



CHU Robert Debré – APHP



Rapport d'activité annuel Année d'exercice 2020



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

et

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

Responsables :

CNR-IP :

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

colishig@pasteur.fr
salmonella@pasteur.fr

François-Xavier WEILL
Sophie LEFÈVRE
María PARDOS DE LA GÁNDARA

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

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

Laboratoire associé (HRD) :

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

e.coli@aphp.fr

Stéphane BONACORSI
Patricia MARIANI-KURKDJIAN

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

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

Table des matières

RESUME ANALYTIQUE	1
ANALYTIC SUMMARY	2
1 MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR	3
1.1 CNR-ESS	3
1.2 LABORATOIRE ASSOCIE ROBERT DEBRE (LA-RD)	4
2 SALMONELLA	5
2.1 ACTIVITES D'EXPERTISE	5
2.1.1 Évolution des techniques.....	5
2.1.1.1 Liste des techniques développées.....	5
2.1.1.2 Liste des techniques en développement	6
2.1.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	6
2.1.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	7
2.1.4 Collections de matériel biologique	7
2.1.5 Activités d'expertise <i>Salmonella</i>	7
2.1.6 Activités de séquençage.....	9
2.2 ACTIVITES DE SURVEILLANCE.....	11
2.2.1 Description du réseau de partenaires	11
2.2.1.1 Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS	11
2.2.1.2 Définition de l'échantillon de souches isolées	12
2.2.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	14
2.2.2.1 Nombre annuel de <i>Salmonella</i> répertoriées au CNR-ESS.....	14
2.2.2.1.1 Origine géographique des souches de <i>Salmonella</i> reçues	15
2.2.2.1.2 Répartition des <i>Salmonella</i> par sites de prélèvement	18
2.2.2.1.3 Distribution des <i>Salmonella</i> par classes d'âge	18
2.2.2.1.4 Foyers de cas groupés à <i>Salmonella</i>	18
2.2.2.1.5 Répartition des 20 principaux sérotypes de <i>Salmonella</i>	20
2.2.2.1.6 Évolution de la répartition des principaux sérotypes en France	22
2.2.2.1.7 Le sérotype Typhi.....	23
2.2.2.1.8 Le sérotype Paratyphi A	26
2.2.2.1.9 Le sérotype Paratyphi B	27
2.2.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux.....	28
2.2.3.1 Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de <i>Salmonella</i>	28
2.2.3.2 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium : 1997 – 2020.....	30
2.2.3.3 Résistance aux antibiotiques du variant 1,4,[5],12:i:- (monophasique) : 2007 – 2020	31
2.2.3.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis : 1997 – 2020	32
2.2.3.5 Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky : 2002 – 2020	33
2.2.3.6 Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby : 2002 – 2020	34
2.2.3.7 Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis : 1997 – 2020.....	35
2.2.3.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport : 1997 – 2020	36
2.2.3.9 Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar : 1997 – 2020	37
2.2.3.10 Résistance aux antibiotiques du sérotype Dublin : 2020.....	38
2.2.3.11 Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow : 1997 – 2020	39
2.2.3.12 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi : 1997 – 2020	40
2.2.3.13 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A : 2005 – 2020.....	41
2.2.3.14 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B : 2002 – 2020	42
2.2.3.15 Résistance aux antibiotiques des autres sérotypes.....	43
2.2.3.16 Détection de gènes de résistance par séquençage du génome complet : « Résistome ».....	44
2.2.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....	47
2.2.4.1 Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé Publique France	47
2.2.4.1.1 Relevés périodiques envoyés à Santé Publique France	47
2.2.4.1.2 Relevés annuels	47
2.2.4.1.3 Relevés ponctuels	47

2.2.4.2	Contribution aux réseaux de surveillance nationaux, humaine et vétérinaire	47
2.2.4.3	Contribution aux réseaux de surveillance internationaux.....	47
2.2.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	48
2.3	ALERTE	49
3	<i>SHIGELLA</i>/EIEC	53
3.1	ACTIVITES D'EXPERTISE	53
3.1.1	Évolution des techniques.....	53
3.1.2	Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et troussees	53
3.1.3	Techniques transférées vers d'autres laboratoires	54
3.1.4	Collections de matériel biologique	54
3.1.5	Activités d'expertise	55
3.1.5.1	Activité de routine du CNR-ESS.....	55
3.1.5.2	Activité hors routine du CNR.....	55
3.1.6	Activités de séquençage.....	56
3.2	ACTIVITES DE SURVEILLANCE.....	57
3.2.1	Description du réseau de partenaires	57
3.2.1.1	Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS	57
3.2.1.2	Distribution globale des cas d'infection à <i>Shigella</i> /EIEC en France métropolitaine et d'Outre-mer	57
3.2.2	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	61
3.2.2.1	Origine des prélèvements	61
3.2.2.2	Analyse de la distribution en France métropolitaine et analyse de tendances.....	61
3.2.2.2.1	Répartition par sérogroupes et par sérotypes.....	61
3.2.2.2.2	Répartition par sexe.....	64
3.2.2.2.3	Répartition par âge	65
3.2.2.2.4	Notion de voyage.....	66
3.2.2.3	Analyse de la distribution en France d'outre-mer et analyse de tendances.....	67
3.2.2.3.1	Répartition par sérogroupes et par sérotypes.....	67
3.2.2.3.2	Répartition par sexe.....	68
3.2.2.3.3	Répartition par âge	68
3.2.2.3.4	Notion de voyage.....	69
3.2.2.4	Distribution des séquences types (ST)	70
3.2.3	Surveillance de la résistance des <i>Shigella</i> aux antibiotiques.....	71
3.2.3.1	Surveillance globale	71
3.2.3.2	Résistances émergentes chez <i>Shigella</i> spp.	74
3.2.3.2.1	Résistance à l'azithromycine	74
3.2.3.2.2	Résistance aux quinolones.....	76
3.2.3.2.3	Résistance aux céphalosporines de 3 ^{ème} génération.....	79
3.2.4	Interface avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....	81
3.2.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	82
3.3	ALERTE	83
4	<i>ESCHERICHIA COLI</i>	85
4.1	ACTIVITES D'EXPERTISE	85
4.1.1	Évolutions des techniques	85
4.1.2	Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et troussees	86
4.1.3	Techniques transférées vers d'autres laboratoires	86
4.1.4	Collections de matériel biologique	86
4.1.5	Activités d'expertise	86
4.1.5.1	Inventaire des prélèvements reçus pour la recherche des EHEC en 2020.....	87
4.1.6	Activités de séquençage.....	87
4.2	ACTIVITES DE SURVEILLANCE.....	88
4.2.1	Description du réseau de partenaires	88
4.2.2	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	88
4.2.2.1	Analyse des caractéristiques épidémiologiques des EHEC.....	88

4.2.2.2	Résultats microbiologiques pour les cas de SHU pédiatriques en 2020.....	92
4.2.2.3	Résultats microbiologiques pour les cas de SHU/MAT adultes en 2020.....	93
4.2.2.4	Bilan des activités concernant les <i>E. coli</i> entéro-hémorragiques (EHEC)	94
4.2.2.4.1	Analyse de la répartition des symptômes donnant lieu à une analyse de selles, souches....	94
4.2.2.4.2	Résultats obtenus sur les prélèvements de selles en 2020	94
4.2.2.4.3	Souches de <i>E. coli</i> d'origine humaine productrices de Shiga-toxines isolées en 2020	95
4.2.2.4.3.1	Analyse sur des souches de <i>E. coli</i> d'origine humaine productrices de Shiga-toxines	95
4.2.2.4.3.2	Analyse des profils de virulence.....	98
4.2.2.4.3.3	Analyse des variants (ou sous types) des gènes <i>stx</i> par WGS	101
4.2.2.4.3.4	Analyse des variants des gènes <i>eae</i> par WGS	102
4.2.2.4.3.5	Autres facteurs de virulence	103
4.2.2.4.3.6	Analyse des MLST	105
4.2.2.4.3.7	Analyse des cgMLST-HC5	105
4.2.2.4.4	Analyse des prélèvements (selles et/ou souches) dans l'entourage de patients présentant un SHU	106
4.2.2.5	Bilan des activités 2020 concernant les souches de <i>E. coli</i> extra intestinales (ExpEC).....	107
4.2.2.5.1	Étude des facteurs de pathogénicité des souches de <i>E. coli</i> responsables de méningites..	107
4.2.2.5.2	Étude des facteurs de pathogénicité des souches de <i>E. coli</i> extra-intestinales responsables de pathologies autres que les méningites.....	108
4.2.3	Surveillance de la résistance de <i>Escherichia coli</i> aux anti-infectieux.....	110
4.2.3.1	Sensibilité aux antibiotiques des souches EHEC (LA-RD).....	110
4.2.3.2	Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>E. coli</i> responsables de pathologies extra intestinales (LA-RD)	111
4.2.4	Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....	111
4.2.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	111
4.3	ALERTE	112
4.3.1	ÉPIDEMIES NATIONALES	112
4.3.2	ÉPIDEMIES INTERNATIONALES.....	113
5	ACTIVITES DE RETRO-INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL....	115
5.1	CONSEIL ET EXPERTISE AUX PROFESSIONNELS DE SANTE.....	115
5.1.1	Enseignements et formations aux professionnels de santé.....	115
5.1.2	Accueil de stagiaires	115
5.1.2.1	Liste des stagiaires au CNR-ESS en 2020 :.....	116
5.1.2.2	Liste des stagiaires au LA-RD en 2020.....	116
5.1.3	Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion).....	116
5.1.4	Modalités et cibles de la diffusion des données de surveillance et des productions du CNR	117
5.1.5	Activités de conseil aux professionnels de santé	117
5.2	CONSEIL ET EXPERTISE AUX AUTORITES SANITAIRES	117
5.3	CONSEIL ET EXPERTISE POUR D'AUTRES CIBLES (MEDIAS, GRAND PUBLIC ...).....	117
6	TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR.....	119
6.1	ACTIVITES DE RECHERCHE EN COURS LORS DE L'ANNEE 2020, CONCERNANT UNIQUEMENT CELLES AYANT UN LIEN DIRECT AVEC LES MISSIONS ET ACTIVITES DU CNR	119
6.1.1	Pour le CNR-ESS.....	119
6.1.2	Pour LA-RD.....	122
6.1.2.1	<i>E. coli</i> intestinaux :	122
6.1.2.2	<i>E. coli</i> extra intestinaux (LA-RD) :	122
6.2	LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS DE L'ANNEE 2020, CONCERNANT UNIQUEMENT CELLES AYANT UN LIEN DIRECT AVEC LES MISSIONS ET ACTIVITES DU CNR	123
6.2.1	Publications nationales.....	123
6.2.2	Publications internationales	123
6.2.3	Communications nationales.....	124
6.2.4	Communications internationales	124

6.2.5	Conférences sur invitations	124
7	COOPERATION AVEC LES LABORATOIRES DE SANTE ANIMALE, D'HYGIENE ALIMENTAIRE, ENVIRONNEMENTAUX	125
7.1	<i>SALMONELLA</i>	125
7.2	<i>ESCHERICHIA COLI</i>	125
8	PROGRAMME D'ACTIVITE POUR LES ANNEES SUIVANTES	127
8.1	APPORTER UNE EXPERTISE MICROBIOLOGIQUE	127
8.1.1	Infections à <i>E. coli</i>	127
8.1.1.1	Infections à <i>E. coli</i> entéro-hémorragiques (CNR-ESS et LA-RD)	127
8.1.1.2	<i>E. coli</i> responsables d'infections extra-intestinales (LA-RD)	127
8.1.1.3	Étude et suivi de la résistance des souches de <i>E. coli</i> aux antibiotiques en lien avec le CNR de la résistance aux antibiotiques (LA-RD)	128
8.1.2	Infections à <i>Shigella</i>	128
8.1.3	Infections à <i>Salmonella</i>	128
8.2	CONTRIBUER A LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE ET L'ALERTE, EN LIEN AVEC SANTE PUBLIQUE FRANCE	129
	ANNEXE 1 : MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR	133
A1.1	MISSIONS ET OBJECTIFS DU CNR-ESS ET DE SON LABORATOIRE ASSOCIE A L'HOPITAL ROBERT DEBRE	133
A1.2	ORGANISATION DU CNR ET DE SON LABORATOIRE ASSOCIE A L'HOPITAL ROBERT DEBRE	135
A1.2.1	Le CNR-ESS : Effectif / Qualification du Personnel	135
A1.2.2	Le laboratoire associé (LA-RD): Effectif / Qualification du Personnel	137
A1.3	LES LOCAUX ET EQUIPEMENTS	137
A1.3.1	CNR-ESS (Institut Pasteur)	137
A1.3.2	LA-RD	140
A1.4	COLLECTION DE MATERIEL BIOLOGIQUE	141
A1.5	DEMARCHE QUALITE	142
A1.5.1	Démarche qualité du CNR-ESS	142
A1.5.2	Démarche qualité du LA-RD	143
	ANNEXE 2 : CAPACITES TECHNIQUES DU CNR	144
A2.1	POUR <i>SALMONELLA</i>	144
A2.1.1	Liste des techniques de référence	144
A2.1.1.1	Des techniques classiques d'identification du genre, des espèces et des sous-espèces de <i>Salmonella</i>	144
A2.1.1.2	Des techniques d'identification des sérotypes	145
A2.1.1.3	Des techniques de sous-typage des <i>Salmonella</i> :	145
A2.1.1.4	Des techniques d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des <i>Salmonella</i>	146
A2.1.2	Liste des techniques recommandées par le CNR	147
A2.2	POUR <i>SHIGELLA</i>	147
A2.2.1	Liste des techniques de référence	147
A2.2.1.1	Techniques d'identification des <i>Shigella</i> /EIEC	147
A2.2.1.2	Techniques de typage des <i>Shigella</i> /EIEC	148
A2.2.1.3	Techniques de sous-typage des <i>Shigella</i> /EIEC	149
A2.2.1.4	Détection des gènes de pathogénicité des <i>Shigella</i>	149
A2.2.1.5	Techniques d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des <i>Shigella</i>	149
A2.2.1.6	Séquençage du génome entier des <i>Shigella</i> /EIEC	149
A2.2.2	Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles	150
A2.2.3	Collection de souches	150
A2.2.4	Techniques recommandées par le CNR-ESS	150
A2.3	POUR <i>ESCHERICHIA COLI</i>	151
A2.3.1	Liste des techniques de référence	151
A2.3.1.1	Techniques du LA-RD	151

A2.3.1.2 Techniques du CNR-ESS	151
A2.3.2 Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles.....	152
A2.3.3 Collection de souches.....	152
A2.3.4 Techniques recommandées par le CNR-ESS ET LA-RD	152

SOMMAIRE DES FIGURES

Figure 1. Organigramme du CNR-ESS.....	3
Figure 2. Organigramme du LA-RD.....	4
Figure 3. Délai de validation des typages de salmonelles, CNR-ESS 2020.....	8
Figure 4. Nombre de souches de Salmonella reçues au CNR-ESS en 2020 vs les années précédentes.....	12
Figure 5. Lettre d'information sur la clôture de la plateforme Voozaneo du CNR-ESS.....	13
Figure 6. Nombre annuel de souches de Salmonella d'origine humaine enregistrées (souches reçues + « fiches information »), France métropolitaine et Outre-mer 1988-2020.....	14
Figure 7. Répartition entre souches de Salmonella reçues et « fiches information », 2000-2020.....	15
Figure 8. Nombre de cas et incidence des salmonelloses par départements en 2019.....	17
Figure 9. Évolution des principaux sérotypes de Salmonella isolées chez l'homme, 1988-2020.....	21
Figure 10. Lettre « notion voyage» sérotypes majeurs.....	25
Figure 11. Évolution du nombre d'alertes à Salmonella analysées par le CNR-ESS.....	49
Figure 12. Nombre de cas d'infections à Shigella spp. ou EIEC (souches et « fiches information», France métropolitaine et Outre-mer, 2005-2020).....	58
Figure 13. Cartes du nombre de cas et de l'incidence des infections à Shigella spp ou EIEC par département (souches et « fiches information », France métropolitaine et Outre-mer, 2020).....	59
Figure 14. Distribution temporelle des cas de shigellose (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2019 et 2020).....	60
Figure 15. Évolution des principaux sérotypes de Shigella (souches, France métropolitaine, 2005-2020).....	63
Figure 16. Évolution des cas de shigellose par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2020).....	64
Figure 17. Patients âgés de 16-60 ans diagnostiqués avec S. sonnei g, S. flexneri 2a, S. flexneri 3a ou S. flexneri 1b sans notion de voyage hors de France, par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2020)....	64
Figure 18. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2019).....	65
Figure 19. Principaux sérotypes de Shigella selon le sexe du patient (souches, Outre-mer, 2020).....	68
Figure 20. Répartition des cas de shigellose par âge (souches et « fiches information», Outre-mer, 2020).....	68
Figure 21. Principaux ST associés aux Shigella spp. (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2020).....	70
Figure 22. Prévalence des Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2014-2020).....	74
Figure 23. CMI des Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2019).....	75
Figure 24. Patients (âge et sexe) infectés par Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2019).....	75
Figure 25. Prévalence des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2005-2020).....	76
Figure 26. CMI des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2020).....	77
Figure 27. Patients (âge et sexe) infectés par Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2020).....	77
Figure 28. Mutations chromosomiques (QRDR) des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2020)...	78
Figure 29. Déterminants PMQR des Shigella CIP-S et CIP-R (souches, France métropolitaine, 2020).....	78
Figure 30. Pourcentage des Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2005-2020).....	79
Figure 31. CMI des Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2020).....	80
Figure 32. Patients (âge et sexe) infectés par Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2020).....	80
Figure 33. Gènes responsables de la résistance aux C3G chez Shigella (souches, France métropolitaine, 2020).....	81
Figure 34. Classe d'âge et sexe des patients ayant une recherche de EHEC positive en 2020.....	89
Figure 35. Répartition départementale des souches de EHEC isolées en 2020 (n = 238) sur le territoire.....	92
Figure 36. Répartition départementale des sérogroupes O26, O80 et O157 en 2020.....	92
Figure 37. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés toutes pathologies confondues en 2020.....	97
Figure 38. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés au cours des SHU tous âges confondus en 2020.....	97
Figure 39. Distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2020.....	98

SOMMAIRE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Nombre de souches et de « fiches information » de Salmonella enregistrées en 2020.....	7
Tableau 2 : Nombre de Salmonella analysées dans le cadre de l'activité de surveillance en 2020	14
Tableau 3 : Nombre de souches de Salmonella reçues par régions de 2016 à 2020.....	16
Tableau 4 : Répartition par sites de prélèvement de 2016 à 2020.....	18
Tableau 5 : Distribution par tranches d'âge de 2016 à 2020	18
Tableau 6 : Foyers de cas groupés de Salmonella signalés au CNR-ESS de 2016 à 2020.....	19
Tableau 7 : Récapitulatif des différents foyers de cas groupés à Salmonella de 2016 à 2020	19
Tableau 8 : 20 principaux sérotypes de Salmonella au cours des années 2005, 2010, 2018 à 2020.....	20
Tableau 9. Nombre d'isollements annuels des principaux sérotypes en France de 2016 à 2020.....	22
Tableau 10 : Origine géographique des souches de sérotype Typhi (une par patient) 2016–2020.....	23
Tableau 11 : Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi A (une par patient) 2016–2020.....	26
Tableau 12 : Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi B (dt-) (une par patient) 2016–2020....	27
Tableau 13 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de Salmonella.....	28
Tableau 14 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhimurium.....	30
Tableau 15 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype <u>L</u> ,4,[5],12 :i :- (monophasique)...	31
Tableau 16 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Enteritidis	32
Tableau 17 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Kentucky	33
Tableau 18 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Derby	34
Tableau 19 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Infantis	35
Tableau 20 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Newport	36
Tableau 21 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Hadar.....	37
Tableau 22 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Dublin	38
Tableau 23 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Virchow.....	39
Tableau 24 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhi	40
Tableau 25 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi A.....	41
Tableau 26 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi B.....	42
Tableau 27 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques des autres sérotypes	43
Tableau 28 : Salmonella contenant des gènes de BLSE.....	44
Tableau 29 : Salmonella contenant des gènes de céphamycine.....	45
Tableau 30 : Salmonella contenant des gènes de carbapénèmase.....	45
Tableau 31 : Salmonella contenant des gènes de résistance à l'azithromycine.....	46
Tableau 32 : Salmonella contenant des gènes de résistance à la colistine	46
Tableau 33 : Alertes épidémiques à Salmonella en France, 2020	50
Tableau 34 : Alertes épidémiques européennes à Salmonella, 2020	52
Tableau 35 : Nombre de souches de Shigella/EIEC enregistrées au CNR-ESS en 2020.....	55
Tableau 36 : Répartition des sites de prélèvement des Shigella spp. (souches et « fiches information », France métropolitaine et Outre-mer, 2020)	61
Tableau 37 : Distribution annuelle des différents sérotypes de Shigella (France métropolitaine, 2016-2020) ...	62
Tableau 38 : Incidence des cas de shigellose par classe d'âge (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2020).....	65
Tableau 39 : Notion de voyage associée aux cas de shigellose (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2020).....	66
Tableau 40 : Distribution des différents sérogroupes et sérotypes de Shigella spp. et EIEC (souches et « fiches information», Outre-mer, 2020).....	67
Tableau 41 : Incidence des cas de shigellose (souches et « fiches information», Outre-mer, 2020).....	69
Tableau 42 : ST et sérotypes associés des Shigella spp. (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2020)..	70
Tableau 43 : Antibiotiques utilisés pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de Shigella spp.	71
Tableau 44 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de Shigella (souches, France métropolitaine, 2020)	72
Tableau 45 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de Shigella (souches, Outre-mer, 2020)	72
Tableau 46 : Caractérisation des principaux gènes de résistance aux antibiotiques détectés par WGS (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2020).....	73
Tableau 47 : Sérotypes/biotypes des Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2020)	74
Tableau 48 : Sérotypes/biotypes des Shigella CIP-R (souches, France métropolitaine, 2020).....	76
Tableau 49 : Sérotypes/biotypes des Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2020).....	79
Tableau 50 : Répartition des différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au LA-RD en 2020	87
Tableau 51 : Les différents types de prélèvements.....	87

<i>Tableau 52 : Principal symptôme observé chez les patients ayant une recherche de EHEC positive (isolement d'une souche ou PCR positive) en 2020.....</i>	<i>88</i>
<i>Tableau 53 : Répartition des différents sérogroupes de EHEC (souches isolées) par classe d'âge et par sexe des patients en 2020</i>	<i>91</i>
<i>Tableau 54 : Symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC (souches ou selles) en 2020.....</i>	<i>94</i>
<i>Tableau 55 : Sérotypage in silico des souches isolées en 2020</i>	<i>95</i>
<i>Tableau 56 : Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les plus fréquemment isolés en 2020.....</i>	<i>99</i>
<i>Tableau 57 : Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les moins fréquemment isolés en 2020.....</i>	<i>99</i>
<i>Tableau 58 : Profil de virulence des EHEC non sérogroupables par méthode moléculaire WGS en 2020</i>	<i>100</i>
<i>Tableau 59 : Profil de virulence directement par PCR sur les selles sans isolement de souches en 2020</i>	<i>100</i>
<i>Tableau 60 : Résultats du sérogroupage par PCR directe sur selles sans souche isolée en 2020.....</i>	<i>101</i>
<i>Tableau 61 : Répartition globale des variants stx en 2020.....</i>	<i>101</i>
<i>Tableau 62 : Répartition des profils de variants stx en fonction des sérogroupes de EHEC les plus fréquents des souches isolées en 2020</i>	<i>102</i>
<i>Tableau 63 : Répartition des profils de variants stx en fonction des sérogroupes de EHEC les plus rares isolés en 2020.....</i>	<i>102</i>
<i>Tableau 64 : La répartition des variants du gène eae en fonction du séro groupe EHEC en 2020.....</i>	<i>103</i>
<i>Tableau 65 : Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène saa en 2020</i>	<i>104</i>
<i>Tableau 66 : Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène subA en 2020... ..</i>	<i>104</i>
<i>Tableau 67 : La répartition des ST en fonction du séro groupe (≥ 6 souches par ST).....</i>	<i>105</i>
<i>Tableau 68 :Analyse des cgMLST-HC5 des sérogroupes O26, O80 en 2020.....</i>	<i>106</i>
<i>Tableau 69 : Facteurs de virulence des E. coli responsables de méningites en 2020 (LA-RD).....</i>	<i>107</i>
<i>Tableau 70 : Caractéristiques des souches de ExpEC hors méningites en 2020 LA-RD.....</i>	<i>109</i>
<i>Tableau 71 : Prévalence de la résistance (en %) aux antibiotiques des souches EHEC en 2020 (LA-RD).....</i>	<i>110</i>
<i>Tableau 72 : CMI à l'azithromycine des souches EHEC isolées en 2020 au LA-RD</i>	<i>110</i>
<i>Tableau 73 : Prévalence de la résistance (en %) aux antibiotiques des souches EXPEC (2020, LA-RD)</i>	<i>111</i>

Résumé analytique

L'Unité des Bactéries Pathogènes Entériques de l'Institut Pasteur héberge le CNR *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* (CNR-ESS). Le service de microbiologie de l'hôpital Robert Debré de Paris est le laboratoire associé (LA-RD) au CNR-ESS pour les activités *E. coli*.

Salmonella

En 2020, le CNR-ESS a répertorié **8 793** isollements de *Salmonella* spp. dans le cadre de la surveillance (contre 10 305 en 2019). Ceux-ci se répartissaient en **7 181** souches de *Salmonella* reçues et typées (contre 9 215 en 2019), et **895** « fiches information » (contre 1 090 en 2019). En 2020, **7 030** souches ont été typées par WGS, soit 97,9 %, (vs 97,3 % en 2019).

Le WGS en routine, et l'analyse du cgMLST par l'outil EnteroBase appliqué à certains sérotypes, ont permis de détecter et investiguer 77 toxi-infections alimentaires en France, et de créer ou répondre à 36 alertes épidémiologiques via le réseau EPIS-FWD du Centre Européen pour le Contrôle des Maladies (ECDC) en 2020.

Shigella

En 2020, le CNR-ESS a **reçu et analysé 718 cultures bactériennes** d'origine humaine envoyées comme appartenant au genre *Shigella* (contre 1 502 en 2019). Soixante-dix-neuf pour cent (570/718) ont été confirmées comme des *Shigella*/EIEC.

Nous avons recensé 606 isollements de *Shigella*/EIEC avec une **date de prélèvement en 2020**. Ces derniers correspondaient à **564** souches de *Shigella* spp. et **deux** souches de **EIEC** reçues et typées, et 40 « fiches information » déclarant des cas supplémentaires d'infection à *Shigella* spp. En 2020, *S. sonnei* restait le sérotype majoritaire circulant en France métropolitaine (260/485 ; 54%) et *S. flexneri* (82/121 ; 68%) en Outre-mer. Depuis 2013, le sex-ratio des cas de shigellose de métropole est déséquilibré (sex-ratio_{H/F} = 2,9 en 2020). Cette situation fait écho à une **circulation active de ce pathogène au sein de la communauté homosexuelle masculine** décrite en Europe. La **résistance à l'azithromycine** (45 % des souches de *Shigella* spp.), **à la ciprofloxacine** (33 %) et **aux céphalosporines de 3^{ème} génération** (7 %) a continué d'augmenter en métropole. Enfin, **dix épidémies nationales à *Shigella* spp.**, ont été détectées en 2020.

E. coli

En 2020, un total de 1097 échantillons, dont 895 prélèvements de selles et 187 souches de *E. coli* ont été reçus au LA-RD. Le nombre de souches analysées est similaire à celui de 2019 (n = 185). Le nombre de selles analysées qui augmentait régulièrement depuis 2013 (1195 en 2019) s'est stabilisé, ce qui peut s'expliquer par l'atteinte d'un point d'équilibre des systèmes de PCR syndromiques à disposition des différents laboratoires. En 2020, 238 souches de EHEC ont été isolées et identifiées au LA-RD puis caractérisées par WGS au CNR-ESS. En France, toutes pathologies confondues, les sérotypes majeurs de EHEC retrouvés étaient : O26 (28,6 %), O80 (19,3 %) et O157 (8 %). Au cours des SHU, la prédominance du sérotype O26 s'est affirmé (38.8 %) suivi du sérotype O80 (25.6 %) et du sérotype O145 (4,7%). Le sérotype O157 ne représentait plus que 3% de ceux impliqués dans le SHU. Par ailleurs en 2020 le LA-CNR a reçu 13 souches de méningite de 11 nouveau-nés ou nourrissons, et 2 adultes. 92% des souches étaient de sérotype capsulaire K1 et 7% étaient productrices de BLSE.

L'année 2020 a été marquée par deux épisodes de cas groupés d'infections à EHEC O26 : l'un lié à la consommation de fromage au lait cru et l'autre à une baignade dans le lac Léman.

Analytic summary

The Enteric Bacterial Pathogens Unit at the Institut Pasteur hosts the NRC for *E. coli*, *Shigella* and *Salmonella* (CNR-ESS). The Bacteriology Laboratory at hospital Robert Debré, in Paris (LA-RD) acts as the associated laboratory for the activities on *E. coli*.

Salmonella

In 2020, the CNR-ESS identified **8 793** *Salmonella* spp. isolates as part of the surveillance activities (*versus* 10 305 in 2019). Of those 8 793 isolates, **7 181** were received and typed (9 215 in 2019), and **895** notifications were received (*versus* 1 090 in 2019). Hence, **7 030** isolates were typed by WGS in 2020, representing 97.9 % of all typed isolates (*versus* 97.3 % in 2019). The remaining typed isolates were serotyped.

Routine WGS and cgMLST analyses through the EnteroBase scheme on selected serotypes allowed to detect and analyse 77 food-borne outbreaks in France, and to create or respond to 36 epidemiological alerts via the EPIS-FWD network of the European Centre for Diseases Control (ECDC) in 2020.

Shigella

In 2020, the CNR-ESS received and analysed **718 human isolates**, sent as belonging to the genus *Shigella* (compared with 1,502 in 2019). Seventy-nine percent (570/718) were confirmed as *Shigella*/EIEC.

We inventoried 606 *Shigella*/EIEC isolates with a collection date in 2020. These corresponded to 564 strains of *Shigella* spp. and 2 strains of EIEC received and typed, and 40 "information sheets" reporting additional cases of *Shigella* spp. infection. In 2020, *S. sonnei* remained the main serogroup circulating in metropolitan France (260/485; 54%) and *S. flexneri* (82/121; 68%) in overseas territories. Since 2013, the sex ratio of shigellosis cases in metropolitan France has been unbalanced (sex ratio M/F = 2.9 in 2020). This situation echoes an active circulation of this pathogen within the male homosexual community described in Europe. The resistance to azithromycin (45% of *Shigella* spp. strains), ciprofloxacin (33%) and 3rd generation cephalosporins (7%) has continued to increase in metropolitan France. Finally, ten national epidemics of *Shigella* spp. were detected in 2020.

E. coli

In 2020, a total of 1097 samples, including 895 stool samples and 187 *E. coli* strains were received at LA-RD. The number of strains analyzed is similar to that of 2019 (n = 185). The number of stools analyzed, which has been increasing regularly since 2013 (1195 in 2019) is decreasing, which can be explained by the plurality of syndromic PCR systems now available. In 2020, 238 EHEC strains were isolated and identified at LA-RD and then characterized by WGS at CNR-ESS. In France, all pathologies included, the major EHEC serogroups found were: O26 (28.6%), O80 (19.3%) and O157 (8%). In HUS, the predominance of serogroup O26 was confirmed (38.8%) followed by serogroup O80 (25.6%) and serogroup O145 (4.7%). Serogroup O157 now represents only 3% of the serogroups involved in HUS.

The year 2020 was marked by two episodes of clustered cases of O26 EHEC infections: one linked to the consumption of raw milk cheese and the other to swimming in Lake Geneva.

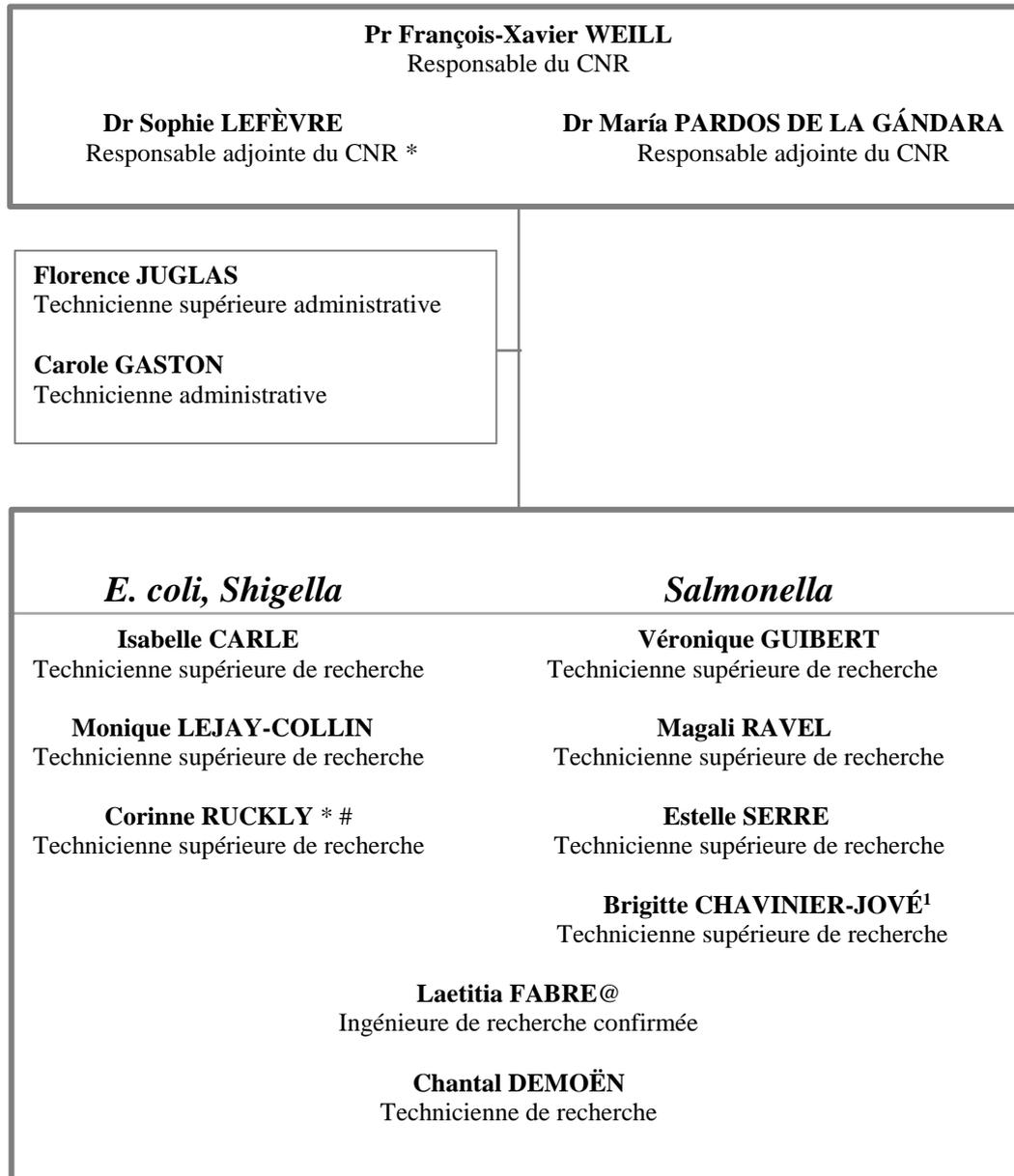
Missions et organisation du CNR

1 Missions et organisation du CNR

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

1.1 CNR-ESS

Figure 1. Organigramme du CNR-ESS



@ Correspondant Hygiène et Sécurité

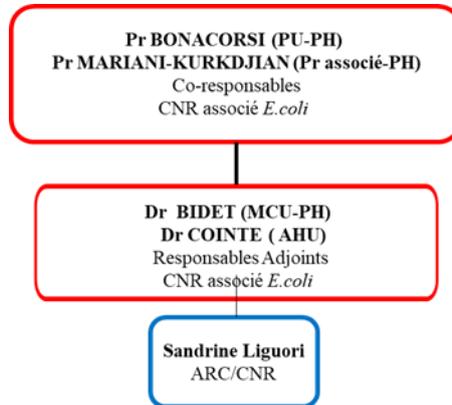
* Correspondant Qualité du CNR

Correspondant Métrologie et Matériel du CNR

¹ Partie en retraite en avril 2020

1.2 Laboratoire associé Robert Debré (LA-RD)

Figure 2. Organigramme du LA-RD



Salmonella

2 Salmonella

2.1 Activités d'expertise

En 2020,

- Le séquençage du génome entier (**WGS**) est la technique de première intention pour le typage des souches de *Salmonella* d'origine humaine reçues au CNR-ESS. Ainsi, **7 030 souches** ont été typées par cette méthode.
- La méthode **cgMLST** (pour core genome multilocus sequence typing) permet, depuis octobre 2018, le **sous-typage** des sérotypes prévalents ayant une forte homogénéité génétique et des sérotypes impliqués dans des épidémies d'envergure. Cette approche a facilité la surveillance et l'échange des informations entre institutions nationales et internationales lors des alertes épidémiologiques.
- Le **sérotypage classique par agglutination** reste la méthode de référence pour le typage des *Salmonella* et a été utilisé pour **390 souches** dans un contexte d'urgence, de nouveaux types MLST, d'échantillons reçus de plusieurs laboratoires pour un même patient, et suite à la demande de validation de sérotype sur des souches d'origine non-humaine par l'Anses et autres laboratoires.

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

2.1.1 Évolution des techniques

2.1.1.1 Liste des techniques développées

Le **sérotypage classique par agglutination** reste la méthode de typage de référence des *Salmonella* (ISO/TR 6579-3).

En juillet 2018, le **séquençage du génome entier** (whole-genome sequencing ou **WGS**) a définitivement remplacé le sérotypage classique par agglutination comme technique de typage de première intention des *Salmonella* au CNR-ESS. Le typage par WGS est basé sur l'analyse des données de multilocus sequence typing (**MLST**), des séquences flagellaires *fliC* et *fljB*, du **CRISPOL-type** (pour le sérotype Typhimurium et son variant monophasique) et de la présence ou (absence) d'une mutation impliquée dans la fermentation du **d-tartrate** (différenciant le sérotype Paratyphi B **dt-**, de son variant mineur, le biotype Java **dt+**).

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

Une confirmation des groupements bactériens épidémiologiques est toujours réalisée par une deuxième approche qui est une analyse de la distance génétique basée sur les mutations ponctuelles de l'ADN ou **SNP** (pour single nucleotide polymorphism), sur le site Enterobase, ou par des outils développés au CNR-ESS.

Ces méthodes sont détaillées dans l'**Annexe 2** de ce rapport.

2.1.1.2 Liste des techniques en développement

Le sérotypage par agglutination, basé sur la **détection des antigènes somatiques (« O »)** et **flagellaires (« H1 » et « H2 »)** reste encore la technique de référence pour l'identification des salmonelles.

Le **typage WGS** doit donc rester compatible avec les données de sérotypage (pour permettre une équivalence avec les données accumulées durant des décennies avant le passage au WGS ou pour maintenir le lien avec les laboratoires ne faisant pas de WGS). Pour cela, le CNR travaille sur la mise au point d'une base de données des gènes du cluster *rfb* (codant pour l'antigène « O »), en lien avec les résultats MLST obtenus, de façon à améliorer la déduction du sérotype pour les souches appartenant à des sérotypes moins fréquents. Il est donc important d'alimenter régulièrement cette base de données avec tous les nouveaux profils MLST identifiés au long de l'année, et avec des souches moins fréquentes dont le sérotype a été déterminé par la méthode de référence.

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

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

2.1.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et troussees

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

Les kits syndromiques de PCR multiplex se sont largement répandus depuis quelques années dans les laboratoires de biologie médicale (LBM). Le CNR-ESS a effectué une revue critique de la littérature présentée au congrès Microbes de la Société Française de Microbiologie (1^{er} octobre 2019). Pour le diagnostic des *Salmonella*, ces kits proposent une moins bonne sensibilité de détection que la technique de référence par culture après bouillon d'enrichissement. Nous recommandons donc de maintenir cette technique de référence ou de la réaliser en cas de résultat négatif avec un kit PCR dans un contexte clinique évocateur d'infection à *Salmonella*.

2.1.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

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

2.1.4 Collections de matériel biologique

L'organisation, les conditions de stockage et de mise à disposition des collections de matériel biologique sont présentées en **Annexe 2 (paragraphe A2.2.3)** du présent rapport.

2.1.5 Activités d'expertise *Salmonella*

Depuis juillet 2018, le CNR-ESS a opté pour le typage par WGS comme technique de première ligne pour toutes les souches de *Salmonella* reçues des laboratoires collaborateurs de son réseau national. Le sérotypage classique par agglutination reste cependant parfois nécessaire dans des situations particulières : a) lors de la phase initiale de l'investigation d'une épidémie quand seul un résultat rapide permet l'interrogatoire précoce des nouveaux cas ; l'agglutination permettant d'identifier le sérotype en 2 à 5 jours, puis le WGS permet le sous-typage en 18 jours en moyenne, b) quand une souche possède un nouveau profil MLST ou les résultats du séquençage ne sont pas concluants, et donc qu'il n'est pas possible d'inférer le sérotype, c) lorsque plusieurs souches sont reçues pour un même patient, d'un laboratoire expéditeur différent ou issues d'autres types de prélèvements dans un intervalle maximum de 60 jours, d) pour certaines souches reçues de l'Anses et autres laboratoires dans le cadre d'une validation du sérotype.

En 2020, le CNR-ESS a enregistré **8 793** isollements de *Salmonella* d'origine humaine. Ceux-ci se répartissaient en **7 693** souches de *Salmonella* qui ont été reçues au CNR-ESS et **1 100** « fiches information » envoyées ou soumises en ligne sur la plateforme Voozoo par les laboratoires correspondants.

Tableau 1 : Nombre de souches et de « fiches information » de *Salmonella* enregistrées en 2020

Type d'enregistrement	N
Souches reçues	7 693
Souches reçues exclues des analyses car :	512
absence de culture	10
bactérie autre que <i>Salmonella</i>	32
doublon (même patient, même laboratoire, même prélèvement, intervalle < 2 mois)	108
autres raisons (tube cassé, absence d'informations critiques, ...)	43
Souches analysées par le CNR-ESS	7 500
doublons (autres cas)	319
souches uniques par patient	7 181
Enregistrements sur le portail en ligne (« Fiches information »)	1 100
« Fiches information » exclues des analyses car :	205
déclarées en double sur le site	32
redondantes (souche envoyée en même temps)	173
« Fiches information » analysées, une par patient	895
Total enregistrements	8 793

Des 7 693 souches reçues, 512 ont été exclues des analyses dès leur réception, dont 108 identifiées comme des « doublons » (même patient, même laboratoire expéditeur, même type de prélèvement dans un intervalle de temps inférieur à 8 semaines). Par ailleurs, 32 souches envoyées pour sérotypage de *Salmonella* se sont avérées être des bactéries autres que *Salmonella*. Finalement, 319 souches ont été identifiées comme des doublons après typage, et ont été donc également exclues des analyses ultérieures. Au total, **7 181 souches** ont été incluses dans les données épidémiologiques de 2020.

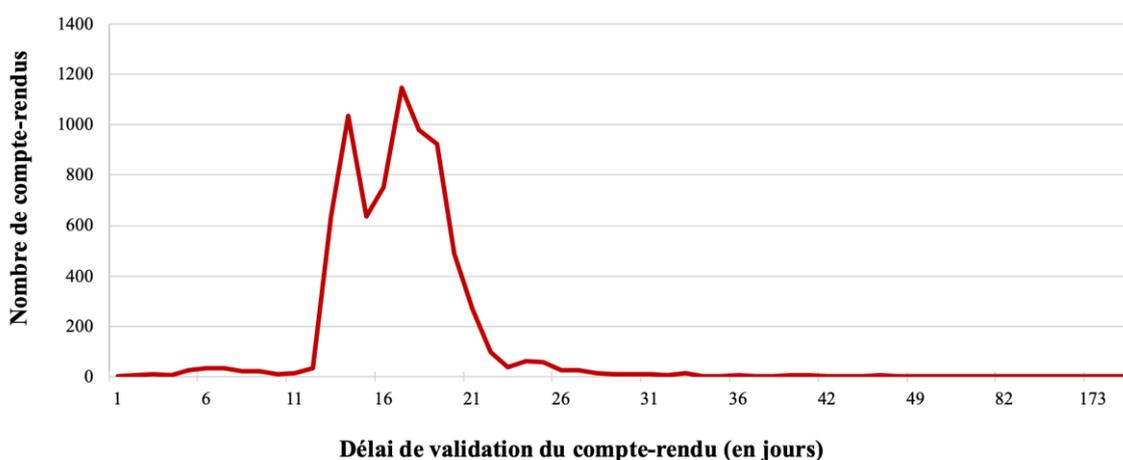
De la même façon, parmi les 1 100 « fiches information », 32 fiches en double ont également été exclues de l'analyse. Enfin, pour 173 cas déclarés par « fiche information » une souche a également été reçue au CNR-ESS. Ces cas n'ont donc été comptabilisés qu'une seule fois (en tant que souche reçue au CNR-ESS et non plus comme « fiche information »). La surveillance épidémiologique des *Salmonella* en 2020 a donc pris en compte **895 « fiches information »**.

Le CNR-ESS a également réalisé le sérotypage de **26 souches non humaines** isolées chez l'animal, dans des aliments ou dans l'environnement, en France et à l'étranger. Les souches ont été envoyées principalement par le laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses Maisons-Alfort. Enfin, le CNR-ESS a analysé 94 souches dans le cadre d'études nationales ou internationales (**voir paragraphe 4. Activités de Recherche**).

Délai de restitution des résultats :

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

Figure 3. Délai de validation des typages de salmonelles, CNR-ESS 2020



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

2.1.6 Activités de séquençage

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

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

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

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

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

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

- Décrire les outils bio-informatiques et les analyses conduites

Les analyses de génotypage en routine sont réalisées par BLAST contre des banques de données internes (*flhC*, *fljB*, CRISPOL) ou publiques (MLST d'EnteroBase – <http://EnteroBase.warwick.ac.uk> –, Resfinder, du Center for Genomic Epidemiology – <http://www.genomicepidemiology.org/>).

Ces génotypes sont obtenus à l'aide de scripts écrits en interne et automatisés au sein d'un pipeline propre au CNR-ESS. Quand le profil MLST rend un ST inconnu, la séquence est alors soumise sur EnteroBase, qui déterminera le nom de ce nouveau ST.

