

DIAGNOSTIC DES INFECTIONS A *YERSINIA* ENTEROPATHOGENES

Enquête auprès d'un échantillon de laboratoires hospitaliers et
privés d'analyses médicales

Janvier 2009

Rapport rédigé par Alexandre Leclercq, Cyril Savin, Elisabeth Carniel
et Véronique Vaillant

Citation suggérée : Leclercq A., Vaillant V., Laurent E., Savin C., Carniel E. Diagnostic des infections à *Yersinia* entéropathogènes : enquête auprès d'un panel de laboratoires hospitaliers et privés d'analyses médicales. Institut De Veille Sanitaire, Saint Maurice, Mars 2008. 32 pages.

SOMMAIRE

RESUME	4
1. INTRODUCTION.....	6
2. MATERIELS ET METHODES.....	8
3. RESULTATS.....	9
3.1. PARTICIPATION.....	9
3.2. CATEGORIES DES MEDECINS PRESCRIPTEURS DE COPROCULTURES.....	11
3.3. ACTIVITE DE COPROCULTURES	11
3.4. RAISONS POUR NE PAS REALISER LA RECHERCHE DES YERSINIA	11
3.5. VOLUME D'ACTIVITE ET PROPORTION DE COPROCULTURES POSITIVES A YERSINIA.....	12
3.6. INFORMATIONS DISPONIBLES SUR LE PATIENT TRANSMISES PAR LE PRATICIEN.....	13
3.7. TECHNIQUES UTILISEES POUR ISOLER LES YERSINIA.....	14
3.7.1. <i>Techniques d'isolement utilisées.....</i>	<i>14</i>
3.7.2. <i>Techniques utilisées pour l'identification et la caractérisation des souches.....</i>	<i>17</i>
3.7.3. <i>Conservation des souches isolées.....</i>	<i>21</i>
3.8. METHODES DE DIAGNOSTIC DES INFECTIONS A YERSINIA AUTRES QUE L'ISOLEMENT DES BACTERIES.....	22
3.9. TESTS DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES.....	22
3.9.1. <i>Méthodes</i>	<i>22</i>
3.9.2. <i>Antibiotiques testés.....</i>	<i>23</i>
3.10. ACCREDITATION OU GUIDE DE BONNES PRATIQUES POUR LA COPROCULTURE ET LES ANTIBIOGRAMMES POUR YERSINIA.....	24
4. DISCUSSION	25
5. RECOMMANDATIONS.....	30
REFERENCES.....	32

RESUME

Introduction

Depuis une dizaine d'années, les infections humaines causées par les *Yersinia entéropathogènes* rapportées au Centre National de Référence de la Peste et autres yersiniozes (CNR *Yersinia*), apparaissent en diminution en France. Cette diminution peut avoir plusieurs origines : une meilleure maîtrise du danger dans la chaîne alimentaire, une baisse des prescriptions de coprocultures, ou une diminution de la capacité à rechercher correctement les *Yersinia entéropathogènes*. L'InVS et le CNR *Yersinia* ont conjointement réalisé une enquête ayant les objectifs suivants : (i) déterminer le nombre d'examens de recherche des *Yersinia* effectués par les laboratoires d'analyses médicales, (ii) estimer la fréquence d'isolement des *Yersinia* dans les coprocultures et (iii) faire un inventaire des différentes méthodes de recherche de *Yersinia* utilisées.

Méthodes

Un questionnaire a été adressé en 2004-2005 à 953 laboratoires d'analyses médicales (LAM) français tirés au sort. Les informations collectées concernaient les activités et la détection des *Yersinia* par coproculture en 2003, le nombre de coprocultures réalisées, le nombre de résultats positifs, les indications pour lesquelles ces examens étaient réalisés, les méthodes de détection et de caractérisation des souches isolées, et les raisons éventuelles de ne pas rechercher des *Yersinia*.

Résultats

51% des laboratoires interrogés ont répondu au questionnaire. Une recherche de *Yersinia* a été effectuée sur 53% des 256 871 coprocultures pratiquées en 2003 par ces laboratoires. 333 ont donné lieu à l'isolement d'une souche de *Yersinia*. Ceci correspond à un taux d'isolement de 0,2% pour les laboratoires d'hôpitaux/cliniques et de 0,5% pour les laboratoires de ville. La méthodologie classique de recherche des *Yersinia* repose sur un isolement sur le milieu CIN incubé à 28/30°C pendant 24-48 heures, parfois précédé d'un enrichissement. L'identification du genre et de l'espèce est effectuée en majorité à l'aide de la galerie d'identification API20E. Aucune autre caractérisation des souches n'est généralement pratiquée. Les antibiogrammes sont effectués sur milieu de Mueller Hinton incubé à 37°C et incluent les antibiotiques pouvant entrer dans le schéma thérapeutique d'une yersinioze.

Conclusion

La majorité des LAM ayant répondu à l'enquête recherche des *Yersinia* dans les coprocultures et utilise pour cela les procédures d'isolement actuellement les plus adéquates. Les antibiogrammes sont également effectués selon des procédures appropriées et prennent en compte les antibiotiques potentiellement utilisables pour traiter une yersinioze.

Cependant, l'évaluation du risque *Yersinia* n'est pas satisfaisante en France pour plusieurs raisons:

- La recherche de *Yersinia* n'est pas effectuée de façon systématique sur toutes les coprocultures. Une décision de recherche basée sur la symptomatologie clinique n'est pas appropriée car les yersiniozes peuvent revêtir de nombreuses formes cliniques.
- Une très grande disparité dans la capacité à isoler une *Yersinia* a été observée parmi les LAM interrogés. Les raisons de cette disparité ne sont pas apparues dans cette enquête mais ne semblent pas liées à des différences dans les procédures d'isolement utilisées ou dans la répartition géographique des LAM.
- Le nombre de souches pathogènes reçues au CNR sous-estime très fortement le nombre réel de souches de *Yersinia* isolées en France. D'après les chiffres prédits par cette enquête, le CNR ne recevrait que 5% des souches isolées en France. De plus, ces souches ne seraient qu'un reflet très atténué du nombre d'infections humaines.
- Les données cliniques et épidémiologiques ne sont souvent pas connues des LAM, ce qui appauvrit fortement la surveillance épidémiologique de ces infections.
- L'analyse des souches s'arrête le plus souvent au niveau du genre ou de l'espèce, mais les tests permettant de différencier les souches pathogènes des non-pathogènes ne sont pratiquement jamais effectués par le laboratoire et très rarement par un laboratoire extérieur. Un traitement non justifié est donc probablement administré à des patients chez lesquels une *Yersinia* (non pathogène) a été isolée des selles.

Recommandations

L'incidence des yersiniozes humaines est, pour de nombreuses raisons, très largement sous-estimée en France. Une meilleure connaissance et appréciation de ce risque permettrait cependant un contrôle plus efficace et des décisions thérapeutiques mieux adaptées. Certaines mesures pourraient aider à mieux apprécier ces infections:

- Le diagnostic des yersiniozes humaines pourrait être amélioré en encourageant les LAM à rechercher systématiquement les *Yersinia* dans les coprocultures.
- Le taux d'isolement de ces bactéries serait significativement augmenté si une méthode plus optimale d'isolement existait et était facilement disponible.
- L'identification des raisons pour lesquelles certains LAM isolent mieux les *Yersinia* que d'autres pourrait permettre d'étendre les pratiques de ces laboratoires à l'ensemble des LAM français.
- La notification des cas pourrait être améliorée en incitant les LAM à envoyer leurs isolats au CNR. Cette mauvaise transmission des souches est au moins en partie attribuable au coût élevé de transport. Un acheminement gratuit des souches vers le CNR augmenterait très probablement de façon significative le nombre de souches reçues et analysées.
- Une décision thérapeutique adaptée serait plus facile à mettre en place si les LAM étaient mieux sensibilisés au fait que toutes les *Yersinia* isolées ne sont pas pathogènes et donc qu'il est important de distinguer les deux types de souches. Ceci nécessiterait aussi, soit que les LAM fassent eux-mêmes les tests distinctifs, soit qu'ils adressent de façon systématique les souches isolées à un laboratoire expert qui effectue ces tests.

1. Introduction

Parmi les 12 espèces de *Yersinia*, deux, *Y. enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis*, sont des espèces entéropathogènes, qui sont répandues dans le monde entier. *Y. enterocolitica* représente une des principales causes de diarrhées bactériennes dans différents pays tempérés et froids (EFSA, 2007).

Y. pseudotuberculosis est responsable d'une adénite mésentérique se traduisant cliniquement par un syndrome pseudoappendiculaire. De nos jours, la pseudotuberculose est rare en France mais se traduit par des infections sévères et fréquemment généralisées. Les infections à *Y. pseudotuberculosis* touchent majoritairement les jeunes enfants (formes intestinales) et les personnes âgées (formes septicémiques). Elles se présentent le plus souvent sous forme d'anadémies mais elles peuvent également causer des épidémies dans certains pays d'Europe du Nord comme la Finlande. Les principaux réservoirs animaux de *Y. pseudotuberculosis* sont les oiseaux et les mammifères sauvages (dont le lièvre). Le réservoir environnemental est l'eau (de surface et de réseau), les boues et les végétaux contaminés par des déjections d'animaux infectés.

