

Dossier de candidature pour le CNR des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*

2023 - 2027



Centre national de référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*
Unité de recherche et d'expertise des Bactéries pathogènes entériques
Institut Pasteur

et

Laboratoire associé
Service de microbiologie
Hôpital Robert-Debré - Paris

Responsables :

CNR coordonateur :

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

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

Laboratoire associé pour *E. coli* :

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

e.coli@aphp.fr

Stéphane BONACORSI
Auréliе COINTE
Philippe BIDEТ

stephane.bonacorsi@aphp.fr
aurelie.cointe@aphp.fr
philippe.bidet@aphp.fr

Table des matières

1	NOTE DE PRESENTATION ET ENGAGEMENTS	1
1.2.1	Infection à <i>Salmonella</i> et enjeu de santé publique	2
1.2.2	Les infections à <i>E. coli</i> et <i>Shigella</i> et enjeu de santé publique	2
1.2.3	Expérience et compétences des laboratoires candidats	3
2	DESCRIPTIF DES CAPACITES DU LABORATOIRE	5
2.2.1	En matière de Ressources Humaines	7
2.2.1.1	Le curriculum vitae du responsable scientifique	7
2.2.1.2	L'état des emplois rémunérés	14
2.2.1.2.1	CNR-ESS	14
2.2.1.2.2	LA-RD	14
2.2.1.3	Organigramme du CNR-ESS et du LA-RD	15
2.2.2	En matière d'équipements et de logistique	16
2.2.2.1	Les locaux	16
2.2.2.1.1	CNR-ESS	16
2.2.2.1.2	LA-RD	18
2.2.2.2	Les principaux équipements	19
2.2.2.2.1	CNR-ESS	19
2.2.2.2.2	LA-RD	20
2.3	BREF DESCRIPTIF DES THEMATIQUES DE RECHERCHE	21
2.3.1	CNR-ESS	21
2.3.2	LA-RD	21
2.4	CAPACITES TECHNIQUES DU LABORATOIRE	22
2.4.1	Liste des techniques	22
2.4.1.1	Liste des techniques pour les <i>Salmonella</i> (CNR-ESS)	22
2.4.1.2	Liste des techniques pour les <i>Shigella</i> (CNR-ESS)	23
2.4.1.3	Liste des techniques pour les EHEC (CNR-ESS)	24
2.4.1.4	Liste des techniques pour les <i>E. coli</i> (LA-RD)	25
2.4.2	Collections de souches	26
2.4.2.1	Description	26
2.4.2.1.1	CNR-ESS	26
2.4.2.1.2	LA-RD	26
2.4.2.2	Conditions de stockage	26
2.4.2.2.1	CNR-ESS	26
2.4.2.2.2	LA-RD	26
2.4.2.3	Conditions de mise à disposition	27
2.4.2.3.1	CNR-ESS	27
2.4.2.3.2	LA-RD	27
2.4.3	Base de données de séquences	27
3	ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES	28
3.1	BILAN DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES POUR <i>SALMONELLA</i> 2017-2021	30
3.1.1	Les activités au titre de l'expertise microbiologique	30
3.1.1.1	Évolution des techniques	30
3.1.1.1.1	Liste des techniques développées	30
3.1.1.1.2	Liste des techniques en développement	31
3.1.1.2	Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse	31
3.1.1.3	Techniques transférées vers d'autres laboratoires	32
3.1.1.4	Collections de matériel biologique	32
3.1.1.5	Activités d'expertise <i>Salmonella</i>	32
3.1.1.6	Activités de séquençage	33
3.1.2	Conseil aux professionnels ou aux autorités de santé	35
3.1.2.1	Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	35
3.1.2.1.1	Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France	35
3.1.2.1.2	Contribution aux réseaux de surveillance nationaux, humaine et vétérinaire	35
3.1.2.1.3	Contribution aux réseaux de surveillance internationaux	35
3.1.2.2	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	36
3.1.2.3	Activités de rétro-information, de formation et de conseil	36
3.1.2.3.1	Diffusion des données de surveillance et des productions du CNR	36
3.1.2.3.2	Enseignements et formations aux professionnels de la santé	36
3.1.2.3.3	Accueil de stagiaires	37
3.1.2.3.4	Activités de conseil aux professionnels de santé	37
3.1.3	Contribution à la surveillance épidémiologique	38
3.1.3.1	Description du réseau de partenaires	38
3.1.3.1.1	Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS	38
3.1.3.1.2	Définition de l'échantillon de souches isolées	39

3.1.3.2	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à <i>Salmonella</i>	41
3.1.3.2.1	Nombre annuel de <i>Salmonella</i> répertoriées au CNR-ESS	41
3.1.3.2.2	Origine géographique des souches de <i>Salmonella</i> reçues	42
3.1.3.2.3	Répartition des <i>Salmonella</i> par sites de prélèvement	45
3.1.3.2.6	Répartition des 20 principaux sérotypes de <i>Salmonella</i>	47
3.1.3.2.7	Évolution de la répartition des principaux sérotypes de <i>Salmonella</i> en France	49
3.1.3.2.8	Le sérotype Typhi	50
3.1.3.2.9	Le sérotype Paratyphi A	52
3.1.3.2.10	Le sérotype Paratyphi B	53
3.1.3.3	Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	53
3.1.3.3.1	Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de <i>Salmonella</i>	54
3.1.3.3.2	Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium, 2017- 2021	55
3.1.3.3.3	Résistance aux antibiotiques du variant 1,4,[5],12:i:- (monophasique), 2017-2021	56
3.1.3.3.4	Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis, 2017-2021	57
3.1.3.3.5	Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky, 2017-2021	58
3.1.3.3.6	Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby, 2017-2021	59
3.1.3.3.7	Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis, 2017- 2021	60
3.1.3.3.8	Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport, 2017- 2021	61
3.1.3.3.9	Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar, 2017- 2021	62
3.1.3.3.10	Résistance aux antibiotiques du sérotype Dublin, 2017- 2021	63
3.1.3.3.11	Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow, 2017- 2021	64
3.1.3.3.12	Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi, 2017- 2021	65
3.1.3.3.13	Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A, 2017- 2021	66
3.1.3.3.14	Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B, 2017- 2021	67
3.1.3.3.15	Résistance aux antibiotiques des autres sérotypes	68
3.1.3.4	Détection de gènes de résistance par séquençage du génome complet : « Résistome »	69
3.1.4	Contribution à l'alerte	72
3.2	BILAN DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES POUR <i>SHIGELLA</i> /EIEC 2017-2021	76
3.2.1	Les activités au titre de l'expertise microbiologique	76
3.2.1.1	Evolution des techniques	76
3.2.1.2	Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse	76
3.2.1.3	Techniques transférées vers d'autres laboratoires	77
3.2.1.4	Collections de matériel biologique	77
3.2.1.5	Activité de routine du CNR-ESS	78
3.2.1.6	Activités hors routine du CNR-ESS	78
3.2.1.7	Activités de séquençage	79
3.2.2	Conseil aux professionnels ou aux autorités de santé	80
3.2.2.1	Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France (SpF)	80
3.2.2.2	Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens (ECDC)	80
3.2.2.3	Etude et description de nouveaux sérotypes de <i>Shigella</i>	80
3.2.2.4	Enquêtes et autres études concourant à la surveillance	80
3.2.2.5	Activités de rétro-information, de formation et de conseil	80
3.2.2.5.1	Diffusion des données de surveillance et des productions du CNR	80
3.2.2.5.2	Enseignements et formations aux professionnels de la santé	80
3.2.2.5.3	Accueil de stagiaires	81
3.2.2.5.4	Activités de conseil aux professionnels de santé	81
3.2.3	Contribution à la surveillance épidémiologique	82
3.2.3.1	Introduction	82
3.2.3.2	Description du réseau de partenaires et distribution des cas enregistrés	82
3.2.3.2.1	Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS	82
3.2.3.2.2	Distribution globale des cas d'infection à <i>Shigella</i> /EIEC en France métropolitaine et d'Outre-mer	82
3.2.4	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à <i>Shigella</i> /EIEC	86
3.2.4.1	Origine des prélèvements	86
3.2.4.2	Analyse de la distribution en France métropolitaine et analyse de tendances	86
3.2.4.2.1	Répartition par sérogroupe et par sérotypes	86
3.2.4.2.2	Répartition par sexe	89
3.2.4.2.4	Notion de voyage	91
3.2.4.3	Analyse de la distribution en France d'Outre-mer et analyse de tendances	92
3.2.4.3.1	Répartition par sérogroupe et par sérotypes	92
3.2.4.3.2	Répartition par sexe	92
3.2.4.3.3	Répartition par âge	93
3.2.4.4	Distribution des séquences types (ST)	94
3.2.5	Surveillance de la résistance des <i>Shigella</i> aux antibiotiques	96
3.2.5.1	Surveillance globale	96
3.2.5.2	Résistances émergentes chez <i>Shigella</i> spp.	99
3.2.5.2.1	Résistance à l'azithromycine	99
3.2.5.2.2	Résistance aux quinolones	101
3.2.6	Contribution à l'alerte	107
3.3	BILAN DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES POUR <i>ESCHERICHIA COLI</i> 2017-2021	110
3.3.1	Les activités au titre de l'expertise microbiologique	110
3.3.1.1	Activités d'expertise des <i>Escherichia coli</i> entéro-hémorragiques (EHEC) en 2021	110