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

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

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

Depuis juillet 2018, toutes les souches sont séquencées en première intention sauf dans certains cas très particuliers décrits dans le paragraphe 2.1.5. Toutes les souches impliquées dans une épidémie sont donc maintenant séquencées.

Exceptionnellement, pour certaines épidémies, un sérotypage traditionnel a été réalisé en parallèle sur une partie des souches dans le but de déterminer rapidement le sérotype impliqué. Tel a été le cas pour huit épidémies en 2020, en particulier pour l'épidémie à *Salmonella enterica* sérotype Bovismorbificans de novembre 2020, avec 33 cas, où le sérotypage a permis d'orienter les enquêtes épidémiologiques avant de la confirmation du cluster par HierCC. Malheureusement cette technique n'apporte pas d'information utile à l'investigation lorsqu'il s'agit d'un sérotype fréquent comme *S. enterica* sérotype Enteritidis ou Typhimurium.

En 2020, le séquençage a permis d'identifier, pour les sérotypes les plus fréquents :

- Trente épidémies à *S. enterica* sérotype Enteritidis, totalisant 451 souches
- Plus de 16 épidémies différentes causées par le variant monophasique *S. enterica* sérotype Typhimurium 1,4,(5),12:i:-, totalisant 336 souches
- Neuf épidémies à *S. enterica* sérotype Typhimurium, totalisant 64 souches
- Quatre épidémies indépendantes à *S. enterica* sérotype Bovismorbificans, totalisant 59 souches

(Voir paragraphe 2.3. Alerte pour plus de détail sur les épidémies à *Salmonella* identifiées en 2020).

- Nombre de séquences réalisées à des fins de surveillance

En 2020 le CNR-ESS a réalisé **7 030** séquences de *Salmonella* à des fins de surveillance, soit 97,9 % des souches analysées. Cent-cinquante-huit souches ont dû être séquencées plus d'une fois (« bis », « ter » ou « reposit »), suite à des problèmes techniques lors de la préparation des lysats (n = 63), ou lors du séquençage (n = 95).

Le typage par WGS a été la technique de première intention pour l'ensemble des souches en 2020. La proportion de souches bénéficiant des deux méthodes (WGS et agglutination) a été réduite entre 2019 (7 %) et 2020 (2,3 %). La proportion des souches typées uniquement par WGS continue d'augmenter, passant de 69,5 % en 2018 à 90,3 % en 2019 et 95,6 % en 2020.

- Où sont déposées les séquences brutes (fastq files)

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

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

Plusieurs milliers de génomes sont déposés en temps réel dans EnteroBase, ce qui permet la comparaison avec les séquences déposées par le reste des utilisateurs du site. Seuls les assemblages sont disponibles ultérieurement (délai d'un an dans le cas des génomes du CNR-ESS) pour le reste des utilisateurs du site ; les *short-reads* originaux sont détruits par EnteroBase.

2.2 Activités de surveillance

En 2020 :

- Le séquençage du génome complet (WGS) est la technique de première ligne utilisée par le CNR-ESS pour la surveillance et l'investigation des épidémies à *Salmonella* : **7 030 séquences** ont été produites, soit 97,9 % des souches analysées. Cela a permis au CNR-ESS et à SpF de créer ou de répondre à 36 alertes épidémiologiques européennes, et d'investiguer plus de 56 TIAC nationales.
- Parmi les 895 « fiches information » transmises via la plateforme Voozadoo du CNR-ESS, **15 fiches (1,7 %)** seulement déclaraient un sérotype complet. Cette plateforme a été clôturée le 31 décembre 2020 et le CNR-ESS encourage désormais l'envoi de tous les isolats de *Salmonella*.
- La diminution de l'incidence du sérotype Typhimurium observée depuis 2016 s'est confirmée, laissant la place à son variant monophasique et au sérotype Enteritidis.

2.2.1 Description du réseau de partenaires

2.2.1.1 Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS

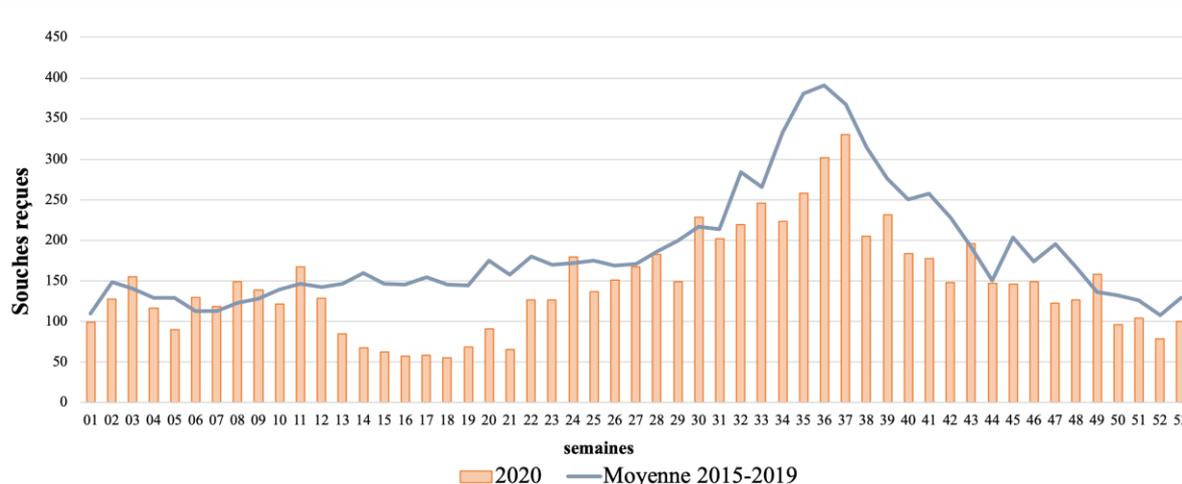
L'Unité des Entérobactéries de l'Institut Pasteur (Paris) a été renommée en 2001 « Unité de Biodiversité des Bactéries Pathogènes Émergentes » (BBPE) puis « Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques » (LBPE) le 1^{er} janvier 2008 et, depuis le 1^{er} janvier 2010 « Unité de Recherche et d'Expertise des Bactéries Pathogènes Entériques » (UBPE). Cette unité a développé, depuis le début des années 1950 sous l'impulsion de Léon Le Minor, un réseau de laboratoires collaborant sur une base volontaire à la surveillance des infections dues aux entérobactéries (*Salmonella*, EPEC et *Shigella*).

Ce réseau de surveillance est unique pour plusieurs raisons :

- Son ancienneté (depuis l'après-guerre),
- Le nombre important et stable de LBM participants,
- L'adhésion volontaire des LBM et la participation par l'envoi de souches pour sérotypage

La participation des LBM est essentielle à la surveillance des infections dues aux *Salmonella* et la pérennité de ce réseau dans la durée est une préoccupation de tous les instants pour les biologistes du CNR-ESS : conseils techniques par téléphone ou réponse aux demandes précises des LBM (bibliographie, données épidémiologiques...). Il est important de noter que depuis quelques années, un phénomène de regroupement des LBM et de mutualisation des plateaux techniques a induit une diminution artificielle du nombre de LBM correspondants.

En 2020, le CNR-ESS a reçu des souches de **759 LBM de France métropolitaine et d'Outre-mer** (contre 964 en 2019). Ils se répartissaient en **374** laboratoires de centres hospitaliers (contre 450 en 2019) ayant adressé 2 972 souches (contre 3 390 en 2019) et **385** LBM privés (contre 514 en 2019) ayant adressé 4 209 souches (contre 5 822 en 2019). Cette diminution du nombre de laboratoires participant à la surveillance des salmonelles, ainsi que du nombre de souches transmises, était très probablement une conséquence de la pandémie à SARS-CoV-2, déclarée en France en mars 2020, et encore active à la fin de l'année. Cependant, les envois réalisés par les laboratoires, ainsi que la qualité de l'activité maintenue par le CNR-ESS tout au long de l'année ont permis de maintenir une activité de surveillance comparable aux années précédentes (Figure 4).

Figure 4. Nombre de souches de Salmonella reçues au CNR-ESS en 2020 vs les années précédentes

Sur la **Figure 4** nous observons que la diminution du nombre de souches reçues par rapport aux années précédentes était particulièrement marquée pendant la période du premier confinement strict (mars-mai, semaines 12-23).

2.2.1.2 Définition de l'échantillon de souches isolées

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

Les souches sont adressées au CNR-ESS par les laboratoires collaborateurs après isolement et identification d'une *Salmonella*. Celles-ci doivent impérativement être accompagnées d'une « **fiche de renseignements** » précisant les caractéristiques épidémiologiques et cliniques de l'isolement. Cette fiche est **téléchargeable depuis le site d'internet du CNR-ESS** : (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/escherichia-coli-shigella-salmonella/envoyer-un-echantillon>).

La collecte des informations sur les souches non envoyées au CNR-ESS se fait à l'aide d'une « **fiche information** » renseignée par les laboratoires correspondants et adressée au CNR par fax, e-mail ou voie postale, ou directement par saisie en ligne sur le portail web Voozadoo (<https://epidemiopasteur.fr/salm-shig>).

Les laboratoires correspondants ont été encouragés en 2017 et 2018 à déclarer leurs souches en ligne, mais depuis 2019 le CNR-ESS recommande de nouveau l'envoi de souches (communications orales au ColBVH, Congrès microbes de la SFM et à la RICAI en 2019).

Le CNR-ESS a clôturé la plateforme Voozadoo le 31 décembre 2020. Une campagne d'information a été lancée pendant tout le mois de décembre 2020 et jusqu'en avril 2021 auprès de tous les laboratoires collaborateurs. La lettre suivante a été envoyée par voie postale et par voie électronique. Elle a également été insérée sur le [site internet du CNR](#) (**Figure 5**).

Figure 5. Lettre d'information sur la clôture de la plateforme Voozanoo du CNR-ESS



Paris, le 30 novembre 2020

Centre National de Référence
E. coli, *Shigella* et *Salmonella*
 Unité des
 Bactéries Pathogènes Entériques
 Dr François-Xavier Weill
 Dr Sophie Lefèvre
 Dr María Pardos de la Gándara

Clôture de la plateforme Voozanoo du CNR-ESS

Chère collègue, cher collègue,

Dans le cadre de notre mission de surveillance épidémiologique, le CNR des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* (CNR-ESS) analyse désormais en première intention les souches de *Salmonella* et de *Shigella* par séquençage du génome complet (WGS). Cette technique de typage et de sous-typage fin nous permet d'améliorer significativement la détection et le suivi des épidémies ainsi que des profils de résistance aux antibiotiques émergents.

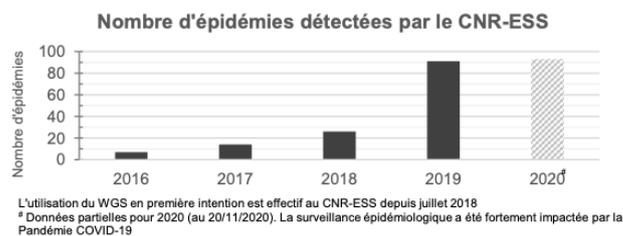
Étant maintenant en capacité d'analyser la totalité des souches réceptionnées, nous allons fermer notre plateforme de déclaration en ligne Voozanoo **à partir du 1er janvier 2021**. Les déclarations sans envoi de souches ne seront plus traitées et nous vous invitons à **nous transmettre la TOTALITE de vos souches de *Salmonella* et de *Shigella****.

Le délai entre l'isolement et la réception au CNR-ESS ayant un impact direct sur le délai de détection des épidémies ainsi que sur leur prise en charge sur le terrain, nous vous prions de nous envoyer vos souches **le plus rapidement possible** suite à leur identification.

Nous profitons de ce message pour vous rappeler l'importance d'isoler les souches à partir des prélèvements analysés par les systèmes de PCR syndromiques. Nous sommes à votre disposition pour discuter de vos difficultés sur le sujet.

Votre participation active à la surveillance nationale des épidémies est essentielle et nous vous remercions vivement pour l'intérêt que vous y portez depuis toujours.

Voici quelques chiffres pour illustrer notre activité de surveillance :



Pour plus d'informations nous vous rappelons que nos rapports annuels d'activité sont toujours disponibles sur notre site internet :

<https://www.pasteur.fr/sante-publique/CNR/les-cnr/escherichia-coli-shigella-salmonella/rapports-d-activite>

Confraternellement,

L'équipe du CNR-ESS

[†]Pour rappel les échantillons concernant le diagnostic des *E. coli* producteurs de Shiga-toxine sont toujours à transmettre, quant à eux, à notre laboratoire associé à l'hôpital Robert Debré de Paris.

2.2.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

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

En 2020, le CNR-ESS a enregistré **8 076** isollements de *Salmonella* en France métropolitaine, en Outre-mer et à Monaco. Parmi ces isollements, **7 181** ont été des souches reçues au CNR-ESS, et **895** provenaient de « fiches information ».

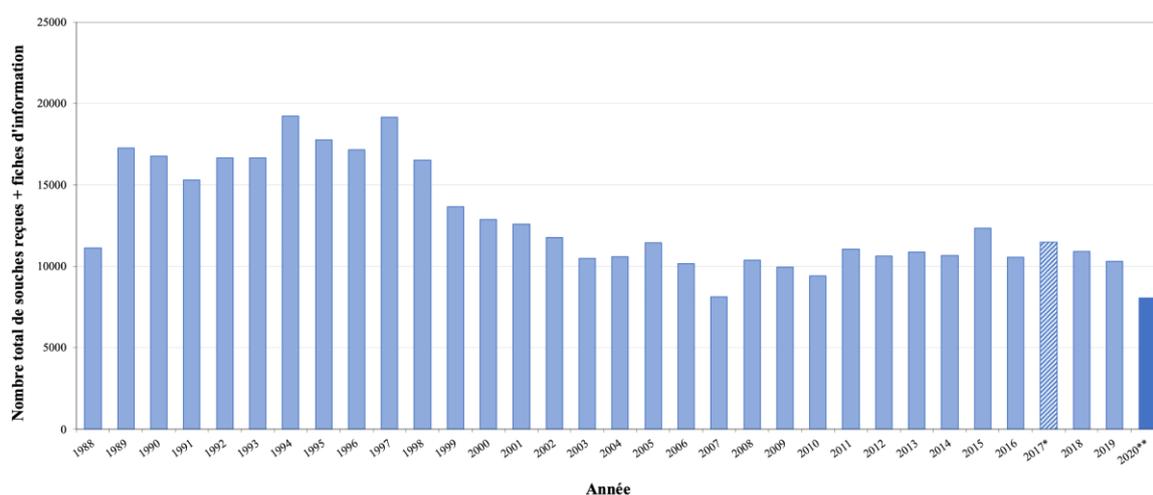
Des 7 693 souches reçues, **7 181** ont été incluses dans l'étude épidémiologique pour 2020, et typées par WGS et/ou sérotypage.

Également, la surveillance épidémiologique des *Salmonella* en 2020 a pris en compte **895** « **fiches information** » parmi les 1 100 reçues en 2020.

Tableau 2 : Nombre de *Salmonella* analysées dans le cadre de l'activité de surveillance en 2020

Type d'enregistrement	N
Souches typées, une par patient	7 181
→ Souches typées par WGS exclusivement (« génotypées »)	6 791
→ Souches typées par agglutination exclusivement (« sérotypées »)	151
→ Souches typées par WGS et par agglutination	239
« Fiches information » analysées, une par patient	895
Nombre total de <i>Salmonella</i> annuel (souches + « fiches information »)	8 076

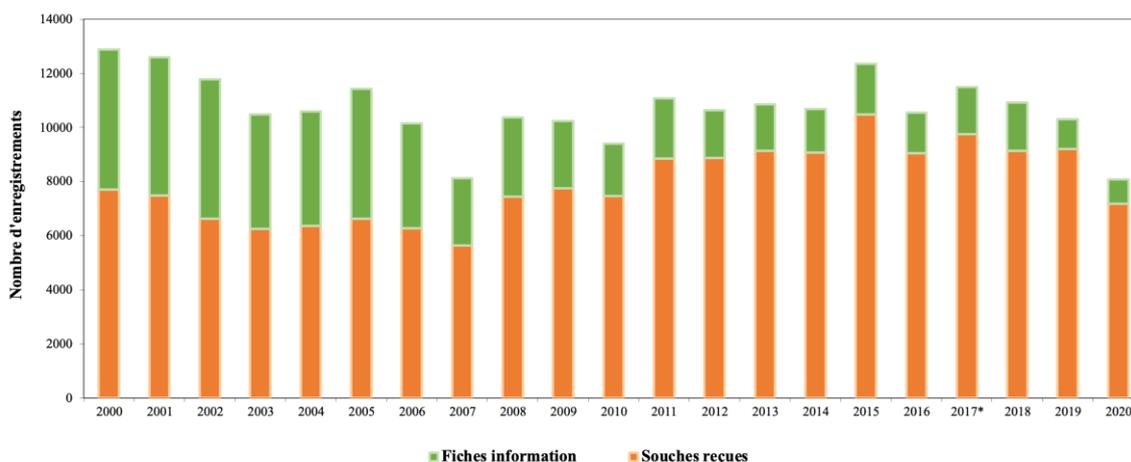
Figure 6. Nombre annuel de souches de *Salmonella* d'origine humaine enregistrées (souches reçues + « fiches information »), France métropolitaine et Outre-mer 1988-2020



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

** en 2020, la crise sanitaire due au virus SARS-CoV-2 a vraisemblablement affecté le nombre de souches et de « fiches information » reçues au CNR-ESS

Le nombre d'enregistrements de *Salmonella* au CNR-ESS est stable depuis le début des années 2000, autour de 10 000 chaque année. Nous observons cependant une proportion de plus en plus importante de souches reçues (environ 89 % en 2020). La part représentée par les « fiches information » dans le total des isollements de *Salmonella* enregistrés au CNR-ESS est en diminution depuis 2005. En 2020, elle représentait **11 %** (895/8 076) des enregistrements (tous sérotypes confondus) alors qu'elle était supérieure à 40 % avant 2005.

Figure 7. Répartition entre souches de *Salmonella* reçues et « fiches information », 2000-2020

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

2.2.2.1.1 Origine géographique des souches de *Salmonella* reçues

La donnée « code postal du patient » est présente pour 5 713 souches de *Salmonella* reçues et sérotypées au CNR-ESS en 2020 (soit 79,6 % des cas). Pour le reste des souches, le code postal du laboratoire expéditeur a été pris par défaut.

En 2020, le CNR-ESS a typé 6 643 souches en provenance de France métropolitaine (soit 92,5 % des souches reçues et typées) et 504 des départements d'Outre-mer. Dix-sept souches ont été envoyées par des laboratoires de Papeete (Tahiti, Polynésie Française) dans le contexte d'une TIAC à *S. enterica* sérotype Enteritidis. Trois souches ont été envoyées par le CH de Nouméa (Nouvelle-Calédonie). Une souche a été reçue pour un patient de Saint Pierre et Miquelon. Monaco, qui collabore à la surveillance épidémiologique des salmonelles en France, a envoyé six souches de *Salmonella* spp. Sept souches envoyées depuis des laboratoires en France métropolitaine ont été isolées de patients étrangers (États-Unis et Europe) qui se trouvaient en France lors du prélèvement.

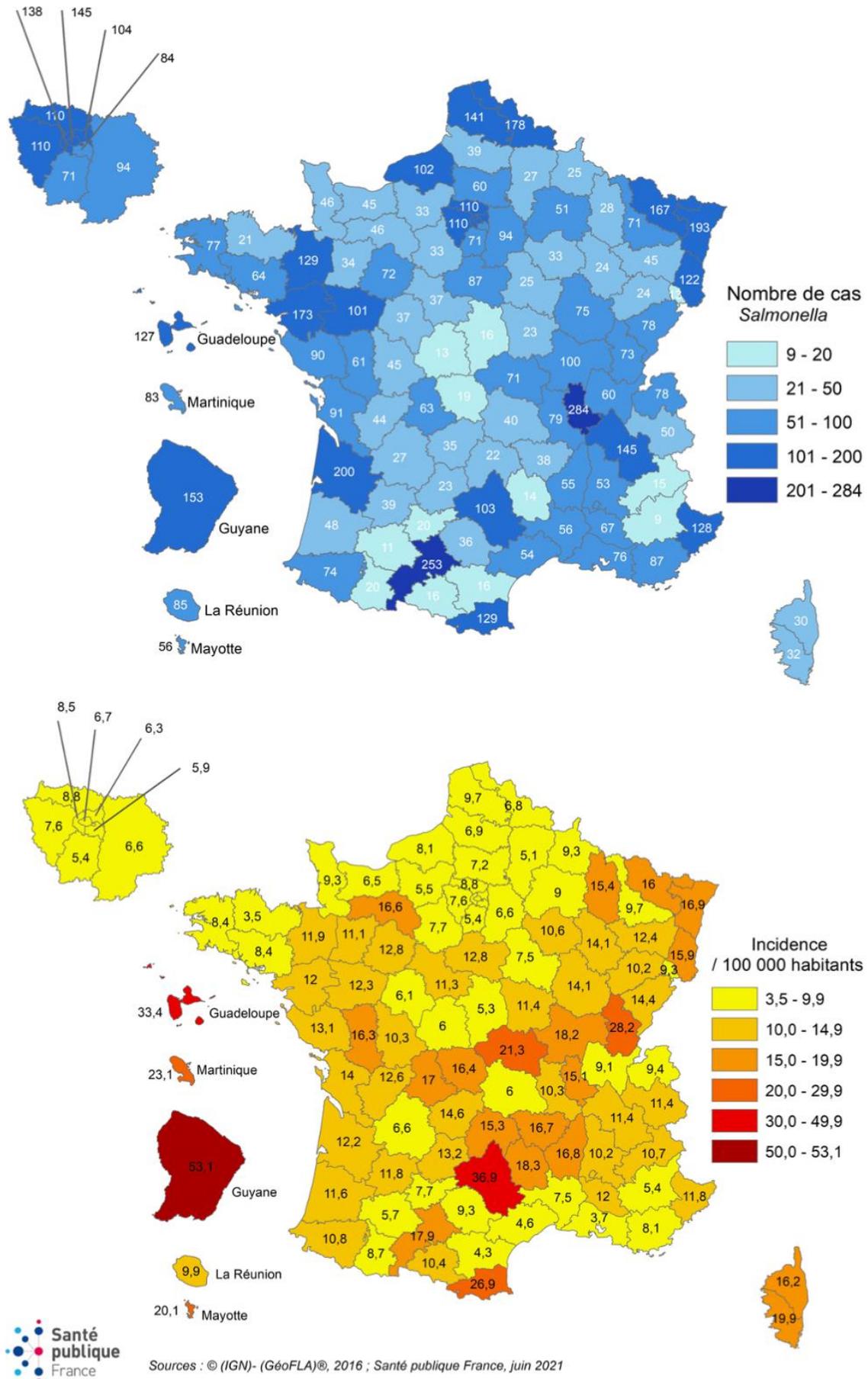
Voir le **Tableau 3** et la **Figure 8** pour le détail de la répartition géographique des cas de salmonellose en France en 2020.

Tableau 3 : Nombre de souches de *Salmonella* reçues par régions de 2016 à 2020

	2016* N (%)	2017* N (%)	2018* N (%)	2019* N (%)	2020* N (%)
Auvergne-Rhône-Alpes 01-03-07-15-26-38-42-43-63-69-73-74	1 182 (13,1)	959 (11,8)	979 (10,71)	1 001 (10,9)	975 (13,6)
Bourgogne-Franche-Comté 21-25-39-58-70-71-89-90	387 (4,3)	293 (3,6)	421 (4,6)	408 (4,4)	411 (5,7)
Bretagne 22-29-35-56	250 (2,8)	292 (3,6)	348 (3,8)	387 (4,2)	291 (4,1)
Centre-Val de Loire 18-28-36-37-41-45	238 (2,6)	245 (3,0)	241 (2,6)	288 (3,1)	223 (3,1)
Corse 2A-2B	64 (0,7)	4 (0,5)	60 (0,7)	58 (0,6)	62 (0,9)
Grand-Est 67-68-08-10-51-52-54-55-57-88	791 (8,8)	670 (8,2)	869 (9,5)	872 (9,5)	759 (10,6)
Hauts-de-France 02-60-80-59-62	549 (6,1)	575 (7,1)	574 (6,3)	556 (6,0)	445 (6,2)
Ile-de-France 75-77-78-91-92-93-94-95	1 661 (18,4)	1 538 (18,9)	1 566 (17,1)	1 528 (16,6)	856 (11,9)
Normandie 14-27-50-61-76	371 (4,1)	377 (4,6)	295 (3,2)	323 (3,5)	272 (3,8)
Nouvelle-Aquitaine 16-17-19-23-24-33-40-47-64-79-86-87	831 (9,2)	741 (9,1)	883 (9,7)	957 (10,4)	746 (10,4)
Occitanie 09-11-12-30-31-32-34-46-48-65-66-81-82	934 (10,3)	751 (9,2)	1 005 (11)	900 (9,8)	751 (10,5)
Pays de la Loire 44-49-53-72-85	546 (6,0)	548 (6,7)	700 (7,7)	611 (6,6)	470 (6,5)
Provence-Alpes-Côte d'Azur 04-05-06-13-83-84	526 (5,8)	501 (6,1)	611 (6,7)	654 (7,1)	382 (5,3)
TOTAL Métropole	8 330	7 533	8 552	8 543	6 643
Guadeloupe	141 (1,6)	102 (1,3)	145 (1,6)	143 (1,6)	127 (1,8)
Guyane	276 (3,1)	242 (3,0)	151 (1,7)	228 (2,5)	153 (2,1)
La Réunion	99 (1,1)	103 (1,3)	93 (1)	117 (1,3)	85 (1,2)
Martinique	87 (1,0)	59 (0,7)	81 (0,9)	92 (1,0)	83 (1,2)
Mayotte	62 (0,7)	77 (0,9)	89 (1)	54 (0,6)	56 (0,8)
Polynésie française	27 (0,3)	26 (0,3)	22 (0,2)	26 (0,3)	17 (0,2)
St Pierre et Miquelon	2 (0,02)	0	0	0	1 (<0,1)
Nouvelle-Calédonie	13 (0,1)	8 (0,1)	3 (<0,1)	1 (<0,1)	3 (<0,1)
Monaco	8 (0,1)	9 (0,1)	8 (0,1)	8 (0,1)	6 (0,1)
Étranger	0	0	0	3 (<0,1)	7 (<0,1)

* Total des souches reçues (%)

Figure 8. Nombre de cas et incidence des salmonelloses par départements en 2019



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

2.2.2.1.2 Répartition des *Salmonella* par sites de prélèvement

Tableau 4 : Répartition par sites de prélèvement de 2016 à 2020

Sites de prélèvement*	2016	2017	2018	2019	2020
	N (%)				
Selles	7 915 (87,5)	7 095 (86,9)	8 046 (88,0)	8 046 (87,3)	6301 (87,7)
Sang	616 (6,8) ¹	628 (7,7) ²	648 (7,1) ³	677 (7,3) ⁴	490 (6,8) ⁵
Urines	380 (4,2)	327 (4,0)	348 (3,8)	379 (4,1)	313 (4,4)
Pus	9 (0,1)	3 (0,1)	9 (0,1)	11 (0,1)	7 (0,1)
Bile	9 (0,1)	8 (0,1)	5 (0,05)	6 (<0,1)	11 (0,2)
LCR	3 (< 0,1)	1 (< 0,1)	2 (0,02)	6 (<0,1)	3 (< 0,1)
Autres	100 (1,1)	96 (1,2)	83 (0,9)	88 (0,9)	56 (0,8)
Inconnu	13 (0,1)	1 (< 0,1)	4 (0,1)	2 (<0,1)	0

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

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

¹ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,2.

² Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 6,0.

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

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

⁵ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,7.

2.2.2.1.3 Distribution des *Salmonella* par classes d'âge

Tableau 5 : Distribution par tranches d'âge de 2016 à 2020

Classes d'âge*	2016	2017	2018	2019	2020
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<1 an	498 (5,5)	514 (6,3)	612 (6,7)	508 (5,5)	444 (6,2)
1-5 ans	1 976 (21,9)	1 939 (23,8)	1 826 (20,0)	1 800 (19,5)	1469 (20,5)
6-14 ans	1 143 (12,6)	974 (11,9)	1 177 (12,9)	1 147 (12,4)	989 (13,8)
15-64 ans	3 749 (41,5)	3 226 (39,5)	3 798 (41,5)	3 962 (43,0)	2694 (37,5)
≥ 65 ans	1 671 (18,5)	1 506 (18,5)	1 731 (18,9)	1 797 (19,5)	1584 (22,1)
Inconnu	8 (< 0,1)	0	1 (< 0,1)	1 (<0,1)	1 (<0,1)

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

2.2.2.1.4 Foyers de cas groupés à *Salmonella*

En 2020, **331** épisodes de cas groupés (foyers) ont été rapportés sur les « fiches de renseignements » accompagnant les souches reçues. Les épisodes de cas groupés concernaient un minimum de **818** cas (434 foyers pour 1 531 cas en 2019).

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

Le nombre de sérotypes de *Salmonella* impliqués dans les foyers rapportés pour 2020 a été de 48 (69 en 2019).

Tableau 6 : Foyers de cas groupés de *Salmonella* signalés au CNR-ESS de 2016 à 2020

	2016	2017	2018	2019	2020
Nombre total de foyers	255	316	422	434	331
Sérotype causal :					
Enteritidis	80	92	105	140	142
Typhimurium	43	32	56	82	41
1,4,[5],12:i:-	57	86	113	65	43

Les 331 épisodes de cas groupés ont été observés dans différents contextes :

Tableau 7 : Récapitulatif des différents foyers de cas groupés à *Salmonella* de 2016 à 2020

Types de foyers de cas groupés	2016 N épisodes (n cas)	2017 N épisodes (n cas)	2018 N épisodes (n cas)	2019 N épisodes (n cas)	2020 N épisodes (n cas)
Foyers familiaux	206 (686)	193 (444)	276 (524)	263 (605)	221 (551)
Collectivité	3 (23)	2 (inconnu)	-	3 (4)	-
Travail		2 (12)	-	1 (7)	3 (5)
Écoles	5 (28)	9 (24)	11 (69)	4 (11)	4 (4)
Crèches		9 (17)	5 (9)	4 (4)	2 (2)
Foyers hospitaliers	7 (17)	7 (11)	20 (3)	12 (23)	14 (17)
Autres*	34 (147)	94 (214)	110 (227)	147 (877)	87 (279)
Nombre de sérotypes de <i>Salmonella</i> impliqués	40	57	62	69	48
Nombre total d'épisodes notifiés	255	31	422	434	331
Nombre de cas appartenant à des épisodes de cas groupés	901	572	829	1531	818

* Le laboratoire déclarant ayant indiqué « autres groupes de cas » (37 foyers, 103 cas pour 2020) ou « TIAC » (50 foyers, 176 cas pour 2020)

2.2.2.1.5 Répartition des 20 principaux sérotypes de *Salmonella*Tableau 8 : 20 principaux sérotypes de *Salmonella* au cours des années 2005, 2010, 2018 à 2020

Rang	Distribution des sérotypes (n) par année				
	2005*	2010*	2018*	2019*	2020*
1	Typhimurium (3 992)	Typhimurium (3 027)	Enteritidis (2 486)	Enteritidis (2 212)	Enteritidis (1880)
2	Enteritidis (3 638)	Enteritidis (1 711)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2 251)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1 818)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1820)
3	Agona (274)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1 098)	Typhimurium (1 933)	Typhimurium (1 083)	Typhimurium (793)
4	Infantis (210)	Kentucky (208)	Newport (296)	Infantis (296)	Napoli (169)
5	Typhi (187)	Newport (191)	Infantis (266)	Typhi (214)	Infantis (162)
6	Derby (158)	Typhi (181)	Kentucky (177)	Newport (186)	Newport (144)
7	Hadar (147)	Derby (167)	Napoli (165)	Napoli (181)	Derby (132)
8	Virchow (142)	Panama (148)	Typhi (159)	Derby (138)	Panama (106)
9	Newport (133)	Infantis (128)	Chester (157)	Panama (133)	Dublin (91)
10	Panama (124)	Napoli (100)	Derby (135)	Stanley (126)	Typhi (84)
11	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (101)	Dublin (81)	Panama (117)	Chester (123)	Bovismorbificans (80)
12	Manhattan (95)	Hadar (76)	Dublin (94)	Kentucky (120)	IIIa. 48:z4,z23:- (78)
14	Indiana (86)	Kottbus (66) Virchow (66)	Bredeney (64)	Dublin (98)	Stanley (63)
15	Brandenburg (82)		IIIa. 48:z4,z23:- (58)	Montevideo (77)	Weltevreden (53)
16	Dublin (73)	Saintpaul (64)	Livingstone (57)	Mikawasima (74) Virchow (74)	Veneziana (47)
17	Manhattan (62)	Montevideo (61)	Saintpaul (55)		Montevideo (45)
18	Worthington (55)	Rissen (60)	Agona (53)	IIIa. 48:z4,z23:- (72)	Livingstone (44)
19	Kentucky (48)	Bovismorbificans (59)	Bovimorbificans (52)	Bredeney (70)	Saintpaul (43)
20	Dublin (45)	Brandenburg (56)	Stanley (51)	Bovimorbificans (67)	Kentucky (40)

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

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

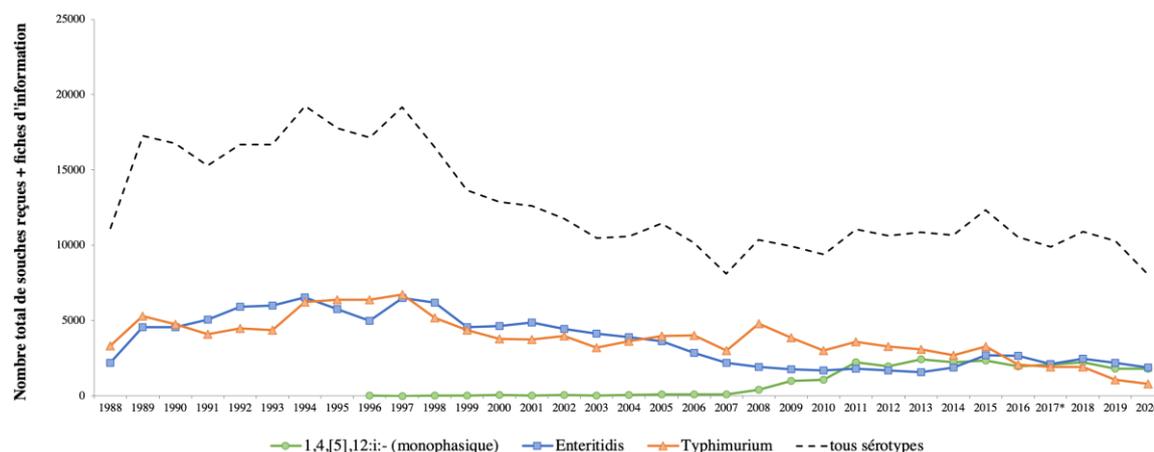
Depuis 2019, une **augmentation importante du nombre de souches identifiées uniquement comme *Salmonella* spp. ou partiellement sérotypées** par les laboratoires collaborateurs a été constatée (n = 1 039, **95,3 %** des fiches reçues en 2019 ; n = 880, **98,3 %** des 895 fiches reçues en 2020). Cette tendance est vraisemblablement en rapport avec la difficulté de poursuivre une activité de sérotypage dans le cadre de l'accréditation ISO-15189 des laboratoires d'analyses médicales. Le sérotype Typhimurium et son variant monophasique représentent à eux seuls 40 % des 15 « fiches information » reçues au CNR-ESS avec un sérotypage complet en 2020.

De 2005 à 2015, le sérotype prédominant était Typhimurium alors que le sérotype Enteritidis était en baisse constante pour n'occuper que la 3^{ème} place en 2011. Depuis 2016, le sérotype Enteritidis a repris la 1^{ère} place des sérotypes responsables des salmonelloses humaines, suivi par le variant monophasique de Typhimurium (1,4,[5],12:i:-). Cela est principalement dû à une diminution du sérotype Typhimurium. Cette diminution reste inexplicée ; elle n'est pas en lien avec les régions d'isolement, le sexe ou l'âge des cas. Le sérotype Kentucky est aussi un sérotype important, même si nous avons observé une diminution du nombre de cas en 2019, encore plus prononcée en 2020 ; ce sérotype est fortement associé à des souches hautement résistantes aux fluoroquinolones. D'autres sérotypes correspondent à une source connue pour lesquels des mesures ne sont pas encore efficaces, comme Chester (filiale aviaire au Maroc), Dublin (filiale bovine), Derby (filiale porcine).

Le nombre de cas de sérotype Typhi a augmenté entre 2017 (n = 137) et 2019 (n = 194), mais a connu une forte diminution en 2020 (n = 84), très probablement en lien avec les mesures de santé publique menées en France et au niveau international pour contrôler la pandémie à SARS-CoV-2. Napoli et Infantis restent deux sérotypes fréquents, mais ils n'ont causé aucune épidémie en 2020.

Le sérotype Newport a été responsable d'une épidémie liée à la consommation de viande de cheval contaminée, concernant 27 patients en France, et qui a fait objet d'une alerte européenne (UI-664-FR) en août 2020. Bovismorbificans a été un sérotype impliqué dans trois TIACs importantes en 2020 : une épidémie à 11 personnes en septembre dans la région de Nouvelle-Aquitaine, pour laquelle aucun aliment n'a pas été mis en cause ; deux épidémies objet d'alertes internationales (UI-680-FR et UI-688-FR), avec 15 et 33 cas identifiées, respectivement, dans les mois d'octobre à décembre, en lien à la consommation de viande de cheval ou de saucisses sèches. Mais la TIAC la plus importante en 2020 a eu lieu dans le Dép. 74, où au moins 41 personnes ont été infectées par le sérotype Enteritidis, après consommation d'une eau contaminée vraisemblablement par un élevage bovin situé dans le voisinage (**Voir paragraphe 2.3 Alerte**).

Figure 9. Évolution des principaux sérotypes de Salmonella isolés chez l'homme, 1988-2020



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

2.2.2.1.6 Évolution de la répartition des principaux sérotypes en France

Tableau 9. Nombre d'isolements annuels des principaux sérotypes en France de 2016 à 2020

	Tous sérotypes	Enteritidis	Typhimurium	1, 4,[5],12:i:-	Typhi
Souches de <i>Salmonella</i> reçues et (séro)typées par le CNR-ESS en :					
2016	9 045	2 099	1 192	1 942	150
2017*	8 159	1 570	953	2 049	149
2018	9 145	1 950	997	2 245	157
2019	9 215	2 209	1 082	1 810	214
2020	7 181	1 880	791	1 816	84
Total 2016-2020	42 745	9 708	5 015	9 862	754
« Fiches information » reçues en :					
2016	1 500	552	879	16	7
2017	1 728	539	966	52	10
2018	1 781	536	936	6	2
2019	1 090	3	1	21	2
2020	895	0	2	4	0
Total 2016-2020	6 994	1 630	2 784	99	21
Total souches (séro)typées en :					
2016	10 545	2 651	2 071	1 958	157
2017*	9 887	2 109	1 919	2 101	159
2018	10 926	2 486	1 933	2 251	159
2019	10 305	2 212	1 083	1 818	216
2020	8 076	1 880	793	1 820	84
Total 2016-2020	49 739	11 338	7 799	9 948	775
Proportion « Fiches information » / total des souches (séro)typées (%) en :					
2016	14,2	20,8	42,4	0,8	4,4
2017*	17,5	25,6	50,3	2,5	6,3
2018	16,3	21,6	48,4	0,3	1,3
2019	10,6	0,1	0,1	1,2	0,9
2020	11,1	0	0,25	0,2	0
Total 2016-2020	14,1	14,4	35,7	1,0	2,7

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

En 2020, le CNR-ESS a reçu moins de souches que les années précédentes, vraisemblablement à cause de la pandémie à SARS-CoV-2. Cependant, le nombre de souches du variant monophasique du sérotype Typhimurium, (1, 4,[5],12:i:-) est resté stable par rapport à 2019.

2.2.2.1.7 Le sérotype Typhi

En 2020, **174** souches de *S. enterica* sérotype Typhi isolées chez **84** patients ont été analysées au CNR-ESS. Le Tableau 10 précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignements, le lieu de la contamination probable des cas entre 2016 et 2020. La France d'outre-mer a été considérée comme lieu de contamination quand elle était le lieu d'isolement de la souche et qu'il n'y avait pas d'indication de voyage.

Tableau 10 : Origine géographique des souches de sérotype Typhi (une par patient) 2016–2020

Pays de contamination	Nombre de patients				
	2016	2017	2018	2019	2020
<i>Afrique</i>	28	22	23	19	2
Afrique (sans précision)	3		2		
Afrique du Sud			1		
Algérie	3		1		
Bénin		1			
Burkina Faso			1		
Cameroun	1				
Comores	1		3		1
Côte d'Ivoire	1		1	1	
Egypte			1		
Guinée	2	2	3		
Madagascar	2	3	2	1	
Mali	5	3	3	3	
Maroc	3	6	4	7	
Mauritanie				1	
Niger	1				
République Centrafricaine	1		1		
Sénégal	3	4		3	1
Sierra Leone		1			
Soudan				2	
Tchad	1	1		1	
Togo	1				
Tunisie		1			
<i>Amériques</i>	3	7	11	12	0
Amériques (sans précision)			1		
Brésil			3		
Haïti		2		1	
Mexique	2	5	7	11	
Pérou	1				

(continue sur la page suivante)

<i>(suite)</i>					
Pays de contamination	Nombre de patients				
	2016	2017	2018	2019	2020
Asie	30	30	40	55	6
Asie (sans précision)		2	1		
Bangladesh	3	5	2	6	
Cambodge				1	1
Chine		1			
Inde	21	17	14	13	3
Indonésie	1			2	
Irak			1	1	
Laos				3	
Maldives				1	
Myanmar				4	
Népal		1			
Pakistan	4	2	19	24	2
Qatar			1		
Syrie			1		
Sri Lanka		1	1		
Thaïlande		1			
Viêt-Nam	1				
Europe (hors France)	3	2	1	3	1
Allemagne	1				
Bulgarie		1			
Espagne	1			1	
Hongrie				1	
Italie		1			
Pays-Bas				1	
Portugal					
Royaume-Uni	1				
Suisse			1		1
France d'outre-mer	43	49	52	69	48
Guyane	7	8	2	30	10
Martinique			1		
Mayotte	33	40	47	36	38
La Réunion	3	1	2	3	
France (pas de voyage effectué)				13	17
Sans information de voyage	36	27	19	23	10
TOTAL	143	137	149	194	84

Depuis janvier 2019, le CNR-ESS envoie une lettre aux laboratoires expéditeurs quand l'information de voyage n'est pas fournie pour une salmonelle de sérotype majeur avec le texte suivant :

Figure 10. Lettre « notion voyage » sérotypes majeurs.

Cher collègue,

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

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

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

Confraternellement,

Depuis 2018, le CNR-ESS a observé une augmentation importante du nombre de souches de *S. enterica* sérotype **Typhi** reçues avec notion de voyage au **Pakistan**. La lutte contre la pandémie à SARS-CoV-2 a imposé des strictes restrictions aux voyages internationaux, ce qui a joué un rôle primordial sur la diminution du nombre de cas de salmonellose importés en France en 2020.

2.2.2.1.8 Le sérotype Paratyphi A

En 2020, 40 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi A ont été répertoriées au CNR-ESS pour **19 patients**. Le **Tableau 11** précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignements, le lieu de la contamination pour les cas entre 2016 et 2020.

Tableau 11 : Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi A (une par patient) 2016–2020

Pays de contamination	Nombre de patients				
	2016	2017	2018	2019	2020
<i>Afrique</i>	8	3	4	3	0
Guinée				1	
Madagascar	1				
Mali		1	2		
Maroc		1			
Maurice			1		
Mauritanie	1				
Sénégal	5	1	1	2	
Tchad	1				
<i>Asie</i>	28	16	23	33	16
Asie (sans précision)	2		1		
Afghanistan				1	
Bangladesh	1	1	1		
Cambodge	4	3	9	8	8
Chine	1				
Hong-Kong		1			
Inde	13	9	10	19	4
Indonésie					
Laos	1				
Myanmar	3			1	
Népal				1	
Pakistan	3		1	3	2
Sri Lanka		1	1		
Thaïlande		1			2
<i>Europe</i>				1	
Espagne				1	
France (pas de voyage effectué)				1	1*
Sans information de voyage	12	7	8	3	2
TOTAL	48	26	35	41	19

*Patient rentrant de Cambodge en mai 2019.

Une augmentation importante de cas de fièvres paratyphoïdes à *S. enterica* sérotype Paratyphi A avait été notée chez des touristes français de retour du Cambodge en 2013 et 2014 (Tourdjman *et al.* Euro Surveill 2013, Vlieghe *et al.* Euro Surveill 2013, Kuijpers *et al.* Microb Genom 2016, Kuijpers *et al.* PLoS Negl Top Dis 2017). En 2020, dans le contexte de la pandémie à SARS-CoV-2 et des restrictions aux voyages internationaux, le nombre de cas de *S. enterica* sérotype Paratyphi A a diminué drastiquement en France par rapport aux années précédentes.

2.2.2.1.9 Le sérotype Paratyphi B

Le sérotype Paratyphi B est associé à des fièvres paratyphoïdes ou à des diarrhées fébriles. Classiquement, les souches se différencient en fonction de leur capacité à fermenter le d-tartrate (dt). Les souches de sérotype Paratyphi B (dt-) sont associées à une pathologie de type fièvre paratyphoïde et celles de sérotype Paratyphi B biotype Java (dt+) sont associées à de simples diarrhées. Pour les souches analysées par la méthode phénotypique, la détermination du caractère (dt-) ou (dt+) nécessite jusqu'à sept jours d'analyse. Actuellement, le WGS permet de différencier les souches (dt-) des souches (dt+) sur la base des séquences.

En 2020, cinq souches de *S. enterica* sérotype **Paratyphi B (dt-)** ont été répertoriées au CNR-ESS pour **quatre** patients, et 17 souches de sérotype **Paratyphi B biotype Java (dt+)** pour **14** patients.

Le **Tableau 12** précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignements, le lieu de la contamination pour les cas de Paratyphi B (dt-) identifiés entre 2016 et 2020.