Y. enterocolitica est l'espèce entéropathogène la plus fréquemment isolée en France. Elle provoque une entérite aiguë s'accompagnant de fièvre, diarrhées et douleurs abdominales (surtout chez les jeunes enfants) et parfois d'une adénite mésentérique pouvant mimer une appendicite (surtout chez l'enfant plus âgé et l'adulte). Les deux tiers des infections à *Y. enterocolitica* surviennent chez les enfants de moins de 10 ans. L'infection est le plus souvent modérée et spontanément résolutive, bien que des cas d'infections de longue durée avec altération importante de l'état général soient parfois observés. Elle se présente essentiellement sous forme de cas sporadiques ou de petites anadémies familiales. Les principaux réservoirs de *Y. enterocolitica* sont les porcs, puis les bovins, ovins et caprins.

Pour ces deux espèces (*Y. enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis*), la période d'incubation varie de 1 à 11 jours chez l'homme. Le plus souvent, la yersiniose ne dure que quelques jours à quelques semaines, mais il existe aussi des formes septicémiques, qui peuvent engager le pronostic vital. La transmission des *Yersinia* entéropathogènes est surtout d'origine alimentaire, par l'intermédiaire d'aliments (surtout à base de porc) ou d'eau contaminés. Bien que plus rare, une transmission interhumaine directe semble possible.

Hormis les infections digestives classiques, les *Yersinia* entéropathogènes peuvent poser des problèmes liés aux complications secondaires (polyarthrites réactionnelles et érythème noueux), à la gravité des cas survenant sur terrains fragilisés (thalassémie, immunodépression, cirrhose hépatique), à l'existence de formes pseudo-tumorales et au nombre croissant de cas de chocs septiques post-transfusionnels secondaires à une multiplication de *Y. enterocolitica* dans les concentrés globulaires.

L'incidence des yersinioses en France n'est pas connue pour plusieurs raisons : (i) les malades souffrant de yersiniose ne consultent pas tous un médecin, (ii) les médecins ne prescrivent pas de coproculture pour tous les malades qui consultent,

(iii) ces bactéries poussent lentement et difficilement sur les milieux usuels et sont facilement masquées par les autres germes dans un échantillon polymicrobien, (iv) le milieu sélectif pour les *Yersinia*, (Milieu CIN : Cefsulodine–Irgasan™-Novobiocine) est onéreux, il ne permet pas la croissance de toutes les *Yersinia* pathogènes, et n'est pas utilisé par tous les laboratoires, et (v) l'envoi des souches isolées par les laboratoires au CNR des *Yersinia* (seul système de surveillance des yersiniozes en France) ne se fait pas de façon systématique.

De ce fait, l'incidence des yersiniozes en France ne peut être estimée que de façon très approximative. La proportion de coprocultures positives à *Yersinia spp.* entre 1994 et 1997 a été estimée à 0,5% (InVS, 2004). Le taux d'hospitalisation pour entérite à *Y. enterocolitica* serait de 172/an (InVS, 2004) et le taux de létalité n'est pas connu.

En 2003, le CNR des *Yersinia* a mis en place un réseau national de surveillance des *Yersinia* entéropathogènes (RNSY) constitué de 77 laboratoires médicaux (LAM) de ville et hospitaliers répartis sur toute la France métropolitaine et les DOM-TOM afin de mieux caractériser et suivre l'épidémiologie de ces microorganismes. Les missions du RNSY sont notamment de : (i) déterminer l'incidence annuelle des yersiniozes en France ; (ii) estimer les tendances temporelles et spatiales des infections ; (iii) lancer des alertes lors de cas groupés ; (iv) déterminer le niveau de pathogénicité respectif des différentes espèces/biotypes de *Yersinia* entéropathogènes pour l'homme, (v) suivre leur sensibilité aux antibiotiques, et (vi) mettre en place des enquêtes sur des aspects spécifiques de ces infections.

En extrapolant les données du RNSY à l'ensemble des LAM français, l'incidence des yersiniozes en France a été estimée à 16 cas/100 000 habitants en 2003 (Leclercq, 2004).

Depuis une dizaine d'années, les infections causées par les *Yersinia* entéropathogènes (estimées par le nombre de souches reçues au CNR), apparaissent en diminution constante en France alors qu'elles croissent en Europe du Nord, notamment en Finlande (Jalava, 2004).

Cette diminution peut être réelle (meilleure maîtrise de ce danger biologique au sein de la chaîne alimentaire) ou artéfactuelle et pourrait s'expliquer par une baisse des envois de souches au CNR des *Yersinia* consécutives aux nouvelles réglementations de transport, diminution des prescriptions de coprocultures ou perte de compétence des laboratoires à isoler ce microorganisme.

En 2004, la Société Française de Microbiologie à travers son référentiel en microbiologie médicale (REMIC) a recommandé aux LAM d'effectuer une coproculture pour la recherche de *Y. enterocolitica* chez les enfants et les adultes présentant une diarrhée.

La proportion et l'activité de diagnostics des LAM français concernant la recherche des *Yersinia* entéropathogènes par coproculture ne sont pas connues. De ce fait, l'InVS et le CNR *Yersinia* ont réalisé, en collaboration avec les membres du RNSY, une enquête parmi un échantillon de LAM hospitaliers et privés ayant pour objectifs de :

- Estimer le nombre d'examens de recherche des *Yersinia* effectués par les LAM.
- Evaluer la fréquence d'isolement des *Yersinia*.
- Faire un inventaire des différentes méthodes de recherche des *Yersinia* entéropathogènes utilisées dans ces laboratoires.
- Déterminer le degré d'identification et de caractérisation des souches.

2. Matériels et Méthodes

De juin 2004 à mars 2005, une enquête a été réalisée auprès d'un échantillon de 953 laboratoires français, dont 441 LAM d'hôpitaux et de cliniques privés (LAM H/C) et 512 LAM de ville (LAM V), tirés au sort parmi le répertoire des laboratoires disponible à l'InVS.

Des auto-questionnaires standardisés accompagnés d'une enveloppe préaffranchie pour le retour à l'InVS ont été adressés par courrier en juin 2004. Une première version du questionnaire avait auparavant été soumise à un échantillon de 19 LAM français hospitaliers et privés pour recueillir leurs commentaires et améliorer la compréhension des questions et l'interprétabilité des réponses.

Les informations collectées concernaient le nombre de coprocultures réalisées en 2003, le nombre de résultats positifs pour les *Yersinia*, les indications pour lesquelles ces examens étaient réalisés, les informations concernant les patients disponibles au laboratoire, les méthodes de détection et de caractérisation des souches utilisées, et les raisons éventuelles de ne pas réaliser la détection des *Yersinia* (Annexe – questionnaire envoyé aux LAM).

Les données recueillies ont été saisies et analysées à l'aide des logiciels Epi Info© version 6.04 (CDC Atlanta, USA) et à l'aide des tableaux dynamiques du programme Excel© version 2003 (Microsoft).

3. Résultats

3.1. Participation

483 des 953 laboratoires tirés au sort (51%) ont participé à l'enquête. Tous n'ont cependant pas répondu systématiquement à toutes les questions. La participation a été plus importante pour les LAM H/C (54%) que pour les LAM V (45%). 12 laboratoires ont déclaré appartenir à une association de laboratoires (Tableau 1).

Tableau 1 : Participation selon le type de laboratoire

Type d'établissement	Nombre de laboratoires	
	Total N	Total Répondants N (%)
LAM H/C	441	239 (54)
LAM V	512	232 (45)
Autres (Association/Activité mixte*)	-	12**
Total	953	483 (51)

*Activité mixte : Activité hospitalière et privé.

** Laboratoires ayant répondu aux questionnaires et s'étant déclaré faire partie d'une association de laboratoires ou laboratoires ayant une activité hospitalière et privé

209 (43,3%) des 483 laboratoires ayant répondu avaient une activité majeure de pédiatrie et 51% (n = 221) une activité majeure mixte pédiatrie/adulte (Tableau 2). 99% des laboratoires répondants sur leur activité avaient donc une activité pédiatrique (seule ou mixte).