3.3.1.1.1	Analyse de la répartition des symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC en 2021	111
3.3.1.1.2	Résultats obtenus sur les prélèvements de selles en 2021	112
3.3.1.1.3	Souches de <i>E. coli</i> d'origine humaine productrices de Shiga-toxines isolées en 2021	112
3.3.1.1.4	Analyse des profils de virulence	115
3.3.1.1.5	Analyse des sous-types des gènes <i>stx</i> par WGS	120
3.3.1.1.6	Analyse des sous-types du gène <i>eae</i> par WGS	122
3.3.1.1.7	Autres facteurs de virulence (<i>aggR</i> , <i>saa</i> et <i>subA</i>)	123
3.3.1.1.8	Analyse des MLST	126
3.3.1.1.9	Analyse des cgMLST-HC5	126
3.3.1.1.10	Analyse des prélèvements (selles et/ou souches) dans l'entourage de patients présentant un SHU	128
3.3.1.2	Récapitulatif des activités d'expertise des EHEC pour la période 2017-2021	128
3.3.1.2.1	Analyse de l'activité EHEC de 2017 à 2021	128
3.3.1.2.2	Analyse des sérogroupes des souches EHEC isolées au cours de la période 2017- 2021	129
3.3.1.2.3	Analyse des profils de virulence des souches EHEC isolées au cours de la période 2017- 2021	129
3.3.1.2.4	Analyse des sous-types des gènes <i>stx</i> et <i>eae</i> par WGS des souches EHEC isolées au cours de la période 2017- 2021	131
3.3.1.2.5	Analyse des MLST	135
3.3.1.2.6	Analyse des cgMLST-HC5 des sérogroupes O26, O80 et O157	136
3.3.1.3	Activités d'expertise des <i>Escherichia coli</i> extra-intestinaux (ExPEC) en 2021	139
3.3.1.3.1	Étude des facteurs de pathogénicité des souches de <i>E. coli</i> responsables de méningites	139
3.3.1.3.2	Étude des facteurs de pathogénicité des souches de <i>E. coli</i> extra-intestinales responsables de pathologies autres que les méningites	140
3.3.1.4	Récapitulatif des activités d'expertise des ExPEC pour la période 2017-2021	142
3.3.2	Conseil aux professionnels ou aux autorités de santé	145
3.3.2.1	Contribution à la diffusion des données de surveillance et production du CNR	145
3.3.2.2	Participation au CNQ	145
3.3.2.3	Enseignement/formation	145
3.3.2.4	Information et conseils aux biologistes, praticiens et épidémiologistes	146
3.3.3	Contribution à la surveillance épidémiologique	147
3.3.3.1	Réseau partenaire	147
3.3.3.2	Analyse des caractéristiques épidémiologiques des infections à EHEC en 2021	147
3.3.3.3	Résultats microbiologiques pour les cas de SHU pédiatriques en 2021	150
3.3.3.4	Résultats microbiologiques pour les cas de SHU/MAT adultes en 2021	151
3.3.3.5	Bilan des caractéristiques épidémiologiques des infections à EHEC sur la période 2017-2021	151
3.3.3.5.1	Caractéristiques des patients ayant une souche EHEC isolée	151
3.3.3.5.2	Distribution des sérogroupes selon la clinique et selon l'âge des patients	153
3.3.3.5.3	Répartition géographique	154
3.3.3.6	Bilan des caractéristiques épidémiologiques des infections à ExPEC sur la période 2017-2021	155
3.3.3.6.1	ExPEC responsables de méningites	155
3.3.3.6.2	ExPEC hors méningites	155
3.3.3.7	Surveillance de la résistance aux anti-infectieux en 2021 (LA-RD)	155
3.3.3.7.1	Sensibilité aux antibiotiques des souches de EHEC en 2021	155
3.3.3.7.2	Sensibilité aux antibiotiques des souches de ExPEC en 2021	156
3.3.3.8	Surveillance de la résistance aux anti-infectieux sur la période 2017-2021 (LA-RD)	157
3.3.3.8.1	Sensibilité aux antibiotiques des souches de EHEC sur la période 2017-2021	157
3.3.3.8.2	Sensibilité aux antibiotiques des souches de ExPEC sur la période 2017-2021	158
3.3.4	Contribution à l'alerte	159
3.3.4.1	Investigation des cas groupés des EHEC entre 2017 et 2021	159
3.3.4.2	Investigation des cas groupés des <i>E. coli</i> extra-intestinaux entre 2017 et 2021	162
4	LISTE DES PUBLICATIONS 2012-2021	163
5	DESCRIPTION DES PROCESSUS QUALITE ET GARANTIES MISES EN ŒUVRE	192
5.2	LA DEMARCHE QUALITE	193
5.2.1	CNR-ESS	193
5.2.2	LA-RD	194
6	DESCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE	195
6.1	INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE	196
6.1.1	L'infrastructure informatique au CNR-ESS	196
7	PROPOSITION DE PROGRAMME DE TRAVAIL QUINQUENNAL POUR LA PERIODE 2023-2027	197
7.1	POUR LES SHIGELLES ET SALMONELLES	198
7.1.1	Expertise	198
7.1.2	Conseil	198
7.1.3	Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique	199
7.1.4	Contribution à l'alerte	200
7.2	POUR LES <i>ESCHERICHIA COLI</i> ENTEROHEMORRAGIQUES (EHEC)	201
7.2.1	Expertise	201
7.2.1.1	Techniques de diagnostic et de caractérisation	201
7.2.1.2	Constitution et stockage des collections	201