Tableau 12 : Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi B (dt-) (une par patient) 2016–2020

Pays de contamination	Nombre de patients				
	2016	2017	2018	2019	2020
<i>Afrique</i>	1	1	1	2	
Maroc	1		1	2	
Tunisie		1			
<i>Asie</i>	3	2	3	1	
Indonésie	1				
Irak			1		
Bangladesh			1		
Turquie	2	2	1	1	
<i>Amérique</i>	3	4	4	4	1
Amérique (sans précision)	1			1	
Argentine		1			1
Bolivie		3	1	2	
Pérou	2		3	1	
<i>Europe</i>				1	
Espagne				1	
France (pas de voyage effectué)				2	3
Sans information de voyage	7	7	6	4	
TOTAL	14	14	14	14	4

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

Cette activité régulière permet de suivre les profils de résistance aux antibiotiques parmi une sélection d'isolats cliniques de *Salmonella*, suivant les recommandations de la SFM/EUCAST (v1.1 Avril 2020). En 2020, **750 souches** (soit 10,4 % des souches reçues au CNR-ESS, en considérant une seule souche par patient), ont été analysées par microdilution en plaque (CMI-Sensititre, Trek). La sélection a été réalisée par tirage au sort pour les sérotypes non étudiés exhaustivement. Une analyse a été effectuée chez :

- 5 % des souches des sérotypes les plus fréquents : **Enteritidis** (n = 100) ; **1,4,(5),12:i:-** (n = 101)
- 10 % des souches de sérotype **Typhimurium** (n = 101)
- 50 % des souches des sérotypes suivants : **Newport** (n = 73) ; **Infantis** (n = 82) ; **Derby** (n = 67) ; **Dublin** (n = 42) ; **Virchow** (n = 16) ; **Hadar** (n = 21)
- 100 % des souches pour certains sérotypes comme : **Kentucky** (n = 40), **Paratyphi B biotype Java (dt+)** (n = 13)
- 5% des souches d'autres sérotypes (n = 94 chez 48 sérotypes)

L'étude de la résistance aux antibiotiques par antibiogrammes classiques par diffusion sur milieu gélosé (disques de BioRad, Marnes-la-Coquette, France) a été réalisée pour toutes les souches (une par patient) des sérotypes **Typhi** (n = 83), **Paratyphi A** (n = 19) et **Paratyphi B (dt-)** (n = 5).

2.2.3.1 Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de *Salmonella*

Les abréviations utilisées dans ce rapport sont : AMP, ampicilline ; CTX, céfotaxime ; CAZ, ceftazidime ; FEP, céfépime ; FOX, cefoxitine ; IMI, imipénème ; EPM, ertapénème ; MER, méropénème ; STR, streptomycine ; GEN, gentamicine ; NAL, acide nalidixique ; CIP, ciprofloxacine ; SMX, sulfamides ; TMP, triméthoprime ; CHL, chloramphénicol ; TET, tétracycline ; AZI, azithromycine ; COL, colistine. Les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM-EUCAST ; communiqué 2020) ont été suivies.

Tableau 13 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de *Salmonella*

Antibiotique	% de souches résistantes		
	2018 (n = 1 210) (N = 9 145)	2019 (n = 1 183) (N = 9 215)	2020 (n = 861) (N = 7 181)
Ampicilline	26,3	21	19,5
Céfotaxime	1,4	1,9	0,7
Méropénème	0	0	0
Gentamicine	9	5,1	2,8
Acide nalidixique	25,8	23,9	14,6
Ciprofloxacine	8,3 (27,5)*	13,9 (25,9)*	5,6 (9,4)*
Azithromycine	0,6	0,3	0,3
Chloramphénicol	5,5	6,1	7,0
Sulfamides	30	20,6	23,9
Triméthoprime	6	5,2	3,4
Tétracycline	31	23,6	24,4
Colistine	8,5	5,7	6,2

n : Nombre de souches étudiées

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

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

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

Concernant la résistance à la colistine, ($\text{CMI} \geq 4$ mg/L), elle a été observée en 2020 principalement chez le sérotype Dublin (37/42, 88,1 %), mais aussi chez quelques souches d'autres sérotypes : Bovismorbificans (1/5), Enteritidis (8/100, 8 %), Newport (2/73, 2,7 %) et Panama (2/8, 25%). Cependant, aucun gène de résistance connu n'a été pour l'instant identifié, à l'exception du gène *mcr-1* chez une souche multirésistante aux antibiotiques de sérotype Kentucky (profil phénotypique AMP-GEN-CIP_{HN}-SMX-TET-COL) et isolée chez un patient de retour du Maroc.

Il a été publié que des variants génétiques au niveau de la synthèse du lipo-polysaccharide (LPS), pourraient rendre certains sérotypes, notamment du groupe D (Enteritidis, Dublin) intrinsèquement moins sensibles à la colistine (Agero *et al.*, Foodborne Pathog Dis, 2012 ; Ricci *et al.*, mBio, 2020). Cela expliquerait nos résultats, similaires aux observations de 2018 et 2019.

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

2.2.3.2 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium : 1997 – 2020

Tableau 14 : Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhimurium

Antibiotique	% de souches résistantes						
	1997 (n = 250) (N = 2 801)	2002 (n = 320) (N = 1 756)	2006 (n = 100) (N = 1 852)	2011 (n = 102) (N = 1 932)	2014 (n = 102) (N = 1 575)	2019 (n = 103) (N = 1 043)	2020 (n = 101) (N = 791)
Aminopénicillines ¹	68,4	64,5	48	57	57,8	43,7	34,7
C3G ²	0	0,3	0	1	8,8	3,9	1
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	0	0	0
Gentamicine	0,7	0,3	1	1	2	4,9	0
Acide nalidixique	3,6	4	3	6	13,7	7,8	11,9
Ciprofloxacine	0	0,3	0	0	1	1,9 (11,7) ³	0 (11,9) ³
Sulfamides	70	68	48	65	60,8	36,9	41,6
Triméthoprim	6	5,3	5	7	18,6	11,7	2
Chloramphénicol	61,2	57	38	44	41,2	23,3	24,8
Tétracycline	83,2	71	52	68	56,9	32,0	38,6
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	0	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	1	2

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

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

³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2020, une souche de sérotype Typhimurium contenait le gène *bla*_{CTX-M-9} codant pour une bêta-lactamase de spectre étendu (BLSE) (profil complet de résistance AMP-CTX-GEN-SMX-TMP-TET-CIP_{SD}) sans notion de voyage.

Parmi les 12 souches de sérotype Typhimurium ayant une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine, deux contenaient des gènes de type *qnr* (*qnrA*, *qnrB*).

Deux souches de ce sérotype avaient une CMI = 4 mg/L à la colistine, mais aucun gène de résistance acquis n'a été mis en évidence.

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

2.2.3.3 Résistance aux antibiotiques du variant 1,4,[5],12:i:- (monophasique) : 2007 – 2020

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

Antibiotique	% de souches résistantes					
	2007	2011	2014	2016	2019	2020
	(n = 50) (N = 121)	(n = 110) (N = 2 143)	(n = 105) (N = 2235)	(n = 196) (N = 1942)	(n = 87) (N = 1748)	(n = 101) (N = 1 816)
Aminopénicillines ¹	64	94,5	86,7	87,2	78,2	78,2
C3G ²	0	0	0	2,5	0	0
Carbapénèmes	nt	nt	0	0	0	0
Gentamicine	2	0,9	0	2,5	1,1	2
Acide nalidixique	0	1,8	0	5,1	0	2
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0 (0) ³	0 (2) ³
Sulfamides	40	95,5	83,8	91,3	73,6	75,2
Triméthoprime	16	4,5	6,7	12,2	5,7	2
Chloramphénicol	20	1,8	3,8	6,6	2,3	0
Tétracycline	90	97,8	86,7	84,7	75,9	76,2
Azithromycine	nt	nt	0	1,5	0	0
Colistine	nt	nt	0	4,1	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

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

³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2020, 79 souches de sérotype 1,4,(5),12:i:- sur les 101 analysées (78,2 %) étaient résistantes à l'ampicilline, et parmi elles, 59 avaient le profil de multirésistance AMP-SMX-TET (présence des gènes *bla*_{TEM-1B}, *sul2* et *tet(B)*).

Deux souches avaient un profil étendu de résistance AMP-SMX-TET-CIP_{SD} ; la sensibilité diminuée à la ciprofloxacine était due à la présence d'un gène *qnrB19* ou à une mutation dans le gène *gyrA* (S83F).

Aucune souche n'était résistante aux céphalosporines de troisième génération (C3G), aux carbapénèmes, à l'azithromycine ou à la colistine.

2.2.3.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis : 1997 – 2020

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

Antibiotique	% de souches résistantes						
	1997 (n = 380) (N = 2585)	2002 (n = 99) (N = 2054)	2006 (n = 100) (N = 1 264)	2011 (n = 100) (N = 1 221)	2014 (n = 130) (N = 1 507)	2019 (n = 109) (N = 2148)	2020 (n = 100) (N = 1 880)
Aminopénicillines ¹	6,8	6,1	4	6	0,8	5,5	1
C3G ²	0	0	0	1	0	0	0
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	0	0
Gentamicine	0,5	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	2	11,1	22	30	22,3	21,1	10
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0,9 (16,5) ³	0 (10) ³
Sulfamides	3,9	0	2	1	4,6	1,8	1
Triméthoprim	2,3	0	1	1	0	1,8	1
Chloramphénicol	0,7	0	0	0	0	1,8	1
Tétracycline	3,4	3	3	3	0	3,7	1
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	0	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	24,8	8

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

Il est à noter le pourcentage important de souches résistantes à la colistine, sans qu'il ne soit possible d'identifier des gènes de résistance de type *mcr*. Comme indiqué précédemment, ce phénomène a été observé pour plusieurs sérotypes du groupe D, notamment Enteritidis et Dublin, et il semblerait associé à des particularités dans la synthèse du lipo-polysaccharide (LPS) (Agero *et al.*, Foodborne Pathog Dis, 2012 ; Ricci *et al.*, mBio, 2020).

Des dix souches de sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (CIP_{SD}), une contenait le gène *qnrB19*. Le patient revenait d'un séjour en Tunisie.

2.2.3.5 Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky : 2002 – 2020

Le sérotype Kentucky a été étudié en détail au CNR-ESS depuis plus de 10 ans du fait de l'identification au début des années 2000 d'un clone (ST198-X1) multirésistant aux antibiotiques (Weill *et al.* Emerg Infect Dis 2006, Le Hello *et al.* J Infect Dis 2011, Le Hello *et al.* Lancet Infect Dis 2013, Hawkey *et al.* Microb Genom, 2019).

Ainsi, seulement trois des 40 souches analysées de ce sérotype en 2020 (7,5 %) présentaient un profil de pan-sensibilité aux antibiotiques. Aucune souche de sérotype Kentucky n'était résistante aux carbapénèmes en 2020.

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

Antibiotique	% de souches résistantes					
	2002 (n = 31) (N = 31)	2006 (n = 55) (N = 56)	2011 (n = 144) (N = 145)	2014 (n = 162) (N = 166)	2019 (n = 110) (N = 112)	2020 (n = 40) (N = 40)
Aminopénicillines ¹	22,6	25,5	72,9	69,1	60,9	77,5
C3G ²	0	0	3,5	1,2	0,9	7,5
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	0	0
Gentamicine	25,8	16,4	56,3	51,2	46,4	47,5
Acide nalidixique	25,8	32,7	81,2	84,6	78,2	90
Ciprofloxacine	3,2	30,9	81,2	82,1	78,2 (0) ³	87,5 (2,5) ³
Sulfamides	29	20	63,9	62,3	68,2	77,5
Triméthoprim	3,2	3,6	2,1	8,6	13,6	22,5
Chloramphénicol	3,2	1,8	1,4	8	7,3	27,5
Tétracycline	35,5	23,6	68,1	74,1	71,8	85
Azithromycine	nt	nt	1,4	2,5	0,9	5
Colistine	nt	nt	nt	nt	0,9	2,5

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

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

³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2020, les souches multirésistantes de ce sérotype restaient associés avec les pays du Maghreb :

- Une souche avec notion de voyage en Égypte, produisait une BLSE codée par le gène *bla*_{CTX-M-14}, avec un profil de multirésistance AMP-CTX-GEN-CIP_{HN}-SMX-TET.
- Deux souches produisaient des céphalosporinases de type AmpC. Une souche contenait le gène *bla*_{CMY-2}, avec un profil de multirésistance AMP-CTX-FOX-GEN-CIP_{HN}-CHL-SMX-TET. Le patient revenait d'un voyage en Égypte. Une deuxième souche productrice de bêta-lactamase du type AmpC codée par le gène *bla*_{CMY-4} avait un profil de multirésistance AMP-CTX-FOX-CIP_{HN}-CHL-SMX-TMP-TET-AZI. Cette souche, résistante à l'azithromycine (CMI ≥ 64 mg/L) contenait le gène *mph(A)*. Le patient revenait d'Algérie.
- Une souche également résistante à l'azithromycine via le gène *mph(A)* (AMP-CIP_{HN}-SMX-TMP-TET-AZI) était isolée d'un patient qui revenait d'Algérie.
- Une souche était résistante à la colistine, porteuse du gène *mcr-1* dans un contexte de multirésistance AMP-GEN-CIP_{HN}-SMX-TET-COL. Le patient revenait d'un séjour au Maroc.

2.2.3.6 Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby : 2002 – 2020

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

Antibiotique	% de souches résistantes					
	2002	2006	2011	2014	2019	2020
	(n = 39) (N = 128)	(n = 50) (N = 137)	(n = 137) (N = 139)	(n = 43) (N = 118)	(n = 65) (N = 130)	(n = 67) (N = 132)
Aminopénicillines ¹	5	2	8,8	4,7	6,2	6
C3G ²	0	0	1,4	0	0	1,5
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	0	0
Gentamicine	2,6	2	2,2	0	0	0
Acide nalidixique	2,5	2	0	0	0,5	1,5
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0 (7,7) ³	0 (3) ³
Sulfamides	51,3	76	67,8	60,5	47,7	49,3
Triméthoprime	3	8	8	4,7	9,2	4,5
Chloramphénicol	0	0	2,2	7	4,6	16,4
Tétracycline	61,5	80	70,8	60,5	49,2	38,8
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	0	2
Colistine	nt	80	nt	60,5	1,5	0

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

En 2020 :

- Une souche de sérotype Derby produisait une BLSE (codée par le gène *bla_{CTX-M-1}*), dans un contexte de multirésistance AMP-CTX-SMX-TET. Aucune notion de voyage n'a été rapportée pour ce patient.
- Une souche avait un profil de multirésistance AMP-CIP_{SD}-CHL-SMX-TMP-TET. Elle présentait une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (CMI = 0,25 mg/L) tout en restant sensible à l'acide nalidixique (CMI ≤ 4). Ce profil était associé à la présence du gène plasmidique *qnrS1*. Le patient revenait d'un voyage en Thaïlande.
- Une troisième souche présentait également une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (CMI = 0,25 mg/L) grâce à une mutation dans *gyrA* (S83Y). Aucun voyage n'a été rapporté pour ce patient.
- Deux souches avaient des CMI = 32 mg/L (résistance) à l'azithromycine, mais aucun gène n'a été identifié. Sur milieu gélosé, ces souches étaient sensibles (13-16 mm en disque et 8-16 mg/L par E-test).

Aucune souche de sérotype Derby n'était résistante aux carbapénèmes, à la gentamicine ou à la colistine.

2.2.3.7 Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis : 1997 – 2020

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

Antibiotique	% de souches résistantes						
	1997	2002	2006	2011	2014	2019	2020
	(n = 40) (N = 179)	(n = 51) (N = 133)	(n = 58) (N = 105)	(n = 58) (N = 165)	(n = 88) (N = 248)	(n = 140) (N = 285)	(n = 82) (N = 160)
Aminopénicillines ¹	2,5	2	0	3,4	3,4	5,7	7,3
C3G ²	0	0	0	0	1,1	1,4	0
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	0	0
Gentamicine	nt	nt	nt	nt	nt	0	2,4
Acide nalidixique	0	2	1,7	6,9	17	10,7	15,9
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	2,9 (10,7) ³	9,8 (7,3) ³
Sulfamides	5	4	0	8,6	19,3	10,7	14,6
Triméthoprime	5	0	0	5,2	5,7	5	7,3
Chloramphénicol	2,5	2	1,7	0	3,4	0,7	4,9
Tétracycline	35	4	5,2	6,9	18,2	12,1	12,2
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	0	0
Colistine	35	nt	5,2	6,9	18,2	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

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

³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2020, deux souches de sérotype Infantis étaient résistantes à la gentamicine (gènes *aac(3)_IIa* ou *aac(3)_IVa*). L'une des deux souches était également résistante à l'ampicilline (*bla_{TEM-1}*) et à la tétracycline (*tet(A)*). Aucun voyage à l'étranger n'a été rapporté pour ce patient.

Aucune souche de sérotype Infantis n'était résistante aux C3G, aux carbapénèmes, à l'azithromycine ou à la colistine.

2.2.3.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport : 1997 – 2020

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

Antibiotique	% de souches résistantes						
	1997 (n = 40) (N = 170)	2002 (n = 66) (N = 71)	2006 (n = 88) (N = 91)	2011 (n = 63) (N = 134)	2014 (n = 53) (N = 163)	2019 (n = 88) (N = 179)	2020 (n = 73) (N = 144)
Aminopénicillines ¹	27,5	1,5	10,2	4,8	5,7	8	9,6
C3G ²	0	1,5	8	0	0	1,1	1,4
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	0	0
Gentamicine	2,5	0	0	1,6	0	0	0
Acide nalidixique	15	4,5	1,1	3,2	5,7	2,3	0
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	1,1 (8) ³	0
Sulfamides	27,5	4,5	11,4	6,3	7,5	5,7	2,7
Triméthoprime	27,5	3	3,4	6,3	3,8	2,3	1,4
Chloramphénicol	25	1,5	9,1	1,6	0	3,4	1,4
Tétracycline	45	3	12,5	6,3	7,5	6,8	2,7
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	1,1	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	2,3	2,7

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

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

³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2020 :

- Une souche de sérotype Newport produisait une céphalosporinase de type AmpC (codée par le gène *bla_{CMY-2}*). Elle était par ailleurs résistante à d'autres antibiotiques, avec un profil complet de résistance AMP-CTX-FOX-SMX-CHL-TET.
- Deux autres souches de sérotype Newport avaient une CMI ≥ 4 mg/L à la colistine, mais aucun gène de type *mcr* n'a été mis en évidence dans les génomes. Il s'avère que ces deux souches appartenaient à une épidémie déclarée sur le plan international (UI-664-FR), liée à la consommation de viande de cheval contaminée. L'épidémie a touché 27 patients. Aucune autre souche de cette épidémie ne possédait ce phénotype de résistance à la colistine.

2.2.3.9 Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar : 1997 – 2020

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

Antibiotique	% de souches résistantes					
	1997	2003	2006	2009	2019	2020
	(n = 200) (N = 1067)	(n = 40) (N = 157)	(n = 40) (N = 114)	(n = 168) (N = 168)	(n = 22) (N = 44)	(n = 21) (N = 40)
Aminopénicillines ¹	78	42,5	50	68,5	9,1	9,5
C3G ²	0	0	0	0	4,5	0
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	0	0
Gentamicine	nt	nt	nt	nt	0	0
Acide nalidixique	84	65	80	33,9	86,4	81
Ciprofloxacine	0	0	0	0	4,5 (86,4) ³	9,5 (71,4) ³
Sulfamides	5	0	6	1,2	9,1	0
Triméthoprime	3,5	2,5	6	0,6	9,1	0
Chloramphénicol	1	0	0	0	0	0
Tétracycline	88	92,5	94	90,5	95,5	81
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	0	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

En 2020, 17 des 21 souches humaines du sérotype Hadar étaient résistantes à la tétracycline et à la ciprofloxacine : deux souches avaient une résistance de haut niveau à la ciprofloxacine (CMI = 1-2 mg/L) et 15 souches avaient une sensibilité diminuée (CMI = 0,25-0,5 mg/L). Deux de ces souches étaient de plus résistantes à l'amoxicilline (*bla*_{TEM-1}). Douze souches avaient des mutations chromosomiques (*gyrA* D87N) ; quatre souches contenaient le gène *qnrB19* ; et une souche possédait ces deux mécanismes de résistance. Aucune notion de voyage n'a été décrite pour les patients.

Aucune souche de sérotype Hadar n'était résistante aux C3G, aux carbapénèmes, à la gentamicine, à l'azithromycine, au chloramphénicol ou à la colistine.

2.2.3.10 Résistance aux antibiotiques du sérotype Dublin : 2020

Depuis 2018, le CNR-ESS analyse les souches de sérotype Dublin, du fait de son invasivité : seulement 31,5 % des prélèvements étaient issus des selles, le reste étant issu de sang, d'urines, de liquide ascitique, de liquide synovial ou de liquide péricardique mais également du fait que 74,2 % des patients avaient ≥ 60 ans.

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

Antibiotique	% de souches résistantes		
	2018	2019	2020
	(n = 44) (N = 94)	(n = 41) (N = 90)	(n = 42) (N = 89)
Aminopénicillines ¹	4,5	2,4	2,4
C3G ²	0	0	0
Carbapénèmes	0	0	0
Gentamicine	0	0	2,4
Acide nalidixique	0	4,9	2,4
Ciprofloxacine	0 (2,3) ³	2,4 (2,4) ³	2,4 (0) ³
Sulfamides	0	2,4	4,8
Triméthoprim	0	2,4	0
Chloramphénicol	0	0	4,8
Tétracycline	6,8	2,4	2,4
Azithromycine	0	0	2,4
Colistine	0	85,4	88,1

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

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

³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2020, les souches de *Salmonella* de sérotype Dublin étaient dans la plupart des cas sensibles aux antibiotiques, et aucune souche n'était résistante aux C3G ou aux carbapénèmes.

Une souche était cependant résistante à la gentamicine (CMI ≥ 32 mg/L, gène *aac(3)_IIId*). Elle était également résistante à l'azithromycine en microdilution (CMI = 32 mg/L) mais ne contenait aucun gène de résistance connu à l'azithromycine. Par E-test, la CMI = 16 mg/L (sensible). Cette discordance a été observée pour huit souches de sérotype Dublin.

Il est à noter le pourcentage de souches avec CMI = 4-8 mg/L à la colistine (37 des 42 souches analysées, 88,1 %). Comme pour le cas du sérotype Enteritidis, aussi membre du groupe D, des mécanismes liés à la synthèse du LPS pourraient être impliqués dans ce phénomène.

2.2.3.11 Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow : 1997 – 2020

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

Antibiotique	% de souches résistantes						
	1997	2002	2006	2011	2014	2019	2020
	(n = 50) (N = 501)	(n = 40) (N = 126)	(n = 98) (N = 101)	(n = 51) (N = 55)	(n = 48) (N = 52)	(n = 36) (N = 71)	(n = 16) (N = 29)
Aminopénicillines ¹	26	5	6,1	3,6	12,5	5,6	0
C3G ²	0	0	1	0	0	2,8	0
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	0	0
Gentamicine	0	0	3	3,9	6,3	2,8	0
Acide nalidixique	24	45	32,7	7,8	39,6	41,7	6,3
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	5,6 (44,4) ³	0 (6,3) ³
Sulfamides	12	10	13,3	7,8	18,8	0	0
Triméthoprime	20	5	13,3	7,8	18,8	0	0
Chloramphénicol	6	2,5	3	0	0	0	0
Tétracycline	24	5	9,2	9,8	27,1	2,8	0
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	0	0
Colistine	nt	nt	nt	nt	nt	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

En 2020, une seule souche de sérotype Virchow était résistante aux quinolones (NAL-CIP_{SD}), via une mutation *gyrA* D87Y. Une forte diminution de la proportion de souches de ce sérotype résistantes aux quinolones a été observée par rapport à 2019 (6,3 % de souches CIP_{SD} vs 50 % en 2019).

Aucune souche de sérotype Virchow n'était résistante aux C3G, aux carbapénèmes, à l'azithromycine ou à la colistine.

2.2.3.12 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi : 1997 – 2020

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

Antibiotique	% de souches résistantes						
	1997	2002	2006*	2011*	2014*	2019	2020
	(n = 40) (N = 170)	(n = 40) (N = 133)	(n = 106) (N = 111)	(n = 102) (N = 102)	(n = 99) (N = 108)	(n = 192) (N = 194)	(n = 83) (N = 84)
Aminopénicillines ¹	0	2,5	12,3	13,7	4	12,5	1,2
C3G ²	0	0	0	0	0	5,7	0
Carbapénèmes	nt	nt	nt	nt	nt	0	0
Gentamicine	nt	nt	nt	nt	nt	0	0
Acide nalidixique	0	7,5	37,7	39,2	44,4	37	13,3
Ciprofloxacine	0	0	0	3,9	8,1	10,4 (34;4) ³	1,2 (13,3) ³
Cotrimoxazole	5	7,5	12,3	13,7	8,1	14,1	2,4
Chloramphénicol	7,5	7,5	12,3	12,7	6,1	13,5	2,4
Tétracycline	5	7,5	12,3	4,9	2	2,1	0
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	nt	0	0

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

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

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

³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L, à considérer résistant si infection systémique)

En 2018, nous avons observé pour la première fois des souches de sérotype Typhi résistantes aux C3G. Il s'agissait de trois souches de génotype 4.3.1 (anciennement H58) productrices de la BLSE CTX-M-15. En 2019, le nombre de souches BLSE était de 11, toutes contenant *bla*_{CTX-M-15}, et toutes isolées de patients avec notion de voyage au Pakistan.

Le nombre de souches de sérotype Typhi identifiées en France s'est réduit de 43 % entre 2019 et 2020, vraisemblablement conséquence de la restriction aux voyages internationaux durant la crise sanitaire liée à la pandémie SARS-CoV-2. En 2020, aucune souche de sérotype Typhi identifiée en France n'était productrice de BLSE.

En 2020, 13 souches résistantes à la ciprofloxacine ont été identifiées par le CNR-ESS : douze souches de sensibilité diminuée (CMI > 0,06 mg/L) et une résistante à haut niveau (CMI = 0,75 mg/L). Sept étaient associées à une notion de séjour en Asie (Cambodge, Inde ou Pakistan) et une en Afrique (Mali).

- Deux de ces souches, étaient multirésistantes (AMP-CIP_{SD}-CHL-SMX-TMP-STX et CIP_{SD}-CHL-SMX-TMP-STX).
- Une souche avait une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (CMI = 0,094 mg/L), mais restait sensible à l'acide nalidixique (CMI = 8 mg/L). La souche avait une mutation dans le gène *gyrB* (codant pour S464F).

Ces trois souches étaient issues de patients revenant de voyage au Pakistan.

Les 49 souches en provenance ou avec notion de voyage en Outre-mer analysées en 2020 (10 de Guyane et 39 de Mayotte) étaient toutes sensibles à tous les antibiotiques testés.

En 2020, aucune souche de sérotype Typhi n'était résistante aux C3G, aux carbapénèmes, à la gentamicine, à l'azithromycine ou à la colistine (la colistine n'est pas testée lors des antibiogrammes en milieu solide, mais aucun gène de résistance du type *mcr* n'a été détecté par l'analyse WGS).

2.2.3.13 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A : 2005 – 2020

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

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2006	2011	2014	2019	2020
	(n = 21) (N = 33)	(n = 31) (N = 32)	(n = 43) (N = 46)	(n = 40) (N = 41)	(n = 19) (N = 19)
Aminopénicillines ¹	0	0	0	0	0
C3G ²	0	0	0	0	0
Carbapénèmes	nt	nt	nt	0	0
Gentamicine	nt	nt	nt	0	0
Acide nalidixique	71,4	90,3	27,9	95	89,5
Ciprofloxacine	0	0	0	7,5 (87,5) ³	0 (89,5) ³
Cotrimoxazole	0	0	0	0	0
Chloramphénicol	0	0	0	0	0
Tétracycline	0	0	0	0	0
Azithromycine	0	0	0	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

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

³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

Le nombre de souches de sérotype Paratyphi A a diminué de 54 % entre 2019 et 2020.

Dix-sept des 19 souches de sérotype Paratyphi A reçues étaient résistantes à l'acide nalidixique et avec une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (CMI = 0,38-0,5 mg/L). Pour toutes ces souches résistantes, à l'exception d'une, une notion de séjour à l'étranger précédant les symptômes, était indiquée. Il s'agissait de séjours en Asie : Cambodge (n = 8), Inde (n = 4), Pakistan (n = 2) et Thaïlande (n = 2).

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

2.2.3.14 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B : 2002 – 2020

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

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

Antibiotique	% de souches résistantes							
	2002	2006	2011	2014	2019	2019	2020	2020
	*	*	*	*	(dt-)	Java (dt+)	(dt-)	Java (dt+)
	(n = 78)	(n = 35)	(n = 37)	(n = 41)	(n = 14)	(n = 51)	(n = 5)	(n = 13)
	(N = 78)	(N = 51)	(N = 38)	(N = 48)	(N = 14)	(N = 51)	(N = 5)	(N = 14)
Aminopénicillines ¹	28,2	8,6	8,1	12,2	0	3,9	0	7,7
C3G ²	0	0	0	0	0	0	0	0
Carbapénèmes	nt	nt	nt	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	0	2,9	21,6	4,9	7,1	0	20	1
Ciprofloxacine	0	0	0	0	7,1 (0) ³	0 (0) ³	0 (20) ³	7,7 (0) ³
Sulfamides	29,5	8,6	10,8	22	0	5,9	0	7,7
Chloramphénicol	7,7	0	2,7	9,8	0	2	0	0
Tétracycline	24,4	8,6	5,4	4,9	0	7,8	0	0
Azithromycine	nt	nt	nt	nt	0	2	0	0

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

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

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

³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

En 2020, et comme pour les autres sérotypes majeurs, le nombre de souches de sérotype Paratyphi B a diminué de plus de 50% depuis 2019.

En 2020, une seule souche de sérotype Paratyphi B (dt-) était résistante à l'acide nalidixique et avait une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (CMI = 0,064 mg/L). Elle était isolée d'un patient avec notion de voyage aux États-Unis. Les autres souches de sérotype Paratyphi B (dt-) étaient sensibles à tous les antibiotiques.

En 2020, une seule souche de sérotype Paratyphi B biotype Java (dt+) montrait un profil de multirésistance : AMP-CIP_{HN}-CHL-SMX-TMP-STX. Aucune notion de voyage n'a été rapportée pour ce patient.

Aucune souche de sérotype Paratyphi B ni du biotype Java n'était résistante aux C3G, aux carbapénèmes, à la gentamicine, à l'azithromycine ou à la colistine.

2.2.3.15 Résistance aux antibiotiques des autres sérotypes

En 2020, un tirage au sort sur les sérotypes non analysés habituellement a été réalisé dans le but d'analyser 5 % des souches de ces sérotypes.

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

Antibiotique	% de souches résistantes	
	2019	2020
	57 sérotypes différents (n = 136) (N = 2 697)	48 sérotypes différents (n = 94) (N = 1 938)
Aminopénicillines ¹	5,1	0
C3G ²	1,5	0
Carbapénèmes	0	0
Gentamicine	0,7	0
Acide nalidixique	1,5	3,2
Ciprofloxacine	1,5 (6,6) ³	0 (3,2) ³
Sulfamides	5,9	3,2
Triméthoprim	6,6	2,1
Chloramphénicol	1,5	1,1
Tétracycline	8,1	3,2
Azithromycine	0	0
Colistine	0	3,2

n : Nombre de souches étudiées

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

nt : Non testé(s)

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

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

³ : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

Les 48 différents sérotypes étaient relativement sensibles aux antibiotiques.

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

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

Dans les pages suivantes, les tableaux de 28 à 32 montrent en détail les gènes de résistance aux bêta-lactamines (BLSE, céphamycine, carbapénème), à l'azithromycine et à la colistine, retrouvés chez les salmonelles en 2020. À noter, aucun gène de résistance aux carbapénèmes n'a été identifié parmi les souches reçues par le CNR-ESS en 2020.

Tableau 28 : *Salmonella* contenant des gènes de BLSE

Gènes	Sérotypes (n)			
	2017	2018	2019	2020
<i>bla</i> _{CTX-M-1}	4,[5],12:i:- (1) Corvallis (1) Derby (1) Goldcoast (1) Infantis (1)	Typhimurium (1) London (1)	Typhimurium (4) Bredeney (1) Hadar (1) Infantis (1) Livingstone (1)	Typhimurium (2) Derby (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-3}	Agbeni (1) Derby (1) Mbandaka (1)	Teitelkebir (1) Agama (1)	0	0
<i>bla</i> _{CTX-M-9}	Rissen (1) Typhimurium (24)	Typhimurium (13)	Typhimurium (15)	Typhimurium (4)
<i>bla</i> _{CTX-M-14}	4,[5],12:i:- (3) Kottbus (1) Strathcona (1)	4,[5],12:i:- (1) Typhimurium (1) Derby (1) Livingstone (1)	Alachua (1) Kentucky (1) Rissen (1) 1,4,[5],12:i:- (1)	4,[5],12:i:- (1) Kentucky (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-15}	0	Typhi (3) Typhimurium (3) Rissen (2) Agona (1) Hessarek (1)	Typhi (11) Typhimurium (3) 1,4,[5],12:i:- (2) Cerro (1) Derby (1) Dublin (1) Rissen (1)	Typhimurium (2) London (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-32}	0	Newport (1) Infantis (1)	0	0
<i>bla</i> _{CTX-M-55}	4,[5],12:i:- (2) Give (1) Kentucky (1) Newport (2)	4,[5],12:i:- (1) Meleagridis (1)	1,4,[5],12:i:- (2) Uganda (2) Bovismorbificans (1) Schwarzengrund (1)	Typhimurium (1) Schwarzengrund (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-65}	Infantis (2)	Infantis (3)	Infantis (7) Indiana (1)	Infantis (2) Indiana (1)
<i>bla</i> _{SHV-12}	4,[5],12:i:- (1)	Napoli (1) Kentucky (1)	Virchow (1)	4,[5],12:i:- (1)
<i>bla</i> _{TEM-30}	0	0	0	4,[5],12:i:- (1)
<i>bla</i> _{TEM-35}	0	0	Bredeney (1) Enteritidis (1)	0
<i>bla</i> _{TEM-52}	Derby (1)	0	0	0

n : Nombre de souches étudiées

Tableau 29 : Salmonella contenant des gènes de céphamycine

Gènes	Sérotypes (n)			
	2017	2018	2019	2020
<i>bla</i> _{AAC-3}	Enteritidis (1)	Typhimurium (1)	0	0
<i>bla</i> _{ACT-7}	0	0	Dublin (1)	0
<i>bla</i> _{ACT-12}	0	0	IIIa. 48:z4,z23:- (1)	0
<i>bla</i> _{CMY-2}	Typhimurium (2)	Typhimurium (2)	Minnesota (2)	1,4,[5],12:i:- (2)
	Derby (1)	63:-:- (1)	Typhimurium (2)	Newport (2)
	Kentucky (2)		Agona (1)	Kentucky (1)
	Miami (1)		Bovismorbificans (1)	
	Minnesota (1)		Haifa (1)	
	Stanley (1)		Newport (1)	
<i>bla</i> _{CMY-4}	Typhimurium (2)	Typhimurium (1)	0	Kentucky (1)
<i>bla</i> _{CMY-48}	0	Typhimurium (1)	0	0
<i>bla</i> _{CMY-66}	0	0	Zanzibar (1)	0
<i>bla</i> _{CMY-74}	Derby (1)	0	0	0
	Typhimurium (1)			
<i>bla</i> _{CMY-78}	0	0	Newport (1)	0
<i>bla</i> _{CMY-83}	0	0	Enteritidis (1)	0
<i>bla</i> _{CMY-110}	0	0	Schwarzengrund (1)	0
<i>bla</i> _{DHA-1}	4,[5],12:i:- (1)	4,[5],12:i:- (1)	1,4,[5],12:i:- (3)	Typhimurium (1)
	Kentucky (1)	Anatum (2)	Anatum (1)	1,4,[5],12:i:- (1)
		Chester (1)		Rubislaw (1)
<i>bla</i> _{DHA-2}	0	Weltevreden (1)	0	0
<i>bla</i> _{DHA-4}	0	Sandiego (1)	Colorado (1)	0
			Montevideo (1)	
<i>bla</i> _{DHA-13}	0	Kentucky (1)	Enteritidis (1)	0
<i>bla</i> _{DHA-16}	0	0	Napoli (1)	0
<i>bla</i> _{DHA-22}	0	0	1,4,[5],12:i:- (1)	0

n : Nombre de souches étudiées

Tableau 30 : Salmonella contenant des gènes de carbapénèmase

Gènes	Sérotypes (n)			
	2017	2018	2019	2020
<i>bla</i> _{OXA-48}	Kentucky (3)	4,[5],12:i:- (1)	Baidon (1)	
	Poona (1)	IIIa. 48:z4,z23:- (1)	Entertidis (1)	
	Postdam (1)	Derby (1)	Virchow (1)	
	Saintpaul (1)	Enteritidis (2)		0
		Kentucky (1)		
		Napoli (1)		
	Typhi (1)			
<i>bla</i> _{VIM-1}	0	Typhimurium (1)	0	0
<i>bla</i> _{VIM-2}	Kentucky (5)	0	0	0
<i>bla</i> _{NDM-1}	Westhampton (1)	0	0	0
<i>bla</i> _{NDM-2}	Kentucky (1)	0	1,4,[5],12:i:- (1)	0

n : Nombre de souches étudiées

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

Gènes	sérotypes (n)			
	2017	2018	2019	2020
<i>mph(A)</i>	4,[5],12:i:- (5)	4,[5],12:i:- (2)	Blockley (5)	1,4,[5],12:i:- (2)
	Bareilly (1)	Blockley (1)	Rissen (4)	Kentucky (2)
	Blockley (2)	Bovismorbificans (1)	1,4,[5],12:i:- (3)	Blockley (1)
	Bredeney (1)	Brancaster (1)	Enteritidis (2)	Muenster (1)
	Enteritidis (2)	Derby (1)	Indiana (2)	Rubislaw (1)
	Indiana (1)	Goldcoast (8)	Napoli (2)	Schwarzengrund (1)
	Kentucky (2)	Indiana (2)	Java (1)	Typhimurium (1)
	Newport (2)	Infantis (1)	Kentucky (1)	
	Rissen (2)	Kentucky (5)	Newport (1)	
	Saintpaul (1)	London (1)	Schwarzengrund (1)	
	Typhimurium (1)	Panama (1)	Typhimurium (1)	
		Rissen (3)		
		Stanley (1)		
	Typhimurium (4)			
<i>mph(B)</i>	0	0	1,4,[5],12:i:- (2) Typhimurium (2) Saintpaul (1)	1,4,[5],12:i:- (3) Saintpaul (3) Kentucky (1) Typhimurium (1)
	<i>mph(E)</i>	0	Ohio (1)	0
	<i>mef(B)</i>	0	0	1,4,[5],12:i:- (4)
<i>msr(E)</i>	0	0	0	1,4,[5],12:i:- (2)

n : Nombre de souches étudiées

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

Gènes	sérotypes (n)			
	2017	2018	2019	2020
<i>mcr-1</i>	4,[5],12:i:- (14)	4,[5],12:i:- (7) Kentucky (1) Typhimurium (1)	1,4,[5],12:i:- (3) Kentucky (1)	1,4,[5],12:i:- (4) Kentucky (1)
<i>mcr-3</i>	4,[5],12:i:- (4) Typhimurium (1)	4,[5],12:i:- (2)	1,4,[5],12:i:- (3)	0
<i>mcr-5</i>	0	Typhimurium (1)	0	0

n : Nombre de souches étudiées

2.2.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

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

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

2.2.4.1.1 Relevés périodiques envoyés à Santé Publique France

Les événements signalés sur les relevés hebdomadaires et déclaration obligatoire en 2020 ont concerné :

- **331 foyers de cas groupés** d'infections à *Salmonella* signalés par les laboratoires correspondants en 2020 (**434 foyers de cas groupés** déclarés en 2019).
- Des informations épidémiologiques et microbiologiques diverses sur les souches étudiées au laboratoire pour les sérotypes de *Salmonella* responsables des **fièvres typhoïdes et paratyphoïdes** ou sur les souches impliquées dans des épidémies.
- Des comptes rendus hebdomadaires suite aux analyses à l'aide d'un algorithme R permettant la détection d'événements épidémiques sur l'ensemble des sérotypes identifiés.

2.2.4.1.2 Relevés annuels

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

2.2.4.1.3 Relevés ponctuels

- Réponses du CNR-ESS à des demandes d'information émanant de Santé publique France (extraction par sérotype, classe d'âge, localisation géographique...).
- Notifications de la part du CNR-ESS suite à l'identification d'un groupement génomique émergent (cgMLST).
- Au cours d'une épidémie, expertise microbiologique, notamment pour l'inclusion de cas dans le groupement épidémique.

2.2.4.2 Contribution aux réseaux de surveillance nationaux, humaine et vétérinaire

Le CNR-ESS collabore avec les laboratoires de l'Anses, en particulier l'unité caractérisation et épidémiologie bactérienne de Maisons-Alfort et du LNR *Salmonella* à Ploufragan. Le CNR-ESS apporte son expertise sur le sérotypage et au transfert de nouvelles technologies à ces laboratoires et participent conjointement aux investigations épidémiologiques.

2.2.4.3 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

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

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

Toutes les souches étudiées au CNR-ESS dont les formules antigéniques ne figurent pas dans le schéma de White-Kauffmann-Le Minor sont transmises pour validation au CCOMS.

En 2020, le CNR-ESS a adressé au CCOMS le nouveau sérotype putatif suivant :

- *S. enterica* sous-espèce *enterica* de formule antigénique **6,(14),25:a:e,n,x**

Les responsables du CNR-ESS participent au réseau Global Foodborne Infections Network de l'OMS comme enseignants pour la partie microbiologique (cours théoriques et travaux pratiques) lors de formations organisées par ce réseau. L'édition 2007 du schéma de White-Kauffmann-Le Minor par P.A.D. Grimont et F.-X. Weill est accessible en version française sous forme d'un fichier pdf téléchargeable à l'adresse suivante : <https://www.pasteur.fr/fr/file/3184/download?token=5-WekyPv>

Le CNR-ESS fait partie du réseau européen « Epidemic Intelligence Information System for the Food- and Waterborne Diseases Network » (EPIS-FWD) du Centre Européen pour la Prévention et le Contrôle des Maladies (ECDC, son acronyme en anglais). Ensemble avec Santé publique France, le CNR-ESS a lancé ou répondu à 36 alertes sur EPIS-FWD relatives à des épidémies à *Salmonella* en 2020.

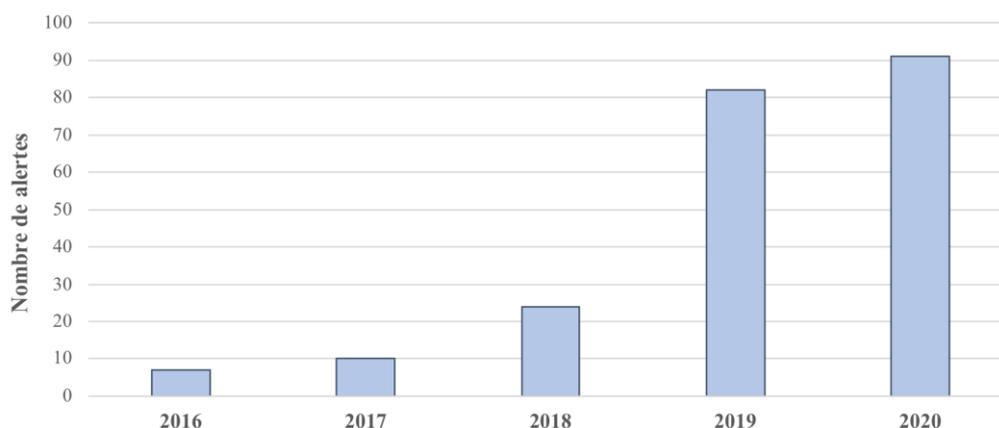
2.2.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

En 2020, le CNR-ESS était membre d'un consortium ayant obtenu un financement par le programme One Health European Joint Programme (OHEJP) de la Commission Européenne dont le but est d'améliorer la surveillance des *S. enterica* sérotype Enteritidis chez la volaille : le Projet ADONIS (*Assessing Determinants Of the Non-decreasing Incidence of Salmonella*). Le projet a démarré en janvier 2020 et durera jusqu'à la fin de 2022.

2.3 Alerte

Depuis la mise en route du typage et sous-typage des salmonelles par WGS en routine en 2018, la détection de groupements génomiques a augmenté de façon notable (**Figure 11**).

Figure 11. Évolution du nombre d'alertes à Salmonella analysées par le CNR-ESS



En 2020, le CNR-ESS a participé à l'investigation de 77 TIAC en France. Le **Tableau 33** donne les informations relatives à ces alertes. De plus, en 2020, le CNR-ESS en collaboration avec SpF, a créé ou répondu à 36 alertes européennes, via le système EPIS-FWD. Le **Tableau 34** montre les détails de ces alertes.