Tableau 2 : Activités majeures des laboratoires répondants

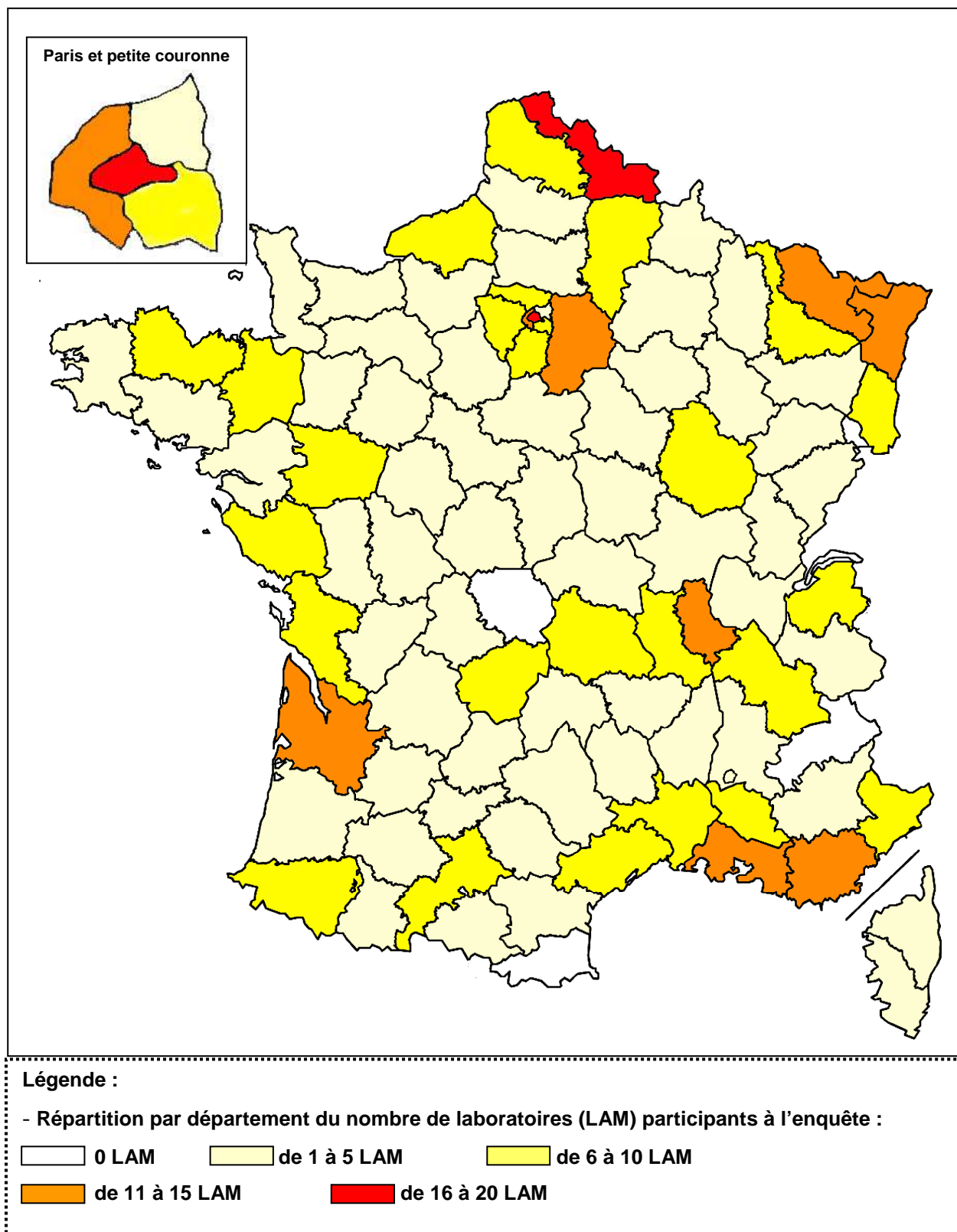
Activité	Total répondants N (%)
Pédiatrique	209 (43,3)
Adulte	3 (0,6)
Pédiatrique/adulte	221 (45,8)
Non spécifié	50 (10,3)
Total	483 (100)

* Laboratoires ayant répondu au questionnaire et s'étant déclarés faisant partie d'une association de laboratoires ou laboratoires ayant une activité hospitalière et privée

La répartition géographique (par département) des 483 LAM ayant participé à l'enquête montre que pratiquement l'ensemble du territoire français est couvert (Figure 1).

Un taux de réponse plus élevé est observé dans les départements où se situe une ville à grande densité de population (Bordeaux, Lille, Lyon, Marseille, Paris, Strasbourg)

Figure 1 : Répartition géographique des LAM ayant participé à l'enquête



3.2. Catégories des médecins prescripteurs de coprocultures

Les coprocultures ont été prescrites en majorité par des praticiens libéraux et secondairement des praticiens hospitaliers (Tableau 3).

Tableau 3 : Catégories des médecins prescripteurs

Prescripteurs	Total répondants ¹ N
CHRU, CHR ou CHG*	246
Etablissement privé	67
Praticien libéral (généraliste ou spécialiste)	297
Etablissement médical spécialisé**	42

* CHRU : Centre Hospitalier Régional Universitaire ; CHR : Centre Hospitalier Régional ; CHG : Centre Hospitalier Général.

** Maison de retraite, Urgences, Psychiatrie

¹ la somme des répondants est supérieure aux 483 laboratoires ayant répondu au questionnaire car un laboratoire reçoit des patients adressés par des prescripteurs différents.

3.3. Activité de coprocultures

La grande majorité (95%) des LAM ayant répondu au questionnaire effectue des coprocultures et la plupart d'entre eux (90%) recherchent eux-mêmes la présence de *Yersinia* dans les selles (Tableau 4).

Tableau 4 : Activité de coprocultures

Activité de coproculture	Total répondants N (%)
En Général	460 (95)
Avec recherche de <i>Yersinia</i>	426
<i>dans le laboratoire</i>	413
<i>par transmission à l'extérieur</i>	13
Générale extériorisée	8 (2)
Non spécifié	15 (3)
Total	483 (100)

3.4. Raisons pour ne pas réaliser la recherche des *Yersinia*

Les 21 laboratoires qui ne recherchent pas les *Yersinia* dans les coprocultures, le font pour des raisons variées: non disponibilité de la technique au laboratoire, coût trop élevé, faible demande de prescription, augmentation de la charge de travail (Tableau 5).

Tableau 5 : Raisons pour ne pas réaliser la recherche des *Yersinia*

Raisons	Total répondants ¹
	N
Méconnaissance de la technique	1
Technique non disponible au laboratoire	11
Coût trop élevé	6
Augmentation de la charge de travail	2
Autres dont :	20
- Peu ou absence de demande du praticien	7
- Isolement rare	3
- Transmis à un laboratoire spécialisé	5

¹ la somme des répondants est supérieure aux 21 laboratoires car les laboratoires ont parfois fourni plusieurs raisons.

3.5. Volume d'activité et proportion de coprocultures positives à *Yersinia*

Le nombre total de coprocultures effectuées en 2003 par les 483 laboratoires ayant répondu au questionnaire est de 256 871.

Dans 53% de ces coprocultures (135 436) une recherche de *Yersinia* a été effectuée et 333 d'entre elles (0,2%) ont permis l'isolement d'une *Yersinia* (Tableau 6).

Bien que 60% des coprocultures positives provenaient des LAM H/C et 38% des LAM V, le taux d'isolement positif a été supérieur chez ces derniers (0,5% pour les LAM V contre 0,2% pour les LAM H/C).

Tableau 6 : Coprocultures effectuées en 2003

Nombre de coprocultures	Type de laboratoires			
	LAM H/C N (%)	LAM V N (%)	Autres N (%)	Total N (%)
Nb Total	208 954 (81)	44 088 (17)	3 829 (2)	256 871 (100)
Avec recherche de <i>Yersinia</i>	108 837 (52)	25 229 (57)	1 370 (36)	135 436 (53)
Positives à <i>Yersinia</i>	201 (0,2)	128 (0,5)	4 (0,3)	333 (0,2)

Quelque soit l'année, 213 LAM (44%) ayant répondu au questionnaire déclarent rechercher systématiquement des *Yersinia*.

Pour les 200 (41%) laboratoires ne faisant pas cette recherche de façon systématique, les indications de cette recherche sont: la demande du clinicien, des selles diarrhéiques ou la présence de sang dans les selles (Tableau 7).

Les principaux autres motifs de recherche de *Yersinia* sont la présence de leucocytes dans les selles, la médecine du travail préventive, les douleurs abdominales, la fièvre, une arthrite, un syndrome pseudo-appendiculaire ou l'existence d'une immunodépression.

Tableau 7 : Critères de recherche de *Yersinia* pour les LAM qui ne font pas systématiquement cette recherche (200 laboratoires)

Critères de recherche	Total répondants	
	N	(%)
A la demande du clinicien	173	(87)
Chez un adulte :		
Selle diarrhéique	156	(78)
Présence de sang dans les selles	109	(55)
Présence de mucus dans les selles	65	(33)
Chez un enfant :		
Selle diarrhéique	147	(74)
Présence de sang dans les selles	102	(51)
Présence de mucus dans les selles	66	(33)
toutes les coprocultures de l'enfant	26	(13)
Notion de cas groupés	51	(26)
Autres critères*	26	(13)

* selles glaireuses, présence de leucocytes, recherche spéciale, adénite, immunodépression, douleurs abdominales, suite d'un traitement, etc.