7.2.1.3	Travaux d'évaluation de techniques envisagés	201
7.2.1.4	Travaux de recherche appliqués en lien avec les missions du CNR.....	202
7.2.2	Conseil, formation, information.....	202
7.2.3	Contribution à la surveillance en lien avec l'agence nationale de santé publique	203
7.2.4	Contribution à l'alerte.....	203
7.3	POUR LES <i>ESCHERICHIA COLI</i> EXTRA-INTESTINAUX (MENINGITES NEONATALES, AUTRES...)	204
7.3.1	Expertise.....	204
7.3.2	Conseil, formation, information.....	204
7.3.3	Contribution à la surveillance en lien avec l'agence nationale de santé publique	204
7.3.4	Contribution à l'alerte.....	205
ANNEXES		206
A. COURRIER OFFICIEL D'ACTE DE CANDIDATURE		207
A.1.	CANDIDATURE DE FRANÇOIS-XAVIER WEILL	207
A.2.	CANDIDATURE DE STEPHANE BONACORSI	208
B. DECLARATIONS PUBLIQUES D'INTERET		209
B.1.	DECLARATION DE FRANÇOIS-XAVIER WEILL.....	209
B.2.	DECLARATION DE STEPHANE BONACORSI	213
B.3.	GUIDE PRATIQUE DE PREVENTION DES CONFLITS D'INTERETS DANS LES ACTIVITES DES CENTRES NATIONAUX DE REFERENCE ET DE LA CELLULE D'INTERVENTION BIOLOGIQUE D'URGENCE LOCALISES AU SEIN DE L'INSTITUT PASTEUR	218
C. STRUCTURES COMMUNES A TOUS LES CNR A L'INSTITUT PASTEUR.....		230
INTRODUCTION		230
UNITES ET PLATEFORMES PARTENAIRES DES CNR		232
SERVICES ET DIRECTIONS EN SUPPORT A L'ACTIVITE DES CNR		238
MANAGEMENT DE LA QUALITE		240
DOSSIERS REGLEMENTAIRES		243
INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE		245
SITE INTERNET PAGES WEB CNR		249
CONCLUSION.....		249
LISTE DES ACRONYMES		250

Sommaire des tableaux

Tableau 1. Nombre de souches et de « fiches information » de <i>Salmonella</i> enregistrées de 2017 à 2021	32
Tableau 2. Nombre de laboratoires envoyant des souches de <i>Salmonella</i> au CNR-ESS, 2017 – 2021	39
Tableau 3. Nombre de <i>Salmonella</i> analysées dans le cadre de l'activité de surveillance de 2017 à 2021	41
Tableau 4. Nombre de souches de <i>Salmonella</i> reçues par régions de 2017 à 2021	43
Tableau 5. Répartition des souches reçues et analysées au CNR-ESS par sites de prélèvement de 2017 à 2021	45
Tableau 6. Distribution reçues et analysées au CNR-ESS par tranches d'âge de 2017 à 2021	45
Tableau 7. Foyers de cas groupés de <i>Salmonella</i> signalés au CNR-ESS de 2017 à 2021	46
Tableau 8. Récapitulatif des différents foyers de cas groupés à <i>Salmonella</i> de 2017 à 2021.....	46
Tableau 9. Les 20 principaux sérotypes de <i>Salmonella</i> observés au CNR-ESS entre 2017 et 2021	47
Tableau 10. Nombre d'isolements annuels des principaux sérotypes en France de 2017 à 2021	49
Tableau 11. Origine géographique des souches de sérotype Typhi (une par patient), 2017-2021	50
Tableau 12. Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi A (une par patient) 2017-2021.....	52
Tableau 13. Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi B (dt-) (une par patient) 2017–2021	53
Tableau 14. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de <i>Salmonella</i>	54
Tableau 15. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhimurium.....	55
Tableau 16. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype 1,4,[5],12:i:- (monophasique).....	56
Tableau 17. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Enteritidis.....	57
Tableau 18. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Kentucky.....	58
Tableau 19. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Derby.....	59
Tableau 20. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Infantis.....	60
Tableau 21. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Newport	61
Tableau 22. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Hadar.....	62
Tableau 23. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Dublin	63
Tableau 24. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Virchow.....	64
Tableau 25. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhi.....	65
Tableau 26. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi A	66
Tableau 27. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi B	67
Tableau 28. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques des autres sérotypes.....	68
Tableau 29. <i>Salmonella</i> contenant des gènes de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE)	69
Tableau 30. <i>Salmonella</i> contenant des gènes de céphamycinase	70
Tableau 31. <i>Salmonella</i> contenant des gènes de carbapénémase	70
Tableau 32. <i>Salmonella</i> contenant des gènes de résistance à l'azithromycine	71
Tableau 33. <i>Salmonella</i> contenant des gènes de résistance à la colistine	71
Tableau 34. Alertes épidémiques à <i>Salmonella</i> en France, 2021	73
Tableau 35. Alertes épidémiques internationales à <i>Salmonella</i> , 2021	74
Tableau 36. Nombre de souches enregistrées au CNR-ESS de 2017 à 2021*.....	78
Tableau 37. Répartition des sites de prélèvement des <i>Shigella</i> spp. (France métropolitaine et Outre-mer, 2021)	86
Tableau 38. Distribution annuelle des différents sérotypes de <i>Shigella</i> (France métropolitaine, 2017-2021)	87
Tableau 39. Distribution annuelle des différents sérotypes de EIEC (France métropolitaine, 2017-2021)	88
Tableau 40. Incidence des cas de shigellose par classe d'âge (souches, France métropolitaine, 2021).....	90
Tableau 41. Notion de voyage associée aux cas de shigellose (souches, France métropolitaine, 2021)	91
Tableau 42. Notion de voyage associée aux cas d'infection à EIEC (souches, France métropolitaine, 2021).....	92
Tableau 43. Distribution des différents sérogroupes et sérotypes de <i>Shigella</i> spp. et EIEC (souches, Outre-mer, 2021)	92
Tableau 44. Incidence des cas de shigellose (souches, Outre-mer, 2021)	93
Tableau 45. Principaux ST et sérotypes associés des <i>Shigella</i> spp. (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2021)	95
Tableau 46. Antibiotiques utilisés pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de <i>Shigella</i> spp.	96
Tableau 47. Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de <i>Shigella</i> (souches, France métropolitaine, 2021)	97
Tableau 48. Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de <i>Shigella</i> (souches, Outre-mer, 2021) ..	97
Tableau 49. Caractérisation des principaux gènes de résistance aux antibiotiques détectés par WGS (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2021)*	98
Tableau 50. Sérotypes des <i>Shigella</i> AZM-R (souches, France métropolitaine, 2021).....	99
Tableau 51. Sérotypes des <i>Shigella</i> CIP-R (souches, France métropolitaine, 2021)	101
Tableau 52. Sérotypes des <i>Shigella</i> C3G-R (souches, France métropolitaine, 2021).....	104
Tableau 53. Les différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au LA-RD en 2021	110
Tableau 54. Les différents types de prélèvements reçus en 2021 pour la recherche de EHEC.....	111