Tableau 33 : Alertes épidémiques à *Salmonella* en France, 2020

Alerte SpF	Sérotype	ST	HC5	Création	N souches FR 2020	Aliment incriminé	Souche alimentaire	Départemen ts
710167	Enteritidis	11	145416	27/01/2020	3	œufs	-	6
-	Dublin	10	145834	18/02/2020	13	fromage Reblochon de Savoie	OUI	> 3
711745	4,5,12:i:-	34	150407	09/04/2020	19	saucisson	-	> 3
-	Miami	140	232428	12/04/2020	4	jambon cru	OUI	973
712181	Enteritidis	11	234481	28/05/2020	1	œufs frais	-	54
DGAL 2020/248	Enteritidis	11	234960	29/05/2020	1	œufs frais	-	33
712016	Enteritidis	11	233446	02/06/2020	2	oeufs ou fromage de chèvre	-	74
-	4,5,12:i:-	34	143285	09/06/2020	55	poulet (abattoir)	OUI	95
711944	4,5,12:i:-	34	230089	09/06/2020	11	saucisson	-	> 3
-	Newport	118	234298	10/06/2020	8	fromage Picodon	OUI	26
712326 / 712440 / RASFF 2020.3237	Enteritidis	11	2301	11/06/2020	126	3 TIAC dans un même restaurant	-	92
-	Kedougou	1543	234336	18/06/2020	5	-	-	> 3
712372	Infantis	32	234372	23/06/2020	11	œufs	-	76
712181	Enteritidis	11	234509	23/06/2020	1	-	-	54
712439	Typhimurium	19	236485	15/07/2020	4	œufs poulailler	-	64
20 081 005	Enteritidis	11	7156	21/07/2020	10	œufs frais : tiramisu	OUI	81
-	Enteritidis	11	235443	30/07/2020	3	œufs poulailler	-	62
712 753	Hessarek	255	122090	03/08/2020	2	œufs : macarons, mayonnaise	-	38, 82
-	Stanley	2045	219960	04/08/2020	43	-	-	34
712971	Enteritidis	11	238804	13/08/2020	1	œufs	-	15
712906	Chester	1954	239014	14/08/2020	1	caillé de brebis	-	48
-	Typhimurium	19	238687	14/08/2020	10	-	-	21, 71
712976	Enteritidis	11	239495	14/08/2020	1	-	-	57
-	4,5,12:i:-	34	237485	18/08/2020	9	-	-	> 3
-	Enteritidis	11	237541	18/08/2020	6	-	-	75, 92
-	Chester	1954	239028	18/08/2020	10	-	-	> 3
-	Chester	1954	239044	18/08/2020	7	-	-	> 3
-	Enteritidis	11	238948	20/08/2020	3	-	-	61
-	Enteritidis	11	27017	21/08/2020	40	eau du réseau	-	68
713056	Enteritidis	11	239848	24/08/2020	1	brochettes de bœuf	-	64
-	Enteritidis	11	241869	28/08/2020	41	eau du réseau	OUI	74
713036	4,5,12:i:-	34	183118	01/09/2020	63	jambon cuit	-	> 3
-	4,5,12:i:-	34	307	01/09/2020	21	œufs	-	> 3
-	Dublin	10	238946	04/09/2020	13	fromage lait cru	-	25, 70, 90
713231	Enteritidis	11	241556	08/09/2020	1	steak haché	-	67
712902	Enteritidis	11	238723	08/09/2020	2	œufs	-	17
-	4,5,12:i:-	34	88955	09/09/2020	11	charcuterie	OUI	20
-	Bovismorbificans	142	237940	09/09/2020	11	saucisses sèches	-	> 3
-	4,5,12:i:-	34	125531	11/09/2020	62	saucisses sèches	-	> 3
-	Veneziana	2207	241166	14/09/2020	1	-	-	33
-	4,5,12:i:-	34	242792	21/09/2020	1	-	-	71
-	4,5,12:i:-	34	1974	23/09/2020	27	-	-	> 3

(continue sur la page suivante)

Salmonella

<i>(suite)</i>								
Alerte SpF	Sérotype	ST	HC5	Création	N souches FR 2020	Aliment incriminé	Souche alimentaire	Départemen ts
713548	Enteritidis	11	154412	25/09/2020	8	taco cordon bleu	-	> 3
713657	Enteritidis	183	238270	29/09/2020	2	fuet catalan	-	60
713646	4,5,12:i:-	34	242785	30/09/2020	4	jambon à l'os	-	> 3
-	Enteritidis	11	56628	01/10/2020	18	-	-	> 3
-	4,5,12:i:-	34	241925	01/10/2020	12	-	-	> 3
-	Typhimurium	19	242033	01/10/2020	12	-	-	> 3
-	4,5,12:i:-	34	242793	07/10/2020	13	-	-	> 3
-	Enteritidis	11	243545	07/10/2020	15	-	-	62
-	Enteritidis	11	241840	12/10/2020	6	-	-	67
-	Muenchen	82	238931	13/10/2020	11	-	-	> 3
-	Enteritidis	11	241880	13/10/2020	10	-	-	> 3
-	Kaapstad	4605	-	14/10/2020	5	lapin	-	31
-	4,5,12:i:-	34	71840	16/10/2020	7	-	-	35
-	Enteritidis	11	181507	19/10/2020	12	-	-	52, 67
714354	Typhimurium	19	243952	22/10/2020	10	œufs fermiers	-	67
-	Enteritidis	11	27017	27/10/2020	40	eau	-	68
-	Enteritidis	11	149943	10/11/2020	7	œufs	-	69
713664	Enteritidis	11	236170	10/11/2020	9	œufs : tiramisu	OUI	69
-	Typhimurium	19	244451	10/11/2020	8	-	-	61
714357	Enteritidis	11	56771	17/11/2020	19	œufs : mayonnaise/mou sse au chocolat	-	17
-	Enteritidis	11	246264	17/11/2020	9	-	-	> 3
-	Eastbourne	414	218702	18/11/2020	3	-	-	78
DGAL 2020/68	Dublin	10	3541	20/11/2020	3	lait de vache cru	OUI	> 3
DGAL 2020/358 RASFF 2020.2632	Enteritidis	11	115136	20/11/2020	2	poulet	OUI	> 3
713694	4,5,12:i:-	34	230961	20/11/2020	8	fruits de mer	-	> 3
DGAL 2020/78	4,5,12:i:-	34	239550	20/11/2020	19	saucisson	OUI	84
714871	Enteritidis	11	167602	26/11/2020	1	œufs : mousse chocolat	-	69, 71
714899	Enteritidis	11	245609	30/11/2020	3	gaufres aux œufs de canne	-	21
-	Enteritidis	11	152781	01/12/2020	8	-	-	85
-	Typhimurium	19	209302	01/12/2020	5	-	-	75, 78, 92
-	Enteritidis	11	248608	05/12/2020	4	cantine scolaire	-	21
-	Typhimurium	34	122276	11/12/2020	14	poulet	-	> 3
-	4,5,12:i:-	34	198125	23/12/2020	11	saucisses sèches	OUI	> 3
-	Dublin	10	3528	08/06/2020	4	-	-	> 3
-	Enteritidis	11	83501	03/02/2020	8	crêpes/œufs	-	31, 81

Tableau 34 : Alertes épidémiques européennes à *Salmonella*, 2020

Alerte	Sérotype	ST	HC5	Création	N souches FR 2020	Aliment incriminé	Souche alimentaire
UI-621-FI	Mikawasima	1815	208498	07/01/2020	0	-	-
UI-623-NO	Enteritidis	11	223061	14/01/2020	0	-	-
UI-626-LV	Kapemba	-	-	20/01/2020	0	-	-
UI-627-FR	Dublin	10	145752	04/02/2020	7	lait cru/morbier	OUI
UI-628-DK	Enteritidis	11	221912	13/02/2020	0	amandes	-
UI-635-NL	Virchow	-	-	12/03/2020	0	poulet	-
UI-636-UK	Typhimurium	19	198611	24/04/2020	16	céréales/noix	OUI
UI-636-UK	Typhimurium	19	241592	01/12/2020	0	céréales/noix	-
UI-636-UK_bis	Anatum	64	236760	18/08/2020	0	noix du brésil	-
UI-638-CH	Bovismorbificans	1499	-	04/05/2020	0	-	-
UI-639-DE	Enteritidis	11	2002	13/05/2020	2	poulet	-
UI-644-UK RASFF 2018.1911 RASFF 2020.3237 RASFF 2020.3868	Enteritidis	11	146173	09/06/2020	16	cuisse de poulet	OUI
UI-652-US	Guinea	3310	-	16/07/2020	0	reptiles	-
UI-653-US	Newport	118	4179	16/07/2020	0	-	-
UI-655-DK	Strathcona	2559	26490	20/07/2020	0	-	-
UI-656-UK RASFF 2020.3237	Enteritidis	11	1358	22/07/2020	88	poulet	OUI
UI-657-DK	Kasenyi	4546	-	27/07/2020	0	-	-
UI-660-NL	4,5,12:i:-	34	238718	17/08/2020	1	-	-
UI-664-FR	Newport	31	206094	07/08/2020	26	viande cheval	-
UI-665-US	Enteritidis	11	59838	26/08/2020	0	pêches	-
UI-666-FR	4,5,12:i:-	34	237982	11/08/2020	30	fuet catalan	OUI
UI-666-FR_bis	4,12:i:-	34	241632	02/10/2020	15	fuet catalan	OUI
UI-666-FR_ter	Rissen	469	243766	29/10/2020	3	fuet catalan	OUI
UI-667-IR	Saintpaul	50	240430	02/08/2020	0	-	-
UI-668-US	Stanley	29	241838	11/09/2020	0	ramen	-
UI-670-UK	Infantis	32	237489	17/09/2020	0	chicken	-
UI-671-NL	Enteritidis	11	83501	24/09/2020	8	-	-
UI-675_FR	4,5,12:i:-	19	73126	09/09/2020	35	viande cheval	OUI
UI-677-NO	Oranienburg	864	-	23/10/2020	0	-	-
UI-679-DE	Muenchen	82	246669	28/10/02020	0	-	-
UI-680-FR	Bovismorbificans	1499	67638	16/10/2020	15	viande cheval	OUI
UI-688-FR RASFF 2020.5038	Bovismorbificans	142	243255	27/10/2020	33	saucisses sèches	OUI
UI-690-US	Potsdam	-	-	11/12/2020	0	-	-
UI-691-FI	Saintpaul	27	25153	17/12/2020	2	-	-
UI-692-FI	Kedougou	1543	251571	17/12/2020	0	-	-
UI-694-BE	Brandenburg	65	251658	18/12/2020	1	-	-

Shigella/EIEC

3 Shigella/EIEC

3.1 Activités d'expertise

En 2020,

- **La pandémie mondiale à SARS-CoV2**, par l'intermédiaire des différentes mesures de restriction mises en place au niveau national, a fortement limité les situations à risque de transmission des *Shigella/EIEC* : fermeture des écoles, des restaurants, interdiction des rassemblements et limitation des voyages.
- **Le CNR-ESS a reçu et analysé 718 cultures bactériennes d'origine humaine (versus 1 502 en 2019)** transmises comme appartenant au genre *Shigella*, par le réseau des laboratoires de biologie médicale de France métropolitaine et d'Outre-mer.

3.1.1 Évolution des techniques

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

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

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

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

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

3.1.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et troupes

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

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

Les LBM utilisent largement la **spectrométrie de masse de type MALDI-TOF** (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation-Time Of Flight) pour l'identification en routine des bactéries. Cependant, les performances des systèmes distribués en France (principalement Microflex[®] de Bruker et Vitek[®]MS de Biomérieux) ne permettent pas de différencier *Shigella* spp. de *Escherichia coli*. Pour améliorer ces performances le CNR-ESS avait initié un projet d'étude du Microflex[®] de Bruker selon deux approches différentes : d'un côté la création d'une base de données (BDD) exhaustive de spectres contenant l'ensemble des différents sérotypes de *Shigella* (ce qui n'est pas le cas dans la BDD commercialisée), et une approche par 'machine learning' proposant une autre méthode d'analyse des spectres que celle proposée par le système Bruker. Les résultats n'ont pas permis à ce jour d'obtenir de différenciation fiable des *Shigella* et *E. coli* avec cette technologie mais le projet est toujours en cours. Deux nouvelles technologies sont disponibles sur le marché. Elles permettraient la mise en évidence de la diversité des LPS, caractéristique de la différenciation *E. coli*/*Shigella* et sont donc prometteuses. Il s'agit de la technologie du MALDI Biotyper Sirius[®] de Bruker, qui associe l'analyse des lipides en plus de celle des protéines, et la technologie du IR Biotyper[®] de Bruker, qui analyse les vibrations des glycoprotéines par un système de spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier. Une étude sur à peu près 1 000 souches du CNR-ESS a démarré en 2020 avec l'**IR Biotyper[®] de Bruker**.

3.1.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Le CNR-ESS promeut l'utilisation de la méthode cgMLST d'Enterobase et de son Hierarchical clustering pour la détermination des clusters épidémiques internationaux, via le réseau EPIS-FWD (pour Epidemic Intelligence Information System — Food and Waterborne Diseases and zoonoses : <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/epidemic-intelligence-information-system-epis>)

3.1.4 Collections de matériel biologique

L'organisation, les conditions de stockage et la mise à disposition des collections de matériel biologique sont détaillées en **Annexe 1 (voir paragraphe A1.4)**.

Le type de souches de *Shigella*/EIEC conservées au CNR-ESS est détaillé en **Annexe 2 (paragraphe A2.2.3)**.

3.1.5 Activités d'expertise

3.1.5.1 Activité de routine du CNR-ESS

Le CNR-ESS a réalisé l'identification biochimique et le sérotypage classique par agglutination de la totalité des **718 souches** isolées des cultures bactériennes d'origine humaine **reçues en 2020**. Une analyse par biologie moléculaire (PCR des gènes de virulence) a été effectuée sur tous les échantillons non évocateurs d'un sérotype connu, dans le but de détecter de nouveaux sérotypes de *Shigella* spp., les EIEC mais aussi pour éliminer les bactéries autres que *Shigella*/EIEC. Une étude phénotypique de la sensibilité aux antibiotiques ainsi qu'un séquençage du génome complet (WGS) ont enfin été effectués sur toutes les souches identifiées comme *Shigella*/EIEC.

Les dates de prélèvement de ces 718 souches étaient réparties entre le 07/11/2019 et le 27/12/2020. Les résultats de la surveillance des cas de shigellose en 2020 seront présentés dans le prochain paragraphe 3.2 sur la base des isollements de *Shigella*/EIEC avec une date de prélèvement strictement limitée à l'année 2020.

Soixante-dix-neuf pour cent (79 %, 570/718) des souches réceptionnées ont été confirmées comme des ***Shigella* spp. (n = 567) ou des EIEC (n = 3)**.

Les autres souches (**148/718, 21 %**) étaient des « **bactéries autres que *Shigella*/EIEC** » confondues avec les *Shigella* (*E. coli* atypiques le plus fréquemment). Ce pourcentage de mauvaise identification des *Shigella* par les LBM a été multiplié par cinq au cours des six dernières années (4% en 2014, 6% en 2015, 12% en 2016, 15% en 2017, 17% en 2018 et 2019). Ceci est attribuable à l'abandon de plus en plus répandu des techniques de référence (tests biochimiques associés aux tests d'agglutination) au profit de systèmes d'identification automatisés (type Vitek[®]2 ; Biomérieux), incapables de différencier les souches de *Shigella* des *E. coli* déficients. Cette tendance est vraisemblablement en rapport avec la difficulté de poursuivre une activité de sérotypage dans le cadre de l'accréditation ISO-15189 des laboratoires d'analyses médicales.

Tableau 35 : Nombre de souches de *Shigella*/EIEC enregistrées au CNR-ESS en 2020

Souches	N
Souches analysées par le CNR-ESS*	718
souches identifiées comme <i>Shigella</i> /EIEC	570 (dont 9 doublons)
souches identifiées comme « bactéries autres que <i>Shigella</i> /EIEC »	148
Nombre final de souches de <i>Shigella</i>/EIEC enregistrées en 2020	570

*quelle que soit la date de prélèvement.

Attention, les effectifs des enregistrements 2020 diffèrent des effectifs de surveillance 2020. Ces derniers, exposés dans le **paragraphe 3.2 Activité de surveillance**, s'intéressent aux souches isolées strictement au cours de l'année 2020 et excluent les souches transmises en doublon.

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

3.1.5.2 Activité hors routine du CNR

Aucune souche en provenance du Réseau International de l'IP, ni aucune souche d'origine animale n'a été reçue en 2020.

3.1.6 Activités de séquençage

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

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

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

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

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

Le séquençage par WGS est devenu la technique de première intention au CNR-ESS. Les données sont utilisées tant dans les investigations d'épidémies que pour la surveillance.

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

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

- Nombre de séquences réalisées à des fins de surveillance

En 2020, le CNR-ESS a séquencé un total de 560 souches de *Shigella* spp. ou EIEC, correspondant aux 570 souches confirmées en dehors des 9 doublons (souches isolées d'un même patient au cours d'un intervalle de temps inférieur à 2 mois).

- Où sont déposées les séquences brutes (fastq files)

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

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

Toutes les séquences de souches ayant fait l'objet de publications scientifiques sont également déposées dans ENA (par exemple les 3870 génomes du projet PRJEB44801).

Enfin tous les reads filtrés sont déposés en temps réel sur la plateforme EnteroBase (<http://enterobase.warwick.ac.uk>) ce qui permet la comparaison avec les séquences déposées par le reste des utilisateurs du site. Les assemblages réalisés par la plateforme à partir des séquences ainsi déposées restent inaccessibles au public pour une durée d'un an ; les *reads* originaux sont détruits par EnteroBase.

3.2 Activités de surveillance

A la différence des données issues de notre activité d'expertise (**voir le paragraphe précédent 3.1**), les données de surveillance ne concernent que les isollements de *Shigella*/EIEC avec une **date de prélèvement en 2020**.

Soit un total de **606 isollements*** dont :

-564 *Shigella* et 2 EIEC reçus au CNR-ESS (entre le 07/01/2020 et le 03/03/2021)

-40 *Shigella* déclarées au CNR-ESS par le biais de « fiches information** » sans transmission d'aucun isolement.

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

La plateforme Voozano de déclaration en ligne des cas de shigellose **a été clôturée** le 31 décembre 2020. Le CNR-ESS encourage désormais la transmission systématique de tous les isollements de *Shigella*/EIEC.

* **Chiffres obtenus après dé doublement des souches**: exclusion des souches isolées chez un même patient dans un intervalle de deux mois et exclusion des souches isolées dans un intervalle supérieur mais présentant la même valeur de HC5 (voir explication de la technique de sous-typage par étude du séquençotype cgMLST dans l'annexe2).

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

3.2.1 Description du réseau de partenaires

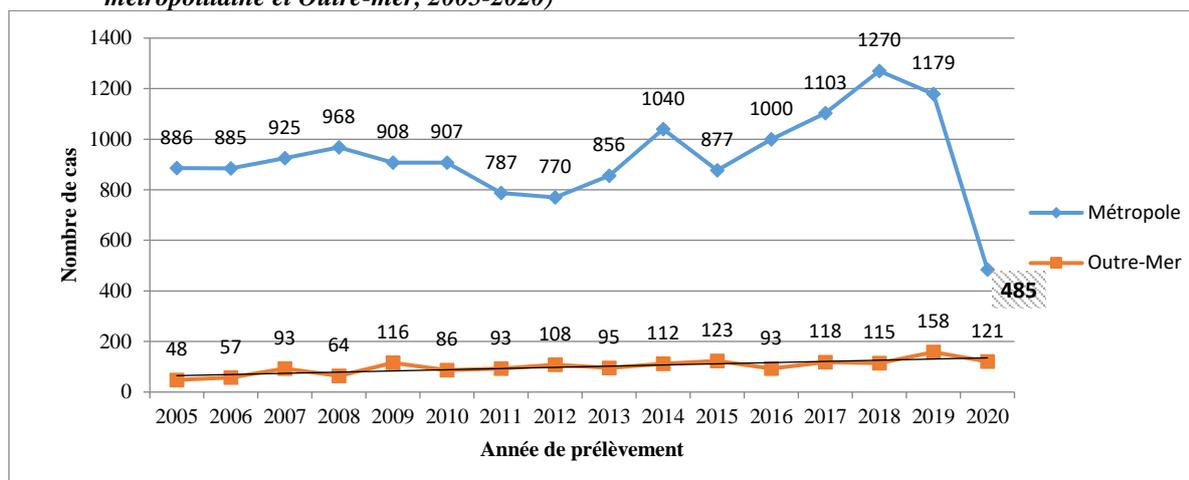
3.2.1.1 Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS

Le CNR-ESS collabore depuis de nombreuses années avec **un réseau d'environ 1 000 laboratoires** (laboratoires privés, laboratoires hospitaliers, centres de santé, Instituts et Écoles vétérinaires...), adressant sur la base du volontariat les souches bactériennes et les informations nécessaires à la surveillance nationale de ces infections. Pour plus de détails, voir le **paragraphe 2.2.1.1** de la partie *Salmonella*.

3.2.1.2 Distribution globale des cas d'infection à *Shigella*/EIEC en France métropolitaine et d'Outre-mer

Le nombre global de cas enregistrés en 2020 en France métropolitaine était **inhabituellement faible** et deux fois moins élevé qu'en 2019 (**Figure 12**). Les mesures de restriction mises en place dans le cadre de la **pandémie à SARS-CoV2** (distanciation sociale, hygiène systématique des mains, confinement, fermeture des écoles, interdiction des rassemblements et limitation des voyages) ont très probablement joué un rôle dans la baisse de circulation de ce pathogène de transmission principalement manu-portée (épidémies dans les écoles) ou sexuelle (épidémies dans la communauté homosexuelle masculine). Cette hypothèse est confortée par les chiffres de la répartition mensuelle des cas. En Outre-mer, nous n'avons pas observé cette même diminution sur l'année 2020. Cependant la transmission des souches par les laboratoires d'Outre-mer est historiquement plus hétérogène qu'en métropole. Le nombre de laboratoires participants fluctue chaque année, ce qui influe sur la représentativité de ces données.

Figure 12. Nombre de cas d'infections à *Shigella* spp. ou EIEC (souches et « fiches information », France métropolitaine et Outre-mer, 2005-2020)



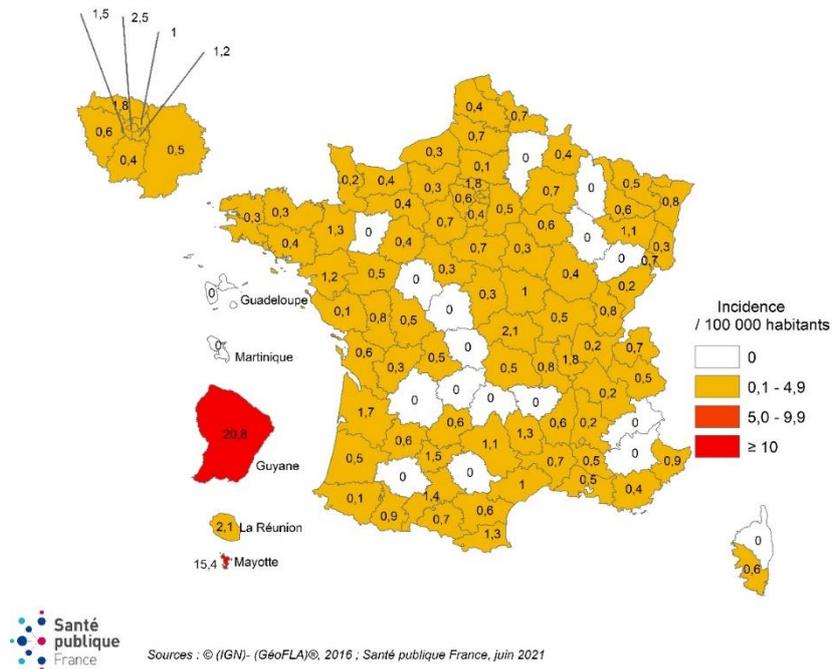
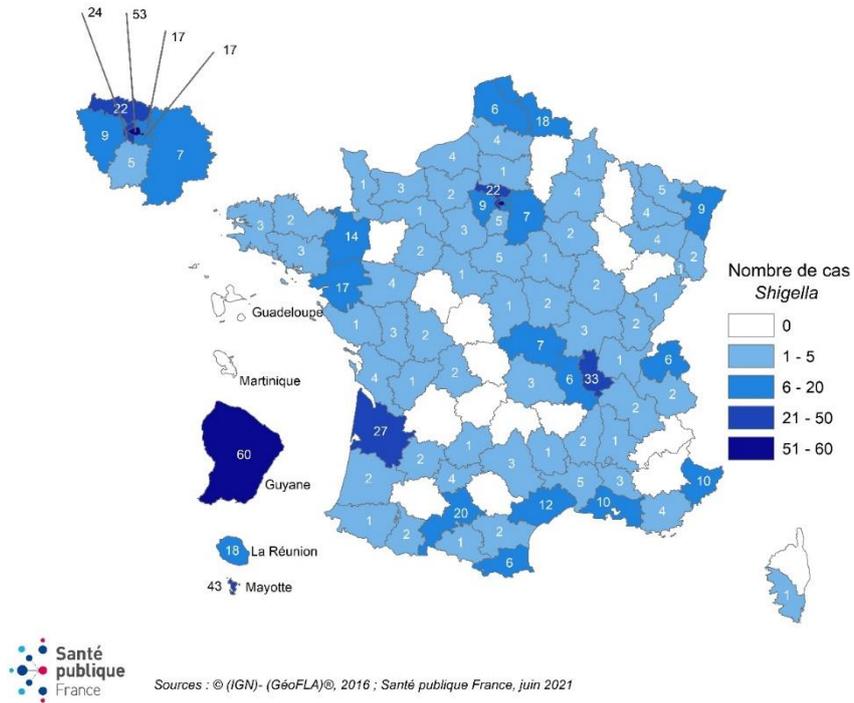
La Figure 13 présente quant à elle la répartition **par département** du nombre de cas d'infection à *Shigella*/EIEC enregistrés en 2020, ainsi que leur incidence pour 100 000 habitants. Ces cas provenaient de 79 départements de France métropolitaine et de trois départements d'Outre-mer (Guyane, La Réunion et Mayotte).

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

De manière notable, l'incidence moyenne en France métropolitaine était presque trois fois plus faible en 2020 (0,7 / 100 000 habitants) qu'en 2019 (1,9 / 100 000 habitants). Les départements métropolitains avec les taux d'incidence les plus élevés n'étaient pas les mêmes que l'année précédente. En 2020, il s'agissait par ordre décroissant des départements 75_Paris, 03_Allier, 95_Val-d'Oise et 69_Rhône. Leurs taux d'incidence respectifs étaient compris entre 1,7 et 2,5 / 100 000 habitants. En 2019, les départements 95_Val-d'Oise, 34_Hérault, 92_Hauts-de-Seine, 82_Tarn-et-Garonne étaient les plus affectés avec des taux d'incidence jusqu'à 4 fois supérieurs à ceux de 2020 (de 5,0 à 8,7 / 100 000 habitants).

En Outre-mer seulement trois départements (Guyane, Mayotte et La Réunion) ont transmis des souches au CNR-ESS en 2020. Leurs taux d'incidence respectifs étaient **similaires à ceux de 2019**. Pour la Guyane, 20,8 / 100 000 habitants en 2020 vs 34,6 en 2019. Pour Mayotte, 15,4 en 2020 vs 14,8 en 2019. Pour La Réunion 2,1 / 100 000 habitants en 2020 vs 1,9 en 2019. Aucune souche ou fiche n'a été transmise depuis les neuf autres territoires d'Outre-mer. Monaco, qui collabore habituellement à la surveillance épidémiologique des *Shigella*, n'a pas envoyé de souche cette année.

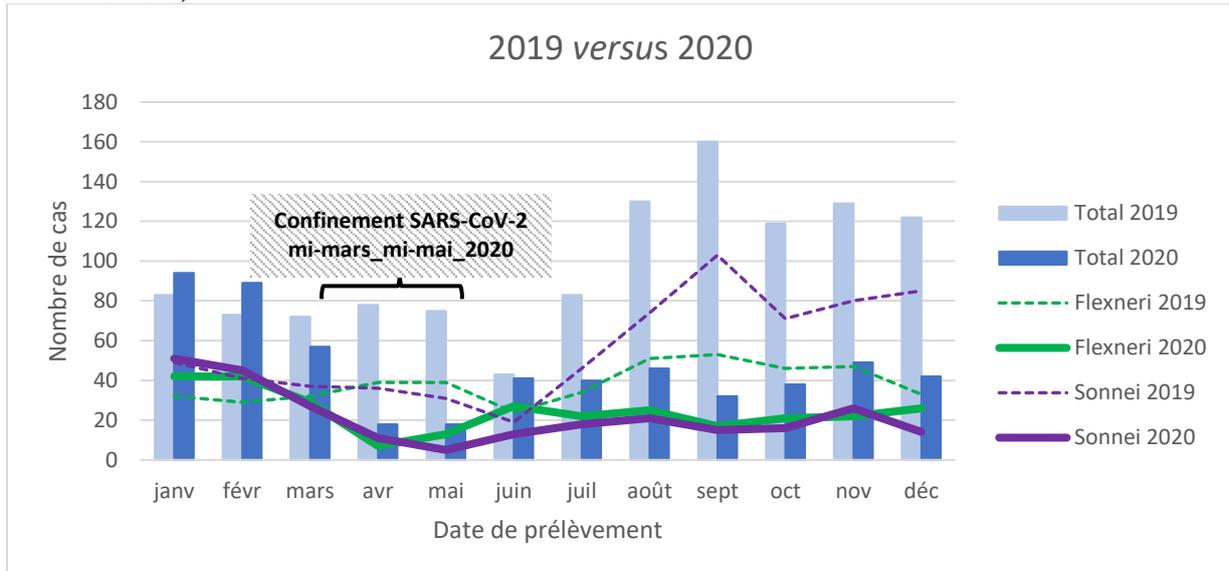
Figure 13. Cartes du nombre de cas et de l'incidence des infections à *Shigella* spp ou EIEC par département (souches et « fiches information », France métropolitaine et Outre-mer, 2020)



(Cartes réalisées par Santé publique France à partir des données du CNR-ESS, juin 2021, Édith Laurent)

La Figure 14 présente la distribution temporelle, en 2019 et en 2020, des cas de shigellose signalés en France pour les sérogroupes les plus fréquents, *S. sonnei* et *S. flexneri*. A partir d'avril 2020 nous observons un net recul de la circulation de la totalité des *Shigella* spp par rapport à 2019. Ce phénomène correspond au premier confinement strict mis en place dans le cadre de la pandémie à SARS-CoV-2 (mi-mars à mi-mai 2020 : fermeture des écoles, mise en place du télétravail, interdiction de circulation à plus de 1 km du domicile, etc...). Une reprise très légère du nombre de cas de shigellose a été observée sur le reste de l'année 2020 (<50 cas enregistrés par mois).

Figure 14. Distribution temporelle des cas de shigellose (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2019 et 2020)



3.2.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

3.2.2.1 Origine des prélèvements

La répartition en fonction du site de prélèvement, de la totalité des 604 isollements de *Shigella* spp. enregistrés au CNR-ESS en 2020 (souches reçues + «fiches information», France métropolitaine et d'Outre-mer), est présentée dans le **Tableau 36**. La très grande majorité de ces prélèvements (597/604, 99 %) était d'origine intestinale. Les bactériémies ainsi que les infections urinaires à *Shigella* spp. restent exceptionnelles. Les 2 souches de EIEC ont été isolées de prélèvement de selles.

Tableau 36 : Répartition des sites de prélèvement des *Shigella* spp. (souches et « fiches information », France métropolitaine et Outre-mer, 2020)

	Total
Selles/ Écouvillon rectal	597
Urines	1
Sang	3
Biopsie anale/intestinale	3
Total	604

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

3.2.2.2.1 Répartition par sérogroupes et par sérotypes

La répartition des différents sérogroupes et sérotypes des 445 souches reçues et 40 « fiches information » de *Shigella*/EIEC enregistrées en France métropolitaine en 2020 est présentée dans le Tableau 37.

Tableau 37 : Distribution annuelle des différents sérotypes de *Shigella* (France métropolitaine, 2016-2020)

Sérotype	Année	2016	2017	2018	2019	2020
<i>Shigella boydii</i>		37	34	42 [50]	20 [20]	4 [6]
1		3	1	1	3	–
2		9	14	20	4	2
4		5	1	5	4	–
5		–	–	1	1	–
8		–	–	–	1	1
9		1	–	–	1	–
10		2	2	3	1	1
11		5	10	3	–	–
12		1	–	–	–	–
13		3	–	1	–	–
14		1	3	1	1	–
18		–	–	1	3	–
19		1	1	3	1	–
20		6	2	3	–	–
<i>Shigella dysenteriae</i>		14	15	14 [15]	14 [15]	3 [3]
2		2	5	2	5	1
3		6	1	4	2	–
4		–	1	–	–	–
5		–	1	–	–	–
6		1	–	–	–	–
9		1	1	–	–	–
12		1	2	1	3	–
sérotype provisoire 97-10607 (96-204)		3	2	4	4	1
sérotype provisoire Sh111		–	2	–	–	–
sérotype provisoire 93-119		–	–	–	–	1
NST (ST148)		NR	NR	3	–	–
<i>Shigella flexneri</i>		276	267	328 [354]	354 [373]	212 [215]
1		–	1	1	–	–
1a		2	2	3	3	1
1b		43	39	69	63	<u>62</u>
2a		<u>136</u>	<u>109</u>	<u>108</u>	<u>112</u>	<u>73</u>
2b		11	5	10	10	7
3a		23	28	43	69	41
3b		8	2	3	3	8
4		9	10	–	–	–
4a		–	–	4	1	–
4av		NR	NR	8	12	2
4c		3	7	3	–	–
6 Boyd 88		18	27	34	42	7
6 Hertfordshire		3	1	4	2	1
6 Manchester		–	–	1	2	–
X		3	2	1	–	–
Xv		NR	NR	1	6	1
Y		1	3	4	4	1
Yv		NR	NR	4	2	2
sérotype provisoire 1c (7a et 7b)		16	29	27	22	5
NST (ST245)		–	–	–	1	1
<i>Shigella sonnei</i>		411	530	635 [842]	624 [763]	226 [260]
a		12	13	34	28	6
e		2	5	4	1	1
f		–	–	–	1	–
g		<u>255</u>	<u>346</u>	<u>397</u>	<u>410</u>	<u>180</u>
g (mannitol-)		<u>90</u>	<u>79</u>	<u>127</u>	<u>101</u>	<u>6</u>
g (mannitol- et ONPG-)		1	–	–	–	–
g (ONPG-)		50	<u>85</u>	72	83	32
g (ODC-)		–	2	–	–	1
NST (ST152)		NR	NR	1	–	–
<i>Shigella spp.</i>		1	–	– [5]	– [3]	– [1]
Total <i>Shigella</i>		739	846	1 019 [1 266]	1 012 [1 174]	445 [485]
<i>E. coli</i> entéroinvasif (EIEC)		NR	1	4 [4]	5 [5]	- [-]
Total <i>Shigella</i>/EIEC		739	847	1 023 [1 270]	1 017 [1 179]	445 [485]

NR : non recherché. NST : non sérotypable.

Pour 2018, 2019 et 2020 les chiffres entre crochets [] correspondent au total du nombre de souches + «fiches information».

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

De façon habituelle, *S. sonnei* (226/485, 47 %) et *S. flexneri* (212/485, 44 %) ont été les sérogroupes les plus fréquemment isolés en métropole en 2020. *S. boydii* (6/485, 1 %) et *S. dysenteriae* (3/485, <1 %) sont restés très faiblement représentés.

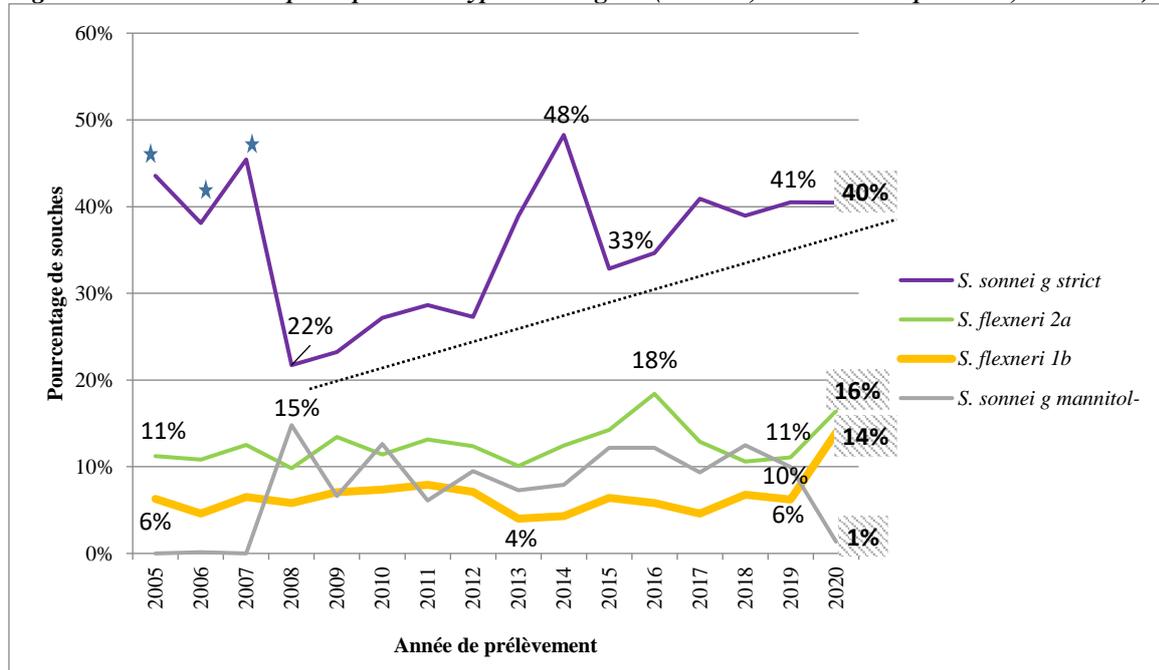
En 2020, nous avons observé des différences notables dans la répartition des sérotypes de *Shigella* spp. par rapport aux années antérieures, dont un pic significatif de *S. flexneri* 1b (Figure 12).

S. sonnei biotype g strict (mannitol+, ONPG+, ODC+) est le type majoritaire en France métropolitaine depuis plus de 10 ans. Entre 2008 (22 %) et 2017 (41 %), la tendance était à une augmentation annuelle constante du pourcentage de ces souches. Depuis 2017, ce pourcentage est resté stable (41 % en 2017, 39 % en 2018 et 41 % en 2019), ce qui s’est confirmé en 2020 (180/445, 40 %).

S. flexneri 2a (73/445, 16 %) et *S. flexneri* 1b (62/445, 14 %) étaient les 2^{ème} et 3^{ème} sérotypes les plus représentés en 2020. Contrairement à *S. sonnei* g, les proportions de ces deux sérotypes étaient constantes depuis 2008. En 2020, nous avons observé une augmentation de ces deux sérotypes avec un pourcentage qui a plus que doublé pour les *S. flexneri* 1b (14% en 2020 vs 6% en 2019). Ce phénomène s’explique par la circulation de deux nouveaux clones épidémiques décrits ci-après dans le paragraphe « 4. Alerte ».

Enfin, nous avons noté une chute brutale du variant *S. sonnei* g (mannitol-) (6/445, 1 %) en 2020. En 2019, il était le 3^{ème} type de *Shigella* détecté (10 %). Il était caractérisé par une importante association avec un retour de voyage au Maroc (60 % des isolements) mais il circulait également sur le territoire métropolitain (27 %).

Figure 15. Évolution des principaux sérotypes de *Shigella* (souches, France métropolitaine, 2005-2020)

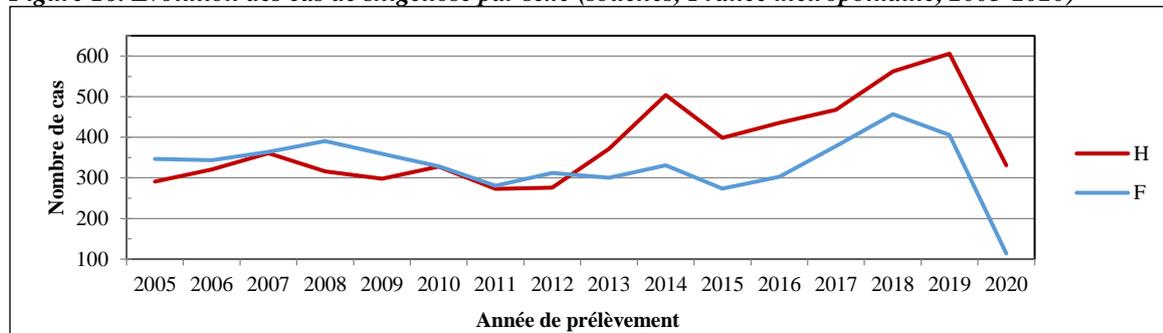


★ : les caractères mannitol-, ONPG- et ODC- n'étaient pas saisis dans les bases de données 2005, 2006 et 2007. Les proportions réelles du biotype g strict (mannitol+, ONPG+ et ODC+) et de ses variants déficients sont donc biaisées pour ces années.

3.2.2.2.2 Répartition par sexe

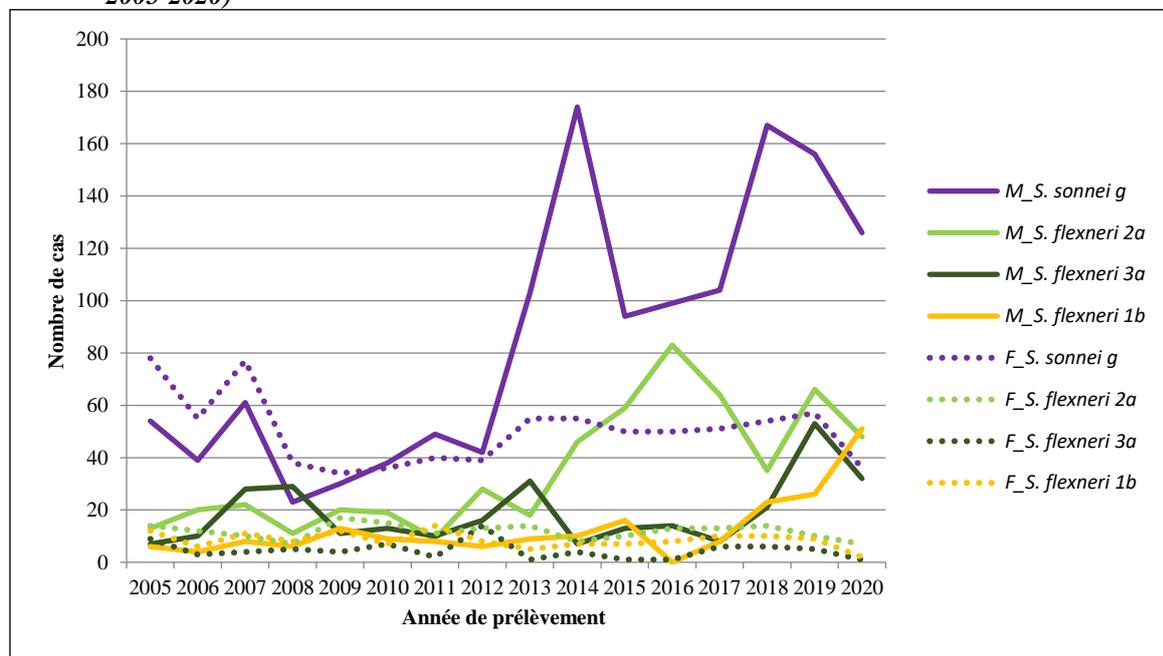
Depuis 2013, le nombre de cas masculins de shigellose est systématiquement supérieur à celui des femmes. Malgré la chute importante du nombre de cas de shigellose enregistrés en 2020, cette tendance globale se confirme et s'accroît avec un **sex-ratio_{H/F_2020} = 2,9**. Ce dernier a doublé par rapport à 2019 (sex-ratio_{H/F_2019} = 1,5) (Figure 16).

Figure 16. Évolution des cas de shigellose par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2020)



Ce déséquilibre du sex-ratio est significatif parmi les souches de *S. sonnei* g et de *S. flexneri* 2a depuis 2013. En 2019, nous l'avons également observé pour la première fois parmi les souches de *S. flexneri* 3a puis en 2020, c'est au tour des *S. flexneri* 1b. Dans la Figure 17 nous présentons l'évolution de ces quatre sérotypes parmi les hommes et les femmes âgés de 16-60 ans et sans notion de voyage. Dans cette population le nombre de cas féminins reste constant tandis qu'il ne cesse d'augmenter chez les hommes.

Figure 17. Patients âgés de 16-60 ans diagnostiqués avec *S. sonnei* g, *S. flexneri* 2a, *S. flexneri* 3a ou *S. flexneri* 1b sans notion de voyage hors de France, par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2020)



M : cas masculins ; F : cas féminins.

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

3.2.2.2.3 Répartition par âge

La **Figure 18** ainsi que le **Tableau 38** montrent le détail de la répartition des cas de shigellose par classe d'âge en France métropolitaine en 2020. Comme les années précédentes, nous avons observé deux **pics d'incidence** principaux chez les **0–9 ans** et chez les **20–49 ans**. L'incidence la plus basse était retrouvée de façon habituelle dans la population des 60 ans et plus.

Figure 18. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2019)

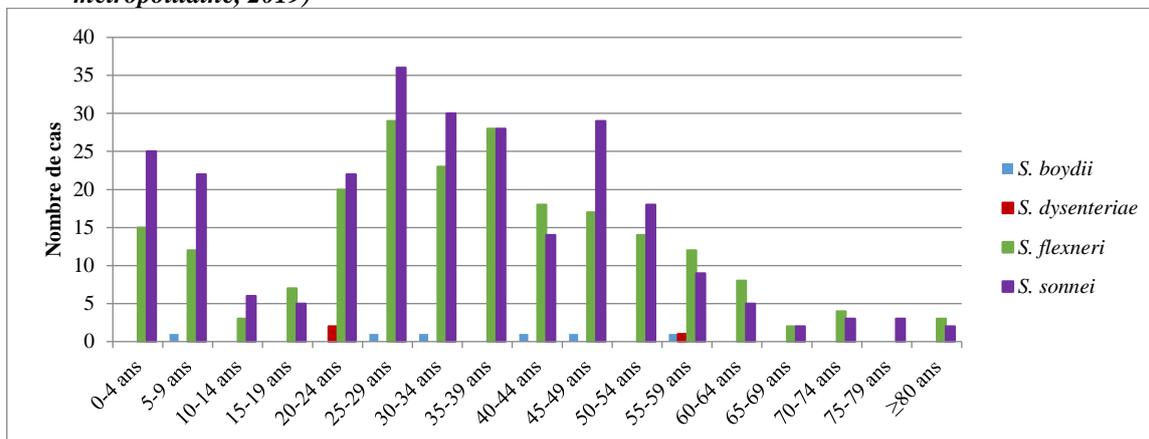


Tableau 38 : Incidence des cas de shigellose par classe d'âge (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2020)

	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>Shigella</i> spp.	Total	<i>Incidence (pour 100 000 hab.)</i>
0-4 ans	0	0	15	25	0	40	1,14
5-9 ans	1	0	12	22	0	35	0,90
10-14 ans	0	0	3	6	0	9	0,22
15-19 ans	0	0	7	5	0	12	0,30
20-24 ans	0	2	20	22	0	44	1,21
25-29 ans	1	0	29	36	0	66	1,84
30-34 ans	1	0	23	30	0	54	1,37
35-39 ans	0	0	28	28	0	56	1,36
40-44 ans	1	0	18	14	0	33	0,84
45-49 ans	1	0	17	29	0	47	1,08
50-54 ans	0	0	14	18	0	32	0,75
55-59 ans	1	1	12	9	0	23	0,55
60-64 ans	0	0	8	5	0	13	0,33
65-69 ans	0	0	2	2	0	4	0,11
70-74 ans	0	0	4	3	0	7	0,21
75-79 ans	0	0	0	3	1	4	0,18
≥80 ans	0	0	3	2	0	5	0,12
Age inconnu	0	0	0	1	0	1	-
Total	6	3	215	260	1	485	0,75

Données sur la population générale de France métropolitaine publiées par l'INSEE en janvier 2021.

3.2.2.2.4 Notion de voyage

Le **Tableau 39** présente les notions de voyage associées aux 485 cas de *shigellose* enregistrés en France métropolitaine en 2020. **En 2020**, le nombre de souches associées à un **voyage à l'étranger était inhabituellement faible** (15 % en 2020, vs 31 % en 2019 et 36 % en 2018). Le nombre de souches avec déclaration d'**acquisition autochtone** était par contre en **légère augmentation** (22 % en 2020, 18 % en 2019 et 15 % en 2018).