3.6. Informations disponibles sur le patient transmises par le praticien

La majorité des 413 laboratoires ayant répondu au questionnaire et recherchant les *Yersinia* lors des coprocultures a accès aux informations démographiques (âge, sexe, lieu de résidence) du patient.

En revanche, les données cliniques sont peu transmises par les praticiens. Seules les dates du prélèvement et de l'hospitalisation sont souvent connues. La notion de cas groupés ou de voyage à l'étranger n'est pas fréquemment renseignée.

Tableau 8 : Informations sur le patient transmises par les praticiens aux 413 laboratoires recherchant des *Yersinia*

Informations	Toujours transmises (%)	Parfois transmises (%)	Jamais transmises (%)	Non répondu (%)
Informations démographiques				
Age	92,0	1,0	5,3	1,7
Sexe	94,2	1,5	2,2	2,2
Lieu de résidence	55,7	24,9	14,8	4,6
Histoire clinique				
Date du prélèvement	89,6	3,6	4,4	2,4
Signes cliniques	7,3	28,1	59,1	5,6
Diarrhée	23,2	18,2	52,1	6,5
Diarrhée sanglante	20,8	22,0	47,7	9,4
Date début des symptômes	2,9	55,2	32,7	9,2
Hospitalisation	42,6	26,9	21,1	9,4
Autres informations				
Notion de cas groupés	4,1	47,5	41,9	6,5
Voyage à l'étranger	4,8	32,2	58,1	4,8

3.7. Techniques utilisées pour isoler les *Yersinia*

3.7.1. Techniques d'isolement utilisées

Les paragraphes suivants concernent les 413 laboratoires recherchant les *Yersinia* lors des coprocultures.

a) Enrichissement

Seulement 12% des LAM (n = 51) effectuent systématiquement une technique d'enrichissement et 80% le font occasionnellement.

Sur les 35 laboratoires ayant décrit ces techniques d'enrichissement :

- 5 utilisent le bouillon Irgasan™-Ticarcilline-Cefsulodine (ITC),
- 9 utilisent le bouillon YER,
- 10 utilisent l'eau peptonée incubée à 4°C pendant 2 à 4 semaines, avec ou sans traitement au KOH (Aulisio, 1980),
- 11 utilisent un bouillon d'enrichissement pour *Salmonella* (tel que le Rapaport-Vasiliadis incubé à 4°C pendant 24 à 48 h ou le bouillon sélénite).

Un enrichissement au froid (4°C) est donc effectué par 21 des 35 laboratoires utilisant une méthode d'enrichissement, bien que cette méthode favorise la croissance des souches non pathogènes de *Yersinia*.

Tableau 9 : Utilisation de techniques de pré-enrichissement par les 413 laboratoires

Pratique des techniques d'enrichissement	Total répondants N (%)
OUI toujours	51 (12)
OUI occasionnellement	330 (80)
NON	20 (5)
Ne sait pas	1 (0)
Non répondu	11 (3)
Total	413 (100)

b) Milieux sélectifs et non sélectifs d'isolement

82% (n = 339) des laboratoires utilisent le milieu commercial sélectif CIN pour la recherche des *Yersinia*, dont 93% en milieu précoulé, et 83% après incubation à 28-30°C (Tableau 10a et 10b).

Les autres géloses sélectives utilisées sont les milieux pour *Salmonella-Shigella* (Hektoën, DCLS, SS, Rambach), majoritairement précoulés et incubés à 37°C. Ces milieux ne sont pas sélectifs pour les *Yersinia*.

D'autres milieux précoulés semi-sélectifs pour la recherche des *Enterobacteriaceae* (MacConkey, Drigalski, BCP, Karmali), incubés majoritairement à 37°C, sont également utilisés.

Le milieu SSDC (Wauters, 1973), peu connu en France, n'est utilisé que par 5% des laboratoires et est souvent incubé à 37°C.

Enfin, quelques laboratoires utilisent des milieux précoulés non sélectifs (gélose au sang ou TSA) incubés à 37°C. Dans ce dernier cas, l'utilisation de ces milieux est précédée par un enrichissement au froid.

Tableau 10a : Milieux utilisés pour l'isolement des *Yersinia*

Milieux	Sélectivité	Préparation du milieu			
		Précoulé	Labo	Non répondu	Total N(%)
CIN ¹	<i>Yersinia</i>	316	18	5	339 (82)
SSDC ²	<i>Yersinia</i>	19	3	0	22 (5)
MacConkey	<i>Enterobacteriaceae</i>	7	1	2	10 (2,5)
Drigalski	<i>Enterobacteriaceae</i>	26	3	0	29 (7)
Hektoën	<i>Salmonella–Shigella</i>	73	6	9	88 (21)
DCLS ³	<i>Salmonella–Shigella</i>	2	1	0	3 (0,7)
<i>Salmonella-Shigella</i>	<i>Salmonella-Shigella</i>	?	?	7	7 (1,7)
Bromocrésol pourpre	Non sélectif	?	?	7	7 (1,7)
Gélose au sang	Non sélectif	6	1	0	7 (1,7)
Trypticase soja agar	Non sélectif	4	0	0	4 (1)
AUTRES ⁴		-	-	-	15 (3,6)

1, Milieu Cefsulodine - IrgasanTM - Novobiocine de Schiemann (Schiemann, 1979)

2, Milieu *Salmonella – Shigella* modifié au désoxycholate et au lactose (Wauters, 1973)

3, Milieu Désoxycholate – Citrate – Lactose – Saccharose (Hynes, 1942)

4, Milieu Karmali (N=1); Milieu SM2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile) (N=1), Milieu Bemon-Drinson (N=2) ; Milieu Rambach (N=1).

Tableau 10b : Températures d'incubation pour l'isolement des *Yersinia*

Milieux	Sélectivité	Température d'incubation			
		28-30°C N	37°C N	Non répondu N	Total N (%)
CIN	<i>Yersinia</i>	281	55	3	339 (82)
SSDC	<i>Yersinia</i>	9	15	0	24 (5)
MacConkey	<i>Enterobacteriaceae</i>	3	6	1	10 (2,4)
Drigalski	<i>Enterobacteriaceae</i>	9	21	0	30 (7)
Hektoën	<i>Salmonella–Shigella</i>	21	59	8	88 (21)
DCLS	<i>Salmonella–Shigella</i>	1	2	0	3 (0,7)
Gélose au sang	Non sélectif	1	5	1	7 (1,7)
Trypticase soja agar	Non sélectif	1	4	0	5 (1)
AUTRES		-	-	-	29 (7)

48% des laboratoires utilisant le milieu CIN l'incubent au minimum pendant 24h (durée d'incubation adéquate), mais 66% l'incubent plus longtemps ($\geq 48h$) (Tableau 11).

87% des laboratoires utilisant le milieu SSDC l'incubent au minimum 24h (durée d'incubation adéquate) et seulement 13% l'incubent plus longtemps (48h).

Les milieux MacConkey et Drigalski sont incubés au minimum 24h et au maximum 48h, comme recommandé.

52% des laboratoires utilisant le milieu Hektoën l'incubent au minimum 24h (pour la recherche de Salmonelles et de Shigelles) et 45% l'incubent au minimum 48h pour la recherche de *Yersinia*.

Les géloses au sang et TSA sont incubées à des temps au maximum et minimum corrects, bien qu'un peu faibles pour la gélose TSA.

Tableau 11 : Durée d'incubation des milieux pour la recherche des *Yersinia*

Milieu	Durée d'incubation				Total répondants
	J1 ($\leq 24h$)	J2	J3	$\geq J4$	
CIN					
<i>Durée minimale</i>	137	135	9	4	285
<i>Durée Maximale</i>	11	210	70	24	315
SSDC					
<i>Durée minimale</i>	13	2	0	0	15
<i>Durée Maximale</i>	3	7	6	1	17
MacConkey					
<i>Durée minimale</i>	4	1	1		6
<i>Durée Maximale</i>	1	2	3	1	7
Drigalski					
<i>Durée minimale</i>	15	3	3	0	21
<i>Durée Maximale</i>	4	12	6	1	23
Hektoën					
<i>Durée minimale</i>	32	28	1	1	62
<i>Durée Maximale</i>	7	36	15	7	65
DCLS					
<i>Durée minimale</i>	1	1	0	0	2
<i>Durée Maximale</i>		3	0	0	3
Gélose au sang					
<i>Durée minimale</i>	4	2	0	0	6
<i>Durée Maximale</i>	1	4	1	0	6
TSA					
<i>Durée minimale</i>	2	0	0	0	2
<i>Durée Maximale</i>	1	0	1	0	2

c) Nombre d'échantillons examinés par boîte de milieu

Sur les 413 laboratoires répondants, 94% utilisent une boîte de milieu par échantillon et 3% une boîte pour plusieurs échantillons.

d) Contrôle qualité des milieux préparés ou achetés par les laboratoires

- 86,5% des laboratoires n'effectuent pas de contrôle qualité des milieux sélectifs de culture.
- 5,5% le font occasionnellement pour les raisons suivantes : (i) réponse à un appel d'offre, (ii) vérifier la qualité des produits d'un nouveau fournisseur, (iii) contrôle qualité au moyen de souches de contrôle (de 1 fois/mois à 1 fois/3 mois), et (iv) milieux dont la date de péremption est proche.
- 7,5% des laboratoires effectuent systématiquement un contrôle qualité de leurs milieux sélectifs ou achètent des milieux prêts à l'emploi accompagnés d'un certificat de contrôle de leur qualité.

e) Délais de conservation des milieux de culture pour *Yersinia*

74% des laboratoires ont défini un délai de conservation de leurs milieux de culture pour *Yersinia* qui est à 68% celui défini par le fabricant et à 32% celui qu'ils ont défini eux-mêmes (Tableau 12).