Tableau 55. Symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC (souches ou selles) en 2021	111
Tableau 56. Symptômes des patients avec souches isolées en 2021.....	112
Tableau 57. Sérotypage moléculaire par WGS des souches isolées en 2021	115
Tableau 58. Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les plus fréquemment isolés en 2021	117
Tableau 59. Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les moins fréquemment isolés en 2021	118
Tableau 60. Profil de virulence des EHEC non sérogroupables par méthode moléculaire WGS en 2021	118
Tableau 61. Profil de virulence directement par PCR sur les selles sans isolement de souches en 2021	119
Tableau 62. Résultats du sérogroupage par PCR directe sur selles sans souche isolée en 2021.....	119
Tableau 63. Répartition globale des sous-types de <i>stx</i> en 2021 (toutes pathologies confondues)	120
Tableau 64. Répartition globale des sous-types de <i>stx</i> en 2021 (souches responsables de SHU/MAT)	120
Tableau 65. Répartition des profils des sous-types de <i>stx</i> en fonction des sérogroupes de EHEC les plus fréquents parmi les souches isolées en 2021 (toute pathologie).....	121
Tableau 66. Répartition des profils de sous-types de <i>stx</i> en fonction des sérogroupes de EHEC les plus rarement isolés en 2021 (toute pathologie)	121
Tableau 67. Répartition des profils de variants <i>stx</i> pour les souches non sérogroupables par méthode WGS en 2021	122
Tableau 68. Répartition des sous-types du gène <i>eae</i> en fonction du séro groupe EHEC en 2021	123
Tableau 69. Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène <i>saa</i> en 2021.....	124
Tableau 70. Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène <i>subA</i> en 2021	125
Tableau 71. La répartition des ST en fonction du séro groupe (> 6 souches par ST)	126
Tableau 72. Analyse des cgMLST-HC5 des sérogroupes O26 (A), O157 (B) et O80 (C) en 2021	127
Tableau 73. Récapitulatif de la répartition des différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au CNR-ESS et au LA-RD pour <i>E. coli</i> , période 2017-2021	128
Tableau 74. Répartition des profils de virulence des souches de EHEC en fonction des sérogroupes les plus fréquents (> 10 isolats) et toutes pathologies confondues (2017-2021).....	130
Tableau 75. Synthèse de l'analyse de pathogénicité des EHEC selon la clinique et selon le gène (2017-2021).....	132
Tableau 76. Répartition des sous-types d'intimine en fonction du séro groupe.....	134
Tableau 77. La répartition des ST en fonction du séro groupe (> 10 souches par ST)	135
Tableau 78. Analyse des cgMLST-HC5 des sérogroupes O26, O80 et O157 (2017-2021)	137
Tableau 79. Facteurs de virulence des <i>E. coli</i> responsables de méningites en 2021 (LA-RD)	139
Tableau 80. Caractéristiques des souches de ExPEC hors méningites en 2021 LA-RD	141
Tableau 81. Principal symptôme observé chez les patients ayant une recherche de EHEC positive (isolement d'une souche ou PCR positive) en 2021	147
Tableau 82. Répartition des différents sérogroupes de EHEC (souches isolées) par classe d'âge et par sexe des patients en 2021	149
Tableau 83. Symptômes observés chez les patients (n = 1334) avec isolement de souches (n = 1343) (2017-2021)	152
Tableau 84. Pouvoir pathogène potentiel des différents sérogroupes des EHEC (2017-2021).....	153
Tableau 85. Prévalence de la résistance (en %) aux antibiotiques des souches EHEC en 2021 (LA-RD)	156
Tableau 86. CMI à l'azithromycine des souches EHEC isolées en 2021 au LA-RD.....	156
Tableau 87. Prévalence de la résistance aux antibiotiques des souches ExPEC reçues en 2021 au LA-RD	156
Tableau 88. Prévalence (%) de la résistance aux principaux antibiotiques exprimée en pourcentage pour les souches de séro groupe O157, O26 et O80 (2017-2021)	157
Tableau 89. Distribution des CMI (mg/L) de l'azithromycine pour les EHEC isolés entre 2017 et 2021.....	158
Tableau 90. Prévalence (%) de la résistance aux principaux antibiotiques pour les ExPEC isolés entre 2017 et 2021.....	158
Tableau 91. Synthèse des principaux cas groupés d'infections à EHEC en France sur la période 2017-2021	161
Tableau 92. Synthèse des alertes internationales de cas groupés d'infection à EHEC sur la période 2017-2021	162