Tableau 39 : Notion de voyage associée aux cas de shigellose (souches et « fiches information », France métropolitaine, 2020)

Sérogroupe/Sérotype	Nbre de cas	Notion de voyage*	Aucun voyage
<i>Shigella boydii</i>	4 [6]	0	0
2	2	-	-
8	1	-	-
10	1	-	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	3 [3]	1	0
2	1	-	-
sérotype provisoire 93-119	1	-	-
sérotype prov. 97-10607 (96-204)	1	1 Sierra Leone	-
<i>Shigella flexneri</i>	212 [215]	34 [35] (16 %)	45 [45] (21 %)
1a	1	-	-
1b	62	1 Cap-Vert ; 1 Congo ; 1 France ; 1 Sénégal ; 1 Autre	20
2a	73	1 Bangladesh ; 1 Cap-Vert ; 1 Colombie ; 2 Comores ; 1 Congo ; 1 Côte d'Ivoire ; 1 Espagne ; 1 Gabon ; 1 Italie ; 1 Madagascar ; 1 Pakistan ; 1 Turquie	7
2b	7	1 Cap-Vert ; 1 Côte d'Ivoire ; 1 Madagascar ; 1 Soudan	-
3a	41	1 Colombie ; 1 Espagne ; 1 Italie ; 1 Sénégal	12
3b	8	-	4
4av	2	-	1
6 Boyd 88	7	1 Mali ; 1 Tchad	-
6 Hertfordshire	1	1 Afrique	-
Xv	1	-	-
Y	1	-	-
Yv	2	1 Cameroun ; 1 Madagascar	-
sérotype provisoire 1c (7a et 7b)	5	1 Gabon	1
NST (ST245)	1	-	-
« Fiches information »*	3	1 Maroc	-
<i>Shigella sonnei</i>	226 [260]	32 [37] (14 %)	46 [61] (23 %)
a	6	1 Nouvelle-Calédonie	1
e	1	-	1
g	180	1 Argentine ; 2 Bénin ; 1 Congo ; 2 Egypte ; 1 Espagne ; 1 Indonésie ; 1 Madagascar ; 2 Mexique ; 1 République Centrafricaine ; 1 La Réunion ; 1 Togo ; 2 Tunisie ; 1 Viet Nam ; 1 autre	38
g (mannitol-)	6	1 Madagascar ; 1 Maroc ; 1 Maurice	-
g (ONPG-)	32	2 Cambodge ; 1 Cameroun ; 1 Cuba ; 1 Egypte ; 1 Guinée ; 1 Inde ; 1 Niger ; 1 Sénégal ; 1 Tanzanie	6
G (ODC-)	1	-	-
« Fiches information »*	34	1 Brésil ; 2 Madagascar ; 1 République Dominicaine ; 1 Sri Lanka	15
<i>Shigella spp.</i>	0 [1]	-	-
TOTAL	445 [485]	66 [72] (15 %)	90 [105] (22 %)

Les chiffres entre crochets [] correspondent au total du nombre de souches + «fiches information».

* Les données de voyage extraites des « fiches information » transmises sans souches sont indiquées pour le sérogroupe (les sérotypes étant rarement renseignés par les laboratoires expéditeurs).

3.2.2.3 Analyse de la distribution en France d'outre-mer et analyse de tendances

3.2.2.3.1 Répartition par sérogroupes et par sérotypes

La répartition des différents sérogroupes et sérotypes des 121 *Shigella*/EIEC enregistrés en 2020 en Outre-mer est présentée dans le Tableau 40.

Tableau 40 : Distribution des différents sérogroupes et sérotypes de *Shigella* spp. et EIEC (souches et « fiches information », Outre-mer, 2020)

Sérotype	Guyane française (973)	Mayotte (976)	La Réunion (974)	Total
<i>Shigella dysenteriae</i>	-	-	1	1
sérotype provisoire 97-10607 (96-204)	-	-	1	1
<i>Shigella flexneri</i>	44	31	7	82 [82]
<u>1</u>	-	-	1	<u>1</u>
<u>1b</u>	<u>11</u>	<u>9</u>	-	<u>20</u>
<u>2a</u>	<u>25</u>	6	2	<u>33</u>
2b	-	5	1	6
3a	7	<u>7</u>	2	16
4av	-	3	-	3
6 Boyd 88	-	1	-	1
Y	1	-	-	1
sérotype provisoire 1c (7a et 7b)	-	-	1	1
<i>Shigella sonnei</i>	15	11	10	36 [36]
a	-	<u>9</u>	-	9
g	<u>15</u>	2	1	<u>18</u>
g (mannitol-)	-	-	<u>8</u>	8
g (ONPG-)	-	-	1	1
Total <i>Shigella</i>	59	42	18	119 [119]
EIEC	1	1	-	2 [2]
O124:H30(ST6)	1	-	-	1
O96:H19(ST99)	-	1	-	1
Total <i>Shigella</i>/EIEC	60	43	18	121 [121]

Les chiffres entre crochets [] correspondent au total du nombre de souches + «fiches information».

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

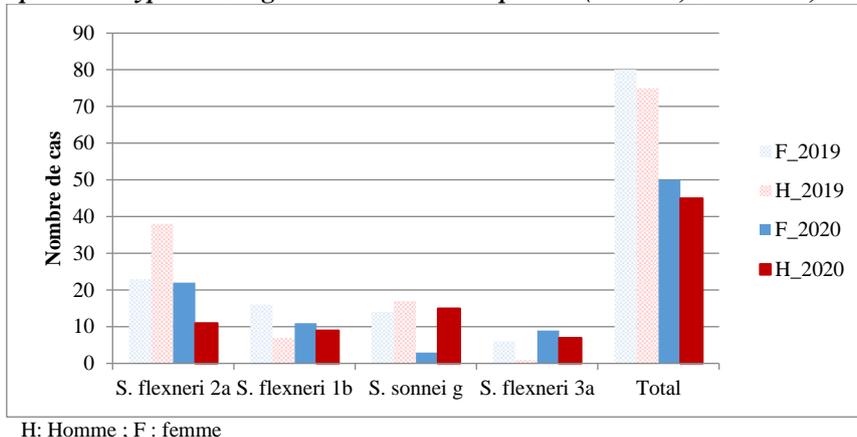
Comme chaque année, *S. flexneri* est le sérotype prédominant parmi les souches en provenance de Guyane française et de Mayotte, devant *S. sonnei*. Il est important de noter que cette répartition est **inversement proportionnelle** à celle observée en **France métropolitaine ainsi qu'à La Réunion**. Nous avons également observé des **disparités entre départements concernant les principaux sérotypes** détectés: *S. flexneri* 2a était suivi par *S. sonnei* biotype g et *S. flexneri* 1b en Guyane française; *S. sonnei* biotype a, *S. flexneri* 1b et *S. flexneri* 3a à Mayotte ; *S. sonnei* biotype g (mannitol-) était le sérotype majoritaire à La Réunion.

En 2020, une souche de *S. dysenteriae* d'un sérotype encore provisoire (97-10607/96-204) a été également détectée, ainsi que deux EIEC. Aucune *S. boydii* n'a été transmise.

3.2.2.3.2 Répartition par sexe

Contrairement à ce qui a été observé en France métropolitaine, les cas de shigellose en Outre-mer ont montré une légère prédominance chez les femmes ($\text{sex-ratio}_{H/F,2020} = 0,9$). Parmi les cas d'infection à *S. flexneri* 2a, 1b, 3a et *S. sonnei* g, seuls les cas d'infection à *S. sonnei* g présentaient un déséquilibre H>F comme en métropole (**Figure 19**).

Figure 19. Principaux sérotypes de Shigella selon le sexe du patient (souches, Outre-mer, 2020)



3.2.2.3.3 Répartition par âge

La **Figure 20** ainsi que le **Tableau 41** montrent le détail de la répartition des cas de shigellose par classe d'âge en Outre-mer (Guyane française, Mayotte et La Réunion) en 2020. Comme chaque année une large majorité des cas est observée chez les **0-4 ans**, suivie de peu en 2020 par les 20-39 ans. L'incidence la plus basse était retrouvée dans la population des 75 ans et plus.

Figure 20. Répartition des cas de shigellose par âge (souches et « fiches information », Outre-mer, 2020)

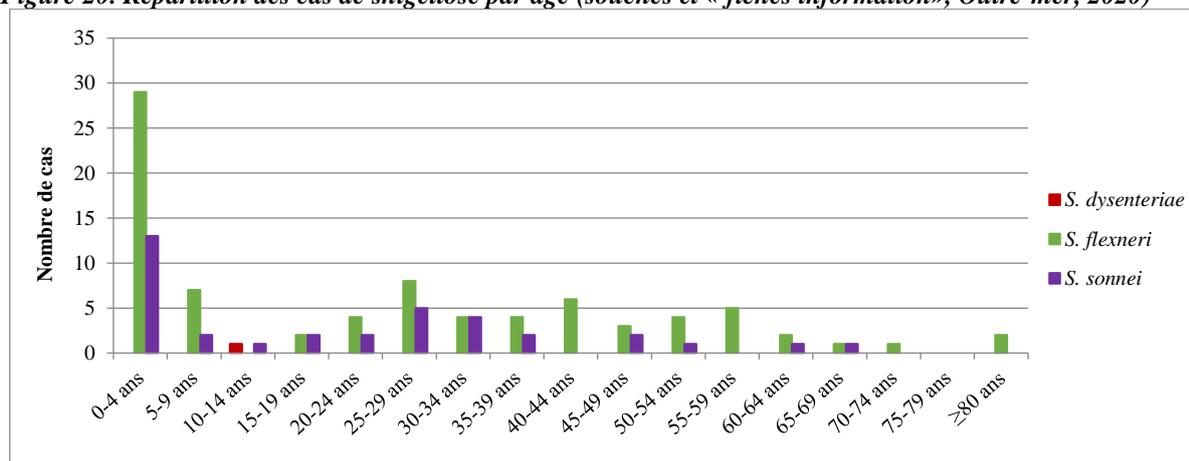


Tableau 41 : Incidence des cas de shigellose (souches et « fiches information », Outre-mer, 2020)

	<i>Incidence (pour 100 000 hab.)</i>
0-4 ans	10,8
5-9 ans	
10-14 ans	
15-19 ans	
20-24 ans	9,2
25-29 ans	
30-34 ans	
35-39 ans	
40-44 ans	6,1
45-49 ans	
50-54 ans	
55-59 ans	
60-64 ans	4,1
65-69 ans	
70-74 ans	
75-79 ans	3,8
≥80 ans	
Total	8,4

Source : Insee - Estimations de population au 1^{er} janvier 2021, par dépt., sexe et grande classe d'âge
(Données pour Guyane, La Réunion et Mayotte)

3.2.2.3.4 Notion de voyage

Parmi les 119 *Shigella* spp. transmises par les laboratoires d'Outre-mer :

- dix souches en provenance de La Réunion étaient associées à une notion de voyage à **Madagascar** (six *S. sonnei* g mannitol- ; deux *S. flexneri* 2a ; une *S. dysenteriae* sérotype provisoire 97-10607 et une *S. flexneri* sérotype provisoire 1c).
- une souche de *S. flexneri* 3a en provenance de La Réunion était associée à une croisière dans l'océan indien (Ile Maurice et Seychelles).

Aucun autre renseignement de voyage à l'étranger n'était indiqué pour les 108 souches restantes (91%).

3.2.2.4 Distribution des séquences types (ST)

Les deux EIEC isolés en Outre-mer en 2020 appartenaient aux ST6 et ST99. Les principaux ST des 604 souches de *Shigella* spp analysées au CNR-ESS en 2020 sont présentés dans la **Figure 21** et le **Tableau 42**.

Figure 21. Principaux ST associés aux *Shigella* spp. (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2020)

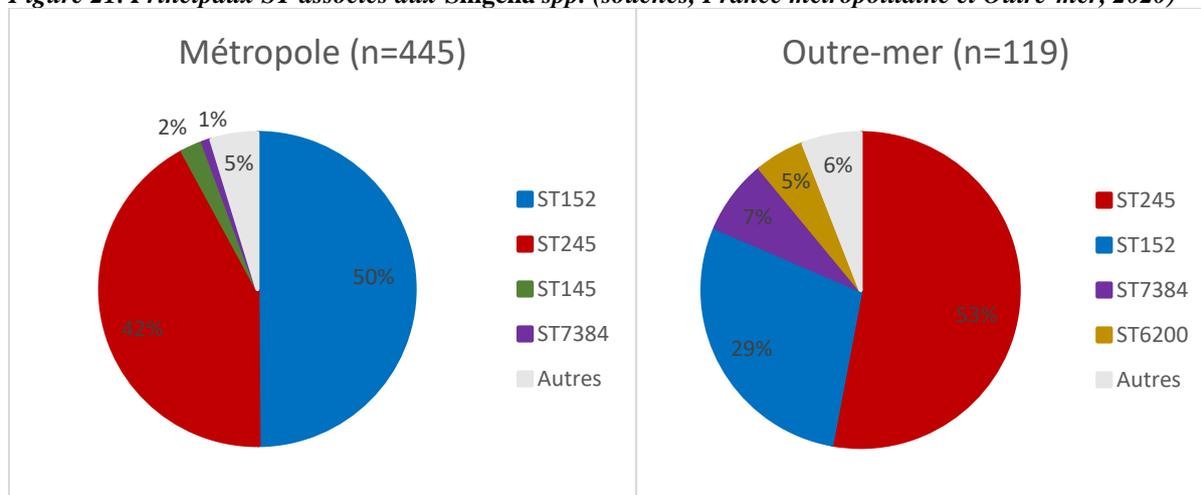


Tableau 42 : ST et sérotypes associés des *Shigella* spp. (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2020)

	Métropole	Outre-mer
ST145	10	1
<i>S. boydii</i> 2	2	0
<i>S. flexneri</i> 6 Boyd 88	7	1
<i>S. flexneri</i> 6 Hertfordshire	1	0
ST152	223	34
<i>S. sonnei</i> a	5	9
<i>S. sonnei</i> g	179	16
<i>S. sonnei</i> g (mannitol-)	6	8
<i>S. sonnei</i> g (ODC-)	1	0
<i>S. sonnei</i> g (ONPG-)	32	1
ST245	188	63
<i>S. flexneri</i> 1	0	1
<i>S. flexneri</i> 1a	1	0
<i>S. flexneri</i> 1b	58	11
<i>S. flexneri</i> 2a	68	27
<i>S. flexneri</i> 2b	7	6
<i>S. flexneri</i> 3a	37	16
<i>S. flexneri</i> 3b	8	0
<i>S. flexneri</i> 4av	1	0
<i>S. flexneri</i> Xv	1	0
<i>S. flexneri</i> Y	1	1
<i>S. flexneri</i> sérotype provisoire 1c (7a et 7b)	5	1
<i>Shigella</i> non sérotypable	1	0
ST630	1	3
<i>S. flexneri</i> 4av	0	3
<i>S. flexneri</i> Yv	1	0
ST6200	1	6
<i>S. flexneri</i> 2a	1	6
ST7384	4	19
<i>S. flexneri</i> 1b	4	9

Les valeurs de ce tableau correspondent au nombre de souches.

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

3.2.3 Surveillance de la résistance des *Shigella* aux antibiotiques

3.2.3.1 Surveillance globale

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été effectuée sur toutes les souches de *Shigella* spp. transmises au CNR-ESS avec une date d'isolement en 2020 (n = 564).

Nous avons réalisé un antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon le référentiel CASFM/EUCAST 2018. Les antibiotiques testés (BioRad, Marnes-la-Coquette, France) étaient ceux détaillés dans le **Tableau 43**.

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

Tableau 43 : Antibiotiques utilisés pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de *Shigella* spp.

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

En France métropolitaine, seulement 2 % (7/445) des souches étaient sensibles à tous les antibiotiques testés (phénotype sauvage). Le **Tableau 44** donne le pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches de France métropolitaine en 2020.

Tableau 44 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de *Shigella* (souches, France métropolitaine, 2020)

	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	Moyenne
Souches testées	4	3	212	226	Total=445
Sensibles	0%	33%	3%	0%	2%
AMP	50%	67%	93%	57%	74%
CAZ/CTX/CRO	0%	0%	3%	10%	7%
STR	100%	67%	95%	96%	96%
AKN	0%	0%	0%	0%	0%
GEN	0%	0%	1%	0%	1%
TMP	75%	67%	69%	99%	84%
SMX	100%	67%	43%	83%	64%
CHL	0%	33%	83%	2%	41%
TET	75%	67%	93%	72%	82%
CIP	0%	0%	16%	50%	33%
AZM	0%	0%	35%	56%	45%

En gras, les valeurs ≥ 50 %.

En Outre-mer, 6 % (7/119) des souches étaient sensibles à tous les antibiotiques testés (phénotype sauvage). Il s'agissait exclusivement de *S. sonnei*. Le **Tableau 45** présente le pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches d'Outre-mer en 2020.

Tableau 45 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de *Shigella* (souches, Outre-mer, 2020)

	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	Moyenne
Souches testées	0	1	82	36	Total=119
Sensibles	-	0%	0%	19%	6%
AMP	-	100%	85%	60%	81%
CAZ/CTX/CRO	-	0%	1%	3%	2%*
STR	-	100%	99%	69%	90%
AKN	-	0%	0%	0%	0%
GEN	-	0%	0%	0%	0%
TMP	-	100%	61%	50%	58%
SMX	-	100%	28%	50%	35%
CHL	-	100%	80%	44%	70%
TET	-	100%	87%	64%	80%
CIP	-	0%	0%	3%	1%**
AZM	-	0%	0%	3%	1%**

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

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

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

Le séquençage du génome entier a été réalisé sur la totalité des souches de *Shigella* spp. hors doublons (n = 564). Cette nouvelle technique nous a permis d'identifier la présence des gènes de résistance aux antibiotiques suivants (Tableau 46) :

Tableau 46 : Caractérisation des principaux gènes de résistance aux antibiotiques détectés par WGS (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2020)

Résistance à	<i>Shigella</i> spp (n = 564)
β-LAC*	<i>bla</i> _{OXA-1} (260) <i>bla</i> _{TEM-1B} (157) <i>bla</i> _{TEM-1C} (2) <i>bla</i> _{TEM-1D} (2) <i>bla</i> _{TEM-30} (1)
AMI	<i>strAB</i> (389) <i>aadA1</i> (231) <i>ant(3)-Ia</i> (126) <i>aadA5</i> (121) <i>aph(3)-Ib</i> (13) <i>aac(3)-IIId</i> (3) <i>aac(6')-Iaa</i> (3) <i>aadA2</i> (2)
COL	-
PHEN	<i>catA1</i> (261) <i>cmlA1(1)</i> <i>floR</i> (2)
SUL	<i>sul2</i> (287) <i>sul1</i> (120) <i>sul3</i> (2)
TET	<i>tet(A)</i> (193) <i>tet(B)</i> (276)
TMP	<i>dfrA1</i> (384) <i>dfrA17</i> (119) <i>dfrA14</i> (52) <i>dfrA7</i> (3) <i>dfrA5</i> (7) <i>dfrA12</i> (1)

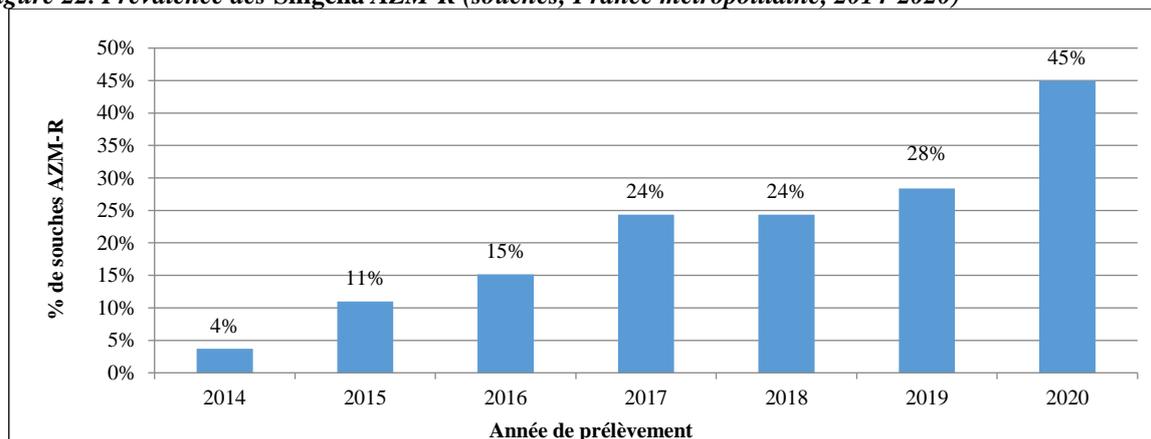
β-LAC, β-lactamines ; AMI, aminosides, COL, colistine ; PHEN, phénicolés, notamment chloramphénicol ; SUL, sulfamides ; TET, tétracycline ; TMP, triméthoprine.

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

3.2.3.2 Résistances émergentes chez *Shigella* spp.

3.2.3.2.1 Résistance à l'azithromycine

La sensibilité à l'azithromycine est testée en routine au CNR depuis avril 2014. Depuis cette date, le nombre de souches résistantes (AZM-R ; CMI > 16 mg/L) augmente chaque année. En 2020, 45 % (200/445) des souches en provenance de **France métropolitaine** présentaient une résistance à l'azithromycine (Figure 22). Les différents sérotypes/biotypes sont décrits dans le Tableau 47.

Figure 22. Prévalence des *Shigella* AZM-R (souches, France métropolitaine, 2014-2020)Tableau 47 : Sérotypes/biotypes des *Shigella* AZM-R (souches, France métropolitaine, 2020)

Sérotypes/Biotypes	n
<i>Shigella sonnei</i>	126
<u>g</u>	<u>123</u>
a	1
g (ODC-)	1
g (ONPG-)	1
<i>Shigella flexneri</i>	74
1b	10
<u>2a</u>	25
<u>3a</u>	32
3b	<u>5</u>
6 Hertfordshire	1
Non sérotypable	1
Total	200

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

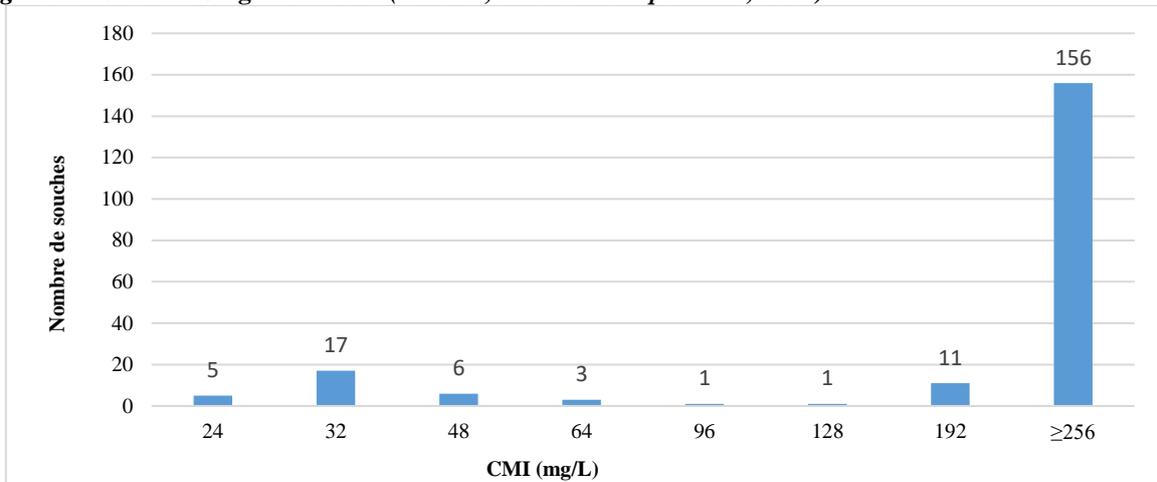
La première souche de *Shigella* AZM-R en provenance d'**Outre-mer** a été détectée en **2018**. Il s'agissait d'une souche de *S. sonnei* g isolée d'un patient de **Guadeloupe**.

En 2019, nous avons détecté une souche AZM-R de *S. flexneri* 1b et une souche AZM-R de *S. flexneri* 2a en provenance de **Guyane française**.

En 2020, nous avons détecté une souche AZM-R de *S. sonnei* biotype g (ONPG-) isolée d'un habitant de **La Réunion** ayant déclaré ne pas avoir voyagé. Elle présentait le profil de multi-résistance suivant AMP CAZ CRO CIP SMX TMP AZM.

Les CMI de l'azithromycine pour les souches de métropole présentait une nette prédominance de hauts niveaux de résistance (≥ 256 mg/L) (Figure 23).

Figure 23. CMI des Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2019)

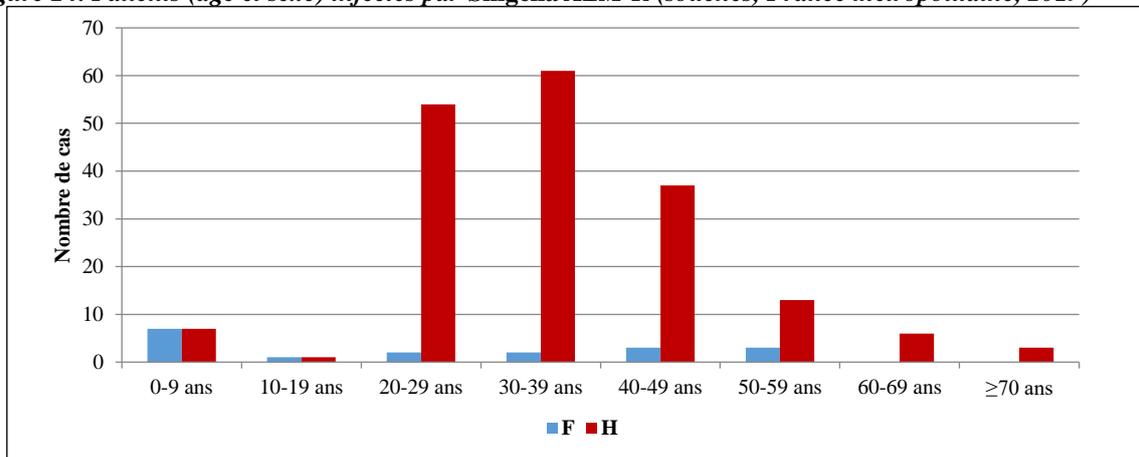


La souche d'Outre-mer présentait une CMI ≥ 256 mg/L et un profil *mph(A)*+, *ermB*+

Le gène *mph(A)* a été détecté chez 99% (198/200) des souches métropolitaines de *Shigella* AZM-R (CMI_{AZM} > 16 mg/L). Aucune souche avec une CMI_{AZM} ≤ 16 mg/L ne contenait le gène *mph(A)*. Chez les deux souches AZM-R *mph(A)*-, l'association des gènes *mef(C)* et *mph(G)* a été détectée pour la première fois en 2020, avec une CMI de 192 mg/L.

Comme chaque année, les souches de *Shigella* AZM-R de 2020 étaient majoritairement isolées chez des hommes de 20-59 ans (165/200, 83 %) (Figure 24).

Figure 24. Patients (âge et sexe) infectés par Shigella AZM-R (souches, France métropolitaine, 2019)



Parmi les 54 cas pour lesquels l'item sur la notion de voyage était renseigné, 85 % (46/54) précisait une absence de voyage hors de France métropolitaine, 7 % (4/54) un voyage en Europe et les 7 % restants (4/54) un voyage en Afrique ou en Asie.

3.2.3.2.2 Résistance aux quinolones

La résistance à la ciprofloxacine (CMI > 0,5 mg/L) parmi les souches de *Shigella* spp. de France métropolitaine augmente de manière inquiétante depuis 2009 (**Figure 25**). En 2020, 33% (146/445) des souches en provenance de **France métropolitaine** présentaient une résistance à la ciprofloxacine. Les différents sérotypes/biotypes sont décrits dans le **Tableau 48**.

Figure 25. Prévalence des *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2005-2020)

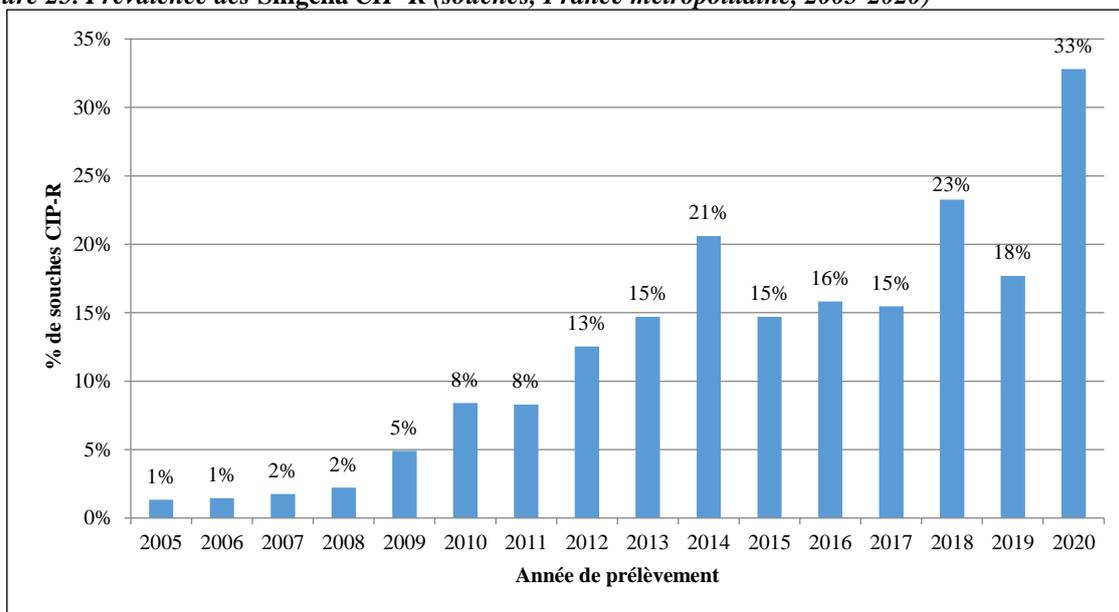


Tableau 48 : Sérotypes/biotypes des *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2020)

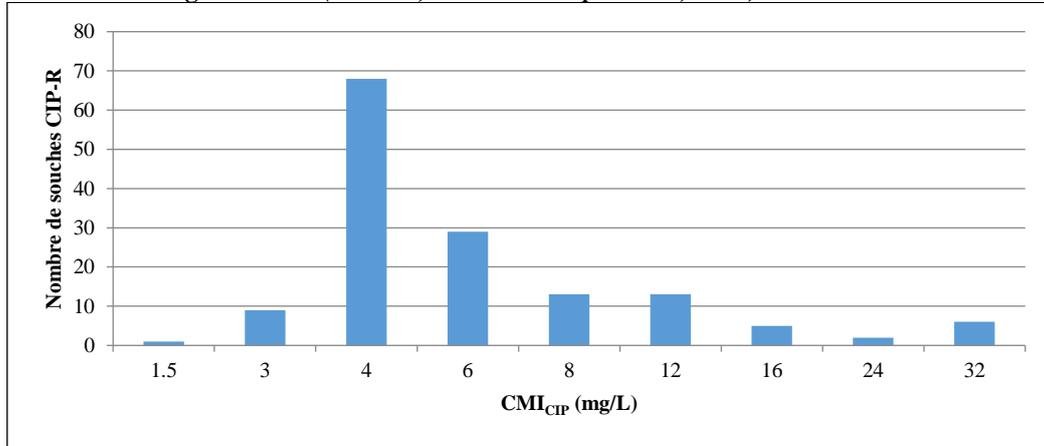
Sérotypes/Biotypes	n
<i>Shigella sonnei</i>	113
<u>g</u>	<u>108</u>
g (ONPG-)	3
g (ODC-)	1
g a	1
<i>Shigella flexneri</i>	33
<u>2a</u>	<u>31</u>
3a	<u>1</u>
y	1
Total	146

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

En 2020, le CNRS-ESS a détecté une souche unique de *Shigella* CIP-R **en provenance d'Outre-mer** : il s'agissait de la même souche que celle décrite dans le paragraphe sur les *Shigella* AZM-R. C'est à dire une souche de *sonnei* g (ONPG-) isolée d'un habitant de **La Réunion** et ayant déclaré ne pas avoir voyagé. Cette souche présentait le phénotype de multi-résistance AMP CAZ CRO CIP SMX TMP AZM.

Les **CMI de la ciprofloxacine** pour les *Shigella* CIP-R étaient comprises entre 1,5 et ≥ 32 mg/L, avec une majorité entre 4 et 6 mg/L (66 %, 97/146) (**Figure 26**).

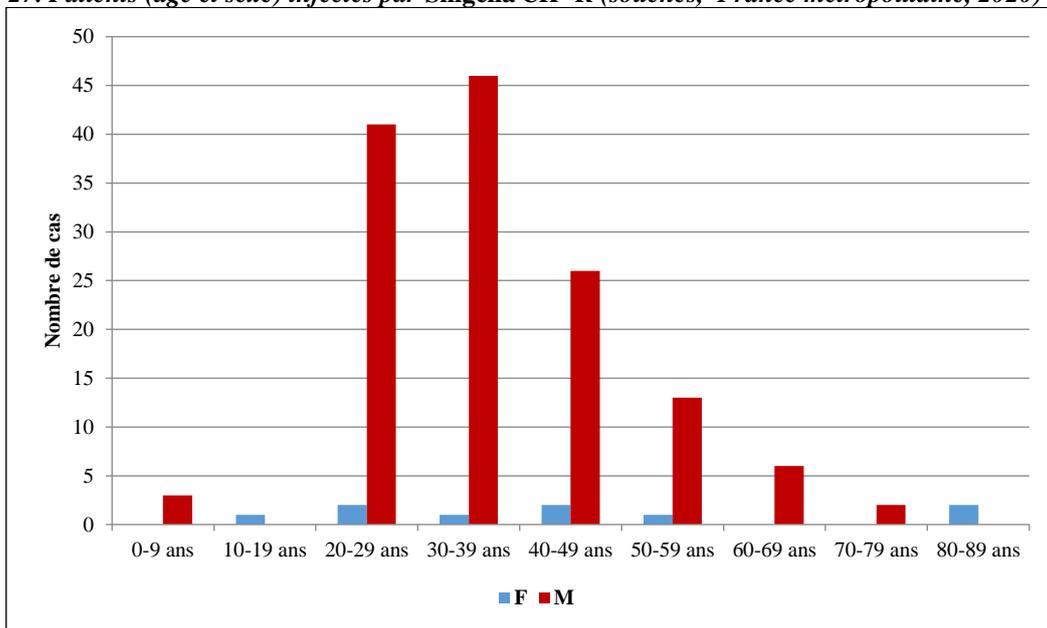
Figure 26. CMI des *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2020)



La notion de voyage était renseignée chez 27 % (39/146) des cas de shigellose CIP-R. Parmi ces derniers, la majorité (26/39, 67 %) signalait l'**absence de séjour à l'étranger**.

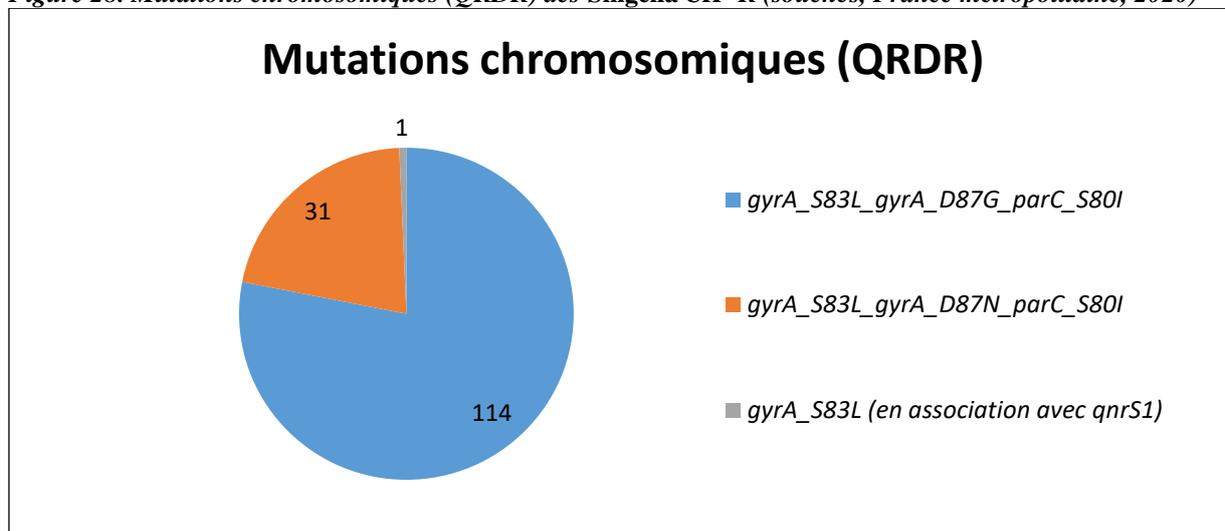
Alors que les souches CIP-R étaient originellement strictement associées à un voyage à l'étranger, ces dernières semblent désormais circuler localement sur le territoire métropolitain, et tout particulièrement parmi les **hommes de 20–59 ans** (126/146, 86 %), comme pour les souches AZM-R (**Figure 27**).

Figure 27. Patients (âge et sexe) infectés par *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2020)



Grâce au WGS, nous avons étudié les **mutations** de la région chromosomique impliquée dans la résistance aux quinolones (**QRDR**). Ces dernières étaient présentes dans la totalité des 146 souches de *Shigella* CIP-R de **métropole** (**Figure 28**).

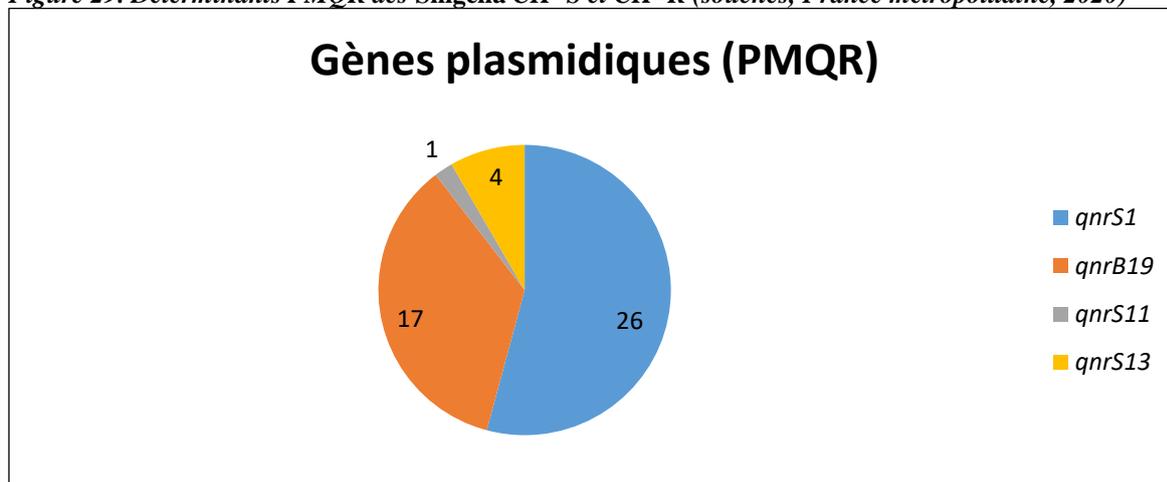
Figure 28. Mutations chromosomiques (QRDR) des *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2020)



La souche de *Shigella sonnei* g (ONPG-) CIP-R en provenance de **La Réunion** présentait une double mutation QRDR de type ***gyrA_S83L_parC_S80I*** associée au gène plasmidique ***qnrS13***.

Nous avons également détecté des gènes de résistance aux quinolones médiés par des plasmides (**PMQR**) chez un total de 48 souches de *Shigella* CIP-S ou CIP-R de **métropole** (**Figure 29**).

Figure 29. Déterminants PMQR des *Shigella* CIP-S et CIP-R (souches, France métropolitaine, 2020)

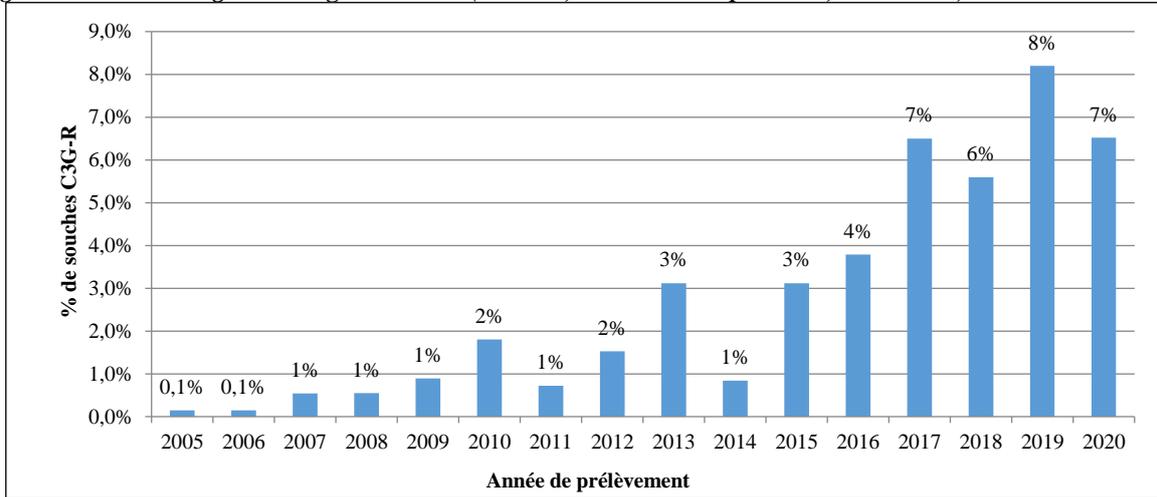


Parmi les souches en provenance d'**Outre-mer** : cinq souches de *S. sonnei* g (mannitol-) en provenance de La Réunion avec notion de voyage à Madagascar étaient porteuses du gène ***qnrB19***. Trois autres souches (*S. flexneri* 4av, *S. dysenteriae* sérotype provisoire 97-10607 et *S. flexneri* sérotype provisoire 1c) étaient porteuses du gène ***qnrS1***. L'une en provenance de Mayotte et deux en provenance de La Réunion avec notion de voyage à Madagascar.

3.2.3.2.3 Résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération

En 2020, 7 % (29/445) des souches de *Shigella* en provenance de métropole présentait une **résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G-R ; CMI > 1 mg/L)**. L'évolution du pourcentage des souches C3G-R en métropole depuis 2005 est présentée dans la **Figure 30**.

Figure 30. Pourcentage des *Shigella* C3G-R (souches, France métropolitaine, 2005-2020)



Parmi les 29 souches de *Shigella* C3G-R de **métropole**, 76 % (22/29) étaient des *S. sonnei*. Les différents sérotypes/biotypes sont décrits dans le Tableau 49.

Tableau 49 : Sérotypes/biotypes des *Shigella* C3G-R (souches, France métropolitaine, 2020)

Sérotypes/Biotypes	n
<i>Shigella sonnei</i>	22
<u>g</u>	<u>21</u>
g (ONPG-)	1
<i>Shigella flexneri</i>	7
1b	2
2a	3
3a	2
Total	29

Le sérotype majoritaire de l'année est souligné.

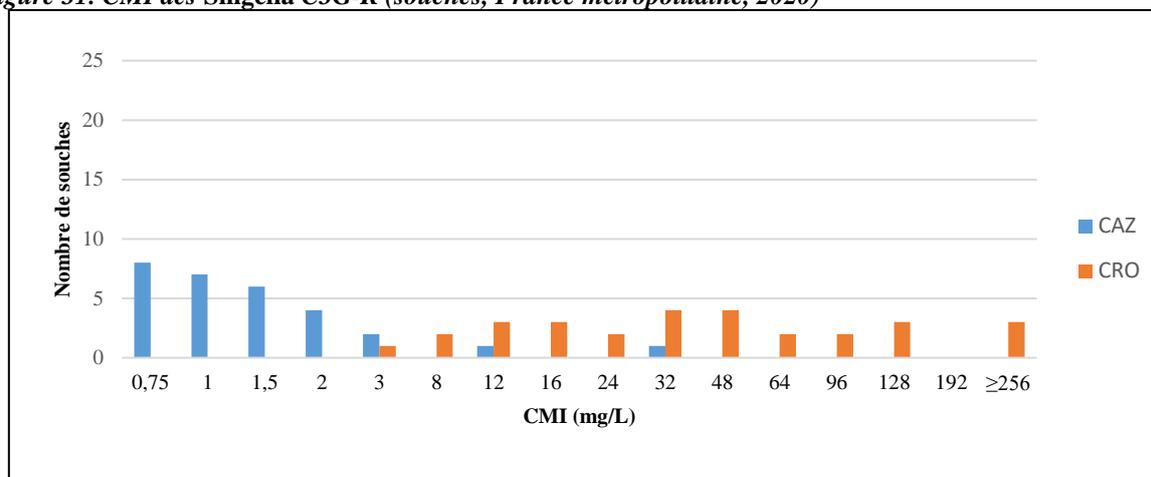
En Outre-mer, deux souches C3G-R ont été enregistrées en **2020** :

- Une *S. flexneri* 4av isolée à **Mayotte**.
- Une *S. sonnei* g (ONPG-) isolée à **La Réunion**.

Pour rappel, les premières souches C3G-R d'Outre-mer transmises au CNR-ESS datent de 2017 et 2018. Il s'agissait de sept *S. flexneri* 4a, 4av ou Y, toutes ST630, productrices de CTX-M-15 et isolées à Mayotte. En 2019, nous avons détecté une souche de *S. flexneri* 1b et une *S. sonnei* g (mannitol-), productrices de CTX-M-15 et respectivement en provenance de Mayotte et de La Réunion.

Les CMI de la ceftazidime (CAZ) et de la ceftriaxone (CRO) pour les souches C3GR de métropole sont présentées dans la Figure 31.