Tableau 12 : Délai de conservation des milieux de culture pour *Yersinia*

Définition d'un délai de conservation	Total répondants	
	N	(%)
Oui, toujours	307	(74)
<i>défini par le fabricant</i>		209
<i>défini par le laboratoire:</i>		
2 jours		15
3 jours		12
15 jours		8
30 jours		14
Non	84	(20,5)
Ne sait pas	7	(2)
Non spécifié	14	(3,5)
Total	413	(100)

3.7.2. Techniques utilisées pour l'identification et la caractérisation des souches

a) Examens effectués pour confirmer le genre *Yersinia*

94% des laboratoires réalisent des examens complémentaires (Tableau 13) sur les colonies suspectes pour confirmer le genre *Yersinia*.

99% des identifications se font à l'aide de galeries d'identification biochimiques qui sont le plus souvent des galeries API20E (52%) puis des galeries ID32 E .

51 laboratoires utilisent des tests tels que le test urée (49%) ou urée-indole (22%), avant l'utilisation de galeries d'identification. Sur ces 51 laboratoires, 49 utilisent ces tests en complément d'une galerie d'identification.

Deux laboratoires utilisent le séquençage (dont un le gène *rpoB*) pour l'identification de leurs isolats.

Tableau 13 : Identification du genre *Yersinia*

Détermination du genre	Total répondants N (%)
Oui dont,	388 (94)
<i>Galerie d'identification^a</i>	385
<i>API20 E</i>	202
<i>ID32 E</i>	98
<i>ID32 GN</i>	49
<i>RAPID ID32E</i>	32
<i>VITEK I ou II</i>	53
Classiques	8
Autres	29
Non	22 (5,3)
Non spécifié	3 (0,7)
Total	413 (100)

^a, possibilité de plusieurs choix de galeries.

b) Identification de l'espèce

60% des laboratoires poursuivent systématiquement l'identification des souches de *Yersinia* isolées en déterminant leur espèce (Tableaux 14 et 15).

Tableau 14: Identification de l'espèce

Détermination de l'espèce	Total répondant N (%)
Oui, toujours	249 (60)
Oui quelquefois:	9 (2)
<i>Par galerie/automate</i>	7
<i>En fonction de la clinique</i>	1
<i>Si test de pathogénicité positif</i>	1
Non	139 (34)
Non spécifié	16 (4)
Total	413 (100)

Tableau 15: Tests biochimiques utilisés pour l'identification

Test	OUI %	NON %	Non répondu %
Urée	33,3	1,0	65,8
Kligler	10,0	12,4	77,7
Lysine décarboxylase	18,4	2,4	79,2
Ornithine décarboxylase	19,2	1,7	79,1
Rhamnose	18,9	1,7	79,4
Tréhalose	11,4	8,5	80,1
Xylose	7,5	11,2	81,3
Saccharose	18,2	2,2	79,6
Melibiose	15,3	4,6	80,1
Citrate	14,6	5,3	80,1
Tween-Estérase	1,7	16,3	82,0
Autres	32,0	12,6	55,4
<i>Galeries d'identification</i>	37,4	0,0	62,6
<i>Esculine</i>	1,5	0,0	98,5
<i>Esculine, pyrazinamidase</i>	0,2	0,0	99,8
<i>Mannitol - Mobilité</i>	0,7	0,0	99,3
<i>ONPG</i>	0,5	0,0	99,5

c) Caractérisation phénotypique des souches (biotype, sérotype)

80,5% des laboratoires ne déterminent pas le biotype des souches de *Y. enterocolitica* isolées (Tableau 16). De plus, parmi les 27 laboratoires qui déterminent le biotype, seulement 4 utilisent le test Tween-estérase, qui entre dans le schéma de biotypage pour différencier les biotypes 1A et 1B des autres biotypes.

Tableau 16: Identification du biotype des souches de *Y. enterocolitica* isolées

Nombre	Total répondant N (%)
Oui toujours	22 (5,5)
Oui quelquefois	5 (1)
Non	332 (80,5)
Non spécifié	54 (13)
Total	413 (100)

10 laboratoires (2,4%) déterminent le sérotype des souches (par séro-agglutination), dont 9 avec les sérums O:3 et O:9. Ces laboratoires effectuent ce test en complément d'une galerie d'identification.

d) Tests de caractérisation de la virulence des isolats de *Yersinia*

La très grande majorité des laboratoires (98,5%) ne recherche pas de facteurs de pathogénicité chez les isolats de *Yersinia* identifiés.

e) Envoi des souches à un autre laboratoire pour confirmation ou caractérisation

Moins de la moitié des laboratoires (40%) envoie systématiquement les souches de *Yersinia* isolées pour confirmation de l'identification (Tableau 17).

Tableau 17: Transmission des souches de *Yersinia* isolées pour confirmation

Transmission des souches	Total N (%)
Oui, toujours	164 (40)
Oui, occasionnellement	60 (14,5)
<i>Car demande du clinicien</i>	8
<i>Car identification douteuse</i>	40
Non	171 (41,5)
Non spécifié	18 (4)
Total	413 (100)

Le principal laboratoire "expert" à qui sont transmises les souches pour confirmation est le CNR de la peste et autres yersiniozes (73%) (Tableau 18).

Tableau 18: Laboratoires où les souches sont transmises pour un diagnostic de confirmation

Laboratoires destinataires	Total N (%)
CNR <i>Yersinia</i>	163 (73)
Laboratoire Marcel Mérieux	18 (8)
Autres laboratoires privés	13 (6)
Laboratoire d'un centre hospitalier	21 (9)
Non spécifié	9 (4)
Total	224 (100)

Seulement 16% des laboratoires (n = 65) envoient systématiquement les souches de *Yersinia* isolées pour caractérisation (Tableau 19). Les caractérisations effectuées sont majoritairement le biotypage, le sérotypage et la détermination de facteurs de pathogénicité.

Tableau 19: Transmission des souches de *Yersinia* isolées pour caractérisation

Nombre	Total N (%)
Oui, toujours	65 (16)
Oui, occasionnellement	34 (8)
Non	195 (47)
Non spécifié	119 (29)
Total	413 (100)

Les 99 laboratoires qui transmettent les souches pour caractérisation (occasionnellement ou systématiquement), les envoient à 78% vers le CNR de la peste et autres yersiniozes (Tableau 20).

Tableau 20: Laboratoires utilisés pour caractérisation des souches

Laboratoires destinataires	Total laboratoires	
	N	(%)
CNR	77	(78)
Autre*	15	(15)
Non spécifié	7	(7)
Total	99	(100)

* Laboratoire Marcel Mérieux, Centres hospitaliers

3.7.3. Conservation des souches isolées

48% des laboratoires (n = 198) conservent les souches de *Yersinia* qu'ils ont isolées, dont 36% de façon systématique et 12% de façon occasionnelle. Dans ce dernier cas, les raisons de la conservation sont l'isolement à partir d'une hémoculture (76%) ou l'existence de cas groupés (53%).

16,5% de ces 198 laboratoires conservent les souches à la température appropriée de -70°C (Tableau 21).