Sommaire des figures

Figure 1. Organigramme du CNR-ESS.....	15
Figure 2. Organigramme du LA-RD.....	15
Figure 3. Plan des locaux du CNR-ESS.....	17
Figure 4. Plan des locaux du LA-RD.....	18
Figure 5. Délai de rendu des résultats de <i>Salmonella</i> , CNR-ESS, 2017-2021.....	33
Figure 6. Nombre de souches de <i>Salmonella</i> reçues au CNR-ESS de 2017 à 2021.....	39
Figure 7. Lettre d'information sur la clôture de la plateforme Voozadoo du CNR-ESS.....	40
Figure 8. Nombre annuel de souches de <i>Salmonella</i> d'origine humaine enregistrées (souches reçues + « fiches information »), France métropolitaine et Outre-mer, 1988-2021.....	41
Figure 9. Répartition entre souches de <i>Salmonella</i> reçues et « fiches information », 2000-2021.....	42
Figure 10. Nombre de cas et incidence des salmonelloses par départements en 2021.....	44
Figure 11. Évolution des principaux sérotypes de <i>Salmonella</i> isolées chez l'homme, 1988-2021.....	48
Figure 12. Lettre pour les LBM à propos de la notion de voyage pour les sérotypes majeurs.....	51
Figure 13. Évolution du nombre d'alertes à <i>Salmonella</i> analysées par le CNR-ESS.....	72
Figure 14. Nombre de cas d'infections à <i>Shigella</i> spp. ou EIEC (souches et « fiches information »*, France métropolitaine et Outre-mer, 2005-2021).....	83
Figure 15. Cartes du nombre de cas et de l'incidence des infections à <i>Shigella</i> spp ou EIEC par département (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2021).....	84
Figure 16. Distribution mensuelle des cas de shigellose (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2019-2021).....	85
Figure 17. Évolution des principaux sérotypes de <i>Shigella</i> (souches, France métropolitaine, 2005-2021).....	88
Figure 18. Évolution des cas de shigellose par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2021).....	89
Figure 19. Patients âgés de 16-60 ans diagnostiqués avec <i>S. sonnei</i> , <i>S. flexneri</i> 2a, <i>S. flexneri</i> 3a ou <i>S. flexneri</i> 1b sans notion de voyage hors de France, par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2021).....	89
Figure 20. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches, France métropolitaine, 2021).....	90
Figure 21. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches, Outre-mer, 2021).....	93
Figure 22. Principaux ST associés aux <i>Shigella</i> spp. (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2021).....	94
Figure 23. Prévalence des <i>Shigella</i> AZM-R (souches, France métropolitaine, 2014-2021).....	99
Figure 24. CMI des <i>Shigella</i> AZM-R (souches, France métropolitaine, 2021).....	100
Figure 25. Patients (âge et sexe) infectés par <i>Shigella</i> AZM-R (souches, France métropolitaine, 2021).....	100
Figure 26. Prévalence des <i>Shigella</i> CIP-R (souches, France métropolitaine, 2005-2021).....	101
Figure 27. CMI des <i>Shigella</i> CIP-R (souches, France métropolitaine, 2021).....	102
Figure 28. Patients (âge et sexe) infectés par <i>Shigella</i> CIP-R (souches, France métropolitaine, 2021).....	102
Figure 29. Mutations chromosomiques (QRDR) des <i>Shigella</i> CIP-R (souches, France métropolitaine, 2021).....	103
Figure 30. Déterminants PMQR des <i>Shigella</i> CIP-S et CIP-R (souches, France métropolitaine, 2021).....	103
Figure 31. Prévalence des <i>Shigella</i> C3G-R (souches, France métropolitaine, 2005-2021).....	104
Figure 32. CMI des <i>Shigella</i> C3G-R (souches, France métropolitaine, 2021).....	105
Figure 33. Patients (âge et sexe) infectés par <i>Shigella</i> C3G-R (souches, France métropolitaine, 2021).....	105
Figure 34. Gènes responsables de la résistance aux C3G chez <i>Shigella</i> (souches, France métropolitaine, 2021).....	106
Figure 35. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés toutes pathologies confondues en 2021 (n = 279).....	113
Figure 36. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés au cours des SHU/MAT tous âges confondus en 2021 (n = 118).....	114
Figure 37. Distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2021.....	116
Figure 38. Répartition des sérogroupes de EHEC les plus fréquents (n > 10 isolats) entre 2017-2021 et évolution des serogroupes appartenant au TOP7 et O80 de 2011 à 2021 en France.....	129
Figure 39. Prévalence des gènes <i>stx</i> et <i>eae</i> en fonction de la clinique et pouvoir pathogène potentiel (2017-2021).....	131
Figure 40. Synthèse de l'analyse de pathogénicité des EHEC selon la clinique et selon le gène (2017-2021).....	133
Figure 41. Sérogroupes et facteurs de virulence des souches impliquées dans les SHU <i>stx+</i> <i>eae-</i> (2017-2021).....	135
Figure 42. Classe d'âge et sexe des patients ayant une recherche de EHEC positive en 2021.....	148
Figure 43. Répartition départementale des souches de EHEC isolées en 2021 (n = 279) sur le territoire français.....	150
Figure 44. Classe d'âge et sexe des patients avec recherche de EHEC positive (2017-2021).....	152
Figure 45. Répartition des principaux sérogroupes de EHEC selon la clinique (SHU/Non SHU) (2017-2021).....	153
Figure 46. Répartition des sérogroupes par classe d'âge (2017-2021).....	154
Figure 47. Répartition géographique par département des souches de EHEC isolées entre 2017 et 2021, LA-RD.....	154
Figure 48. Répartition départementales des souches de sérogroupes O26, O80 et O157 EHEC isolées entre 2017 et 2021, LA-RD.....	155
Figure 49: Principaux résultats de l'enquête de satisfaction du LA-RD menée auprès de ses principaux prescripteurs 2021...	194

1 NOTE DE PRESENTATION ET ENGAGEMENTS

1.1 COURRIER OFFICIEL D'ACTE DE CANDIDATURE

Les courriers officiels de candidature du CNR coordonateur et de son Laboratoire Associé sont en **Annexe A**.

1.2 PRESENTATION SYNTHETIQUE

1.2.1 Infection à *Salmonella* et enjeu de santé publique

Les **fièvres typhoïdes et paratyphoïdes** sont des maladies à réservoir strictement humain. Comme toutes les maladies à transmission oro-fécale, ces fièvres surviennent le plus souvent dans des **zones où l'hygiène est précaire**, et frappent principalement les pays en développement en Asie, en Afrique ou en Amérique Latine. Elles font objet d'une déclaration obligatoire (DO). Entre 2017 et 2021, **887** déclarations de fièvres typhoïde et paratyphoïdes ont été confirmées biologiquement par le CNR-ESS en France métropolitaine et ultra-marine. Les **sérotypes non-typhiques de *Salmonella*** peuvent être portés par un large spectre d'animaux. Par conséquent, une grande variété de produits alimentaires peut être à l'origine des contaminations humaines. Le dernier recensement¹ comptabilisait **120** toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) à *Salmonella* en France en 2020, causant 519 malades et 135 hospitalisations. En France, les sérotypes majoritairement isolés sont **Enteritidis** (filière œuf), le variant monophasique de Typhimurium, de formule antigénique **1,4,[5],12:i:-** (filière porcine) et **Typhimurium** (ubiquitaire). Ces trois sérotypes représentent 70% des isollements de *Salmonella* en France chez l'homme. Une **antibiothérapie** appropriée abaisse le risque de mortalité des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes à moins de 1 % et peut devenir nécessaire pour les salmonelloses non-typhiques dans des situations particulières, âges extrêmes de la vie ou système immunitaire déficient. Le CNR-ESS observe une augmentation du nombre de **souches résistantes aux antibiotiques**. Par exemple en 2021, le CNR-ESS a identifié quatre souches de *S. enterica* sérotype Typhi XDR. Cette résistance a été décrite pour la première fois au Pakistan en 2016 (Klemm EJ, *et al.* mBio. 2018).