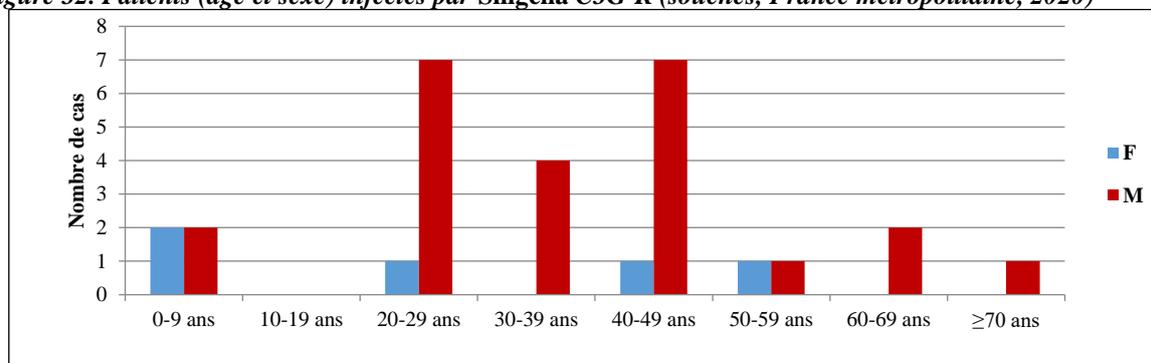
Figure 31. CMI des Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2020)



Les deux souches productrices de CTX-M-15 d’Outre-mer avaient une $CMI_{CAZ} = 1,5-6$ mg/L et une $CMI_{CRO} = 16-192$ mg/L.

Comme les années précédentes, la répartition des âges (Figure 32) parmi les cas métropolitains infectés par des souches C3G-R montrait une majorité de cas âgés de 20 à 49 ans (20/29, 69 %). En 2020, nous observons de manière additionnelle un net déséquilibre du sex-ratio dans cette catégorie d’âge (18 hommes versus 2 femmes).

Figure 32. Patients (âge et sexe) infectés par Shigella C3G-R (souches, France métropolitaine, 2020)

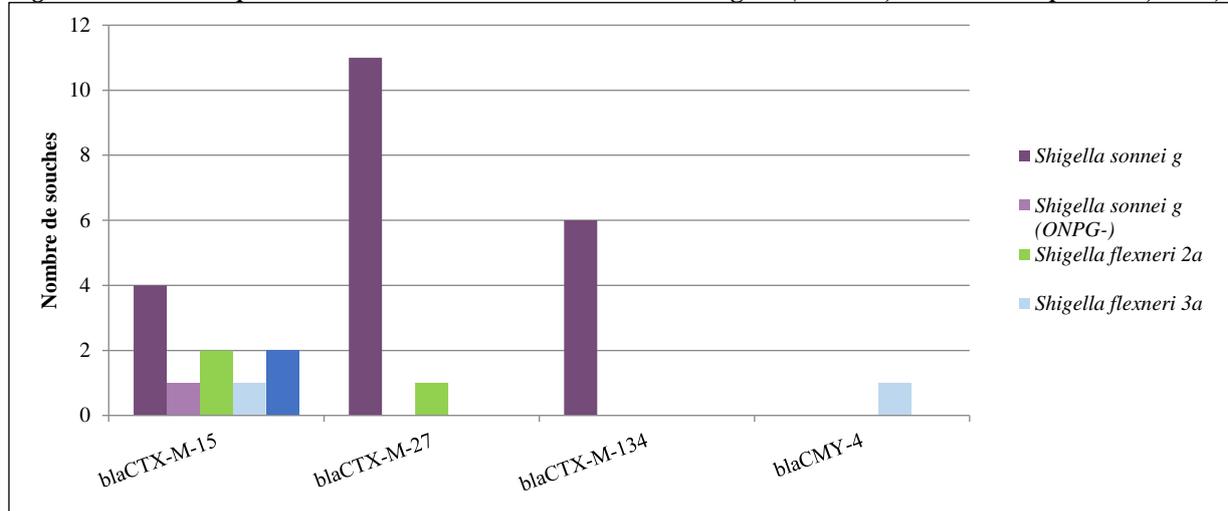


Les deux souches d’Outre-mer ont, quant à elles, été isolées chez deux femmes de 25 et 31 ans.

La notion de voyage était renseignée chez 45 % (13/29) des cas de shigellose C3G-R de métropole. Trente-huit pour cent (5/13) mentionnaient l’absence de voyage en dehors de France métropolitaine et 23% (3/13) un voyage en Egypte. Les cinq cas restants rapportaient un voyage au Congo, à Madagascar, au Sénégal, en Turquie ou enfin un cas était déclaré comme migrant. Aucune notion de voyage n’était mentionnée pour les souches C3G-R d’Outre-mer (Mayotte et La Réunion).

Grâce au WGS, les **gènes de résistance** aux céphalosporines de 3^{ème} génération ont été systématiquement recherchés. Les gènes de BLSE appartenait à la famille des *bla*CTX-M. En 2020, nous avons également détecté une souche productrice de céphalosporinases de type **CMY-4** (voir **Figure 33**).

Figure 33. Gènes responsables de la résistance aux C3G chez Shigella (souches, France métropolitaine, 2020)



En métropole, le gène *bla*CTX-M-15 était le plus fréquemment retrouvé chez les *Shigella* C3G-R. En Outre-mer, les deux souches C3G-R étaient productrices de CTX-M-15.

3.2.4 Interface avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

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

Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens (ECDC) : le CNR-ESS répond aux alertes déposées sur la plateforme EPIS-FWD de l'ECDC. Cette plateforme connecte les épidémiologistes et les microbiologistes de 52 pays : 28 états membres de l'UE, trois pays de l'espace économique européen (EEE) – Islande, Norvège et Liechtenstein – et 21 pays hors UE.

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

3.2.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

- Étude de la distribution des sérotypes de *Shigella* et de l'émergence des résistances aux antibiotiques en France de 2005 à 2019. Cette étude a nécessité un nettoyage des bases de données du CNR-ESS et la création d'une base de données unique. Une étude statistique a été effectuée en partenariat avec l'unité d'épidémiologie des maladies émergentes de l'Institut Pasteur, Paris. La rédaction d'un article est en cours de finalisation.
- Étude des différents clusters génomiques de *Shigella* multi-résistantes aux antibiotiques, circulants en France métropolitaine. Cette étude est en cours de réalisation au sein de l'unité.

3.3 Alerte

En 2020, 10 épidémies nationales ont été détectées par le CNR-ESS et ont été notifiées à Santé publique France :

- Poursuite de l'épidémie à *S. sonnei* g **HC5_2712** de profil de résistance **AMP STR PEF CIP TET SMX TMP AZM**. **Quatre-vingt-treize nouveaux cas** ont été détectés tout au long de l'année 2020 en métropole, dont 96% chez des hommes (89/93) âgés de 20 à 73 ans. L'item sur la notion de voyage a été renseigné chez 17 d'entre eux : 88 % (15/17) indiquaient l'absence de voyage à l'étranger. Ce clone émerge en France métropolitaine depuis juillet 2018 (voir rapport 2018, alerte UI-486 du Royaume-Uni, 18/06/2018). Il semble poursuivre sa circulation en 2020 dans la communauté HSH métropolitaine. Aucune souche de ce clone ne nous a été transmise d'Outre-mer en 2020.
- Trois nouveaux clones, détectés en 2020, semblent avoir également émergé au sein de la communauté HSH métropolitaine :
 - *S. flexneri* **1b, HC5_81361** de profil de résistance **AMP STR TET CHL SMX TMP +/- AZM**. Quarante-et-un cas ont été détectés tout au long de l'année 2020. Cent pour cent de ces cas étaient des hommes, âgés de 18 à 62 ans. L'item sur la notion de voyage a été renseigné pour 15 d'entre eux et indiquait systématiquement l'absence de voyage à l'étranger. Aucune souche de ce clone ne nous a été transmise d'Outre-mer en 2020.
 - *S. flexneri* **3a, HC5_47221** de profil de résistance **AMP STR TET CHL AZM**. Vingt-six cas ont été détectés tout au long de l'année 2020. Quatre-vingt-douze pour cent (24/26) de ces cas étaient des hommes âgés de 21 à 72 ans. Parmi ces derniers l'item sur la notion de voyage a été renseigné chez 12 cas : 83 % (10/12) indiquaient l'absence de voyage à l'étranger. Aucune souche de ce clone ne nous a été transmise d'Outre-mer en 2020.
 - *S. flexneri* **2a, HC5_127362** de profil de résistance **AMP STR CIP TET CHL TMP**. Neuf cas ont été détectés tout au long de l'année 2020. Quatre-vingt-neuf pour cent (8/9) de ces cas étaient des hommes âgés de 25 à 53 ans. Parmi ces derniers l'item sur la notion de voyage a été renseigné chez un seul cas qui indiquait un voyage en Italie. Aucune souche de ce clone ne nous a été transmise d'Outre-mer en 2020.
- Deux épisodes de cas groupés à *S. sonnei* g dans des établissements confessionnels pour la petite enfance en Ile-de-France ont été détectés en début d'année 2020 (de janvier à mi-mars), avant le premier confinement lié à la pandémie de SARS-CoV-2 :
 - **HC5_125344**
 - treize cas dans une école maternelle/primaire de Sarcelles (dépt. 95) dans le cadre d'une épidémie débutée en décembre 2019 (voir rapport 2019).
 - **HC5_125859**
 - treize cas dans des crèches ou écoles maternelles du 19^{ème} arrondissement de Paris en février 2020.

- Un cas groupé à *S. sonnei* g **HC5_74676** dans une école maternelle/primaire non confessionnelle de Clamart (Dpt 92). Sept cas ont été détectés en janvier 2020 chez des enfants de 2 à 7 ans.
- Un épisode de cas groupés à *S. sonnei* g (**ONPG-**), **HC5_144524** a été détecté entre août et octobre 2020 en Ile-de-France. Le lieu de contamination suspecté était une piscine d'un centre de loisirs (non investigué par SpF). Dix cas ont été détectés dont une majorité d'enfants de 2 à 19 ans (8/10, 80%).
- En Outre-mer, nous avons détecté deux clones majoritaires circulant en Guyane française :
 - *S. sonnei* g, **HC5_126490**. Son profil de résistance aux antibiotiques était **AMP STR TET CHL +/- SMX TMP**. Douze cas ont été détectés tout au long de l'année 2020. Ils étaient âgés de 1 an à 49 ans.
 - *S. flexneri* 1b, **HC5_125469**. Son profil de résistance aux antibiotiques était **STR TET +/- TMP**. Dix cas ont été détectés tout au long de l'année 2020. Ils étaient âgés de 10 mois à 50 ans.

En 2020, une alerte européenne a été déposée sur la **plateforme EPIS-FWD de l'ECDC** :

- UI-669 (Danemark, 16/09/2020) : le Danemark notifiait 29 cas de *S. sonnei*, ST152, HC5_144537. Nous n'avons détecté aucune souche avec ce profil cgMLST.

Escherichia coli

4 *Escherichia coli*

4.1 Activités d'expertise

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

En 2020, un total de 1097 échantillons, dont 895 prélèvements de selles et 187 souches de *E. coli* ont été reçus au LA-RD. Le nombre de souches analysées est similaire à celui de 2019 (n = 185). Le nombre de selles analysées qui augmentait régulièrement depuis 2013 (1195 en 2019) s'est stabilisé, ce qui peut s'expliquer par l'atteinte d'un point d'équilibre des systèmes de PCR syndromiques à disposition des différents laboratoires. En 2020, 238 souches de EHEC ont été isolées et identifiées au LA-RD puis caractérisées par WGS au CNR-ESS. En France, toutes pathologies confondues, les sérogroupes majeurs de EHEC retrouvés étaient : O26 (28,6 %), O80 (19,3 %) et O157 (8 %). Au cours des SHU, la prédominance du sérotype O26 s'affirme (38.8 %) suivi du sérotype O80 (25.6 %) et du sérotype O145 (4,7%). Le sérotype O157 est maintenant en 4^{ème} position avec 3% des sérogroupes impliqués dans le SHU.

Par ailleurs en 2020 le LA-CNR a reçu 13 souches de méningite de 11 nouveau-nés ou nourrissons, et 2 adultes. 92% des souches étaient de sérotype capsulaire K1 et 7% étaient productrices de BLSE

Comme en 2019, l'année 2020 a été marquée par deux épisodes de cas groupés d'infections à EHEC O26 : l'un lié à la consommation de fromage au lait cru et l'autre à une baignade dans le lac Léman.

4.1.1 Évolutions des techniques

En raison de l'évolution de l'épidémiologie des infections à EHEC et l'émergence du sérotype O80, le LA-RD a mis au point d'une part une PCR spécifique et d'autre part un milieu spécifique et sélectif de ce clone. Ces outils pourront permettre de progresser dans l'identification de réservoirs et de source de contamination avec le clone O80. A ce titre ces techniques ont été transmises au LNR pour mise en œuvre à partir de matrices alimentaires.

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

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

4.1.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Le LA-RD évalue les différents kits diagnostiques de PCR multiplex pour les bactéries enteropathogènes dont les EHEC. Ces kits de PCR multiplex proposés par différents industriels (BD, Quiagen, Biomérieux et Mobidiag) se sont multipliés ces dernières années. Leur évaluation par un laboratoire de référence apparaît nécessaire. 2020 a été une année particulièrement difficile et l'évaluation de trousse a été rendu compliquée. Le laboratoire associé a évalué et adopté la technique Mobidiag et Easyplex en techniques complémentaires en particulier dans le cadre de demande urgente. Ce sont par ailleurs les seules méthodes rapides donnant un résultat différencié *stx1*, *stx2*, *eae* avec une détection du sous type *stx2f*. Toutefois la méthode de référence reste indispensable avec sa phase d'enrichissement pour avoir une sensibilité optimum.

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

4.1.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Aucune pour le CNR-ESS.

Un milieu spécifique et une PCR spécifique permettant de rechercher le clone O80 ont été mis au point par le LA-CNR et ont été transférés au LNR à Lyon. Ces 2 nouveaux moyens diagnostiques seront évalués sur les matrices alimentaires au cours de l'année 2021.

4.1.4 Collections de matériel biologique

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

En 2020, 238 souches d'EHEC ont été isolées au LA-RD. Elles sont conservées dans la collection du LA-RD et sont acheminées régulièrement au CNR-ESS en vue de leur séquençage.

4.1.5 Activités d'expertise

En 2020, un total de 1 097 échantillons, dont 895 prélèvements de selles, 185 souches de *E. coli* ont été reçus au LA-RD.

La répartition des différents types de prélèvements, leur origine et leur nombre sont résumés dans le **Tableau 50**.

Tableau 50 : Répartition des différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au LA-RD en 2020

Inventaire des prélèvements	N
Prélèvement humains	
Selles	895
Extrait d'ADN /Selles	11
Biopsie intestinale	5
Liquide de conservation d'organe	1
Souches humaines isolées de :	
Selles	84
Hémoculture	63
LCR	13
Urines	9
Biopsie organe	9
Pus profond	2
Placenta	2
Liquide péritonéal	2
Prélèvement vaginal	1
Total général	1097

4.1.5.1 Inventaire des prélèvements reçus pour la recherche des EHEC en 2020

Concernant l'activité d'expertise EHEC, le LA-RD a reçu 1044 échantillons dont 895 selles, 84 souches isolées de selles. Le détail des différents échantillons est répertorié dans le **Tableau 51**.

Tableau 51 : Les différents types de prélèvements

Prélèvements	N
Selles	895
Souche/Selles	84
Souche/Hémoculture	31
ADN /Selles	11
Souche /Biopsies d'organes	9
Biopsie digestive	5
Souche/Urines	4
Souche/Pus profond	1
Souche/Prélèvement vaginal	1
Souche/liquide peritonéal	1
Souche/LCR	1
Liquide conservation d'organe	1
Total	1044

Ces prélèvements concernaient 893 patients suivis par 172 services hospitaliers dont deux hors métropole ou des structures privées de biologie (n = 196).

4.1.6 Activités de séquençage

Toutes les souches de *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines isolées par le LA-RD sont transmises en temps réel au CNR-ESS de l'Institut Pasteur, Paris, pour séquençage complet du génome (voir « 2.1.6. Activités de séquençage »).

4.2 Activités de surveillance

4.2.1 Description du réseau de partenaires

Le CNR-ESS et le LA-RD collaborent afin d'échanger leurs données permettant la validation des résultats des analyses (PCR versus WGS). Mais avant tout, le CNR-ESS et le LA-RD collaborent avec un réseau de laboratoires, qui fournissent les différents prélèvements et informations nécessaires à la surveillance (laboratoires privés, laboratoires hospitaliers, centres de santé, Instituts et Écoles vétérinaires...).

4.2.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

4.2.2.1 Analyse des caractéristiques épidémiologiques des EHEC

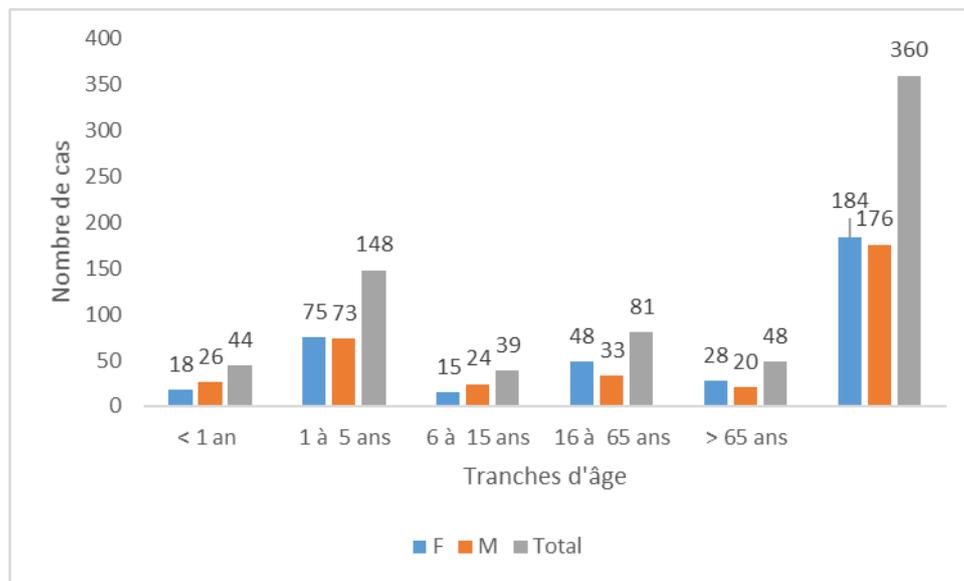
En 2020, **360 patients** ont eu une **recherche de EHEC positive** (isolement de souche ou PCR positive sur les selles) : **234 patients avec souches isolées** (dont quatre avec deux souches différentes) et 126 patients n'ayant qu'une PCR positive sur les selles). Le **Tableau 52** montre les principaux symptômes des patients ayant une recherche EHEC positive.

Tableau 52 : Principal symptôme observé chez les patients ayant une recherche de EHEC positive (isolement d'une souche ou PCR positive) en 2020

Symptômes	Total	%
SHU ou MAT	170	46,8
DGS	87	24,0
Diarrhée simple	67	18,5
Don de selles	6	1,7
Asymptomatique	3	0,8
Diarrhée chronique	3	0,8
Diarrhée fébrile	3	0,8
Entourage patient SHU	3	0,8
TIAC	3	0,8
Diarrhée glaireuse	2	0,6
Diarrhée patients COVID	2	0,6
Diarrhée chez Greffé rénal	2	0,6
Anémie hémolytique et thrombopénie	1	0,3
Dépistage systématique avant embauche en restauration	1	0,3
Diarrhée de retour	1	0,3
Douleurs abdominales aiguës	1	0,3
Hémorragie digestive	1	0,3
Insuffisance rénale aigüe isolée	1	0,3
Péritonite	1	0,3
Pyélonéphrite avec thrombopénie	1	0,3
Syndrome de Guillain-Barré	1	0,3
Total général	360	

La prévalence des EHEC la plus importante a été retrouvée chez les enfants de moins de 15 ans (231 cas soit 64,1 %) et principalement dans la tranche d'âge de 1 à 5 ans (148 cas, soit 41 %) et les moins de 1 an (n = 44 ; 12%). Au total, 53% des patients avec recherche de EHEC positive ont 5 ans ou moins. Le sex-ratio (H/F) est de 0,95 tout âge confondu et de 1,06 pour les moins de 5 ans. (**Figure 34**). En 2020, quatre nouveau-nés ont eu une infection à EHEC sans évolution vers un SHU ; deux d'entre eux âgés respectivement de deux jours et de 13 jours, ont eu une diarrhée avec PCR positive sans souche isolée. Un EHEC O78 a été isolée chez un bébé de 12 jours avec DGS. Pour le quatrième, âgé de 25 jours, présentait une diarrhée (EHEC O157). Dans les quatre cas, un épisode diarrhéique a été rapporté chez leurs mères sans qu'aucun prélèvement de selles n'ait été réalisé.

Figure 34. Classe d'âge et sexe des patients ayant une recherche de EHEC positive en 2020



Concernant les souches isolées, 238 souches de EHEC ont été isolées et se répartissaient en 41 sérogroupes dont trois sont majoritaires :

- O26 (n = 68) : 28,6%
- O80 (n = 46) : 19,3%
- O157 (n=19) : 8% en diminution par rapport à 2019 (n= 44 et 14,3% des EHEC isolés).

Des différences de prévalence sont observées en fonction des tranches d'âge.

- Enfants âgés de 0 à 5 ans : 146 souches dont 3 sérogroupes majoritaires:
 - O26 (59 cas soit 40,4 %)
 - O80 (35 cas soit 24 %)
 - O145 (7 cas soit 4,8 %)

Seules cinq souches de O157 ont été isolées dans cette tranche d'âge

- Enfants âgés de 6 à 15 ans : 24 souches isolées dont trois sérogroupes majoritaires
 - O26 (5 cas soit 20,6%)
 - O157 (5 cas soit 20,6%)
 - O145 (4 cas soit 16,6%)

Seules deux souches de O80 ont été isolées dans cette tranche d'âge

- Patients de 16 à 65 ans : 40 souches isolées avec une prévalence identique entre les sérogroupes O26, O157, O80 et O103 (quatre souches pour chaque séro groupe soit une prévalence équivalente de 10%).

Pour les patients de 65 ans, 27 souches isolées avec trois sérogroupes majoritaires

- O157 (n = 5 soit 18,5%)
- O80 (n = 5 soit 18,5%)
- O71 (n = 3 soit 11%)

Au total, nous notons que la répartition du trio majeur O26, O80, O157 varie grandement selon l'âge. O26, malgré sa forte prévalence, est absent chez les plus de 65 ans tandis que O80 prédomine chez les moins de 1 an dont est quasiment absent O157.

Comme en 2019, nous notons la progression du séro groupe O55 représenté par huit souches en 2020 (deux souches en 2018). Ce séro groupe est à l'étude en sachant qu'il ne correspond pas au clone historique O55 :H7.

Tous les résultats sont représentés dans le **Tableau 53**.

Escherichia coli

Tableau 53 : Répartition des différents sérogroupes de EHEC (souches isolées) par classe d'âge et par sexe des patients en 2020

Sérogroupes	Tranche d'âge										Total
	< 1 an		1-5 ans		6-15 ans		16-65 ans		> 65 ans		
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	
O26	5	5	26	23		5	3	1			68
O80	5	7	10	13	2		3	1	3	2	46
O157	1		2	2	1	4	4		1	4	19
O145		2	2	3	1	3					11
O146	2		2	3	1		1	1	1		11
O111			4	2				1	1		8
O55	1		5				1	1			8
O91					1	2	1	2	2		8
O103			2				4				6
O128ab			1			1	1			1	4
O5			1	1			1	1			4
O121			1	1			1				3
O171									2	1	3
O174								2	1		3
O177				2			1				3
O78		1	1	1							3
ND				1					1		2
O113							2				2
O128ac				1			1				2
O182					1					1	2
O8									2		2
O109			1								1
O116									1		1
O134										1	1
O151					1						1
O156				1							1
O165				1							1
O172			1								1
O181								1			1
O22		1									1
O23						1					1
O27								1			1
O36							1				1
O50/O2	1										1
O6								1			1
O69								1			1
O70					1						1
O76									1		1
O81				1							1
O84										1	1
O88							1				1
Total général	15	16	59	56	9	16	26	14	16	11	238

La répartition géographique des souches isolées en 2020 est indiquée dans la **Figure 35**. La répartition géographique des principaux sérogroupes confirme ce qui avait été observé depuis 2016 concernant le sérotype O80. Ce sérotype s'étend à d'autres départements et perd sa spécificité régionale. En effet, jusqu'en 2015 il était essentiellement isolé dans les départements de l'Est de la France et plus particulièrement ceux de la région Rhône – Alpes (**Figure 36**). Les disparités géographiques s'amenuisent même si le sérotype O157 semble plus fréquent dans le Sud-Ouest et le sérotype O80 dans l'Est. Le sérotype O26 semble réparti sur tout le territoire.

Figure 35. Répartition départementale des souches de EHEC isolées en 2020 (n = 238) sur le territoire

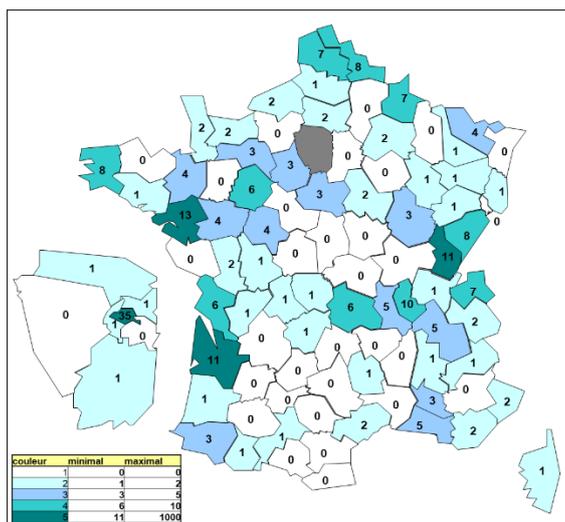
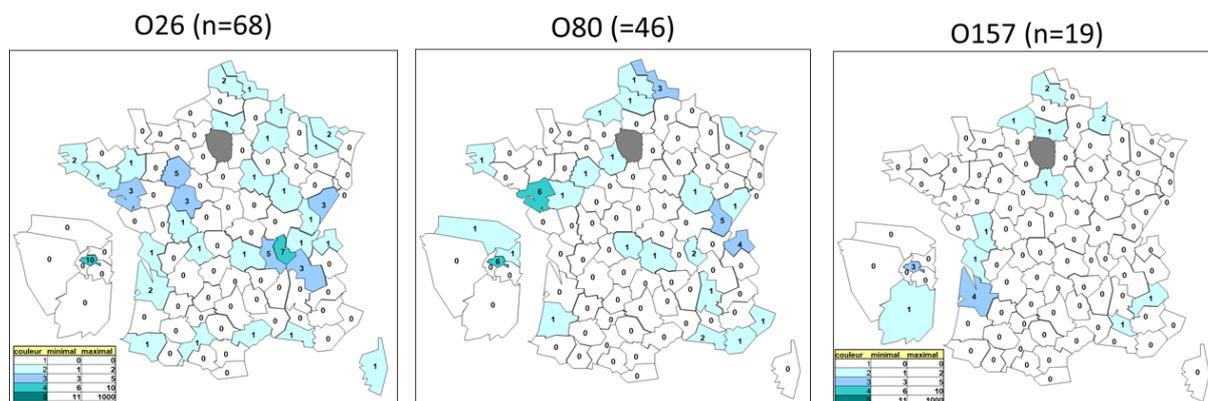


Figure 36. Répartition départementale des sérogroupes O26, O80 et O157 en 2020



4.2.2.2 Résultats microbiologiques pour les cas de SHU pédiatriques en 2020

Parmi les **140 cas de SHU ou suspicion de SHU chez des patients de moins de 15 ans en 2020**, l'étude microbiologique a donné les résultats suivants :

- Pour **105 enfants** de moins de 15 ans, **une souche de EHEC a été isolée** appartenant principalement aux sérogroupes suivants :
 - O26 (n = 49)
 - O80 (n = 29)
 - O145 (n = 6)

Le sérotype O157 a été incriminé dans seulement deux cas de SHU pédiatrique.

- Pour **35 patients**, la **PCR était positive dans les selles sans isolement de souche** avec une PCR sérogroupage positive dans les selles permettant pour 15 cas d'incriminer possiblement les sérogroupes suivants : EHEC O26 (n = 6), EHEC O80 (n = 4), EHEC O55 (n = 2), EHEC O91 (n = 2) et EHEC O103 (n = 1).
- Les patients étaient âgés en moyenne de 2,3 ans (extrêmes : 2 mois à 13 ans) avec un sex-ratio H/F de 0.76.

4.2.2.3 Résultats microbiologiques pour les cas de SHU/MAT adultes en 2020

Depuis l'épidémie de 2011, les services hospitaliers d'adultes recherchent les EHEC dans les cas de SHU/MAT. Le nombre de demandes pour les patients adultes est en nette augmentation depuis 2016 (52 % vs 34 % des demandes).

En 2020, pour 40 adultes atteints de SHU ou de MAT, la recherche de EHEC a été positive avec **21 souches de EHEC** isolées et 19 PCR positives sans souche isolée

- Les 21 souches isolées appartenait majoritairement aux sérogroupes suivants :
 - O80 (n = 4) dont deux souches isolées d'urines
 - O91 (n = 4)
 - O157 (n = 2)
 - O171 (n = 2)
- Pour **19 patients**, la **PCR était positive dans les selles sans isolement de souche** avec une PCR sérogroupage positive dans les selles permettant pour quatre cas d'incriminer possiblement les sérogroupes suivants : EHEC O80 (n = 2), EHEC O91 (n = 1) et EHEC O103 (n = 1).

Les patients adultes étaient âgés en moyenne de 61,6 ans avec un sex-ratio de 0,54.

Le séro groupe O80 apparaît donc comme le premier incriminé dans les SHU de l'adulte avec le séro groupe O91.

Une étude rétrospective portant sur la cohorte nationale française des SHU-STEC chez l'adulte a été menée par le CNR-MAT de janvier 2009 à décembre 2017 (96 patients). Ce travail de thèse de médecine, soutenue en janvier 2021 par Benoit Travert, a montré que la mortalité des SHU-STEC de l'adulte était de 20% supérieure aux observations pédiatriques, avec un tableau clinique plus sévère. Les comorbidités surtout l'immunodépression sont associées de façon significative à la diminution de la survie. Le site d'infection n'est pas exclusivement digestif et les recherches microbiologiques devraient inclure précocement une recherche de EHEC en cas de MAT chez l'adulte.

La sévérité et la prévalence probablement sous-estimée font du SHU-STEC adulte un enjeu de santé publique. La surveillance épidémiologique des SHU de l'adulte apparaît de plus en plus nécessaire.

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

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

Les 1044 prélèvements de selles et/ou souches ont été reçus pour **893 patients**. Les symptômes ayant motivé une recherche de *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC) ont été précisés pour 99,1 % des patients en ce qui concerne les selles et/ou les souches. Ils sont répertoriés dans le **Tableau 54**.

Tableau 54 : Symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC (souches ou selles) en 2020

Symptômes	N	%
DGS	305	34,2
SHU/Suspicion de SHU	291	32,6
Diarrhée simple	147	16,5
MAT/Suspicion de MAT	46	5,2
Entourage	34	3,8
Choc septique	15	1,7
Don de selles	11	1,2
Diarrhée chronique	7	0,8
Aucun renseignement	6	0,7
Asymptomatique	4	0,4
Diarrhée fébrile	4	0,4
Infection urinaire	4	0,4
Colite ulcéronécrosante	3	0,3
Douleurs abdominales aiguës	3	0,3
Anémie hémolytique	2	0,2
Patient COVID 19	2	0,2
Diarrhée de retour	2	0,2
Ballonnements digestifs	2	0,2
Convulsions et diarrhée	1	0,1
Décès inexplicable	1	0,1
Dépistage systématique avant embauche	1	0,1
Infection maternofoetale avec insuffisance rénale	1	0,1
Syndrome de Guillain-Barré	1	0,1
Total général	893	

4.2.2.4.2 Résultats obtenus sur les prélèvements de selles en 2020

Sur les 895 prélèvements de selles reçus, la **recherche directe** des gènes de Shiga-toxines par amplification génique *in vitro* (PCR) a été positive pour **360 patients, soit 40,3 %** des patients pour lesquels des selles ont été reçues.

Pour les patients positifs, dans 65 % des cas, les résultats de la PCR directe sur les selles après enrichissement ont été corrélés aux résultats obtenus après culture de celles-ci. Pour 126 patients (35 %) la recherche directe des gènes de Shiga-toxines sur les selles était positive sans qu'aucune souche de EHEC n'ait pu être isolée.

4.2.2.4.3 Souches de *E. coli* d'origine humaine productrices de Shiga-toxines isolées en 2020

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

Au LA-RD, la présence des gènes *stx1* et *stx2* codant respectivement les Shiga-toxines STX1 et STX2 a été recherchée dans tous les prélèvements et/ou souches reçus. Le gène *eae*, codant l'attachement et l'effacement aux cellules épithéliales présents chez les EHEC et les EPEC, a également été recherché, ainsi que le gène *ehxA* codant l'enterohémolysine et le gène *saa* codant une adhésine. Le sérogroupage moléculaire a également été réalisé sur toutes les souches EHEC. Au total, en 2020, **238 souches EHEC ont été isolées et caractérisées par le LA-RD**

Le CNR-ESS a séquencé le génome des 238 souches de EHEC isolées des selles ou reçues et caractérisées au LA-RD. Les analyses mises en place permettent d'identifier le sérotype, le MLST-7 gènes, un panel de gènes de virulence et de gènes de résistance à l'aide du site public du Center for Genomic Epidemiology-CGE (<http://www.genomicepidemiology.org/>) et le cgMLST des souches O26, O80 et O157 à l'aide d'Enterobase (<https://enterobase.warwick.ac.uk/>). Le sérotypage *in silico* des souches de EHEC est indiqué dans le **Tableau 55**.

Tableau 55 : Sérotypage *in silico* des souches isolées en 2020

WGS O	WGS H																	Total	
	H1	H2	H4	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H14	H19	H20	H21	H25	H28	H31		H49
O26									68										68
O80		46																	46
O157					19														19
O145																11			11
O146													11						11
O111						8													8
O55					1	5			2										8
O91							4			4									8
O103		6																	6
O128ab		4																	4
O5							4												4
O121												3							3
O171															3				3
O174		2											1						3
O177															3				3
O78			3																3
O113			2																2
O128ac		2																	2
O182															2				2
O8											1		1						2
ND									1				1						2
O109														1					1
O116													1						1
O134																	1		1
O151		1																	1
O156															1				1
O165															1				1
O172															1				1
O181																		1	1
O22	1																		1
O23					1														1
O27				1															1
O36												1							1
O50/O2				1															1
O6								1											1
O69									1										1
O70									1										1
O76												1							1
O81													1						1
O84		1																	1
O88																1			1
Total	1	62	5	2	20	9	9	5	71	2	5	5	1	16	12	11	1	1	238

Ces souches ont été isolées chez 234 patients présentant les symptômes suivants :

Symptomes	N patients	%
SHU ou MAT	125	53,4
DGS	47	20,1
DIARRHÉE	44	18,8
DIARRHÉE FEBRILE	3	1,3
ENTOURAGE	3	1,3
TIAC	3	1,3
Diarrhée/ GREFFE RENAL	2	0,9
ANEMIE HEMOLYTIQUE	1	0,4
ASYMPTOMATIQUE	1	0,4
DEPISTAGE SYSTEMATIQUE AVANT EMBAUCHE	1	0,4
DIARRHÉE CHRONIQUE	1	0,4
DON DE SELLES	1	0,4
HEMORRAGIE DIGESTIVE	1	0,4
PERITONITE	1	0,4
Total général	234	

Toutes pathologies confondues, les sérogroupes majoritairement isolés (>10 %) en France en 2020 étaient :

- **O26** (n = 68) : 28,6%
- **O80** (n = 46) : 19,3%

Le sérotype **O157** représente 8% des souches isolées (n = 19) en diminution par rapport à 2019 (8% vs 14%) mais représente toujours le 3^{ème} sérotype en France.

Pour les SHU/MAT typiques (126 patients), 127 souches ont été isolées (deux souches de sérogroupes différents pour un patient). Les mêmes sérogroupes étaient majoritairement retrouvés, tous âges confondus :

- **O26** : 50 souches isolées soit **39,4 %**
- **O80** : 33 souches isolées soit **25,8 %**

Le sérotype **O157** représente 3,1% des souches isolées au cours des SHU/MAT (n = 4) mais est en nette diminution par rapport à 2019 (3.1% vs 11,3%).

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

- **Figure 37** : toutes pathologies confondues
- **Figure 38** : SHU/MAT tous âges confondus

En 2020, la prévalence des différents sérogroupes de EHEC est superposable à celle de 2019 et confirme la place prépondérante du sérotype EHEC O26 en France, suivi du sérotype EHEC O80 puis du sérotype EHEC O157.

Figure 37. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés toutes pathologies confondues en 2020

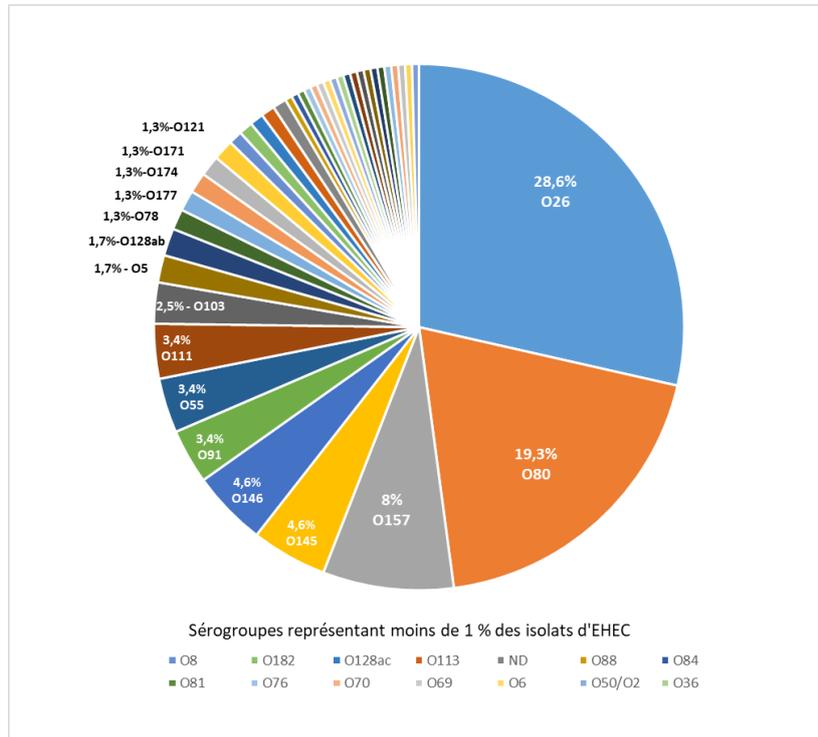
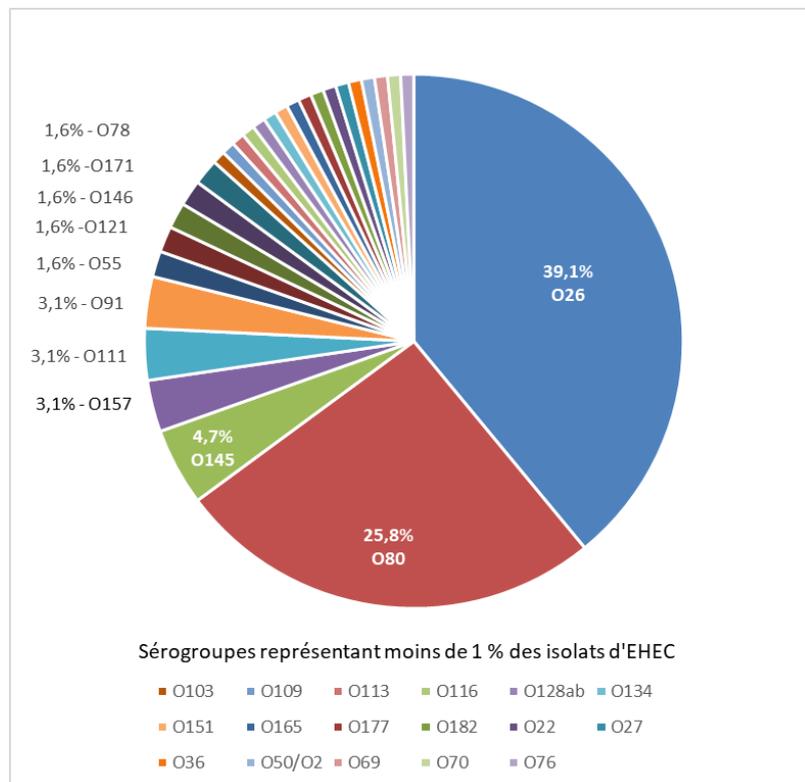


Figure 38. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés au cours des SHU tous âges confondus en 2020



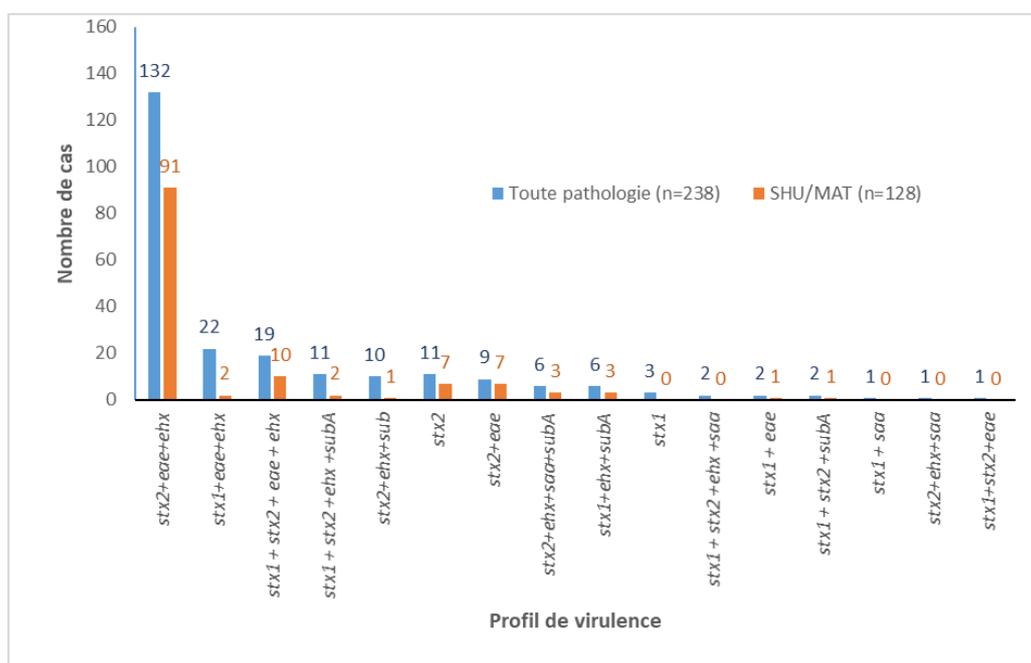
4.2.2.4.3.2 Analyse des profils de virulence

En 2020, le profil le plus souvent retrouvé est le **profil *stx2+eae+ehxA*** avec **55,5 %** des souches, tous sérotypes confondus et toutes pathologies confondues. Il est retrouvé dans **71,1 %** des souches isolées au cours des SHU/MAT. Le gène *stx2* est plus largement associé à un SHU/MAT que le gène *stx1*. Le profil *stx2+eae+ehxA* apparaît avec potentiel infectieux de $91/41 = 2,2$ bien supérieur à celui au profil *stx1+eae+ehxA* qui est de $2/20 = 0,1$.

Le gène *saa* et le gène de la subtilase *subA* sont retrouvés respectivement chez 10 et 35 souches. Le gène *aggR* n'a été retrouvé chez aucune souche.

La distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2020 est indiquée dans la **Figure 39**.

Figure 39. Distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2020



La répartition des **profils de virulence des souches de EHEC** (n = 238) en fonction du sérotype est représentée respectivement dans :

- le **Tableau 56**: souches de EHEC appartenant aux sérotypes les plus fréquemment incriminés dans les infections à EHEC (\geq trois souches isolées en 2020) et regroupant un total de 190 souches.
- le **Tableau 57**: souches de EHEC appartenant aux sérotypes les moins fréquemment rencontrés ($<$ trois souches isolées en 2020) et regroupant un total de 46 souches.
- le **Tableau 58**: souches de EHEC non sérotypables par méthode moléculaire WGS (2 souches) ; aucune de ces souches n'a été responsable de SHU

Le **profil *stx2+eae+ehxA*** est retrouvé chez 97,8 % des souches de sérotype O80. Dans le sérotype O26, il est retrouvé dans 70,5% des souches. Il est majoritaire dans le sérotype O157 (57,8 % des souches).

Tableau 56 : Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les plus fréquemment isolés en 2020

Profil de virulence	Sérogroupes de EHEC											Total
	O26	O80	O157	O145	O55	O91	O146	O111	O103	O128ab	O5	
stx2+eae+ehx	48	45	11	10	5			1				120
stx1+eae+ehx	10			1				1	5		4	21
stx1 + stx2 + eae + ehx	5		8					4	1			18
stx1 + stx2 + ehx + subA						2	7					9
stx2+ehx+sub										4		4
stx2						4						4
stx2+eae	5	1			1							7
stx1+ehx+subA							1					1
stx1					1							1
stx1 + eae								1				1
stx1 + stx2 + subA							2					2
stx1 + saa					1							1
stx1+stx2+eae									1			1
Total	68	46	19	11	8	8	8	8	6	4	4	190

Tableau 57 : Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les moins fréquemment isolés en 2020

Tableau 56 a		Sérogroupes de EHEC														Total
Profil de virulence	O121	O177	O146	O174	O78	O171	O128 ac	O182	O113	O70	O172	O151	O156	O23	O6	
stx2+eae+ehx	3	3						2		1	1	1	1			12
stx1+eae+ehx																0
stx1 + stx2 + eae + ehx																0
stx1 + stx2 + ehx + subA								2								2
stx2+ehx+sub			3				2							1		6
stx2				1												1
stx2+eae																0
stx2+ehx+saa+subA						3										3
stx1+ehx+subA					3											3
stx1															1	1
stx1 + stx2 + ehx + saa				1												1
stx1 + eae																0
stx2+ehx+saa				1												1
Total	3	3	3	3	3	3	2	2	2	1	1	1	1	1	1	30

Tableau 56 b		Sérogroupes de EHEC															Total
Profil de virulence	O88	O165	O27	O69	O84	O76	O81	O109	O134	O22	O36	O50	O8	O116	O181	O50 /O2	
stx2+eae+ehx																	0
stx1+eae+ehx					1												1
stx1 + stx2 + eae + ehx		1															1
stx1 + stx2 + ehx + subA																	0
stx2+ehx+sub																	0
stx2								1	1	1	1	1	1			1	6
stx2+eae			1					1									2
stx2+ehx+saa+subA														1	1		2
stx1+ehx+subA						1	1										2
stx1	1																1
stx1 + stx2 + ehx + saa																	0
stx1 + eae				1													1
stx2+ehx+saa																	0
Total	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16

Tableau 58 : Profil de virulence des EHEC non sérogroupables par méthode moléculaire WGS en 2020

WGS_O	WGS_H	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>ehxA</i>	<i>saa</i>	<i>aggR</i>	<i>subA</i>
ND (reads CGE)	flic_H11	-	+	-	+	+	-	+
ND (reads CGE)	flic_H20	+	+	-	+	+	-	-

Pour **126 patients**, les **PCR directes sur les selles** ou à partir de cultures sur gélose d'isolement étaient **positives sans qu'aucune souche n'ait pu être isolée**. Parmi eux, 44 patients présentaient un SHU/MAT.

