneau	82	MONTAUBAN					1		
L.A.M. Clemenceau SELCA biofusion	83	DRAGUIGNAN		1					

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP						RD
			<i>Shigella</i>	info <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	Selles	Sérums	non <i>E. coli</i> - <i>Shigella</i> ou souches mortes	selles et/ou souches pour <i>E. coli</i>
L.A.M. Les Muriers	83	LA VALETTE DU VAR	4						
L.A.M. Soclam	83	LA VALETTE DU VAR	1						
C.H.G. d'Hyères	83	HYERES	1		1				
L.A.B.M. de la Gare	83	HYERES					1		
L.A.M. Pelassy-Baccarani	83	LELUC-EN- PROVENCE	1						
L.A.M. des Lices/Champsaur-Platre	83	SAINT-TROPEZ			1			1	
C.H.I.A. Sainte-Anne	83	TOULON	2	1					
C.H.I. Pont-Pré	83	TOULON			1				
C.H.I. Toulon-La Seyne/Mer	83	TOULON			1				1
L.A.M. Aubert-Verneuil	84	APT			1				
C.H. Henri Duffaut	84	AVIGNON	2	1	2				1
L.A.M. Martin-Pétris- Montegue	84	BOLLENE	3		1				
L.A.M. Mazet-Oustrin	84	MONTEUX			1				
L.A.M. Bouteille-Perrée	84	ORANGE			1				
L.A.M. Baudel	85	CHALLANS			3				
C.H. de Fontenay le Comte	85	FONTENAY-LE- COMTE CEDEX	1			1			1
C.H. La Roche sur Yon	85	LA ROCHE-SUR-YON		1					
L.A.M. Bonnaudet-Saïdi	85	LA ROCHE-SUR-YON	1	1	1				
L.A.M. Rochelab	85	LA ROCHE-SUR-YON	1						
L.A.M. Grimaud et Bernard	85	LES HERBIERS	2						
L.A.M. Le Reste	85	LES SABLES- DOLONNE			1				
L.A.M. Les Salines/Marche et Associés	85	LES SABLES- DOLONNE	2						
L.A.M. Sainte-Cécile	85	MORTAGNE-SUR- SEVRE			1				
L.A.M. CVF Biolab	85	SAINT GILLES CROIX DE VIE	1	3					
L.A.M. Fame	86	JAUNAY-CLAN	2						
C.H.R.U. de poitiers/ La Milîtrie	86	POITIERS	1	1			3		
L.A.M. Blanchon-Lhomme	86	POITIERS	1						
L.A.M. Payard-Grau	86	POITIERS	4						
C.H.R.U. Dupuytren	87	LIMOGES		2			4		1
C.H. de Saint-Dié	88	SAINT-DIE	1						
L.A.M. Biolam-St-Dié	88	SAINT-DIE	2						
L.A.M. du Parc/Gaultier	88	VITTEL			12				
C.H. d'Auxerre	89	AUXERRE							1
C.H. de Sens	89	SENS	1						
L.A.M. Grillet-Charbit	89	TONNERRE	1						
C.H.G. de Belfort Montbéliard	90	BELFORT	2	6			2		1
L.A.M. Selarl Leroy Benard	91	ARPAJON	1						
L.A.M. Gallet	91	BREUILLET						1	
C.H.G. de Dourdan	91	DOURDAN	3						

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP					RD	
			<i>Shigella</i>	info <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	Selles	Sérums	non <i>E. coli</i> - <i>Shigella</i> ou souches mortes	selles et/ou souches pour <i>E. coli</i>
L.A.M. Arrang	91	DOURDAN			2				
L.A.M. Brasseur	91	DOURDAN	1						
L.A.M. de Draveil	91	DRAVEIL	1						
L.A.M. Agora	91	EVRY			1				
C.H. Louise Michel/Sud Francilien	91	EVRY	5	1	1		1		
L.A.M. BS Bio Selarl	91	EVRY		1					
L.A.M. Diawara	91	EPINAY-SOUS- SENART	1						
L.A.M. Delaitre- Guilleminot	91	LES ULIS	2						
C.H.G. de Longjumeau	91	LONGJUMEAU	2	1		1	1		