1.2.2 Les infections à *E. coli* et *Shigella* et enjeu de santé publique

Les ***Shigella* et les *Escherichia coli* entéro-invasifs (EIEC)** correspondent à des souches de *E. coli* ayant acquis un même plasmide de virulence. Ces bactéries envahissent la muqueuse du colon et sont responsables d'une maladie diarrhéique aiguë caractérisée par une intense inflammation et une destruction tissulaire. Les *Shigella*/EIEC sont transmises par voie féco-orale et sont extrêmement infectieuses, puisque 10 à 100 bacilles suffisent à induire la maladie. Ces infections sévissent dès que les conditions d'hygiène sont défectueuses partout dans le monde. Dans les régions tropicales, elles sont endémiques toute l'année. En France leur épidémiologie est en pleine mutation. Originellement elles étaient responsables de cas sporadiques contractés lors de séjours à l'étranger ou de petites épidémies rapportées dans des collectivités de jeunes enfants, des camps de réfugiés ou de gens du voyage ou des écoles confessionnelles. Au cours des cinq dernières années, une augmentation inquiétante du nombre de cas a été observée au sein de la communauté homosexuelle masculine (HSH), où elle a rejoint la liste des infections sexuellement transmissibles (IST). A la différence des autres maladies diarrhéiques, la shigellose ne peut être traitée par la seule réhydratation. Les antibiotiques permettent généralement une guérison rapide et sans séquelles. Cependant, le traitement est compliqué par l'émergence de souches hautement résistantes. Ces dernières sont résistantes à toutes les molécules disponibles par voie orale et ont été détectées en Angleterre, aux États-Unis d'Amérique, en Australie et en France. Il est tout à fait justifié, compte tenu des connaissances sur les précédentes épidémies, de s'attendre ces prochaines années à de nouvelles épidémies de shigellose avec ces souches hautement résistantes aux antibiotiques.

¹ <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/toxi-infections-alimentaires-collectives/documents/bulletin-national/surveillance-des-toxi-infections-alimentaires-collectives.-donnees-de-la-declaration-obligatoire-2020>

Les **E. coli entérohémorragiques (EHEC)** sont des pathogènes émergents qui ont été impliqués dans de nombreuses épidémies d'origine alimentaire depuis le début des années 1980. Ils sont responsables d'infections variées allant de la diarrhée aqueuse à la colite hémorragique pouvant évoluer vers un syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez l'enfant, dont les séquelles peuvent être irréversibles, voire aboutir à la mort. La France a connu plusieurs épidémies au cours du dernier mandat, principalement en lien avec des fromages au lait cru. Au début de l'année 2022 s'est produite la plus vaste épidémie causée par les EHEC dans notre pays, avec plus de cinquante enfants hospitalisés et plusieurs décès, une médiatisation importante et une judiciarisation (affaire pizzas Buitoni). Ces crises sanitaires majeures imposent plus que jamais une réactivité maximale du CNR et de son laboratoire associé, conditionnée par des moyens en adéquation avec l'attente des services publics et de la communauté. Au-delà de cette réactivité, permettant des diagnostics en temps réel pour un bénéfice individuel et une détection de cas groupés nécessaire à une mise en alerte des autorités sanitaires, les EHEC continuent de nourrir de nombreuses questions scientifiques. Ainsi la compréhension de l'émergence d'un clone totalement inconnu 10 ans auparavant (O80:H2) et qui occupe maintenant la deuxième place des souches responsables de SHU avec, qui plus est une pathogénicité hybride, représente un des défis scientifiques actuels. La diversification des sources de contamination pose également de nombreuses questions sur l'adaptabilité des souches de EHEC. Les équipes du CNR et de son laboratoire associé sont totalement engagées dans ces enjeux de santé publique et ces questions scientifiques. Concernant le CNR associé, sa motivation dans son renouvellement reste intacte, pourvu qu'on lui en donne les moyens. Cette motivation peut être mesurée à l'aune de sa réactivité, sa disponibilité potentielle 7/7j, sa mise au point d'une technique de typage ultra-rapide permettant un premier criblage avant séquençage, l'adoption future d'un système de concentration des EHEC optimisant leur détection et enfin par ses travaux scientifiques nombreux notamment sur les clones émergents ainsi que les publications didactiques.

Certaines souches de **E. coli** peuvent être responsables de **pathologies extra-intestinales** très sévères en particulier les méningites néo-natales et les septicémies ; ce sont les **ExPEC**. Le laboratoire associé propose également un soutien diagnostique indispensable aux LBM.

1.2.3 Expérience et compétences des laboratoires candidats

Le laboratoire candidat pour être CNR coordonateur (CNR-ESS) a **une longue tradition d'expertise et de recherche sur les *Salmonella* et les *E. coli/Shigella***. Le Centre National des *Salmonella* a été créé à l'Institut Pasteur par Léon Le Minor en 1947 ; il a fait office de laboratoire de référence de 1947 à 1971. Il a été reconnu officiellement comme CNR par l'arrêté du 18 avril 1972. Le CNR est devenu par la suite CNR des *Salmonella* et *Shigella*. En 2002 (arrêté du 26 avril 2002), le CNR des *Salmonella* et *Shigella* a été scindé en deux CNR : le CNR des *Salmonella* (CNR-Salm) et le CNR des *Escherichia coli* et *Shigella* (CNR-ECS). Depuis 2012, il n'existe qu'un seul CNR *E. coli, Shigella* et *Salmonella* (CNR-ESS) dirigé par François-Xavier Weill (assisté de Sophie Lefèvre depuis 2016 et de María Pardos de la Gándara depuis 2018). Un laboratoire a été associé depuis 2002 pour l'activité *E. coli* ; il s'agit du Service de Microbiologie de l'Hôpital Robert Debré de Paris, dirigé par Edouard Bingen puis par Stéphane Bonacorsi (assisté par Patricia Mariani-Kurkdjian). La structure candidate a été reconnue sur le plan international pour le sérotypage des *Salmonella* (**Centre Collaborateur de l'OMS** en charge du maintien du schéma de White-Kauffmann-Le Minor depuis 1965) mais a également été en mesure d'**inventer** (ex : ribotypie, analyse des gènes de flagellines de *Salmonella* et de *Shigella*, méthode CRISPOL, sérotypage *in silico*) ou de **mettre en œuvre de nouvelles méthodes moléculaires standardisées** (MLVA, PFGE, MLST, cgMLST) dans le but de : **discriminer le plus rapidement possible** les souches des cas épidémiques des souches des cas sporadiques ; **comparer les souches humaines et non humaines** de façon à faire un lien entre des souches épidémiques et une souche alimentaire en vue notamment du retrait rapide de l'aliment concerné ; **détecter et suivre** des populations bactériennes émergentes et/ou résistantes aux antibiotiques. L'ancienneté de l'expertise au sein d'une même structure a également permis de développer au cours du temps un **réseau stable et important de laboratoires bénévoles**. Les laboratoires participent par l'envoi des souches épidémiologiquement documentées. Ce réseau de laboratoires de biologie médicale (LBM) est unique en France de part : son ancienneté et sa stabilité ; le nombre important de LBM participants ; les actions de communication lancées par le CNR-ESS pour demander l'envoi systématique de toutes les souches isolées concernées par ses missions de surveillance.

Le laboratoire associé (LA-RD) participe au **Réseau Français de surveillance du syndrome hémolytique et urémique** en collaboration avec la Société Française de Néphrologie Pédiatrique. Les cas de SHU sont identifiés selon des critères cliniques et notifiés à Santé publique France à l'aide d'une fiche qui recueille des informations

cliniques, microbiologiques et épidémiologiques. Le LA-RD participe également à l'**Observatoire national des méningites bactériennes de l'enfant**.