Parmi les selles de ces 126 patients, 41 selles avec une PCR positive provenaient de LBM utilisant une PCR multiplex entérique automatisée. Pour ces patients, la recherche de la souche et/ou la PCR sérogroupage directe n'était réalisée qu'en fonction de l'âge et en fonction des signes cliniques. Pour 16 patients (non inclus dans les 126) dont les selles nous ont été adressées par ces mêmes laboratoires, la PCR n'a pas été contrôlée et les selles ont été gardées au congélateur à -80°C pour des investigations complémentaires si nécessaire. Aucun cas de SHU ni de cas groupés symptomatiques d'infection à EHEC avérée n'a été associé à ces résultats de PCR multiplex entérique positive.

Pour 33 patients, la PCR temps réel avait un CT très tardif (> 30) et la PCR conventionnelle des gènes de virulence n'a pas été réalisée. Pour ces patients, les résultats de la PCR temps réel sur les selles montrent la prédominance du gène *stx2* (n = 26). Le gène *stx1* est retrouvé dans sept cas et l'association *stx1+stx2* dans sept cas.

Pour 90 patients, le profil de virulence par PCR conventionnelle figure dans le **Tableau 59** ci-dessous. Le profil *stx2+eae+ehxA* est très largement majoritaire. Parmi ces patients atteints 44 présentaient un SHU/MAT et 23 une DGS.

Tableau 59 : Profil de virulence directement par PCR sur les selles sans isolement de souches en 2020

Profil de virulence	N	%
<i>stx2+eae+ehx</i>	36	40
<i>stx2</i>	16	17,8
<i>stx1+stx2+eae+ehx</i>	7	7,8
<i>stx2+ehx</i>	7	7,8
<i>stx1</i>	6	6,7
<i>stx2+eae</i>	6	6,7
<i>stx1+eae+ehx</i>	3	3,3
<i>stx1+stx2</i>	2	2,2
<i>stx1+stx2+ehx</i>	2	2,2
<i>stx1+eae+saa</i>	1	1,1
<i>stx1+eae</i>	1	1,1
<i>stx1+ehx</i>	1	1,1
<i>stx1+ehx+saa</i>	1	1,1
<i>stx1+stx2+ehx+saa</i>	1	1,1
<i>Total</i>	90	100

Pour ces 90 patients, la PCR détectant les sérogroupes majeurs a également été réalisée et a permis d'obtenir des résultats pour 19 patients. En ce qui concerne les SHU, le séro groupe O26 est retrouvé dans 1/3 des cas (**Tableau 60**).

Tableau 60 : Résultats du sérogroupage par PCR directe sur selles sans souche isolée en 2020

PCR serotypage	SHU	DGS
O26	6	0
O80	3	0
O103	0	2
O157	0	2
O91	1	1
O55	2	0
O104	0	1
O111	0	1
Total	12	7

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

La mise en évidence des variants des gènes *stx* a été réalisée sur les 238 souches isolées en 2020. La répartition globale des variants est représentée dans le **Tableau 61**.

La répartition des profils des variants en tenant compte des sérogroupes les plus fréquents et les plus rares sont regroupés respectivement dans le **Tableau 62** et le **Tableau 63**.

Le sous type *stx2a* est retrouvé dans 34,9% des souches toutes pathologies confondues et dans 79% des souches responsables de SHU.

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

- séro groupe O26 : sous type *stx2a* dans 77,9 % des souches
- séro groupe O80 : sous type *stx2d* dans 97,8 % des souches
- séro groupe O157 : sous type *stx2c* dans 42% des souches

Tableau 61 : Répartition globale des variants *stx* en 2020

Sous types <i>stx</i>	N	%
<i>stx2a</i>	83	34,9
<i>stx2d</i>	58	24,4
<i>stx1a</i>	27	11,3
<i>stx2c</i>	15	6,3
<i>stx1a+stx2a</i>	13	5,5
<i>stx2b</i>	10	4,2
<i>stx1c+stx2b</i>	9	3,8
<i>stx1c</i>	6	2,5
<i>stx1a+stx2c</i>	5	2,1
<i>stx1a+stx2b</i>	4	1,7
<i>stx1a+2d</i>	2	0,8
<i>stx2a + stx2d</i>	1	0,4
<i>stx2a + stx2b</i>	1	0,4
<i>stx1a+stx2a + stx2c</i>	1	0,4
<i>stx2f</i>	1	0,4
<i>stx2e</i>	1	0,4
<i>stx1d</i>	1	0,4
Total	238	

Tableau 62 : Répartition des profils de variants *stx* en fonction des sérogroupes de EHEC les plus fréquents des souches isolées en 2020

Sous types <i>stx</i>	Sérogroupes de EHEC																Total
	O26	O80	O157	O145	O146	O111	O55	O91	O103	O128 ab	O5	O121	O171	O174	O177	O78	
<i>stx2a</i>	53	1	3	7		1	2					3	3	1			74
<i>stx1a+2d</i>														1			1
<i>stx1a</i>	10			1		2	2		5		4						24
<i>stx1a+stx2a</i>	5		2			5			1								13
<i>stx1a+stx2b</i>								4									4
<i>stx1c+stx2b</i>					7												7
<i>stx2a + stx2d</i>																	0
<i>stx2b</i>					2					4							6
<i>stx2d</i>		45		1			4	3							2		55
<i>stx2c</i>			8	2	1			1						1	1		14
<i>stx2a + stx2b</i>					1												1
<i>stx1a+stx2a + stx2c</i>			1														1
<i>stx1a+stx2c</i>			5														5
<i>stx2f</i>																	0
<i>stx2e</i>																	0
<i>stx1c</i>																3	3
<i>stx1d</i>																	0
Total	68	46	19	11	11	8	8	8	6	4	4	3	3	3	3	3	208

Tableau 63 : Répartition des profils de variants *stx* en fonction des sérogroupes de EHEC les plus rares isolés en 2020

Sous types <i>stx</i>	Sérogroupes de EHEC																				Total						
	ND	O113	O128 ac	O182	O8	O109	O116	O134	O151	O156	O165	O172	O181	O22	O23	O27	O36	O50/ O2	O6	O69		O70	O76	O81	O84	O88	
<i>stx2a</i>	1			2		1			1	1		1	1									1					9
<i>stx1a+2d</i>	1																										1
<i>stx1a</i>										1										1				1			3
<i>stx1c+stx2b</i>		2																									2
<i>stx2a + stx2d</i>							1																				1
<i>stx2b</i>			2											1				1									4
<i>stx2d</i>					1			1					1														3
<i>stx2c</i>				1																							1
<i>stx2f</i>															1												1
<i>stx2e</i>																	1										1
<i>stx1c</i>																			1			1	1				3
<i>stx1d</i>																										1	1
Total	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	30

4.2.2.4.3.4 Analyse des variants des gènes *eae* par WGS

Parmi les 238 souches, 185 souches possédaient le gène *eae* (77,7 %).

Les principaux variants étaient :

- le variant *eae* β : 42,7 % des souches et majoritairement des EHEC O26 (100 %)
- le variant *eae* γ : 19,8 % des souches et majoritairement des EHEC O157 (100 %).
- le variant *eae* ξ : 24 % des souches et dans 100 % des EHEC O80 et 83% des EHEC O55.

La répartition des variants en fonction du séro groupe est représentée dans le **Tableau 64**.

Tableau 64 : La répartition des variants du gène *eae* en fonction du séro groupe EHEC en 2020

Sérogroupes de EHEC	Sous types <i>eae</i>								Total
	<i>eae</i> β	<i>eae</i> ξ	<i>eae</i> γ	<i>eae</i> ε	<i>eae</i> θ2	<i>eae</i> ζ	<i>eae</i> θ	<i>eae</i> α1	
O26	68								68
O80		46							46
O157			19						19
O145			11						11
O111	1				6		1		8
O103				6					6
O55		5	1						6
O5	4								4
O121				3					3
O177	3								3
O182						2			2
O109	1								1
O151				1					1
O156						1			1
O165				1					1
O172				1					1
O27								1	1
O69	1								1
O70	1								1
O84						1			1
Total général	79	51	31	12	5	4	1	1	185

4.2.2.4.3.5 Autres facteurs de virulence

Les gènes codant pour les facteurs de virulence des *E. coli* enteroaggrégants (*aggR*), le gène *saa* et le gène codant la subtilase ont été recherchées.

Le gène ***aggR*** n'a été identifié sur aucune souche.

Sur les **10 souches porteuses du gène *saa***, aucune ne portait le gène *eae*. Six souches portaient également le gène *subA*, dont 3 responsables de SHU chez des adultes (**Tableau 65**)

Le gène *subA* a été retrouvé chez **35 souches** responsables en particulier de 10 cas de SHU, et de 11 cas de DGS. Les souches subtilase positive possèdent les gènes *stx1* seul (n = 6), *stx2* seul (n = 16) ou l'association *stx1+stx2* (n = 13). Le sous type *stx2b* a été retrouvé dans 20 souches, tandis que le sous types *stx1c* prédominaient largement. Aucune souche ne possédait le gène *eae*. Le séro groupe O146 était le séro groupe prédominant (11 souches) mais en cause seulement dans deux cas de SHU/MAT (**Tableau 66**).

Tableau 65 : Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène *saa* en 2020

Age	Symptômes	WGS_O	WGS_H	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>ehx A</i>	<i>saa</i>	<i>aggR</i>	<i>subA</i>
2 A	DIARRHEE	ND	fliC_H11	-	stx2a	-	ehxA	+	-	+
2 A	DIARRHEE	wzx_O55	fliC_H12	stx1a	-	-	-	+	-	-
30 A	DGS	wzx_O174	fliC_H2	stx1a	stx2d	-	ehxA	+	-	-
52 A	DIARRHEE	wzy_O181	fliC_H49	-	stx2a	-	ehxA	+	-	+
72 A	SHU	wzx_O116	fliC_H21	-	stx2a + stx2d	-	ehxA	+	-	+
75 A	SHU	wzx_O171	fliC_H25	-	stx2a	-	ehxA	+	-	+
76 A	SHU	wzx_O171	fliC_H25	-	stx2a	-	ehxA	+	-	+
83 A	TIAC	wzy_O171	fliC_H25	-	stx2a	-	ehxA	+	-	+
90 A	DGS	ND	fliC_H20	stx1a	stx2d	-	ehxA	+	-	-
90 A	DIARRHEE	wzy_O174	fliC_H2	-	stx2a	-	ehxA	+	-	-

Tableau 66 : Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène *subA* en 2020

Age	Symptômes	WGS_O	WGS_H	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>ehx A</i>	<i>saa</i>	<i>aggR</i>	<i>subA</i>
2 A	DIARRHEE	ND	fliC_H11	-	stx2a	-	+	+	-	+
26 A	DGS	wzx_O113	fliC_H4	stx1c	stx2b	-	+	-	-	+
39 A	SHU	wzx_O113	fliC_H4	stx1c	stx2b	-	+	-	-	+
72 A	SHU	wzx_O116	fliC_H21	-	stx2a + stx2d	-	+	+	-	+
45 A	DGS	wzx_O128ab	fliC_H2	-	stx2b	-	+	-	-	+
68 A	DGS	wzx_O128ab	fliC_H2	-	stx2b	-	+	-	-	+
3 A	DIARRHEE	wzx_O128ab	fliC_H2	-	stx2b	-	+	-	-	+
7 A	SUSPICION SHU	wzx_O128ab	fliC_H2	-	stx2b	-	+	-	-	+
36 A	DEPISTAGE SYSTEMATIQUE	wzx_O146	fliC_H21	stx1c	stx2b	-	+	-	-	+
5 A	DIARRHEE	wzx_O146	fliC_H21	stx1c	stx2b	-	+	-	-	+
9 A	DIARRHEE	wzx_O146	fliC_H21	stx1c	stx2b	-	+	-	-	+
12 A	DIARRHEE	wzx_O146	fliC_H21	-	stx2a + stx2b	-	+	-	-	+
82 A	DIARRHEE	wzx_O146	fliC_H21	-	stx2b	-	+	-	-	+
2 A	DIARRHEE	wzx_O146	fliC_H21	stx1c	stx2b	-	+	-	-	+
2 A	ENTOURAGE	wzx_O146	fliC_H21	stx1c	stx2b	-	+	-	-	+
26 A	MAT	wzx_O146	fliC_H21	stx1c	-	-	+	-	-	+
1 A	SHU	wzx_O146	fliC_H21	stx1c	stx1c	-	+	-	-	+
75 A	SHU	wzx_O171	fliC_H25	-	stx2a	-	+	+	-	+
76 A	SHU	wzx_O171	fliC_H25	-	stx2a	-	+	+	-	+
15 A	DGS	wzx_O23	fliC_H8	-	stx2b	-	+	-	-	+
2 A	DGS	wzx_O78	fliC_H4	stx1c	-	-	+	-	-	+
12 A	DGS	wzx_O78	fliC_H4	stx1c	-	-	+	-	-	+
2 A	SHU	wzx_O78	fliC_H4	stx1c	-	-	+	-	-	+
12 A	DGS	wzx_O91	fliC_H14	stx1a	stx2b	-	+	-	-	+
55 A	SHU	wzx_O91	fliC_H14	stx1a	stx2b	-	-	-	-	+
4 A	DGS	wzy_O128ac	fliC_H2	-	stx2b	-	+	-	-	+
23 A	DGS	wzy_O128ac	fliC_H2	-	stx2b	-	+	-	-	+
1 A	DIARRHEE	wzy_O146	fliC_H21	-	stx2b	-	+	-	-	+
2 A	DIARRHEE	wzy_O146	fliC_H21	stx1c	stx2b	-	+	-	-	+
83 A	TIAC	wzy_O171	fliC_H25	-	stx2a	-	+	+	-	+
52 A	DIARRHEE	wzy_O181	fliC_H49	-	stx2a	-	+	+	-	+
68 A	SUSPICION SHU	wzy_O76	fliC_H19	stx1c	-	-	+	-	-	+
3 A	DGS	wzy_O81	fliC_H21	stx1c	-	-	+	-	-	+
8 A	ASYMPTOMATIQUE	wzy_O91	fliC_H14	stx1a	stx2b	-	-	-	-	+
11 A	DGS	wzy_O91	fliC_H14	stx1a	stx2b	-	+	-	-	+

4.2.2.4.3.6 Analyse des MLST

L'analyse MLST des 238 souches a permis de mettre en évidence **43 ST** dont 10 représentaient 78,5% des souches (**Tableau 67**).

Tableau 67 : La répartition des ST en fonction du séro groupe (≥ 6 souches par ST)

MLST	Sérogroupes de EHEC															Total	%
	O26	O80	O157	O145	O146	O111	O55	O103	O128ab	O5	O177	O128ac	O151	O69	O70		
ST21	62													1		63	33,7
ST301		46					5									51	27,3
ST11			18													18	9,6
ST32				11												11	5,9
ST442					11											11	5,9
ST16						7										7	3,7
ST17								6					1			7	3,7
ST29	6														1	7	3,7
ST25									4			2				6	3,2
ST342										4	2					6	3,2
Total	68	46	18	11	11	7	5	6	4	4	2	2	1	1	1	187	

Les souches appartenant aux sérogroupes O80, O145, O146, O111, O103 et O128ab se distribuait dans un seul ST (ST301, ST11, ST442, ST16, ST17 et ST25 respectivement) contrairement à celle du séro groupe O26 qui se répartissaient majoritairement dans le ST21 (n = 62) et le ST29 (n = 6). Les souches du séro groupe O157 appartenait majoritairement au ST11 (18 sur 19 souches).

4.2.2.4.3.7 Analyse des cgMLST-HC5

Cette analyse a été réalisée uniquement pour les sérogroupes les plus fréquents (O26, O157, O80) et permet de préciser de façon plus fine la relation génétique entre les souches et de préciser la clonalité. Les résultats sont représentés dans le **Tableau 68** page suivante.

Pour les 68 souches de O26, nous observons 39 cgMLST-HC5 différents parmi lesquels 30 n'étaient représentés que par une seule souche. Neuf clusters contenaient 38 souches soit 55,9% des souches de O26. Le cluster HC5_65006 étaient prédominant et significativement associé à un SHU (30% - 15 cas de SHU). Ce cluster a été incriminé dans quatre cas de SHU et un cas de DGS avec consommation de Reblochon rapportée et également dans cinq cas de SHU liés à une baignade dans le lac Léman. Ce cluster prédominait en 2018 (19 cas de SHU) alors qu'en 2019 il n'a été retrouvé que dans quatre cas dont trois SHU. Le cluster HC5_75047 prédominant en 2019 n'a pas été retrouvé en 2020.

Pour les 46 souches de séro groupe O80, nous observons 33 cgMLST-HC5 différents parmi lesquels 27 n'étaient représentés que par une seule souche. Six clusters avec plus d'une souche ont été identifiés et contenaient 27 souches, soit 49 % des souches de O80. Le cluster HC5-35179 était le plus fortement associé au SHU (40%), comme en 2018 et 2019.

Pour les 19 souches de séro groupe O157, aucun cluster n'a été retrouvé en 2020. Dix-neuf cgMLST-HC5 différents étaient observés témoignant d'une grande diversité pour les souches O157, comme cela avait été constaté en 2018 et 2019.

Tableau 68 :Analyse des cgMLST-HC5 des sérogroupes O26, O80 en 2020

cgMLST-HC5	Symptômes				Total
	SHU	DGS	DIARRHEE	ENTOURAGE	
EHEC O26					
65006	15	1			16
65074	5				5
65000	2			1	3
83592	2	1			3
149587	3				3
38792	2				2
103150	2				2
139918	2				2
144507	2				2
Total 9 clusters*	35	2	0	1	38
Autres clusters cgMLST-HC5	15	8	6	1	30
				Total O26	68

cgMLST-HC5	Symptômes			Total
	SHU	DGS	DIARRHEE	
EHEC O80				EHEC O80
35179	6			6
140495	4		1	5
74950	2			2
143459	1		1	2
145841	1	1		2
149582	1		1	2
Total 6 clusters*	15	1	3	19
Autres clusters cgMLST-HC5	18	2	7	27
			Total O80	46

*Cluster : cgMLST_HC5 > 1souche

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

La mise en évidence des EHEC a été réalisée dans l'entourage de 13 cas de SHU, soit 38 personnes prélevées dans l'entourage familial. Parmi elles, quatre (10,5 %) étaient positives (quatre souches isolées). Les souches isolées présentaient le même profil que celle du cas index de SHU.

4.2.2.5 Bilan des activités 2020 concernant les souches de *E. coli* extra intestinales (ExpEC)

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

Le LA-RD a reçu **13** souches de *E. coli* isolées du LCR de 11 enfants et 2 adultes. Parmi les 11 enfants, 8 étaient des nouveau-nés âgés de 1 jour à 16 jours et deux étaient des nourrissons âgés de 1 et 2 mois. Un seul nouveau-né était prématuré (34 SA). Les patients adultes étaient âgés de 66 et 73 ans.

Les résultats de l'étude des facteurs de virulence sont présentés dans le **Tableau 69** et permettent d'incrémenter la base de données française des méningites à *E. coli*.

Tableau 69 : Facteurs de virulence des *E. coli* responsables de méningites en 2020 (LA-RD)

N°souche	Sexe	age (j) /PL	Groupe phylogénétique	PCR nonaplex wzy	PCR K1	ChuA	Hra	yjaA	TSPE4,C2	fyuA	Hly	sfa/foc	PAP C	Aer	PAP G	cnf1	ibeA	iroN
488	M	6 jours	B21	O18	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
489	M	66 ans	B1	neg	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
490	M	10 jours	B21	O2	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
491	F	2 mois	B21	O18	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
492	M	29 jours	B21	O45	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
493	F	73 ans	B2	O16	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	II	-	-	+
494	M	9 jours	B2	O18	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
495	F	3 jours	B21	O2	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
496	F	8 Jours	B2	neg	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
497	F	5 jours	B2	O6	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
498	M	1 mois	B21	O2	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
499	M	6 jours	B2	O18	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	II	-	-	+
500	M	2 mois	B21	O18	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+

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

Le LA-RD a reçu 81 souches de EXPEC hors méningites isolées des prélèvements suivants :

- Hémoculture n = 63
- Urines n = 9
- Biopsies post mortem n = 4 (poumon, foie, méninges, rate)
- Placenta n = 2
- Ascite n = 1
- Abscès rénal n = 1
- Prélèvement vaginal n = 1

Ces souches ont été isolées chez 75 patients présentant :

- Choc septique n = 23 dont 8 à point d'appel digestif
- Pyélonéphrite n = 19
- SHU/MAT n = 12
- Infection materno-fœtale n = 8
- Chorio-amnionite n = 4
- Méningite décapitée n = 2
- Décès inexplicé n = 2
- Pneumopathie nécrosante n = 1
- Mort fœtale in utero n = 1
- Arthrite n = 1
- Ascite n = 1
- Abscès rénal n = 1

Les caractéristiques de ces souches sont indiquées dans le **Tableau 70**.

Tableau 70 : Caractéristiques des souches de ExpEC hors méningites en 2020 LA-RD

N° RDB	Sexe	Age	origine du prélèvement	groupe phylogénétique	Capsule K1	ChuA	Hra	lyj/a	TSP64C2	lyuA	Hly	stx/oc	PAP C	Aer	PAP G	ent1	lbaA	iron	
RDEx670	F	1 mois	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
RDEx671	F	18 ans	Hémoculture	B2	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	II	-	-	-	+
RDEx672	M	60 ans	Hémoculture	B2	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
RDEx673	F	88 ans	Urines	B1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx674	F	1 mois	Prélèvement post-mortem	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx675	F	1 mois	Prélèvement post-mortem	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx676	F	1 mois	Prélèvement post-mortem	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx677	F	1 mois	Prélèvement post-mortem	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx678	F	5 jours	Hémoculture	B2	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
RDEx679	M	15 jours	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx680	M	2 jours	Hémoculture	B2	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
RDEx681	F	69 ans	Hémoculture	B2	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
RDEx682	M	57 ans	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx683	M	67 ans	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	+	+	+
RDEx684	F	24 jours	Hémoculture	D	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
RDEx685	F	31 ans	Placenta	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
RDEx686	F	0 jour	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
RDEx687	F	6 jours	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	II	-	-	-
RDEx688	M	6 jours	Hémoculture	B2	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
RDEx689	F	6 jours	Hémoculture	B2	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
RDEx690	F	39 ans	Hémoculture	F	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
RDEx691	M	53 ans	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
RDEx692	F	4 jours	Hémoculture	B21	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-	+
RDEx693	M	69 ans	Hémoculture	F	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx694	M	36 ans	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
RDEx695	F	36 ans	Prélèvement vaginal	B21	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+
RDEx696	M	17 jours	Urines	D	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx697	M	17 jours	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx698	F	5 jours	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	-	-	+
RDEx699	M	14 ans	Urines	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	II	+	-	-	+
RDEx700	M	14 ans	Abcès rénal	B2	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	II	+	-	-	+
RDEx701	M	1 mois	Hémoculture	B21	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-	+
RDEx702		2 ans	Hémoculture	C	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx703	F	35 ans	Hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
RDEx704	F	82 ans	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	+	+	+
RDEx705	M	18 jours	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
RDEx706	M	57 ans	Hémoculture	A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
RDEx707	M	57 ans	Ascite	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
RDEx708	M	6 mois	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx709	M	1 jour	Hémoculture	B2	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	III	+	-	-	+
RDEx710	M	73 ans	Hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx711	M	93 ans	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	-	-	+
RDEx712	M	75 ans	Hémoculture	B1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
RDEx713	F	1 jour	Hémoculture	F	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx714	M	60 ans	Hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
RDEx715	F	46 ans	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	II	-	-	-	-
RDEx716	F	83 ans	Hémoculture	C	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	II	-	-	+
RDEx717	F	87 ans	Hémoculture	D	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
RDEx718	F	55 ans	Urines	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
RDEx719	F	48 ans	Hémoculture	B1	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
RDEx720	M	58 ans	Hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	II	-	-	-	-
RDEx721	F	10 jours	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
RDEx722	M	49 ans	Hémoculture	D	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
RDEx723	F	8 jours	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	-	-	+
RDEx724	M	48 ans	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	-	-	+
RDEx725	M	1 mois	Hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx726	F	1 an	Hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	-	-	+
RDEx727	M	2 mois	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	II	-	-	-
RDEx728	F	32 ans	Placenta	D	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx729	M	15 jours	Hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
RDEx730	F	68 ans	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
RDEx731	F	11 jours	Hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
RDEx732	M	17 jours	Urines	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-	+
RDEx733	F	2 mois	Urines	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	II	+	-	-	+
RDEx734	M	48 ans	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx735	M	48 ans	Urines	B2	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx736	F	85 ans	Hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	II	+	-	-	-
RDEx737	M	1 mois	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
RDEx738	M	1 mois	Urines	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
RDEx739	F	26 ans	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
RDEx740	F	1 jour	Hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	-	-	+
RDEx741	F	54 ans	Hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
RDEx742	F	43 ans	Hémoculture	A	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
RDEx743	M	1 mois	Urines	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	II	+	-	-	+
RDEx744	F	66 ans	Hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	-	-	+
RDEx745	F	34 ans	Hémoculture	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx746	M	73 ans	Hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
RDEx747	M	9 jours	Hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-	-
RDEx748	M	33 ans	Hémoculture	C	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
RDEx749	F	89 ans	Hémoculture	D	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx750	F	70 ans	Hémoculture	B2	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	II	+	-	-	+

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

4.2.3.1 Sensibilité aux antibiotiques des souches EHEC (LA-RD)

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

Le LA-RD a étudié la sensibilité des 238 souches de EHEC isolées en 2020, en particulier vis-à-vis des antibiotiques suivants :

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

La sensibilité des souches aux principales familles d'antibiotiques a été étudiée par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA-SFM 2020

Comme les années précédentes, les souches de EHEC appartenant au sérotype O157 sont plus sensibles aux antibiotiques que les souches de EHEC non O157. Cependant la prévalence de la résistance aux bêta-lactamines est stable depuis l'année 2017.

La prévalence de la résistance exprimée en pourcentage est indiquée dans le **Tableau 71**.

Tableau 71 : Prévalence de la résistance (en %) aux antibiotiques des souches EHEC en 2020 (LA-RD)

% de Résistance	AMX	CRO	Aminosides	SXT	NAL	CIP
O157 (n = 19)	10,5	0	2,3	10,5	10,5	0
Non O157 (n = 219)	32,9 %	0,4 %	8,2 %	33,3 %	22,4 %	0

Parmi les souches non O157 résistantes à l'AMX (n = 72), 38 appartenaient au sérotype O80 et 8 au sérotype O26. Une résistance associée aux aminosides, à l'acide nalidixique et au cotrimoxazole était retrouvée chez 11 souches dont 8 souches appartenant au sérotype O80 et 3 au sérotype O55. Aucune souche productrice de BLSE (Bêta-lactamase à spectre étendu) n'a été isolée en 2020.

En raison des fortes concentrations intraluminales de l'azithromycine (AZM), les CMI AZM ont été déterminées vis-à-vis des souches isolées en 2020 par la méthode de l'Etest et figurent dans le **Tableau 72** ci-dessous. Une seule souche résistante à l'azithromycine a été détectée (CMI>256 mg/L)

Tableau 72 : CMI à l'azithromycine des souches EHEC isolées en 2020 au LA-RD

	CMI 50 (mg/L)	CMI 90 (mg/L)	Intervalle (mg/L)
O157 (n = 19)	4	6	2 - 32
Non O157 (n = 219)	4	8	1,5 - >256

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

La sensibilité des souches aux principales familles d'antibiotiques en particulier AMX, CFM, cefotaxime (CTX), gentamicine (GEN), NAL et CIP a été étudiée par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA-SFM 2020 (**Tableau 73**).

Tableau 73 : Prévalence de la résistance (en %) aux antibiotiques des souches EXPEC (2020, LA-RD)

	AMX	CTX	SXT	NAL	CIP	GEN
ExpEC méningites (n = 13)	46,1	7,7	15,4	38	31	7,7
ExpEC hors méningites (n = 81)	59,3	9,9	27,2	39,2	13,6	6,2

En 2020, une seule souche productrice de BLSE a été isolée de méningite.

Six souches productrices de BLSE ont été isolées dans les pathologies hors méningite avec une résistance associée aux quinolones et au cotrimoxazole.

4.2.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

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

Signalement systématique de tous les cas de SHU chez les enfants de moins de 15 ans à Santé publique France.

Dans le cadre de la surveillance des EHEC, toute souche ou selle porteuse de gènes *stx* est immédiatement signalée à Santé publique France par téléphone et/ou messagerie électronique sécurisée

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

4.2.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

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

4.3 Alerte

4.3.1 Epidémies nationales

- **Alerte à EHEC O26 liée à la consommation de fromage au lait cru de vache**

Le cluster HC5_65006 a été incriminé dans quatre cas de SHU et un cas de DGS avec une possible consommation de fromage au lait cru de vache rapportée mais qui n'a pas pu être confirmée.

- **Cas groupés à *E. coli* O26 liés à une baignade dans le lac Léman**

Du 27 juillet au 11 août 2020, cinq cas pédiatriques de SHU ont été exposés à l'eau de baignade du lac Léman à la frontière franco-suisse.

Les enquêtes épidémiologiques, expositions alimentaires et environnementales et recherche de cas (examen des cas de SHU notifiés, contact avec l'hôpital local et les hôpitaux du réseau de surveillance du SHU) ont été menées par l'ARS et SpF. Le LA-RD a confirmé une infection à STEC O26 *stx2 eae ehxA*. Ces cinq isolats ont fait l'objet d'un séquençage du génome entier (cgMLST) au CNR-ESS. Les cinq isolats ont présenté un type identique par regroupement hiérarchique des données cgMLST (cluster HC5-65006).

Les cas résidaient dans trois régions françaises et ont signalé une exposition à la même plage du lac Léman entre le 11 et le 26 juillet (vacances ou résidents locaux). Les symptômes sont apparus du 19 au 27 juillet. L'âge des cas était compris entre 15 mois et six ans. Les parents ont signalé que les cas avaient ingéré soit l'eau du lac, soit le sable humide de la plage; aucune autre exposition courante n'a été identifiée. Les autorités sanitaires suisses ont été informées de l'épidémie; aucun cas supplémentaire n'a été identifié.

L'Agence régionale de la santé a mené des enquêtes environnementales, et des échantillons d'eau et de sédiments ont été analysés au Laboratoire national de référence pour *E. coli* (LNR). Les analyses de routine (*E. coli*, entérocoques) de la zone de baignade en juillet ont été satisfaisantes. Les enquêtes environnementales ont recueilli 38 échantillons d'eau et de sédiments du 10 août au 2 septembre. Quatre souches de *E. coli* O26 portant le gène *eae* (AEEC) et un STEC non-O26 ont été isolées à partir de quatre échantillons. La zone de baignade a été fermée le 13 août.

Une alerte européenne a été déposée le 17/08/2020 sur la plateforme EPIS-FWD de l'ECDC (UI-661, « Pediatric HUS cases linked to swimming lake water »).

Bien que la confirmation de la contamination environnementale par une souche O26 *stx2 eae ehxA* n'ait pas été possible, les résultats ont indiqué une contamination persistante ou répétée par *E. coli* présentant un risque pour la santé humaine. La région autour du lac Léman possède de vastes pâturages. Or le tube digestif des ruminants est un réservoir pour *E. coli*, y compris les STEC. Cette plage avait précédemment été identifiée comme pouvant être contaminée, notamment par un ruisseau à proximité qui se jette dans le lac et à la suite de fortes pluies. Les enquêtes environnementales se poursuivront en 2021 et des mesures sont en place pour renforcer les contrôles en vue de la saison estivale 2021.

Il s'agit de **la première épidémie documentée de STEC liée à l'eau de baignade en France**, et elle illustre le risque pour les jeunes enfants qui peuvent être plus susceptibles d'ingérer de l'eau ou du sable contaminés et de tomber malades. La surveillance de l'eau de baignade repose généralement sur des indicateurs de contamination fécale, mais elle est insuffisante pour détecter une contamination potentiellement pathogène par *E. coli*. L'analyse des risques des zones de baignade est essentielle pour évaluer la sensibilité et corriger les sources potentielles de contamination.

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

Au sein du sérotype O80, le cluster **HC5_35179** est majoritaire et regroupe six souches isolées en 2020 de six cas de SHU pédiatrique (cinq âgés de moins de 3 ans et un âgé de 10 ans) dans cinq départements différents (57, 59, 69, 74, 80). Aucune source connue d'infection n'a été mise en évidence pour ces patients éloignés géographiquement.

Ce cluster était également majoritaire en 2018 et 2019 et a fait l'objet d'un suivi particulier par le CNR-ESS, via l'analyse du profil allélique (PA) du cgMLST, dans le but d'affiner le clustering des cas lors de regroupements spatio-temporels.

4.3.2 Epidémies internationales

En 2020, le CNR-ESS a émis une alerte sur la plateforme EPIS-FWD de l'ECDC (UI-661, voir paragraphe 4.3.1) et a répondu à huit alertes européennes concernant des cas groupés à STEC.

Le CNR-ESS n'a détecté aucun cas humain associé à ces épidémies, à l'exception de l'alerte UI-685 (Belgique). Pour cette dernière une souche française appartenant au même cluster génomique (HC2_136116) a été identifiée. Aucun lien épidémiologique entre les différents cas n'a été identifié par la Belgique.

EPIS Urgent Inquiry	Reported by	STEC serogroup_serotype	HC5
UI-637	United Kingdom	O157	118254
UI-640	Germany	OgN3:H25	135946
UI-662	United Kingdom	O157	143776
UI_683	United Kingdom	O157	149567
UI-684	Austria	O146:H28	-
UI-685	Belgium	O145	136116
UI-686	Finland	O157	151004
UI-693	Germany	O26:H11	152512

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

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

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

5.1.1 Enseignements et formations aux professionnels de santé

María Pardos de la Gándara : cours sur « *Salmonella* et salmonelloses » au Master Sciences, Technologies, Santé ; Sorbonne Université, 13 janvier 2020.

María Pardos de la Gándara : cours sur « *Salmonella* and salmonellosis » au Master 2 Microbiology and Biological engineering, Université Paris-Saclay, 6 février 2020.

María Pardos de la Gándara : cours sur « Épidémiologie des salmonelloses mineures : évolution, résistance et facteurs génétiques » au Module épidémiologie Master 2, Spécialité Microbiologie, option bactériologie moléculaire et médicale. Sorbonne Université, 25 septembre 2020.

María Pardos de la Gándara : Examineur des travaux de Mme. Claire YVON pour l'obtention du Diplôme de l'École Pratique des Hautes Études en Sciences de la Vie et de la Terre, intitulés « Quelle méthode analytique WGS choisir en vue de l'investigation d'événements sanitaires ? Comparaison d'outils bio-informatiques en vue d'une validation et accréditation de méthode ». Anses, Maisons-Alfort, 15 octobre 2020.

François-Xavier Weill : Rapporteur de la thèse de Mathieu GAND (Development of a genoserotyping system for the identification of *Salmonella* serotypes), Université de Gand, Belgique, 19 mai 2020.

Stéphane Bonacorsi, Philippe Bidet, Aurélie Cointe et Patricia Mariani-Kurkdjian participent à l'enseignement aux Internes de Pédiatrie et de Biologie dans le cadre des staffs et des enseignements facultaires. P. Mariani participe au DIU de pathologie infectieuse pédiatrique sur la thématique des infections à EHEC. S. Bonacorsi a réalisé une formation sur les *E. coli* de pathogénicité intestinale dans différents hôpitaux de l'APHP. P. Bidet a réalisé une conférence au congrès de l'AFTLM sur les diagnostics syndromiques par PCR.

5.1.2 Accueil de stagiaires

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

La situation exceptionnelle causée par la pandémie à SARS-CoV-2 en mars 2020, et en cours à la fin de l'année 2020 a fortement impacté l'accueil de stagiaires, interdite par des raisons de sécurité et de santé publique pendant la période de mi-mars à juillet 2020, et pas assurée dans les mois suivants.

5.1.2.1 Liste des stagiaires au CNR-ESS en 2020 :

- Ibtissem BEN BRAHIM, étudiante en Master 2 Sciences de la vie et de l'environnement, stage du 20 janvier au 17 juillet 2020, sur l'analyse génomique des populations de *Salmonella* Typhi résistantes aux antibiotiques.
- Marguerite NIKIEMA, étudiante en thèse de l'Université de Ouagadougou, stage du 02 mars au 29 mai 2020, sur la caractérisation phénotypique et génotypique des souches de *Salmonella* non-Typhi et non-Paratyphi au Burkina Faso.
- Iman YASSINE, étudiante en thèse (Cotutelle internationale entre le Liban et la France), stage du 03 février au 15 août 2020, sur l'analyse génomique de la structure des populations de *Shigella*.
- Carolina SILVA NODARI, post-doctorante, arrivée le 02 novembre 2020 pour étudier l'émergence de la résistance aux antibiotiques chez les EPEC grâce à une analyse génomique des souches historiques européennes.
- Hilde ANGERMEIER, docteur en microbiologie, affectée au le projet : « Genomic investigation of annually re-occurring infections caused by *Salmonella enterica* serotype Napoli in France » du 2 au 13 mars puis du 4 mai au 31 juillet dans le cadre de son stage à l'Institut Pasteur avec sa bourse EUPHEM de l'ECDC.

5.1.2.2 Liste des stagiaires au LA-RD en 2020

- Aurélie COINTE, Thèse de Sciences, Université Paris Diderot, 2018-2021: « Analyse de la diversité des *Escherichia coli* de pathotype hybride, producteurs de Shiga toxine et associés à une virulence extra-intestinale »
- Etienne BIZOT, Master 2 Sciences du médicament "Parcours : "Microbiologie (bactéries, virus, parasites) : microbiotes, agents pathogènes et thérapeutiques anti-infectieuses". A réalisé la mise au point d'une PCR spécifique et d'un milieu spécifique pour rechercher le clone O80.
- Perrine SEE, Master 2, Sciences du médicament "Parcours : "Microbiologie (bactéries, virus, parasites) : microbiotes, agents pathogènes et thérapeutiques anti-infectieuses". Réalise une recherche sur le mécanisme physiopathologique des SHU à *E. coli* non producteurs de Shiga-toxine
- Aurore MOUSSIEGT, stage validant les DES de Maladies infectieuses a réalisé une analyse rétrospective sur 29 cas de méningite à *E. coli* chez des adultes, accepté à l'ECCMID 2021.

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

Les responsables du CNR-ESS aident les laboratoires nationaux à identifier les sérotypes de *Salmonella*, notamment en diffusant un guide dans lequel sont répertoriés tous les sérotypes connus avec leur formule antigénique complète. L'édition 2007 du schéma de White-Kauffmann-Le Minor par P.A.D. Grimont et F.X. Weill est accessible en version française sous forme d'un fichier pdf téléchargeable à l'adresse suivante :

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

Deux suppléments ont été publiés depuis :

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

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

La plupart des données de surveillance et des productions du CNR-ESS et du LA-RD (rapport annuel d'activité et publications) sont accessibles à tout public sur les sites internet respectifs :

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

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

Une mise à jour complète du site internet du CNR-ESS (Institut Pasteur) a été effectuée par les biologistes en décembre 2020.

5.1.5 Activités de conseil aux professionnels de santé

Toutes les informations concernant les modalités d'envoi des échantillons et les analyses réalisées sont également disponibles sur nos sites internet respectifs :

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

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

Les résultats des analyses sont envoyés au laboratoire ayant adressé la souche par courrier, une copie peut être envoyée par fax ou par courrier électronique sur demande du laboratoire.

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

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Le CNR-ESS et le CCOMS *Salmonella* participent au réseau Global Foodborne Infections Network de l'OMS, aux réunions et avis d'expertises pour l'ECDC et sont sollicités pour avis d'experts lors de saisines nationales. Pour 2020, nous avons participé aux activités suivantes :

María Pardos de la Gándara : Réunion 4th joint meeting on AMR for the FWD-Network and 14th EURL-AR Network : Réunion pour analyser les résultats des contrôles de qualité sur la détection des résistances aux antibiogrammes pour les salmonelles, et discuter les futures structures et démarches. Visioconférence, 28-29 avril 2020

María Pardos de la Gándara : Réunion de coordination du Rapid Outbreak Assessment (ROA) pour l'alerte EPIS-FWD UI-636-UK. Visioconférence, 16 septembre 2020.

María Pardos de la Gándara : Réunion Comité de Pilotage pour la « Journée *Salmonella* ». Visioconférence, 20 octobre 2020.

María Pardos de la Gándara : Réunion de coordination du Rapid Outbreak Assessment (ROA) pour l'alerte EPIS-FWD UI-644-UK. Visioconférence, 19 novembre 2020.

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

François-Xavier Weill, conférence (digitale) sur les salmonelloses pour les Grands donateurs de l'Institut Pasteur, Paris, France, 8 décembre 2020.

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

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

6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année 2020, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

6.1.1 Pour le CNR-ESS

François-Xavier Weill a été récipiendaire du Grand Prix Jean-Pierre Lecoq (catégorie sciences appliquées) de l'Académie des Sciences le 24 novembre 2020.

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

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

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

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

Méthodes : Microbiologie classique et WGS.

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

- **Etude phylogéographique des populations de *S. enterica* sérotype Paratyphi B** – F.-X. Weill, M. Pardos de la Gándara – collaboration avec le Royaume-Uni, l'Allemagne, l'Irlande, l'Australie, le Japon et les Etats-Unis.

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

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

Matériel : 500 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi B, isolées des différentes parties du monde entre 1898 et 2020, ont été séquencées au CNR-ESS ou par les laboratoires partenaires.

Méthodes : Microbiologie classique, WGS et bioinformatique.

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

- **Développement d'un outil génomique pour le sérotypage *in silico* des *Shigella*** – F.-X. Weill, S. Lefèvre, I. Yassine.

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

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

Matériel : 317 souches de la collection du CNR-ESS pour couvrir la diversité génétique des différents sérotypes et biotypes de *Shigella* et 3870 souches de routine ont été sérotypées, pour pouvoir comparer les données WGS aux données de sérotypage.

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

Cet outil, initialement développé à partir de séquences de type Illumina HiSeq[®], a nécessité une adaptation pour pouvoir être utilisé avec les séquences issues de la plateforme de séquençage P2M de l'Institut Pasteur (Illumina NextSeq 500[®]). En effet, plusieurs cibles du schéma d'identification des sérotypes de *Shigella* n'étaient pas bien détectées à cause d'un problème de sous-couverture des régions riches en A/T. Cet outil, basé sur plusieurs cibles (*rfb*, *fliC*, CRISPR, ST7) complété par le HierCC de cgMLST (HC2000, HC1100 et HC400), remplacera la séro-agglutination au CNR-ESS en 2021. Une publication a été soumise.

- **Établissement d'un dictionnaire lysotype/génotype pour *S. enterica* sérotype Typhi** – F.-X. Weill, M. Pardos de la Gándara, E. Njamkepo.

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

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

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

Méthodes : Microbiologie classique, WGS et bioinformatique.

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

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

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

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

Matériel : Plus de 1000 souches humaines et non humaines isolées en France, Italie et Suisse entre 1945 et 2020 ont été séquencées au CNR-ESS. Trois campagnes de prélèvement de batraciens et de reptiles sauvages ont été réalisées en 2019 et 2020 par Hilde Angermeier (stagiaire EUPHEM) pendant son stage.

Méthodes : Microbiologie classique, WGS et bioinformatique.

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

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

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

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

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

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

Le projet a été approuvé à la fin de 2019, et a démarré en janvier, avec une réunion organisée par le RVIM à Bilthoven, Pays-Bas, 14-16 janvier 2020.

Plus de six réunions ont eu lieu au long de l'année par visioconférence dans le cadre de l'étude ADONIS. Les séquences génomiques bactériennes ont été préparées et un MTA était en cours de signature par tous les partenaires pour le partage des séquences pour leurs analyses à la fin de 2020.

En 2020 une technicienne supérieure de recherche, Marie Accou-Demartin a été embauchée pour le projet. Un ingénieur de recherche, Lise Frézal a rejoint l'équipe de travail lors de son arrivée à l'Unité BPE en octobre 2020.

- **Projet “IR-Biotyper” pour tester la capacité du dispositif de spectrométrie Infra Rouge à Transformée de Fourier (FT-IR) pour différencier des souches isolées dans le cadre de cas groupés** – S. Lefèvre, M. Pardos de la Gándara, F.-X. Weill.

Une convention de prêt a été signée entre l'Institut Pasteur et la Société Bruker pour l'utilisation du lecteur de spectrométrie par infra-rouges pour l'identification et le typage bactérien. Le CNR-ESS va analyser 1 000 souches des genres *Salmonella* spp. et *Shigella* spp. issues de l'activité de surveillance et d'expertise du CNR-ESS. Plusieurs autres CNR vont également tester cette technologie pendant l'année de prêt.

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

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

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

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

Méthodes : Microbiologie classique, WGS et bioinformatique.

Ce travail a pour but de mieux comprendre la structure des populations et l'évolution de ces pathogènes notamment sur le plan de la résistance aux antibiotiques.

6.1.2 Pour LA-RD

6.1.2.1 *E. coli* intestinaux :

- **Caractérisation du clone émergent de EHEC O80:H2 *stx2*** (Thèse de Science : Dr Aurélie Cointe)
- **Mise au point d'outils spécifiques pour la détection de EHEC O80** : milieu et PCR spécifique (Aurélie Cointe, E Bizot)
- **Analyse de la prévalence du portage de EHEC dans la population générale des nourrissons de 6 à 24 mois.**
- **Participation au PHRC national ZYTHROSHU** : « Intérêt de l'azithromycine dans le traitement des syndromes hémolytiques et urémiques post diarrhée »
- **Participation à l'essai REBALANCE** : recherche de portage de *E. coli* producteurs de Shiga-toxines chez les donneurs de microbiote fécal

6.1.2.2 *E. coli* extra intestinaux (LA-RD) :

- **Unité INSERM 1137** : S. Bonacorsi et P. Mariani- Kurkdjian sont membres de l'équipe 2 de l'unité INSERM 1137 nouvellement créée en 2014. La thématique de l'unité porte sur *Escherichia coli* : épidémiologie de la résistance, étude des mécanismes de virulence avec des approches évolutives et de modélisation.
- **ANR** : soumission en 2020 d'un ANR accepté ayant pour objectif d'identifier des cibles vaccinales pour prévenir les infections néonatales à *E. coli* coordonné par le Pr D Skurnik et pour lequel le CNR est partenaire.