Tableau 21 : Températures de conservation des *Yersinia* isolées

Température de conservation	Total répondants	
	N	(%)
-70°C	33	(16,5)
-20°C	45	(23)
Autres températures, dont	101	(51)
20-25°C	70	(69)
2-8°C	12	(17)
-35°C	5	(7)
-180°C	1	(1)
Non spécifié	19	(9,5)
Total	198	(100)

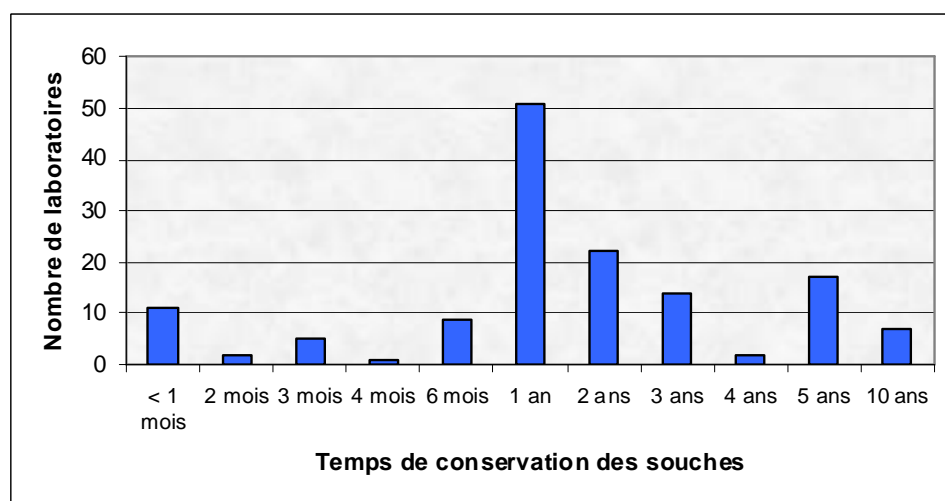
34% des laboratoires utilisent des géloses conservation commerciales et 14,5% des cryobilles.

Tableau 22 : Milieux de conservation utilisés

Nombre	Total répondants	
	N	(%)
Cryobilles	29	(14,5)
Tube de conservation	67	(34)
Gélose en pente	19	(9,5)
Gélose d'isolement	2	(1)
Milieu glycérolé	13	(7)
Non spécifié	68	(34)
Total	198	(100)

26% des 198 laboratoires qui conservent leurs souches les stockent pendant 1 an.

Figure 2 : Distribution du temps de conservation des souches en jours



3.8. Méthodes de diagnostic des infections à *Yersinia* autres que l'isolement des bactéries

5% des laboratoires (n = 22) qui effectuent une coproculture pour le diagnostic des infections à *Yersinia* dans leur laboratoire, réalisent également d'autres tests (Tableau 23).

Tableau 23 : Réalisation d'autres examens de diagnostic des infections à *Yersinia*

Méthodes de diagnostic autres	Laboratoire ayant isolé N (%)	Autre laboratoire N (%)
Oui, dont	22 (5)	198 (48)
sérologie	1	188
PCR + sérologie	1	4
PCR ADNr 16S+ séquençage	1	0
Non	374 (91)	129 (31)
Non spécifié	17 (4)	86 (21)
Total	413 (100)	413 (100)

Les tests de sérologie extériorisés sont faits à 46% par des laboratoires centralisateurs privés (laboratoires Marcel Mérieux et Pasteur Cerba).

3.9. Tests de résistance aux antibiotiques

3.9.1. Méthodes

La majorité (83%) des laboratoires effectue systématiquement un antibiogramme sur les souches isolées (Tableau 24).

Tableau 24 : Pratique de tests de résistance aux antibiotiques des souches de *Yersinia*

Pratique d'un antibiogramme	Total répondant	
	N	(%)
Oui, toujours	343	(83)
Oui, occasionnellement (demande du clinicien)	8	(2)
Non	43	(10)
Non spécifié	19	(5)
Total	413	(100)

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques se fait essentiellement par diffusion ou dilution en agar, et le plus fréquemment après incubation des bactéries à 37°C (Tableau 25).

Tableau 25 : Antibiogrammes pratiqués dans 351 laboratoires

Tests	Incubation à 25-30°C	Incubation à 37°C	Total N (%)
E-test sur Müller Hinton	4	2	6 (1,7)
Diffusion en agar	33	93	131 (37,3)
Dilution en agar sur:	4	9	13 (3,7)
<i>ATB G-</i>	4	9	11
<i>Müller Hinton</i>	0	2	2
Vitek	5	17	52 (14,8)
Autres	0	4	20 (5,7)
Non spécifié	-	-	129 (36,7)
Total			351 (100)

3.9.2. Antibiotiques testés

Les antibiotiques testés sont dans l'ordre décroissant :

- fluoroquinolone (dont ciprofloxacine) (79%)
- ampicilline/amoxicilline (77%)
- céfalotine (75%)
- acide nalidixique (67%)
- triméthoprim (60%)
- céfoxitine (58%)
- ceftriaxone (51%)
- sulfamides (37%)
- tétracycline (34%)
- augmentin (5,5%)
- azithromycine (4%)
- autres antibiotiques (49%)

Les autres antibiotiques testés incluent : les aminosides, la céfotaxime, la ceftazidime, l'amikacine, le cotrimoxazole, l'imipenem, la pipéracilline et la ticarcilline.

Tableau 26 : Antibiotiques testés

Antibiotique testé	Oui	Non	Non spécifié
	N (%)	N (%)	N (%)
Fluoroquinolone (dont ciprofloxacine)	325 (79)	5 (1)	83 (20)
Ceftriaxone	209 (51)	121 (29)	83 (20)
Tétracycline	140 (34)	190 (46)	83 (20)
Acide nalidixique	276 (67)	54 (13)	83 (20)
Triméthoprim	246 (60)	84 (20)	83 (20)
Céfalotine	310 (75)	19 (46)	84 (20)
Sulfamides	151 (37)	178 (43)	84 (20)
Ampicilline/amoxicilline	317 (77)	12 (3)	84 (20)
Augmentin	23 (5,5)	0 (0)	390 (94,5)
Azithromycine	15 (4)	312 (76)	86 (21)
Céfoxitine	241 (58)	87 (21)	85 (20)
Autres*	201 (49)	133 (32)	79 (19)

*: Aminosides, céfotaxime, ceftazidime, amikacine, cotrimoxazole, gentamicine, imipenem, piperacilline, ticarcilline.

3.10. Accréditation ou guide de bonnes pratiques pour la coproculture et les antibiogrammes pour *Yersinia*

Environ la moitié des laboratoires possède une accréditation ou un guide de bonnes pratiques pour la coproculture des *Yersinia*, et 35% pour l'antibiogramme (Tableau 27).

Tableau 27 : Accréditation ou guide de bonnes pratiques pour la coproculture et les antibiogrammes pour *Yersinia*

Accréditation/guide de bonnes pratiques	Oui	Non	Non spécifié
	N (%)	N (%)	N (%)
Pour la coproculture des <i>Yersinia</i>	194 (47)	187 (45)	32 (8)
Pour l'antibiogramme des <i>Yersinia</i>	145 (35)	222 (54)	46 (11)

4. DISCUSSION

La diminution du nombre de cas humains de yersinioses en France (reflétée très indirectement par le nombre de souches envoyées au CNR *Yersinia*) contraste avec l'augmentation des cas, voire des épidémies, observée dans certains pays du Nord de l'Europe.

Il se peut que cette apparente disparité géographique soit due à une différence réelle d'incidence de la maladie entre ces pays et la France. Mais il est également possible qu'elle traduise une moins bonne connaissance en France de ces microorganismes, l'utilisation de méthodes d'isolement peu performantes, ou une sous notification importante des cas.

L'objectif de la présente enquête était (1) d'évaluer le nombre d'examens de recherche des *Yersinia* effectués par les laboratoires français, (2) de réaliser un inventaire des différentes méthodes d'isolement et de caractérisation des souches utilisées, et (3) d'estimer le nombre de souches de *Yersinia* isolées par coprocultures en France.

• Description des participants à l'enquête

La participation des bactériologistes a été satisfaisante pour ce type d'étude et similaire à celle observée dans des enquêtes précédentes sur d'autre micro-organismes (*Campylobacter* 2001). Cependant, la représentativité des laboratoires répondant est discutable compte tenu d'un possible biais de réponse pouvant être à l'origine d'une sur-représentation des laboratoires recherchant les *Yersinia* dans les selles. Le taux de réponse des bactériologistes de LAM H/C (54%) a été supérieur à celui des bactériologistes de LAM V (45%). Cependant, il faut prendre en compte les groupements de laboratoires privés (où les coprocultures ne sont effectuées que par un seul laboratoire du groupement) qui ne comptent que pour une information alors qu'ils représentent chacun plusieurs laboratoires.

L'activité des laboratoires ayant répondu couvrait l'ensemble des classes d'âges de la population.

Les 483 LAM ayant participé à l'enquête couvrent pratiquement l'ensemble du territoire français. Un taux de réponse plus élevé est observé dans les départements où se situe une ville à grande densité de population.

• Coprocultures à la recherche de *Yersinia*

La majorité (95%) des laboratoires répondants effectue des coprocultures et presque tous (91%) recherchent les *Yersinia* ou font effectuer l'examen par un laboratoire spécialisé. Il semblerait donc que la recherche de *Yersinia* dans les coprocultures soit de pratique courante pour la plupart des LAM français.