1.3 DECLARATIONS PUBLIQUES D'INTERETS

Les Déclarations Publiques d'Intérêts des responsables scientifiques du CNR-ESS et du LA-RD sont en **Annexe B**.

2 DESCRIPTIF DES CAPACITES DU LABORATOIRE

2.1 L'ORGANISATION PROPOSEE POUR REpondre AU CAHIER DES CHARGES 2023-2027

Pour répondre aux exigences du cahier des charges nous proposons une association de deux laboratoires.

Le laboratoire coordonnateur (CNR-ESS) sera hébergé par l'Unité des Bactéries pathogènes entériques (UBPE) de l'Institut Pasteur avec le Pr François-Xavier Weill comme responsable scientifique, le Dr María Pardos de la Gándara et le Dr Sophie Lefèvre comme responsables adjointes.

Le laboratoire associé (LA-RD) au CNR-ESS sera hébergé par le Service de Microbiologie de l'Hôpital Robert Debré, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris avec le Pr Stéphane Bonacorsi comme responsable scientifique, le Dr Aurélie Cointe et le Dr Philippe Bidet comme responsables adjoints.

Les activités concernant les *Salmonella* et les *Shigella* seront réalisées uniquement par le CNR-ESS alors que pour *E. coli* la répartition des activités se fera de la façon suivante:

- séquençage complet de toutes les souches de *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) isolées en France métropolitaine et dans les DOM-TOM (CNR-ESS),
- autres analyses sur les *E. coli* (LA-RD).

Cette nouvelle répartition permettra de simplifier le circuit des prélèvements biologiques ou souches de EHEC vers le LA-RD, laboratoire hospitalier assurant une permanence alors que le CNR-ESS se concentrera sur l'analyse génomique des souches transmises hebdomadairement par le LA-RD.

Les souches et les prélèvements devront être accompagnés obligatoirement **d'une fiche de renseignements épidémiologiques** (consultables en annexe de ce dossier). De façon à ne pas entraîner de confusion auprès de nos laboratoires correspondants, il y aura des fiches différentes en fonction des pathogènes. Ces fiches seront téléchargeables sur le site Web du CNR-ESS :

<http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-nationaux-reference/les-cnr/escherichia-coli-shigella-salmonella>

Fiche *Salmonella* :

<https://www.pasteur.fr/fr/file/37706/download>

Fiche *Shigella* /EIEC :

<https://www.pasteur.fr/fr/file/13297/download>

Fiche *E. coli* intestinaux :

<https://www.pasteur.fr/fr/file/13291/download>

Fiche *E. coli* extra-intestinaux :

<https://www.pasteur.fr/fr/file/13294/download>

2.2 LES MOYENS DU LABORATOIRE AFFECTES AU CNR

2.2.1 En matière de Ressources Humaines

2.2.1.1 Le curriculum vitae du responsable scientifique

WEILL, François-Xavier

Né le : 10 décembre 1966 à Paris XIVème, France.

Nationalité : française

Adresse professionnelle : Unité des Bactéries pathogènes entériques, Institut Pasteur, 28 rue du Dr Roux, F-75724 Paris Cedex 15, France; téléphone 01 45 68 83 45; fax 01 45 68 88 37; e-mail : fxweill@pasteur.fr

Situation militaire : Service National effectué (Médecin du « Batral Francis Garnier », zone maritime Antilles-Guyane, 1991-1992)

ORCID ID : orcid.org/0000-0001-9941-5799

Situation professionnelle

Professeur à l'Institut Pasteur. Chef de l'Unité des Bactéries pathogènes entériques (depuis 2010). Directeur du Centre National de Référence (CNR) des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* (depuis 2012). Directeur du Centre Collaborateur de l'organisation Mondiale de la Santé (CCOMS) pour le typage et l'antibiorésistance des *Salmonella* (depuis 2018).

Fonctions antérieures

- Séjour scientifique dans l'équipe « Bacterial Genomics and Evolution » du Wellcome Sanger Institute, Cambridge, Royaume Uni (2014-2016)
- Chef du Laboratoire des Bactéries pathogènes entérique (Institut Pasteur, 2008-2009), directeur du CNR des *Salmonella* (Institut Pasteur, 2008-2011) et du CCOMS de Référence et de Recherche pour les *Salmonella* (Institut Pasteur, 2008-2017)
- Directeur du CNR des *Escherichia coli* et *Shigella* (Institut Pasteur, 2003-2011)
- Co-directeur du CNR des *Salmonella* et du CCOMS de Référence et de Recherche pour les *Salmonella* (Institut Pasteur, 2003-2007)
- Chef du Laboratoire d'Analyses Médicales (Institut Pasteur de Guadeloupe, 1999-2000)
- Interne puis Assistant Hospitalier Universitaire (CHU de Bordeaux, 1990-1999)

Principaux diplômes

- Habilitation à diriger des Recherches (Université Paris Cité, 2012)
- Doctorat en Microbiologie (Université Paris Cité, 2008)
- Doctorat en Médecine et DES de Biologie Médicale (Université de Bordeaux, 1995)

Travaux Scientifiques

209 publications scientifiques dans Web of Science. H-factor: 50 (Web of Science), 68 (Google Scholar); citations 8300 (Web of Science), 15943 (Google Scholar). Un brevet international. Lauréat de l'Académie des sciences en 2020 (Grand prix Jean-Pierre Lecocq en sciences appliquées), lauréat de l'Académie nationale de médecine en 2007 (Prix Deschiens) et 2018 (Prix Eloi Collery). Prix Georges, Jacques et Elias Canetti en 2013.

Axes de recherche

Génomique comparative et évolutive des bactéries pathogènes entériques, résistance aux antibiotiques, épidémiologie génomique, pathogènes historiques, maladies infectieuses tropicales, microbiologie et santé publique.

LEFÈVRE, Sophie

Née le : 23 août 1982 à Paris XIVème, France.

Nationalité : française

Adresse professionnelle : Unité des Bactéries pathogènes entériques, Institut Pasteur, 28 rue du Dr Roux, F-75724 Paris Cedex 15, France ; téléphone : 01 45 68 83 44; fax : 01 45 68 88 37; e-mail : sophie.lefevre@pasteur.fr

Situation professionnelle

Cadre médical (Biologiste) dans l'Unité des Bactéries pathogènes entériques. Directrice adjointe du Centre National de Référence (CNR) des *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella* (depuis 2015).

Fonctions antérieures

- Assistante Hospitalo-Universitaire, service de bactériologie médicale, CHU de Strasbourg, 2012-2014.
- Lauréate de l'internat (année médaille d'or), service de bactériologie médicale, CHU de Strasbourg, 2011-2012
- Interne, service de bactériologie médicale, CHU de Strasbourg, 2008-2011.
- Interne, service de pharmacie-stérilisation, CHU de Strasbourg, 2007-2008.
- Faisant fonction d'interne, service de biochimie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, 2006-2007.