6.2 Liste des publications et communications de l'année 2020, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

6.2.1 Publications nationales

Néant

6.2.2 Publications internationales

1. Pulford CV, Perez-Sepulveda BM, Canals R, Bevington JA, Bengtsson RJ, Wenner N, Rodwell EV, Kumwenda B, Zhu X, Bennett RJ, Stenhouse GE, Malaka De Silva P, Webster HJ, Bengoechea JA, Dumigan A, Tran-Dien A, Prakash R, Banda HC, Alufandika L, Mautanga MP, Bowers-Barnard A, Beliavskaia AY, Predeus AV, Rowe WPM, Darby AC, Hall N, Weill FX, Gordon MA, Feasey NA, Baker KS, Hinton JCD. Stepwise evolution of *Salmonella* Typhimurium ST313 causing bloodstream infection in Africa. Nat Microbiol. 2020 Dec 21.
2. Cointe A, Birgy A, Pascault A, Louillet F, Dufougeray A, Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S. Be aware of Shiga-toxin 2f-producing *Escherichia coli*: case report and false-negative results with certain rapid molecular panels. Diagn Microbiol Infect Dis. 2020 Dec;98(4):115177.
3. Ktari S, Ksibi B, Ghedira K, Fabre L, Bertrand S, Maalej S, Mnif B, Rhimi F, Le Hello S, Hammami A. Genetic diversity of clinical *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in a university hospital of south Tunisia, 2000-2013. Infect Genet Evol. 2020 Nov;85:104436.
4. Payen M, Pardos de la Gándara M, Cointe A, Massiot A, Bidet P, Weill FX, Bonacorsi S. Diagnostic challenge of gastrointestinal infection due to lactose-fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar 4,5:i:- Diagn Microbiol Infect Dis. 2020 Oct;98(2):115105.
5. Cohen R, Madhi F, Levy C, Bonacorsi S. Treatment of Urinary Tract Infections Caused By ESBL-Producing Enterobacteriaceae: Have All Treatment Options Been Considered? Pediatr Infect Dis J. 2020 Aug;39(8):e216-e217
6. Caméléna F, Morel F, Merimèche M, Decousser JW, Jacquier H, Clermont O, Darty M, Mainardis M, Cambau E, Tenailon O, Denamur E, Berçot B; IAME Resistance Group. Genomic characterization of 16S rRNA methyltransferase-producing *Escherichia coli* isolates from the Parisian area, France. J Antimicrob Chemother. 2020 Jul 1;75(7):1726-1735.
7. Schwarz C, Brehon A, Mousseaux C, Luque Y, Senet P, Mariani P, Mohamadou I, Zafrani L, Frémeaux-Bacchi V, Rondeau E, Buob D, Rafat C. Ockham's razor defeated: about two atypical cases of hemolytic uremic syndrome. BMC Nephrol. 2020 Jul 11;21(1):269.
8. Castellanos LR, van der Graaf-van Bloois L, Donado-Godoy P, Veldman K, Duarte F, Acuña MT, Jarquín C, Weill FX, Mevius DJ, Wagenaar JA, Hordijk J, Zomer AL. Antimicrobial Resistance in *Salmonella enterica* Serovar Paratyphi B Variant Java in Poultry from Europe and Latin America. Emerg Infect Dis. 2020 Jun;26(6):1164-1173.

9. Dortet L, Bonnin RA, Le Hello S, Fabre L, Bonnet R, Kostrzewa M, Filloux A, Larrouy-Maumus G. Detection of Colistin Resistance in *Salmonella enterica* Using MALDIxin Test on the Routine MALDI Biotyper Sirius Mass Spectrometer. *Front Microbiol.* 2020 Jun 3;11:1141.
10. Goeller C, Desmarest M, Garraffo A, Bonacorsi S, Gaschignard J. Management of Febrile Urinary Tract Infection With or Without Bacteraemia in Children: A French Case-Control Retrospective Study. *Front Pediatr.* 2020 May 28;8:237
11. Sévellec Y, Granier SA, Le Hello S, Weill FX, Guillier L, Mistou MY, Cadel-Six S. Source Attribution Study of Sporadic *Salmonella* Derby Cases in France. *Front Microbiol.* 2020 May 14;11:889.
12. Robinson E, Travanut M, Fabre L, Larréché S, Ramelli L, Pascal L, Guinard A, Vincent N, Calba C, Meurice L, Le Thien MA, Fourgere E, Jones G, Fournet N, Smith-Palmer A, Brown D, Le Hello S, Pardos de la Gandara M, Weill FX, Jourdan-Da Silva N. Outbreak of *Salmonella* Newport associated with internationally distributed raw goats' milk cheese, France, 2018. *Epidemiol Infect.* 2020 May 4;148:e180.
13. Cointe A, Birgy A, Bridier-Nahmias A, Mariani-Kurkdjian P, Walewski V, Lévy C, Cohen R, Fach P, Delannoy S, Bidet P, Bonacorsi S. *Escherichia coli* O80 hybrid pathotype strains producing Shiga toxin and ESBL: molecular characterization and potential therapeutic options. *J Antimicrob Chemother.* 2020 Mar 1;75(3):537-542.
14. Joseph A, Cointe A, Mariani Kurkdjian P, Rafat C, Hertig A. Shiga Toxin-Associated Hemolytic Uremic Syndrome: A Narrative Review. *Toxins (Basel).* 2020 Jan 21;12(2):67.
15. Denamur E, Clermont O, Bonacorsi S, Gordon D. The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol.* 2021 Jan;19(1):37-54.
16. Birgy A, Madhi F, Jung C, Levy C, Cointe A, Bidet P, Hobson CA, Bechet S, Sobral E, Vuthien H, Ferroni A, Aberrane S, Cuzon G, Beraud L, Gajdos V, Launay E, Pinquier D, Haas H, Desmarest M, Dommergues MA, Cohen R, Bonacorsi S; Group of the National Observatory of Urinary tract Infection due to ESBL-producing Enterobacteriaceae in children. Diversity and trends in population structure of ESBL-producing Enterobacteriaceae in febrile urinary tract infections in children in France from 2014 to 2017. *J Antimicrob Chemother.* 2020 Jan 1;75(1):96-105

6.2.3 Communications nationales

Néant

6.2.4 Communications internationales

Néant

6.2.5 Conférences sur invitations

Néant

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

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

7.1 Salmonella

Le CNR-ESS poursuit sa collaboration avec les laboratoires de l'Anses, en particulier l'unité caractérisation et épidémiologie bactérienne de Maisons-Alfort et le LNR *Salmonella* à Ploufragan. Le CNR-ESS apporte son expertise sur le sérotypage et au transfert de nouvelles technologies à ces laboratoires et participent conjointement aux investigations épidémiologiques. Depuis 2018, le CNR-ESS a incité l'Anses à utiliser le portail EnteroBase pour l'analyse des génomes par l'approche cgMLST. Cela a permis d'établir pour certaines épidémies le lien entre les cas humains et les aliments suspectés d'en être à l'origine, comme pour l'épidémie à *S. enterica* sérotype Enteritidis ST11, HC5_146173, issu d'une alerte internationale UI-644-UK et liée à trois alertes alimentaires RASFF : 2018.1911, 2020.3237 et 2020.3868. Dans le **Tableau 33** et **Tableau 34** la colonne « souche alimentaire » permet de voir pour quelles épidémies la souche alimentaire contaminée a été trouvée.

Le CNR-ESS est parfois sollicité pour avis d'experts sur certaines saisines ou autres projets de révisions des normes européennes en lien avec la directive 2033/99/CE.

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

7.2 Escherichia coli

Une collaboration a été engagée et se poursuit avec les réseaux nationaux en charge de la surveillance des STEC, l'ENV-Lyon (LNR) et l'Anses-LERQAP Maisons-Alfort pour des études ponctuelles sur les STEC, dans les aliments, chez l'animal et dans l'environnement avec échange et comparaison de souches.

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

Pour le séro groupe O80, une collaboration est actuellement en cours avec le LNR pour une recherche approfondie de ce séro groupe. La mise en application des deux outils développés par le LA-RD (milieu et PCR spécifiques du O80) va ainsi permettre de cribler un échantillonnage large des différentes matrices alimentaires.

Programme d'activité pour les années suivantes

8 Programme d'activité pour les années suivantes

8.1 Apporter une expertise microbiologique

8.1.1 Infections à *E. coli*

8.1.1.1 Infections à *E. coli* entéro-hémorragiques (CNR-ESS et LA-RD)

Depuis le 1^{er} avril 2017, conformément aux missions définies par le décret n°2016-806 du 16 juin 2016 pour le mandat 2017-2022 (<http://Santé publique France.santepubliquefrance.fr/>), l'activité *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC) se réorganise comme suit :

- **L'arrêt définitif** de la recherche des anticorps anti-LPS des principaux sérogroupes d'EHEC (O26, O55, O91, O103, O111, O128, O145, O157, O80 et O104) dans le sérum. Cette technique à visée épidémiologique n'était pas validée en diagnostic. Aucune technique sérologique alternative n'existe par ailleurs.
- **L'isolement et l'identification des EHEC sur souches et sur prélèvements biologiques, et ce quel que soit l'âge du patient (adulte ou enfant), sont désormais exclusivement réalisés sur le site du LA-RD** : isolement des souches, sérotypage par PCR et recherche par PCR des gènes de virulence : les gènes des Shiga-toxines *stx1* et *stx2*, le gène de l'adhésine intimine *eae* et le gène de l'enterohémolysine *hlyA* ou *ehxA* sur souches bactériennes et dans les selles. **En 2020**, le LA-RD a mis au point une PCR en temps réel spécifique du séro groupe O80 ainsi qu'un milieu spécifique pour l'isolement des souches O80.
- **Le séquençage du génome entier** de toutes les souches de *E. coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) isolées par le LA-RD est ensuite effectuée à l'**Institut Pasteur**. L'analyse des séquences est réalisée par le **CNR-ESS** et permet un typage et un sous-typage fin des souches ainsi que la détection des gènes de virulence et de résistance dans le cadre de la surveillance et de la détection des clusters épidémiques d'infections à EHEC.

Le CNR-ESS et le LA-RD poursuivent leur travail d'information et de formation auprès des LBM et de tous les biologistes.

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

- **Développement et mise en œuvre des techniques de typage et de génotypage des souches. Distinction des souches responsables de cas groupés de celles responsables de cas sporadiques et affiliation des souches aux différents clones**
- Génotypage des *E. coli* responsables de méningite néonatale (ECMN). Le LA-RD continuera à caractériser les souches d'infections extra-intestinale par leur appartenance à un groupe phylogénétique, par leur empreinte de virulence et par leur antigène somatique à l'aides des PCR multiplexes mise au point au laboratoire.

Pour aller plus avant dans la caractérisation des souches et afin de mieux détecter des clones épidémiques ou hyper-virulents éventuels, le LA-RD va mettre en œuvre le séquençage des souches d'ExPEC en particulier lorsqu'il s'agit de tableaux cliniques particulièrement sévères ou lors de cas groupés.

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

Le LA-RD apportera une expertise pour l'aide au diagnostic des méningites néonatales décapitées par une antibiothérapie par la réalisation de PCR spécifiques vis-à-vis de *E. coli* et le cas échéant, vis-à-vis d'autres bactéries responsables de méningites néonatales. Le laboratoire a acquis une expérience en matière de diagnostic par PCR des méningites décapitées (Negre *et al.* Infect Immun. 2004). Le LA-RD évalue actuellement une PCR triplex mise au point au laboratoire et basée sur trois cibles qui permettent de détecter 100% des souches responsables de méningite en France.

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

Le LA-RD continuera à étudier la sensibilité des souches de *E. coli* intestinaux et extra-intestinaux aux principales familles d'antibiotiques. En particulier la résistance à l'amoxicilline, l'amoxicilline/acide clavulanique, la céfotaxime, les aminosides et la ciprofloxacine sera étudiée par la méthode de l'antibiogramme et la détermination des CMI pour l'azithromycine. Ces techniques sont réalisées quotidiennement au laboratoire. La prévalence de la résistance pour chacun de ces antibiotiques pourra être ainsi déterminée.

L'évolution de la résistance à l'azithromycine est actuellement préoccupante et l'analyse des séquences des souches résistantes va être investiguée pour en déterminer le support génétique.

8.1.2 Infections à *Shigella*

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

L'analyse de toutes les souches de *Shigella* par WGS est désormais effectuée en routine au CNR-ESS. Cette méthodologie est à ce jour utilisée dans le cadre d'investigations d'épidémies. La finalisation des outils d'analyse bioinformatique (**voir le paragraphe 3.1.1 Évolutions des techniques**) permettra de l'utiliser dans le cadre de la surveillance de routine dès la fin de l'année 2021. Cela conduira à l'arrêt de l'identification biochimique et du sérotypage des *Shigella*.

8.1.3 Infections à *Salmonella*

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

Le WGS est désormais utilisée en routine comme technique de typage de première intention sur toutes les souches de *Salmonella*. Les outils développés permettent d'inférer le sérotype d'une souche à partir de différentes cibles génomiques comme les gènes des deux flagellines, les sept gènes du MLST, la mutation sur gène de la déhydrase du d-tartrate (dTar-) et les espaceurs CRISPR.

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

Les séquences des sérotypes génétiquement homogènes ou issues d'une investigation épidémiologique continueront à être soumises sur Enterobase pour le suivi des populations par l'approche cgMLST. Lors des investigations d'alertes internationales sur EPIS-FWD, un génome représentatif des épidémies sera aussi déposé sur EBI/ENA pour disponibilité immédiate aux autres laboratoires participant du réseau.

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

Le CNR-ESS réalisera comme chaque année l'analyse de la sensibilité aux antibiotiques à l'aide de méthodes standardisées comme des antibiogrammes en milieu gélosé (disques BioRad, Marnes-la-Coquette) ou la détermination des CMI par microdilution (Sensititre®, Trek), suivant les recommandations du CA-SFM-EUCAST, sur une collection d'environ 10 % des souches de *Salmonella* des sérotypes mineurs, ainsi que sur toutes les souches des sérotypes majeurs.

L'identification des mécanismes de résistance aux antibiotiques clés dans le traitement des salmonelloses sévères, à savoir la ciprofloxacine, les céphalosporines de 3ème génération (C3G), les carbapénèmes, l'azithromycine et la colistine, sera toujours réalisée.

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

Le CNR-ESS continuera à utiliser en routine hebdomadaire le programme de détection basé sur les trois algorithmes et développé par Santé publique France. Un algorithme basé sur des données génomiques (MLST, CRISPOL, cgMLST) pourra être développé quand il y aura une certaine accumulation de données de WGS.

8.2 Contribuer à la surveillance épidémiologique et l'alerte, en lien avec Santé publique France

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

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

- Les foyers de cas groupés à un même groupe de EHEC, de *Shigella* et/ou de *Salmonella* (épidémies familiales, hospitalières, scolaires, crèches, toxi-infections alimentaires collectives, infections collectives) signalées au CNR-ESS et au LA-RD par les laboratoires correspondants, ou identifiés par le CNR-ESS et le LA-RD.
- Tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles...), apparition de souches inhabituelles.

Le CNR-ESS va poursuivre son envoi hebdomadaire à Santé publique France, des déclarations obligatoires (identification de sérotypes majeurs de *Salmonella* spp.) et des foyers de cas groupés notifiés par les laboratoires de son réseau ainsi que les différents relevés épidémiologiques habituels.

Le CNR-ESS et LA-RD vont notamment poursuivre leur expertise microbiologique en collaboration avec Santé publique France (pour le choix des souches épidémiques ou non épidémiques), l'ENV-Lyon (LNR) et l'Anses- LERQAP Maisons-Alfort (pour analyser en parallèle les souches représentatives d'origine alimentaire).

Lors de la survenue d'une épidémie, le CNR-ESS et LA-RD réaliseront rapidement un typage le plus discriminant possible (adapté en fonction du sérotype en cause) afin de différencier les cas épidémiques et non épidémiques et de comparer des souches isolées chez les malades et dans d'autres sources, en particulier alimentaire, que ce soit au niveau national ou international. Ainsi, lors des phases initiales de l'investigation d'une épidémie, le CNR-ESS pourra être amené à réaliser un sérotypage, de façon à confirmer le plus rapidement possible les cas en vue de leur interrogatoire. Ces sérotypages préliminaires seront confirmés et complétés par la suite avec les résultats du séquençage par WGS.

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

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

Une collaboration a été engagée et se poursuivra avec les réseaux nationaux en charge de la surveillance comme le Centre hospitalo-universitaire vétérinaire de VetAgro Sup à Lyon (Dr Delphine Sergentet) et l'Anses à Maisons-Alfort ou pour des études ponctuelles sur les STEC, dans les aliments, chez l'animal et dans l'environnement avec échange et comparaison de souches.

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

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

Le CNR-ESS et LA-RD participent depuis plusieurs années au réseau européen de surveillance Enter-Net devenu ECDC-FWD qui est chargé de la surveillance internationale des infections gastro-intestinales humaines (*E. coli* entérohémorragiques, salmonelles, shigelles...). Le CNR-ESS et LA-RD participent chaque année à des contrôles qualité externes internationaux de souches de STEC et de *Salmonella* organisés par ce réseau. Par ailleurs, le CNR-ESS et LA-RD transmettent leurs données annuellement via Santé publique France à ce réseau européen et répondent aux demandes d'informations qui lui sont adressées par l'ECDC-FWD ou par d'autres réseaux comme l'EFSA. Cette collaboration sera maintenue en 2021.

- **En collaborant aux activités des réseaux de surveillance internationaux et en particulier européen notamment dans le cadre de l'application de la directive 2003/99/CE**

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

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

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

Annexes

ANNEXE 1 : Missions et organisation du CNR

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

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

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

Pour les E. coli responsables d'infections digestives :

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

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

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

Pour les Shigella (CNR-ESS):

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

Toutes ces missions sont possibles grâce à une collaboration avec de nombreux hôpitaux et laboratoires répartis dans toute la France et à un partenariat étroit avec Santé publique France.

Pour les Salmonella (CNR-ESS) :

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

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

A1.2.1 Le CNR-ESS : Effectif / Qualification du Personnel

- Effectif par catégories de fonctions

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

ETAT DES EMPLOIS DESTINES A L'ACTIVITE DU CNR

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

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

* Partie en retraite en avril 2020

- *Les responsables scientifiques*

François-Xavier Weill

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

Sophie Lefèvre

Docteur en pharmacie, DES de Pharmacie spécialisée, Doctorat d'Université de Microbiologie, ancienne Assistante Hospitalier Universitaire (Strasbourg).

María Pardos de la Gándara

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

- *Le personnel technique*

➤ **Techniciens effectuant les analyses :**

- **Laëtitia Fabre**, Ingénieure de Recherche, Doctorat d'Université de Microbiologie, arrivée au CNR-ESS en juillet 2002.
- **Véronique Guibert**, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CNR-ESS en avril 1995.
- **Corinne Ruckly**, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CNR-ESS en février 2011.
- **Monique Lejay-Collin**, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CNR-ESS en novembre 1987.
- **Isabelle Carle**, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CNR-ESS en octobre 1988.
- **Estelle Serre**, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CNR-ESS en septembre 2016.
- **Magali Ravel**, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CNR-ESS en février 2016.
- **Brigitte Chavinier-Jové**, technicienne supérieure de recherche, en renfort au CNR-ESS depuis 2014, partie en retraite fin avril 2020.

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

- **Chantal Demoën**, technicienne de recherche, arrivée au CNR-ESS en mars 2015.

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

- **Sylvie Issenhuth-Jeanjean**, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CNR-ESS en octobre 1987.

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

- **Brigitte Chavinier-Jové**, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CCOMS en 2004, partie en retraite fin avril 2020.

- *Le personnel administratif*

- **Carole Gaston**, secrétaire du CNR-ESS, arrivée au CNR-ESS en novembre 2016.

- **Florence Juglas**, assistante de l'unité BPE, arrivée en mars 2018.

A1.2.2 Le laboratoire associé (LA-RD): Effectif / Qualification du Personnel

- Effectif par catégories de fonctions

Nom - Prénom	Libellé Emploi	ETP
M. BONACORSI Stéphane	PU-PH	0,2
Mme MARIANI-KURKDJIAN Patricia	Pr associé - PH	0,2
Mr BIDEF Philippe	MCU-PH	0,1
Mme COINTE Aurélie	AHU	0,1
Mme LIGUORI Sandrine	ARC	1

A1.3 Les locaux et équipements

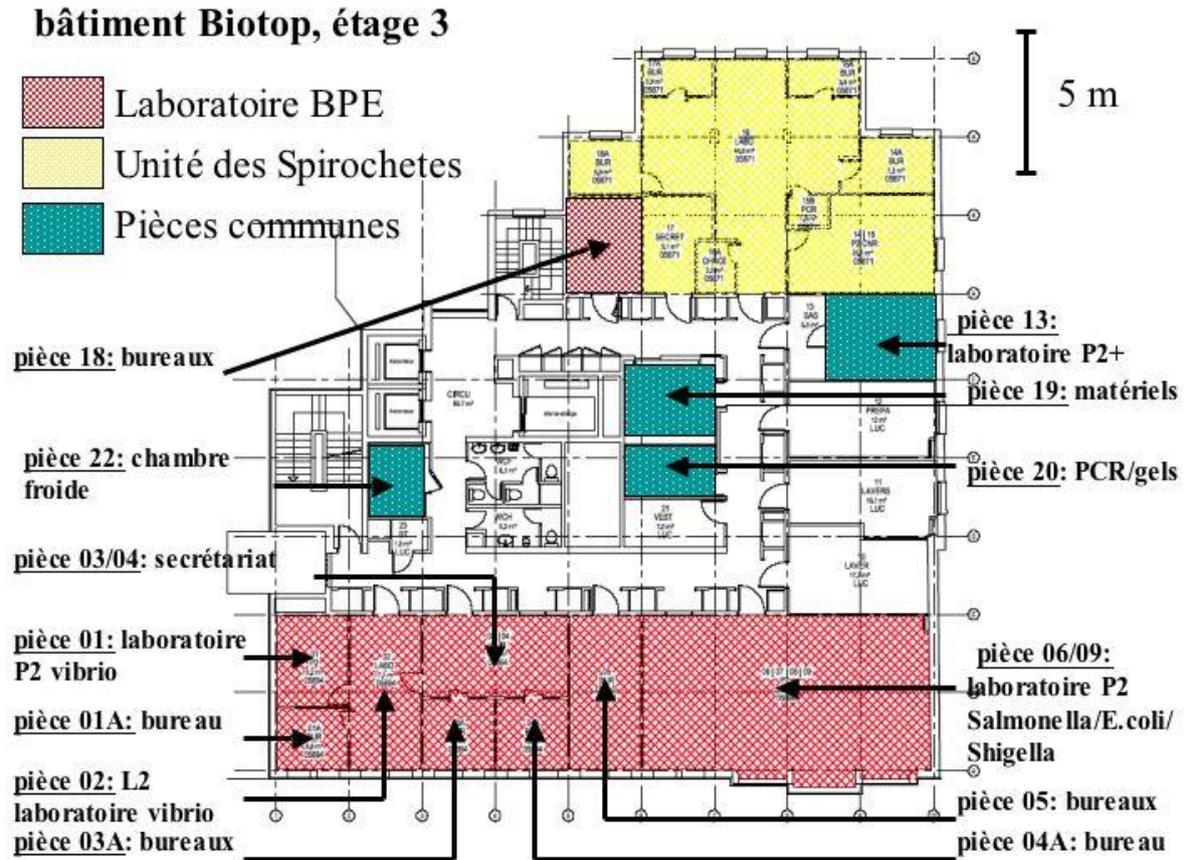
A1.3.1 CNR-ESS (Institut Pasteur)

Le CNR-ESS, le CNR des Vibrions et du choléra, le CCOMS des *Salmonella* font partie de l'Unité d'Expertise et de Recherche des Bactéries Pathogènes Entériques dont les locaux se situent principalement au 3^e étage du bâtiment Biotop et dans quelques pièces situées 1^{er} et au 4^e étage de ce bâtiment.

Au 3^e étage, les activités du CNR-ESS ont lieu dans les pièces suivantes :

- Pièces bureaux : directeur du CNR (pièce 4a), 2 directeurs adjoints (pièce 3a), 2 secrétaires (pièce 03/04), 8 techniciennes (pièce 5), 3 technicien(ne)s, 3 stagiaires et 1 bureau de biologiste (pièce 11) et 1 technicienne, 2 postes stagiaires partagés avec 1 technicien et 1 stagiaire du CNR Choléra (pièce 18) avec un ordinateur par personne.
- Laboratoire P2 avec 2 PSM (pièce 06/07/08/09) de 72.8m² avec 12 paillasse dont 6 sont dédiées à l'activité *Salmonella* (5 techniciennes + 1 stagiaire), pour le sérotypage, la détermination de la résistance aux antibiotiques et les amplifications géniques (PCR) et le WGS (PSM). Les autres paillasse se répartissent en 4 pour l'activité *E. coli/Shigella* et 2 pour le CCOMS *Salmonella*,
- Laboratoire P2+ de 13,5 m² pour l'analyse des souches STEC.
- Trois autres pièces climatisées partagées avec l'unité postulante des Spirochètes et les 3 CNR de l'UBPE : une pièce de 11,6 m² où se trouvent les agitateurs Infors, les 2 congélateurs à -80°C et l'ultracentrifugeuse, une pièce, une pièce de 7,5 m² dédié comme îlot déchet et une pièce de 16,1 m² où se trouvent les appareils d'électrophorèse, les extracteurs ADN, la machine à glace et l'appareil d'acquisition d'image de gels Geldoc.

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



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

Pendant l'été 2019, des travaux ont été réalisés pour transformer le laboratoire du 4e étage en deux pièces distinctes pour créer un bureau de six personnes tout en conservant une partie laboratoire. Le bureau créé, attenant au bureau 4A, est destiné à l'accueil des stagiaires (étudiants de master, de doctorat, collaborateur du RIIP...). En 2020 il comprenait cinq postes informatiques fonctionnels.

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

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

1 lecteur de spectrométrie IR-Biotyper de chez Bruker, installé en décembre 2020 et pendant un an, pour l'étude IR-Biotyper en collaboration entre l'Institut Pasteur et Burker (voir point 6.1.1. Activités de recherche en cours lors de l'année 2020, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR).

- 1 séquenceur pour ADN MinIon
- 1 fluorimètre Qbit

Au 1^{er} étage, l'Unité BPE possède des locaux partagés avec le CNR des Leptospires (Unité des Spirochètes). Depuis 2019 ces locaux sont également partagés avec les CNR corynebactéries et Bordetella. Ces locaux de 33 m² ont été aménagés pour un circuit de marche en avant pour réaliser de la PCR diagnostique. La mise en place d'une marche en avant permettant d'envisager l'accréditation COFRAC de ces méthodes de diagnostic selon la norme NF EN ISO 15189 dans les meilleures conditions. Ces laboratoires ont été initialement équipés par les deux premières unités.

Matériel, équipement du CNR-ESS :

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

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

Moyens extérieurs à la structure :

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

A1.3.2 LA-RD

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

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

Matériels et Équipements de la structure actuelle :

Matériel appartenant au laboratoire :

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

En commun :

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

Moyens extérieurs à la structure :

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

A1.4 Collection de matériel biologique

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

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

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

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

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

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

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

A1.5 Démarche qualité

A1.5.1 Démarche qualité du CNR-ESS

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

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

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

- La Direction aux Ressources Techniques et à l'Environnement et son Service Qualité, Environnement et Développement Durable (QEDD) qui apporte ses ressources et son expertise dans l'accompagnement du projet d'accréditation ISO 15189 du LREMS (certifié ISO 9001 v 2015)
- La Direction des Affaires médicales et de Santé Publique ;
- Et la Coordination des Centres Nationaux de Référence de l'Institut Pasteur.

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

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

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

Le CNR-ESS a été accrédité en 2018 par le COFRAC, pour la technique de « Détection des gènes codant les Shiga-toxines Stx1 et Stx2 chez *Escherichia coli* par un système de PCR multiplex en point final. ». Suite à la **nouvelle organisation du CNR-ESS et du LA-RD** dans le mandat 2017-2022, il s'avère que cette technique de PCR n'est plus utilisée au sein du CNR-ESS. Le diagnostic de première et deuxième intention des STEC est désormais strictement effectué par le LA-RD, qui transmet les souches confirmées au CNR-ESS. Le CNR-ESS effectue alors le séquençage complet du génome des souches du LA-RD. L'analyse des séquences génomiques permet la détection et la surveillance des épidémies (**voir Annexe 2**). Le CNR-ESS ne souhaitant pas maintenir de compétences sur la technique de PCR diagnostique dans un cadre de surveillance a donc entrepris une **demande de retrait d'accréditation** présentée au cours de l'audit COFRAC d'octobre 2020 (Evaluation du Renouvellement n° SH-20-0153). Suite à cette dernière évaluation, **le COFRAC a mis à jour l'attestation d'accréditation du LREMS de l'Institut Pasteur (voir dossier d'accréditation n°8-2588 rév.13) en résiliant la ligne de portée concernant notre technique (pour la période 01/02/2021 à 31/10/2025).**

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

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

Engagement du CNR-ESS dans une démarche qualité :

Bien que le CNR-ESS ne demande plus le maintien de l'accréditation par le COFRAC, la démarche du système qualité mis en place est conservée, en terme organisationnel, de gestion et traçabilité du matériel, des réactifs et des consommables, et de gestion des échantillons.

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

Évaluation externe de la qualité :

En 2020, le CNR-ESS a participé comme chaque année, aux **contrôles de qualité externe européens proposés par l'ECDC** via le Statens Serum Institut (Copenhague, Danemark), pour *Salmonella* (EQA6-AST et EQA11-clustering) et pour STEC (EQA10-Serotypage O et H, détermination des gènes de virulence et analyse de clusters génomiques).

Reconnaissance du laboratoire par des instances nationales et internationales :

L'Unité BPE a été désignée le 15 octobre 2018 par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme Centre Collaborateur de l'OMS pour le typage et l'antibiorésistance des *Salmonella*. Ce centre dirigé par François-Xavier Weill a pour principales missions : la mise à jour du Schéma de White-Kauffmann-Le Minor, le soutien des programmes de l'OMS concernant l'antibiorésistance et des activités de recherche. Le CCOMS participe comme organisateur du Contrôle de Qualité Externe international du réseau de l'OMS, GFN.

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

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

A1.5.2 Démarche qualité du LA-RD

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

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

Évaluation externe de la qualité : le LA-RD participe également chaque année aux contrôles de qualité externe européens proposés par l'ECDC via le Statens Serum Institut (Copenhague, Danemark).

ANNEXE 2 : Capacités techniques du CNR

A2.1 Pour *Salmonella*

A2.1.1 Liste des techniques de référence

A2.1.1.1 Des techniques classiques d'identification du genre, des espèces et des sous-espèces de *Salmonella*

Bactériologie classique

- **Culture sur différents milieux** (Drigalski, TSA, BCP, XLT4, Hektoen, Kligler–Hajna, Mannitol-Mobilité).
- **Tests biochimiques** réalisés en macro-galerie : Fermentation du Lactose, du Mannitol, du Dulcitol, du Rhamnose, du Xylose, du Mucate, du Citrate de Christensen, de l'Acétate de Trabulsi et du Glycérol. Production de Gaz/Glucose, de Gaz/Mannitol, de sulfure d'hydrogène (H₂S), et de la tétrathionate réductase (TTR). Activité Lysine décarboxylase (LDC), Ornithine décarboxylase (ODC), tryptophanase (Indole), bêta-galactosidase (ONPG) et bêta-glucuronidase. Culture sur Citrate de Simmons. Lyse par le phage 01. Possibilité de réalisation de micro-galerie (API 20E, BioMérieux).

Le séquençage complet du génome (WGS)

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

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

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

Des techniques de spectrométrie de masse

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

A2.1.1.2 Des techniques d'identification des sérotypes

Le sérotypage classique par agglutination

Il nécessite l'emploi d'environ 200 antisérums (polyvalents et monovalents) polyclonaux absorbés, préparés chez le lapin. Le 1/3 des sérums est d'origine commerciale (principalement BioRad et Statens Serum Institut), le reste est préparé dans l'UBPE. Le **sérotypage classique par agglutination** reste la méthode de typage de référence des *Salmonella* (ISO/TR 6579-3). Le sérotypage permet de différencier les souches de *Salmonella* en plus de 2 600 sérotypes (Issenhuth-Jeanjean *et al.* Res Microbiol 2014).

Le (séro)typage moléculaire

Quatre techniques permettent de compléter le typage ou de suppléer le sérotypage classique :

- **L'analyse MLST** (Multilocus sequence typing). Cette méthode est basée sur l'analyse de la séquence de 7 gènes conservés (dits gènes de ménage) après amplification génique (Achtman *et al.*, PloS Pathogens 2012). Les résultats sont partagés avec la communauté scientifique par l'intermédiaire du site *Salmonella enterica* MLST Database hébergée à la Warwick Medical School (Warwick, RU) : <http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/dbs/Senterica>.
- **Le séquençage des gènes de flagellines *fliC* et *fliB***. Cette méthode se base sur l'analyse des gènes codant pour les 2 phases flagellaires de *Salmonella*.
- **La détection du gène responsable de l'antigène O:5** dans la région *rfb*, chez le sérotype Typhimurium et son variant monophasique.
- **Le séquençage du gène de la déhydrase du d-tartrate** pour détecter la mutation ponctuelle responsable du phénotype « dt+ » et « dt- » chez *Salmonella enterica* sérotype Paratyphi B.

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

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

A2.1.1.3 Des techniques de sous-typage des *Salmonella* :

- **L'électrophorèse en champ pulsé** (Pulsed-Field Gel Electrophoresis, PFGE) à l'aide de différentes endonucléases (méthode standardisée et de référence PulseNet, accessible à <http://www.cdc.gov/pulsenet/>).
- **L'analyse MLVA** (Multi Locus VNTR (variable numbers of tandem repeats Analysis) pour les sérotypes Typhimurium et son variant monophasique (méthode standardisée et harmonisée depuis 2011). Des schémas MLVA pour les sérotypes Enteritidis, Derby, Dublin, Typhi, Paratyphi A et Newport existent et sont en cours de validation et/ou harmonisation.
- **La méthode CRISPOL, méthode de sous-typage à haut débit** de *S. enterica* sérotype Typhimurium et de ses variants monophasiques **basée sur** le polymorphisme des régions CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) par séquençage. Plus de 900 CRISPOL types différents ont été décrits par cette méthode. Cette méthode originale a été mise au point au CNR-ESS (Fabre *et al.*, PloS One 2012).

- Le Hierarchical clustering appliqué au cgMLST (**HierCC-cgMLST**). Depuis octobre 2018, les sérotypes prévalents ayant une forte homogénéité génétique (Typhimurium-ST19, son variant monophasique-ST34, Enteritidis-ST11) et les sérotypes impliqués dans des épidémies d'envergure (Poona-ST308, Dublin-ST10, Mikawasima-1815) sont sous-typés en temps réel par la méthode cgMLST (pour core genome MLST) développée par l'équipe du Professeur Mark Achtman, avec qui nous avons collaboré sur de nombreux projets, au sein du site EnteroBase (<https://EnteroBase.warwick.ac.uk>). Cette méthode consiste à déterminer la séquence de 3 002 gènes non dupliqués et présents chez la très grande majorité des *Salmonella* et pour lesquels il n'y a pas de phénomène de recombinaison génétique. La séquence de chaque gène définira un allèle et la combinaison des 3 002 allèles définira un type cgMLST. Grâce à des techniques comme le 'hierarchical clustering' (HC), les souches sont regroupées ensemble si elles sont apparentées génétiquement, par exemple celles qui vont ne se différencier que par moins de 5 allèles sur les 3 002 du schéma de cgMLST (HC5). Cela permet de classer chaque souche suivant une nomenclature (code numérique de 1 jusqu'à l'infini ; ex HC5_14775) standardisée et unique. Plusieurs autres seuils peuvent être également utilisés comme HC0, HC2, HC10, HC20, HC50, HC100... et pour chaque seuil une nomenclature est disponible. Pour chaque souche de *Salmonella* sous-typée par cgMLST (2 055 pour 2019 ; 1 1659 depuis septembre 2018) les résultats HC5, HC10, HC20 et HC50 sont communiqués hebdomadairement à Santé publique France. Cette approche a facilité la surveillance et l'échange des informations entre institutions nationales (Institut Pasteur, Santé publique France et Anses) et avec les institutions internationales (ECDC, et les institutions de surveillance des salmonelles dans le réseau EPIS-FWD) dans le cadre des alertes européennes.
- **Phylogénie basée sur les SNP**. En cas d'un excès de cas liés à un même cluster cgMLST, une confirmation est toujours réalisée par une deuxième approche qui est une analyse de la distance génétique basée sur les mutations ponctuelles de l'ADN ou SNP (pour single nucleotide polymorphisms) des souches bactériennes. Cette analyse des SNP peut être réalisée sur EnteroBase ou par des outils développés au CNR-ESS.

A2.1.1.4 Des techniques d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des *Salmonella*

- **L'antibiogramme** par diffusion en milieu gélosé de 16 à 32 antibiotiques testés (suivant les dernières recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) et la détermination de la CMI par la méthode E-test® (BioMérieux®).
- **L'antibiogramme** par microdilution dans un volume de 50µl sur plaques à 96 puits Sensititre® (BioMérieux®), suivant les dernières recommandations de l'EUCAST et de la SFM.
- **L'étude des mécanismes de résistance aux antibiotiques** (caractérisation des gènes de résistance, de leur environnement génétique et de leur support). Depuis l'utilisation du WGS pour le sous-typage, la totalité des gènes de résistance acquis et des mutations connues sur des gènes chromosomiques (*gyrA*, *parC*) est détectée en utilisant l'outil Resfinder, du site Center for Genomic Epidemiology (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>), ou par son intégration dans les scripts développés au CNR-ESS.

A2.1.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Le **sérotypage** des souches doit être réalisé conformément au schéma de White-Kauffmann-Le Minor (WKL) (9^{ème} édition 2007), maintenu par le CCOMS (dirigé par les responsables du CNR-ESS). La demande d'un schéma WKL en format pdf se faisant en écrivant à l'adresse whosalm@pasteur.fr (prière de mentionner les coordonnées professionnelles) ou téléchargeable en version française à l'adresse <https://www.pasteur.fr/fr/file/3184/download?token=5-WekyPv>.

Le sous-typage par **électrophorèse en champ pulsé** doit être réalisé à l'aide d'un protocole standardisé sur le plan international (protocole PulseNet disponible à <http://www.cdc.gov/pulsenet/>). Des renseignements techniques sont disponibles auprès des responsables du CNR-ESS. Cette analyse n'est plus réalisée qu'exceptionnellement. Elle est remplacée par le WGS. L'**analyse MLVA** pour le sérotype Typhimurium et Enteritidis est standardisée et harmonisée. Cette analyse n'est plus réalisée qu'exceptionnellement. Elle est remplacée par le WGS.

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

Le **séquençage des génomes entier (WGS)** des *Salmonella* est utilisé en routine au CNR-ESS (Institut Pasteur, Paris). Il permet d'extraire le sérotype moléculaire (MLST + séquence *fliC* et *fljB*), le CRISPOL-type des populations de Typhimurium et son variant monophasique, le contenu en gènes de résistance, le contenu en plasmides ainsi que d'en connaître leur replicon-type. Il permet aussi les analyses microbiologiques les plus fines par cgMLST ou analyse de SNP, en utilisant les méthodologies les plus adaptées à l'investigation.

A2.2 Pour *Shigella*

A2.2.1 Liste des techniques de référence

A2.2.1.1 Techniques d'identification des *Shigella*/EIEC

Bactériologie classique (utilisée en routine au CNR-ESS)

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

- **Tests biochimiques** réalisés en macro-galerie: fermentation du Lactose, du Mannitol, du Dulcitol, du Rhamnose, du Xylose et du Glycérol. Production d'o-nitrophenyl-beta-D-galactopyranoside (ONPG), de Gaz/Glucose, de Gaz/Mannitol, de sulfure d'hydrogène (H₂S), et de la tétrathionate réductase (TTR). Activité Lysine décarboxylase (LDC), Ornithine décarboxylase (ODC), tryptophanase (indole) et bêta-glucuronidase. Possibilité de réalisation de micro-galerie (API 20E, BioMérieux).

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

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

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

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

Le sérotypage classique par agglutination permet d'identifier 20 sérotypes de *S. boydii*, 17 sérotypes de *S. dysenteriae* et 6 sérotypes de *S. flexneri*. Les souches de *S. sonnei* sont ensuite divisées en 5 biotypes en fonction des caractères biochimiques. Les antisérums utilisés sont commercialisés par Eurobio ou Sifin, quelques antisérums spécifiques peuvent être fabriqués chez le lapin dans l'Unité BPE.

Le sérotypage *in silico*

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

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

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

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

A2.2.1.3 Techniques de sous-typage des *Shigella*/EIEC

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

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

A2.2.1.4. Détection des gènes de pathogénicité des *Shigella*

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

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

- AntibioGramme par diffusion en milieu gélosé de 16 à 32 antibiotiques testés (suivant les recommandations de l'EUCAST) et détermination de la CMI (méthode e-test) des principaux antibiotiques (ciprofloxacine, céphalosporines de troisième génération et azithromycine) pour la détermination de l'expression phénotypique des résistances.
- L'étude des mécanismes de résistance aux antibiotiques (caractérisation des gènes de résistance, de leur environnement génétique et de leur support) est effectuée par analyse du génome complet (voir le paragraphe **A2.2.1.6. Séquençage du génome entier des *Shigella***).

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

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

La technologie utilisée par P2M est la suivante : les ADN sont extraits par le système d'extraction à haut débit MagNAPure 96[®] (Roche Diagnostics), les banques sont ensuite préparées avec le kit Nextera XT[®] (Illumina) puis séquencées sur un appareil NextSeq 500[®] (Illumina). Des contrôles de qualité sont effectués tout au long du processus de fabrication des séquences. Des robots pipeteurs et extracteurs permettent d'homogénéiser et de normaliser les ADN et amplicons avant d'entrer dans le pipeline de production.

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

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

A2.2.2 Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles

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

Cependant désormais, **le WGS est devenu la technique de référence** pour sous-typer les souches de *Shigella* et permettre l'expertise et les investigations microbiologiques à mener (voir le paragraphe A2.2.1.4 **Techniques de sous-typage des *Shigella*/EIEC**).

A2.2.3 Collection de souches

Au CNR-ESS, toutes les souches de *Shigella* ont été conservées au laboratoire, sur milieu gélosé sans glucose, depuis plus de 30 ans, ce qui représente plusieurs dizaines de milliers de souches conservées dans une pièce climatisée avec leurs informations microbiologiques et cliniques (si disponibles).

Ceci permet des études rétrospectives sur l'évolution des types ou des résistances aux antibiotiques. Les souches importantes sont en plus conservées à -80°C, parmi ces souches, il y a :

- les souches de référence des différents sérotypes de *Shigella* spp.
- les souches de référence pour les gènes de pathogénicité de *Shigella*.
- les souches de référence des différents sérotypes O et H pour le typage moléculaire.
- toutes les souches du CNR possédant des gènes de pathogénicité, particulièrement les Shiga-toxines.
- les souches de *S. dysenteriae* de type 1.
- les souches de *Shigella* présentant une résistance particulière aux antibiotiques.

A2.2.4 Techniques recommandées par le CNR-ESS

Concernant les *Shigella*, la caractérisation biochimique suivie de la séro-agglutination reste la méthode de typage de référence. L'expertise fine des souches de *Shigella* est désormais effectuée par l'analyse du génome complet.

A2.3 Pour *Escherichia coli*

A2.3.1 Liste des techniques de référence

A2.3.1.1 Techniques du LA-RD

Diagnostic/identification

- Mise en culture sur milieux spécifiques : Mac Conkey Sorbitol Cefixime Tellurite (BioMérieux), Milieu chromogène pour entérobactéries et milieu de Drigalski, milieu spécifique STEC (Chromagar)^o
- Identification par spectrométrie de Masse MALDI-TOF et identification biochimique sur galerie API20E (BioMérieux)
- PCR spécifique des gènes de virulence : *stx1*, *stx2*, *eae*, *hlyA*
- Groupage phylogénétique

Typage

- Sérotypage par PCR multiplex permettant de détecter les sérotypes les plus fréquemment retrouvés dans les pathologies liées aux EHEC : O157, O26, O111, O55, O91, O103, O145, O80, O104 et O121.
- MLVA

Sensibilité aux anti-infectieux

- étude de la sensibilité aux antibiotiques par méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA-SFM de l'année en cours
- détermination de la CMI à l'azithromycine par la méthode du E-test pour la détermination de la sensibilité

A2.3.1.2 Techniques du CNR-ESS

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

Séquençage du génome entier (WGS) des STEC

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

Sous-typage des STEC

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

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

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

A2.3.2 Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles

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

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

A2.3.3 Collection de souches

Au CNR-ESS, toutes les souches de *E. coli* sont ensemencées en gélose de conservation et une pièce climatisée est réservée aux collections de souches des CNR. Les souches importantes sont de plus conservées à -80°C , parmi ces souches, on trouve :

- les souches de référence pour les gènes de pathogénicité de *E. coli*.
- les souches de référence des différents sérotypes O et H pour le typage moléculaire.
- toutes les souches du CNR possédant des gènes de pathogénicité, particulièrement les Shiga-toxines.

Au LA-RD à l'hôpital Robert Debré, les souches sont conservées à -80°C dans une pièce dédiée. Plusieurs collections de souches humaines sont ainsi disponibles depuis 1987 :

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

A2.3.4 Techniques recommandées par le CNR-ESS ET LA-RD

Concernant le diagnostic des EHEC : un article a été rédigé en 2008 par Santé publique France et le CNR-ECS-LA (Espie E, Mariani-Kurkdjian P, Filliol I, Vaillant V et de Valk H. Infections humaines à *E. coli* producteurs de Shiga-toxines en France : Aspects cliniques, diagnostiques et épidémiologiques. Revue Francophone des Laboratoires. Mars 2008, n°400, p59-65). Cet article, toujours d'actualité permet aux laboratoires d'avoir toutes les informations et le schéma d'isolement concernant la détection des souches STEC.

Un nouvel article de référence rédigé en 2016 par le LA-RD est paru dans la Revue française des Laboratoires et a permis de mettre à jour les nouveaux outils diagnostiques dans les infections à STEC. (Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S Diagnostic des infections à *Escherichia coli* entérohémorragique. Revue française des laboratoires, Novembre 2016, n°486, 45-52

Désormais, l'expertise fine des *E. coli* requiert une analyse du génome.