Cependant, ce chiffre doit être interprété avec précaution car il est possible que les laboratoires qui ont répondu au questionnaire aient été ceux qui se sentaient le plus concernés par le diagnostic des yersinioses. Pour les 9% de laboratoires ayant répondu au questionnaire et ne recherchant pas les *Yersinia*, les raisons de ne pas

réaliser cette recherche étaient la non disponibilité de la technique au laboratoire, son coût élevé ou la faible indication des praticiens.

Parmi les laboratoires qui recherchent les *Yersinia*, seulement 44% pratiquent cette recherche de façon systématique. Ainsi, sur les 256 871 coprocultures pratiquées par les LAM répondants en 2003, la recherche d'une *Yersinia* a été effectuée pour seulement 53% d'entre elles. Sachant que la symptomatologie clinique comme l'aspect des selles chez un malade souffrant d'une yersiniose n'ont rien de caractéristique par rapport aux autres infections intestinales, cette recherche devrait être effectuée de façon systématique devant tout syndrome digestif et toute selle diarrhéique.

Parmi les 135 436 coprocultures pour lesquelles une recherche de *Yersinia* a été réalisée, 333 ont permis l'isolement d'une souche, ce qui correspond à un taux de positivité moyen de 0,25%. De façon surprenante, il est apparu que les LAM V, bien que pratiquant beaucoup moins de coprocultures que les LAM H/C (17% contre 81%) ont un taux d'isolement des souches (0,51%) supérieur à celui des LAM H/C (0,18%). Ce taux de 0,5% pour les LAM V est comparable à celui de 0,4% rapporté par Weber et coll. (Weber, 2003) lors d'une enquête EPICOP regroupant les résultats de 4838 coprocultures consécutives de 14 laboratoires français privés entre 1999 et 2000. Les résultats du réseau sentinelle des médecins généralistes de 1994 à 1997 concernant la recherche de *Yersinia* par coproculture devant une diarrhée aiguë font également état d'un taux d'isolement estimé de 0,5% (InVS, 2004).

Nous n'avons pas d'éléments tangibles permettant d'expliquer cette différence dans le taux de positivité des coprocultures entre laboratoires de ville et hospitaliers. L'analyse des méthodes d'enrichissement et d'isolement utilisées par les LAM H/C et LAM V ne met pas en évidence de différence notable. Une explication possible serait que les coprocultures sont effectuées de façon beaucoup plus systématique en milieu hospitalier qu'en ville, ce qui diluerait le nombre de coprocultures positives à *Yersinia*. Une autre possibilité serait un biais dans le recrutement des patients: les yersinioses se traduisant souvent par des symptômes digestifs ne nécessitant pas une hospitalisation, les selles de ces malades sont plus souvent dirigées vers des LAM V.

Lorsqu'une analyse individuelle du taux d'isolement par laboratoire est effectuée, il apparaît que ce taux varie considérablement d'un laboratoire à l'autre (de 0 à 45%). Cette très grande disparité dans le succès d'isolement ne semble pas liée à une incidence beaucoup plus forte de la maladie dans certaines régions de France car aucune concentration géographique des LAM très performants et moins performants en terme d'isolement de *Yersinia* n'a été observée. De même, le taux de réussite ne semble pas lié à la méthode d'isolement utilisée par les laboratoires. Le fait d'être sensibilisé au risque *Yersinia* pourrait être un facteur déterminant, cependant le taux d'isolement des membres du RNSY (0,18%) n'est pas supérieur, et est même légèrement inférieur à celui des LAM non membres du réseau (0,23%)

• Estimation des cas de yersinioses humaines en France

Les résultats de cette enquête indiquent que la recherche de *Yersinia* n'est réalisée que pour 53% des coprocultures. Le taux d'isolement d'une *Yersinia* dans ces coprocultures est de 0,21%. En faisant l'hypothèse que le taux de positivité à *Yersinia*

observé dans les coprocultures avec recherche de *Yersinia* est similaire à celui des coprocultures totales, il peut être estimé que pour les 483 laboratoires répondants, une recherche systématique des *Yersinia* aurait abouti à l'isolement de 550 souches. En extrapolant ces chiffres à l'ensemble des LAM français ($n = 3826$), un nombre de 4357 souches de *Yersinia* isolées de patients en France en 2003 est attendu. Cependant, toutes les souches de *Yersinia* ne sont pas pathogènes. Ainsi, seulement 65% des souches isolées de l'homme et envoyées au CNR *Yersinia* en 2003 l'étaient. Nous pouvons donc estimer que, parmi les 4357 souches théoriquement isolées en France, 2813 auraient été réellement responsables de yersiniozes humaines.

Ceci représente une incidence de 2,13 souches de *Yersinia* entéropathogènes isolées /100 000 hab. Ce chiffre est inférieur à celui calculé à partir des données reçues au RNSY en 2003 (16 souches de *Yersinia* entéropathogènes isolées/100000 hab). Cette différence peut, au moins en partie, être liée au mode d'extrapolation qui a été fait à partir du taux estimé de coprocultures positives dans le premiers cas, et à partir du nombre de souches isolées par laboratoire dans le second cas.

Cependant, les estimations portant sur le nombre de souches isolées sous-estiment l'incidence de l'infection humaine car tous les malades présentant un syndrome gastro-intestinal, ne consultent pas, une coproculture n'est pas systématiquement prescrite et l'isolement des *Yersinia* dans les coprocultures reste très délicat. L'enquête montre une très grande disparité dans le taux d'isolement d'un laboratoire à l'autre (allant de 0% jusqu'à 45%).

• **Notification des cas de yersiniozes humaines en France**

Les chiffres utilisés pour la notification des cas de yersiniozes humaines en France correspondent au nombre de souches entéropathogènes reçues par le CNR *Yersinia*, en provenance des LAM français.

Cette enquête indique que 150 souches de *Yersinia* ont été adressées en 2003 au CNR par 182 LAM sur les 483 répondants. Si cette même proportion d'envoi de souches est étendue à l'ensemble des LAM français, un total de 1387 souches aurait dû parvenir au CNR en 2003. Or celui-ci n'a reçu que 237 souches humaines (dont 153 pathogènes) pendant cette même année.

Ceci dénote dans cette enquête, une surestimation des souches envoyées par les LAM français au CNR, mais également une très forte sous-estimation de l'incidence de la maladie si celle-ci repose sur le nombre de souches reçues par le CNR.

• **Informations accompagnant la demande de coproculture**

La majorité des laboratoires possède les informations démographiques (âge, sexe, lieu de résidence) du patient avec l'échantillon à analyser. Par contre, l'historique clinique accompagne beaucoup moins souvent l'échantillon de selles à analyser : la date du prélèvement et l'hospitalisation sont connues mais les symptômes cliniques beaucoup moins. Cette absence de données appauvrit significativement l'information épidémiologique.

- **Méthodes d'isolement et d'identification des *Yersinia***

- Techniques d'isolement

La plupart des laboratoires utilisent une technique d'enrichissement des selles avant isolement des bactéries, mais cette technique n'est généralement pratiquée que de façon occasionnelle. Il n'est pas apparu dans cette enquête de corrélation positive entre le fait de pratiquer ces techniques et le taux d'isolement des *Yersinia*. La technique d'enrichissement la plus fréquemment utilisée est l'enrichissement au froid qui, outre sa lenteur pour le rendu du diagnostic, aboutit souvent à l'isolement de souches non pathogènes. Les bouillons d'enrichissement PBS ou ITC qui pourraient peut-être améliorer le taux de positivité, sont peu connus et ne sont pas commercialisés. Le traitement à l'hydroxyde de potassium, qui permet d'éliminer une partie de la flore digestive contaminante (Aulisio, 1980), n'est pratiquement pas utilisé.

Pour l'isolement des *Yersinia*, la majorité des laboratoires (82%) utilise le milieu CIN commercial précoulé ou à couler, et l'incube à 28-30°C pendant 24 à 48h. Cette méthode d'isolement est actuellement considérée comme une des plus performantes, même s'il est connu que la croissance de certaines souches pathogènes de *Y. enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis* est partiellement ou totalement inhibée sur ce milieu. Le second milieu d'isolement utilisé (21% des laboratoires) est le milieu Hektoën (sélectif pour *Salmonella-Shigella*) incubé à 37°C pendant 24h puis sur la paillasse ou à 22°C pendant 48h.

La majorité des laboratoires utilise des milieux précoulés et suivent les délais de conservation définis par le fabricant.

Il ne semble donc pas y avoir de défaut majeur dans les protocoles utilisés par la plupart des laboratoires pour l'isolement des *Yersinia*.