L.A.M. de l'Yvette	91	LONGJUMEAU		1	2				
L.A.M. Cartier	91	MASSY	1						
L.A.M. Ayache	91	MONTGERON	4		2				
L.A.M. Cusson	91	MONTGERON	1		1				
C.H. d'Orsay	91	ORSAY			1				
L.A.M. Orsay Gare / biocaps	91	ORSAY		2	3				
L.A.M. Roux-Dreux	91	SAVIGNY-SUR-ORGE			1				
L.A.M. de Sousa	91	VIRY-CHATILLON			1				
L.A.M. Jacquy-Haffner	92	ANTONY	1						
L.A.M. Velpeau/Languet- Herisson	92	ANTONY	1		3				
L.A.M. GRL Bio	92	ASNIERES	1		2				
C.H. Ambroise Paré	92	BOULOGNE- BILLANCOURT			3	1		1	
L.A.M. Angotti-Salladeau	92	BOULOGNE- BILLANCOURT	2						
L.A.M. Point du Jour	92	BOULOGNE- BILLANCOURT	1						
L.A.M. du Parc/Dussac- Fuchs	92	BOURG-LA-REINE	1						
L.A.M. Maison Blanche	92	CHATILLON	2						
L.A.M. Blais	92	CHAVILLE			1				
C.H.I. des Armées Percy	92	CLAMART			1				
C.H. Antoine Béclère	92	CLAMART	3	2			1		3
L.A.M. Sandré	92	CLICHY	1		1				3
C.H. Louis-Mourier	92	COLOMBES	2	3	3		2		
L.A.M. Widmer	92	COLOMBES			3				
L.A.M. Fiévez/Selarl Bio	92	FONTENAY-AUX- ROSES	1						
C.H. Raymond Poincaré	92	GARCHES		1			1		
L.A.M. Beria Selca Paris Bio Ouest	92	GARCHES	1						
L.A.M. Destrée/Selarl Bio	92	ISSY-LES- MOULINEAUX	1						
L.A.M. Bio Paris Ouest	92	LA GARENNE COLOMBES		4	1				
L.A.M. Chamorand-Barbier	92	LEVALLOIS-PERRET	2						
L.A.M. Biosmose	92	RUEIL-MALMAISON	2		2			1	
L.A.M. Thiebaut	92	RUEIL-MALMAISON			1				

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP					RD	
			<i>Shigella</i>	info <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	Selles	Sérums	non <i>E. coli</i> - <i>Shigella</i> ou souches mortes	selles et/ou souches pour <i>E. coli</i>
C.H. de Saint-Cloud	92	SAINT-CLOUD	2						
L.A.M. De Verbizier-Barrau	92	SAINT-GIRONS	1						
L.A.M. Foch	92	SEVRES	1						
L.A.M. Lépaulard	92	VANVES			1				
C.H.G. Robert Ballanger	93	AULNAY-SOUS-BOIS	4		2				4
L.A.M. des Franciliens	93	AULNAY-SOUS-BOIS	3		1				1
C.H. Avicenne	93	BOBIGNY		1	1				
C.H. Jean Verdier	93	BONDY	8	2	2				4
L.A.M. Journo-Boadas	93	LES LILAS	3						
L.A.M. Duchenne-Guilngar	93	LES PAVILLONS SOUS BOIS	7						
C.H.I. de Montfermeil	93	MONTFERMEIL	1						
L.A.M. Elbaz	93	MONTREUIL	1						
C.H.I. André Grégoire	93	MONTREUIL-SOUS- BOIS		6			1		3
L.A.M. Azoulay	93	NOISY LE SEC		1					
L.A.M. Amgar-Calonne	93	ROMAINVILLE	2						
L.A.M. Gallieni	93	ROSNY-SOUS-BOIS	1		1				
C.H. de Saint-Denis	93	SAINT-DENIS	3	8					
L.A.M. Saint Ouen	93	SAINT-OUEN	1						
L.A.M. Diari	93	SEVRAN	1						
L.A.M. du Vert-Galant	93	TREMBLAY-LES- GONESSE /en France	2		1				
L.A.M. Bio Horizon	94	BRY-SUR-MARNE	1						
L.A.M. Cohen-Zaccarini	94	CHARENTON-LE- PONT	2		1				
L.A.M. Vigier- Chaléon/Biopath	94	CHARENTON-LE- PONT	1		1				
C.H. Spécialisé en Pneumologie	94	CHEVILLY-LARUE			1				