- Identification et caractérisation des souches

L'identification du genre et de l'espèce est presque toujours (95%) effectuée à l'aide de galeries d'identification biochimiques, principalement API20E (52%), mais également ID32E (25%) et VITEK (14%) en système automatisé. La galerie API20E a été validée scientifiquement pour l'identification des *Yersinia* (Sharma, 1990). Sa principale faiblesse est la possible identification de *Y. intermedia* comme *Y. enterocolitica*, ce qui peut entraîner un traitement non justifié du patient. Par contre, la galerie ID32E n'ayant pas été validée scientifiquement pour l'identification des *Yersinia*, la fiabilité des résultats obtenus est donc inconnue. Quant au système automatisé VITEK, il a été montré qu'il s'agissait d'un système fiable d'identification des *Yersinia* entéropathogènes, mais peu fiable pour les espèces non pathogènes (*Y. adolvae*, *Y. bercovieri*, *Y. mollaretii*, *Y. rohdei*, *Y. ruckeri*) qui sont absentes de la base de données (Linde, 1999). L'utilisation de ces galeries est souvent effectuée après un test urée ou urée-indole. L'uréase rapide est un caractère majeur du genre *Yersinia* (sauf *Y. pestis*), les souches uréase-négatives restant encore très rares. L'identification de l'espèce par séquençage (du gène *rpoB* ou de l'ARNr 16S) reste très minoritairement utilisée (2 laboratoires).

Seulement 6% des LAM déterminent eux-mêmes le biotype des souches, et moins de 2% pratiquent les tests biochimiques permettant de différencier les souches pathogènes et non pathogènes de *Yersinia*. Le sérotypage des souches est également très peu pratiqué (2,5%) et ne concerne que les sérotypes les plus fréquemment rencontrés en France (O:3 et O:9). Enfin, seulement 1,5% des LAM recherchent des facteurs de pathogénicité. La caractérisation des souches par un laboratoire expert n'est demandée que par 16% des laboratoires de façon systématique, et par 8% de façon occasionnelle.

Sachant que la présence de souches non pathogènes de *Y. enterocolitica* dans les selles humaines est très fréquente, et que la distinction entre souches pathogènes et non pathogènes repose principalement sur des tests biochimiques, non effectués par la plupart des laboratoires, il apparaît que dans la très grande majorité des cas, le caractère pathogène ou non d'une souche n'est pas connu. Le diagnostic rendu au clinicien d'infection à *Y. enterocolitica* ne distingue donc le plus souvent pas les souches pathogènes des non pathogènes et peut amener à la mise en place d'un traitement non justifié.

- **Etude de la résistance aux antibiotiques**

La majorité des laboratoires (83%) effectue systématiquement un antibiogramme des souches isolées. Les principales méthodes utilisées sont la diffusion et la dilution en agar sur milieu de Müller Hinton. L'incubation des milieux a lieu majoritairement à 37°C. A ce titre, une étude en cours au CNR des *Yersinia* indique que cette température d'incubation est adéquate pour les antibiogrammes, et qu'il n'est pas nécessaire d'incuber les boîtes à la température optimale de croissance des *Yersinia* qui est de 28°C.

Les trois antibiotiques les plus testés sont les fluoroquinolones (dont la ciprofloxacine), l'ampicilline/amoxicilline et la céfalotine. Alors que le premier est clairement un antibiotique actif et de choix pour traiter les yersiniozes sévères, les deux suivants sont par nature inefficaces pour traiter une infection à *Y. enterocolitica* car ces bactéries sont connues pour produire une pénicillinase et une céphalosporinase qui inhibent les bêta-lactamines et les céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération.

- **Présence de guides de bonnes pratiques analytiques**

Seulement la moitié des laboratoires possède une accréditation ou un guide de bonnes pratiques pour la recherche et les antibiogrammes des *Yersinia*.

- **Conclusion**

La majorité des LAM ayant répondu à l'enquête recherche des *Yersinia* dans les coprocultures et utilise pour cela les procédures d'isolement actuellement les plus adéquates. Les antibiogrammes sont également effectués selon des procédures appropriées et prennent en compte les antibiotiques potentiellement utilisables pour traiter une yersinioze.

Cependant, l'évaluation du risque *Yersinia* n'est pas satisfaisante en France pour plusieurs raisons:

- La recherche de *Yersinia* n'est pas effectuée de façon systématique sur toutes les coprocultures. Une décision de recherche basée sur la symptomatologie clinique n'est pas appropriée car les yersiniozes peuvent revêtir de nombreuses formes cliniques.
- Une très grande disparité dans la capacité à isoler une *Yersinia* a été observée parmi les LAM interrogés. Les raisons de cette disparité ne sont pas apparues dans cette enquête mais ne semblent pas liées à des différences dans les procédures d'isolement utilisées ou dans la répartition géographique des LAM.
- Le nombre de souches pathogènes reçues au CNR sous-estime très fortement le nombre réel de souches de *Yersinia* isolées en France. D'après les chiffres prédits par cette enquête, le CNR ne recevrait que 5% des souches isolées en France. De plus, ces souches ne seraient qu'un reflet très atténué du nombre d'infections humaines.
- Les données cliniques et épidémiologiques ne sont souvent pas connues des LAM, ce qui appauvrit fortement la surveillance épidémiologique de ces infections.
- L'analyse des souches s'arrête le plus souvent au niveau du genre ou de l'espèce, mais les tests permettant de différencier les souches pathogènes des non-pathogènes ne sont pratiquement jamais effectués par le laboratoire et très rarement par un laboratoire extérieur. Un traitement non justifié est donc probablement administré à des patients chez lesquels une *Yersinia* (non pathogène) a été isolée des selles.

5. Recommandations

L'incidence des yersiniozes humaines est, pour de nombreuses raisons, très largement sous-estimée en France. Une meilleure connaissance et appréciation de ce risque permettrait cependant un contrôle plus efficace et des décisions thérapeutiques mieux adaptées. Certaines mesures pourraient aider à mieux apprécier ces infections:

- Le diagnostic des yersiniozes humaines pourrait être amélioré en encourageant les LAM à rechercher systématiquement les *Yersinia* dans les coprocultures.
- Le taux d'isolement de ces bactéries serait significativement augmenté si une méthode plus optimale d'isolement existait et était facilement disponible.
- L'identification des raisons pour lesquelles certains LAM isolent mieux les *Yersinia* que d'autres pourrait permettre d'étendre les pratiques de ces laboratoires à l'ensemble des LAM français.
- La notification des cas pourrait être améliorée en incitant les LAM à envoyer leurs isolats au CNR. Cette mauvaise transmission des souches est au moins en partie attribuable au coût élevé de transport. Un acheminement gratuit des souches vers le CNR augmenterait très probablement de façon significative le nombre de souches reçues et analysées.

- Une décision thérapeutique adaptée serait plus facile à mettre en place si les LAM étaient mieux sensibilisés au fait que toutes les *Yersinia* isolées ne sont pas pathogènes et donc qu'il est important de distinguer les deux types de souches. Ceci nécessiterait aussi, soit que les LAM fassent eux-mêmes les tests distinctifs, soit qu'ils adressent de façon systématique les souches isolées à un laboratoire expert qui effectue ces tests.

Références

- Anonyme. 2004. Yersiniose, vol. Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. InVS, Paris, France.
- Aulisio, C. C., I. J. Mehlman, and A. C. Sanders. 1980. Alkali method for rapid recovery of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from foods. Appl Environ Microbiol 39:135-40.
- EFSA. 2007. Monitoring and identification of human enteropathogenic *Yersinia* spp. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards. *The EFSA Journal* 595, 1-30.
- Hynes, M. 1942. The isolation of intestinal pathogens by selective media. J. Path. Bact, 54: 193-207.
- Jalava, K., S. Hallanvuo, U. M. Nakari, P. Ruutu, E. Kela, T. Heinasmaki, A. Siitonen, and J. P. Nuorti. 2004. Multiple outbreaks of *Yersinia pseudotuberculosis* infections in Finland. J. Clin. Microbiol. 42:2789-2791.
- Leclercq, A., and E. Carniel. Juin 2004. Caractéristiques des souches de *Yersinia* reçues au CNR en 2003. Fascicule n°4 du CNR de la peste et autres yersinioses.
- Linde, H. J., H. Neubauer, H. Meyer, S. Aleksic, and N. Lehn. 1999. Identification of *Yersinia* species by the Vitek GNI card. J Clin Microbiol 37:211-4.
- Schiemann, D. A. 1979. Synthesis of a selective agar medium for *Yersinia enterocolitica*. Can. J. Microbiol. 25:1298-1304.
- Sharma N.K., Doyle P.W., Gerbasi S.A., Jessop J.H. 1990. Identification of *Yersinia* Species by the API-20E, J. Clin. Microbiol. 28 : 1443-1444.
- Wauters, G. 1973. Improved methods for the isolation and recognition of *Yersinia enterocolitica*. Contrib. Microbiol. Immunol. 2:68-70.
- Weber, P., P. Laudat, D. Dye, and I. r. Epiville. 2003. Bactéries entéropathogènes isolées des coprocultures en médecine de ville: enquête "EPICOP" 1999-2000. B.E.H. 8:45-46.