C.H. Henri Mondor	94	CRETEIL	1						1
L.A.M. Créteil Soleil	94	CRETEIL			1				
L.A.M. Dalbard	94	CRETEIL	5						
L.A.M. Stibbe	94	CRETEIL	2						
L.A.M. d' Ivry sur Seine	94	IVRY SUR SEINE							1
L.A.M. Freslon	94	IVRY-SUR-SEINE	1		1				
C.H.U. de Bicêtre	94	LE KREMLIN- BICETRE	1	1					
L.A.M. Zaccarini	94	MAISONS-ALFORT			1				
L.A.M. Blais-Clavel	94	NOGENT-SUR- MARNE	1						
C.H.I. des Armées Bégin	94	SAINT-MANDE			1				
L.A.M. Beauhaire-Bienvenu	94	SAINT-MANDE	1						
L.A.M. Vanheste-Bauduret	94	SAINT-MAUR-DES- FOSES						1	
L.A.M. Bertrand	94	VILLECRESNES	1		3				
C.H. Paul Brousse	94	VILLEJUIF	1						
L.A.M. Anaval-Vincennes	94	VINCENNES	1						
C.H. Victor Dupouy	95	ARGENTEUIL	3	1					
C.H. de Beaumont/ des Portes de l'Oise	95	BEAUMONT-SUR- OISE	1		2				1

Laboratoire expéditeur	Dept	Ville	IP					RD	
			Shigella	info Shigella	E. coli	Selles	Sérums	non E. coli-Shigella ou souches mortes	selles et/ou souches pour E. coli
C.H. René Dubos	95	CERGY-PONTOISE	5	5					
C.H. d'Eaubonne	95	EAUBONNE							2
C.H. Emile Roux	95	EAUBONNE	1						
C.H. Simone Veil	95	EAUBONNE	4	1					
L.A.M. Froger	95	EAUBONNE	1		2				
L.A.M. Perrault	95	ENGHEIN-LES-BAINS			1				
Clinique Claude Bernard	95	ERMONT			1				
L.A.M. Ackermann	95	ERMONT	2						
L.A.M. Bio Avenir	95	ERMONT			1			1	
L.A.M. du Clos Bertin	95	FRANCONVILLE	2						
C.H. de Gonesse / C.H. Emmanuel Rain	95	GONESSE	9	5					
L. de Biologie Clinique	95	HERBLAY							2
Centre Médical "Les sources"	95	MONTIGNY-LES-CORMEILLES			1				
L.A.M. Delacroix	95	MONTIGNY-LES-CORMEILLES				1			
L.A.M. Bonan	95	MRY-SUR-OISE	2						
L.A.M. Saint-André/Pauton-Setbon	95	PONTOISE			1				
L.A.M. Durand	95	SAINT-BRICE-SOUS-FORET	1						
L.A.M. Irabs	95	SARCELLES			3				
L.A.M. Miel	95	VAUREAL	1						
L.A.M. Guedj	95	VILLIERS-LE-BEL	3						
NON PRÉCISÉ	?	NON PRÉCISÉ		1	1				
C.H.U. de Pointe ^ Pitre/Abymes	971	POINTE-A-PITRE					4		
L.A.M. de Port de Caraïbes	971	SAINT FRANCOIS					1		
L.A.M. Roy-Camille	972	FORT DE FRANCE	1						
L.A.M du Courbaril	972	LE ROBERT			1				
selarl Alphalab	972	RIVIERE-SALEE			1				
C.H.G. de Cayenne "Andrée Rosemon"	973	CAYENNE	20		4			1	
Institut Pasteur de la Guyane	973	CAYENNE	2						
C.H. de l'Ouest Guyanais "Franck Joly"	973	SAINT-LAURENT-DU-MARONI	104		3			2	
L.A.M. Ouest-Bio Santé	973	SAINT-LAURENT-DU-MARONI	7						
L.A.M. du maroni	973	SAINT-LAURENT-DU-MARONI	5						
C.H. de Saint Gilles	974	SAINT-GILLES-LES-BAINS							1
L.A.M. Fridmann	974	SAINT-GILLES-LES-BAINS			4				1
C.H. Gabriel Martin	974	SAINT PAUL	1						
C.H. Sud Réunion	974	SAINT-PIERRE			4				
Centre des Salmonella et Shigella	B	BRUXELLES, B						1	
Istituto d'Igiene Università,	I	CATANIA, I	1						
TOTAL			830	237	515	58	454	42	391