Principaux diplômes

- Doctorat d'université en Microbiologie (Université de Strasbourg, 2012)
- Doctorat d'exercice en Pharmacie, et D.E.S de Pharmacie Spécialisée en bactériologie médicale (Université de Strasbourg, 2011)

Travaux Scientifiques :

- Publications : 18 (17 internationales référencées dans PubMed); Facteur h-index : 10. Nombre de citations : 294 (ResearchGate, le 20 mai 2022).
- Cinq présentations orales à des congrès nationaux (SFM 2021, SFM 2019, RICAI 2019, Col.BVH 2019, RICAI 2011).
- Quatre posters nationaux/internationaux (IP International Network Symposium 2018, ICAAC 2011, JNI 2010 et ECCMID 2010).

Axes de recherche :

Epidémiologie génomique des bactéries pathogènes entériques, résistance aux antibiotiques, microbiologie et santé publique.

PARDOS DE LA GÁNDARA, Maria

Née le : 23 avril 1978 à Madrid, Espagne.

Nationalité : espagnole

Adresse professionnelle : Unité des Bactéries pathogènes entérique, Institut Pasteur, 28 rue du Dr Roux, F-75724 Paris Cedex 15, France ; téléphone 0140613724; Fax 0145688837; E-mail : mpardosd@pasteur.fr

ORCID ID : orcid.org/0000-0002-3273-6392

Situation professionnelle

Ingénieure de recherche experte dans l'Unité des Bactéries pathogènes entériques. Directrice adjointe du Centre National de Référence (CNR) des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* (depuis 2018).

Fonctions antérieures

- Postdoctoral Research associate dans le « Laboratory of Microbiology and Infectious Diseases » (Prof. A. Tomasz), Rockefeller University, New York, États-Unis (2011-2017)
- Chercheur post-doctoral au Centre de Génétique Moléculaire (Dr. L. Bossi), CNRS, Gif-sur-Yvette, France (2010).
- Interne, puis Médecin Spécialiste au laboratoire de Microbiologie et Parasitologie, Hôpital Clinique Universitaire « Lozano Blesa », Saragosse, Espagne (2004-2009).

Principaux diplômes

- Docteur de l'Université de Saragosse, Espagne (2010)
- Médecin Spécialiste en Microbiologie et Parasitologie, Espagne (2009)
- Diplôme en Médecine et Chirurgie, Université de Saragosse, Espagne (2003)

Travaux Scientifiques

28 publications scientifiques dans Web of Science. H-factor: 12 (Web of Science); citations 445 (Web of Science).

Axes de recherche

Épidémiologie génomique des bactéries pathogènes entériques, résistance aux antibiotiques, microbiologie et santé publique.

BONACORSI, Stéphane

Né le : 21 février 1961

Adresse Professionnelle :

Service de Microbiologie, Hôpital Robert-Debré, 48 Boulevard Sérurier, 75019 Paris, Tel : 01 40 03 57 92 ; Mel : stephane.bonacorsi@aphp.fr

DIPLOMES

- **Interne des Hôpitaux de Paris** : 1985 : Concours National d'Internat en Médecine : spécialité biologie
- **Diplômes d'Etudes Spécialisées Biologie** : 1987- 1991 :
- **Doctorat en Médecine** : 1994 : Thèse pour le Doctorat en Médecine - Université Paris V
- **Diplôme d'Etudes Approfondies** : 1992 Université Paris XI - Paris V
- **Thèse de Doctorat** : 2001 : Université Paris XI
- **D.U. de Formation Spéciale à l'Expérimentation Animale de niveau 1** : 2006 : Université Paris Descartes
- **D.U. de Pédagogie Médicale** : 2011 : Université Paris Descartes
- **Habilitation à Diriger des Recherches** : 2012 : Université Paris Diderot

FONCTIONS HOSPITALIERES ET UNIVERSITAIRES

- Interne des hôpitaux de l'inter-région Ile de France : Concours 1985
- Attaché des hôpitaux de Paris : 1992 -1994 : Service de Microbiologie - Hôpital Robert-Debré, Paris.
- Assistant Hospitalo-Universitaire : 1994 - 1998 : Service de Microbiologie Hôpital Robert-Debré
- Attaché-chef de clinique : 1^{er} novembre 1998 - 1^{er} septembre 1999 : Hôpital Robert-Debré
- Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier 1999-2013.
- Professeur des Universités – Praticien Hospitalier depuis septembre 2013
- Chef de Service de Microbiologie de l'hôpital Robert-Debré depuis décembre 2012
- Chef de Pôle de Biologie – Recherche – Produits de Santé de juillet 2015 à juillet 2019
- Directeur adjoint du laboratoire de biologie du site Robert-Debré depuis juillet 2019
- Responsable de la fédération des Agents infectieux au sein du GHU Nord depuis juillet 2019

ENSEIGNEMENT

- **Co-coordonnateur de l'Unité d'Enseignement UE9** « Agents Infectieux » depuis 2013 en DFGSM3 à l'UFR de Médecine - Université Paris Diderot
- **Coordonnateur de l'Unité d'Enseignement UE4** « Diagnostic microbiologique », Master 1, IMVI, BC2T, UFR Sciences du Vivant, Université Paris Diderot de 2013 jusqu'en 2018
- **Référent SIDES** pour les agents infectieux à l'UFR de Médecine - Université Paris Diderot
- **Membre du conseil Pédagogique** du DIU Stratégie thérapeutique en Pathologie Infectieuse- Université Paris Diderot depuis 2012
- Enseignement dans le cadre du :
 - **Diplôme Inter-Université** de Pathologie infectieuse Pédiatrique, Universités Paris-Descartes, Paris-Diderot, Lyon I
 - **Diplôme Inter-Université** « Urologie Pédiatrique » Université Lyon I
 - **Diplôme Universitaire** « Antibiotiques et Antibiothérapie » Université Paris Diderot
 - **Master 1**, IMVI - BC2T, UFR Sciences du Vivant, Université Paris Diderot
 - **Master 2**, MBVP - UE « interactions hôtes-microorganismes » – Université Paris Saclay

ACTIVITE D'EXPERTISE

- **Codirection du CNR associé** « *E. coli* producteur de Shigatoxine et *E. coli* responsable de méningite néonatale » depuis 2013
- Membre élu de 2008 à 2012 de la **CSS n°5 de l'INSERM**
- **Expert scientifique** depuis 2006 pour les projets de recherche de « Vaincre la Mucoviscidose »
- Membre du Comité d'Evaluation des Activités de Recherche en Santé Publique des Personnels cadres administratifs et techniques de l'**Institut Pasteur**. 2007-2009

- Membre Expert pour le comité scientifique sur les risques sanitaires liés aux produits lactés. **INRA, VetaGro Sup** en 2019.
- **Recommandations et Guides de Bonnes Pratiques** pour l'HCSP ou l'HAS
 - Infections urinaires de l'enfant 2014
 - Infections Urinaires de la femme enceinte 2015
 - Conduite à tenir devant un cas isolé ou des cas groupés d'infections à EHEC 2016
 - Prise en charge du risque d'infection néonatale bactérienne précoce 2017
 - Gestion d'épidémies d'infections invasives à *K. kingae* en collectivités d'enfant 2018
- **Revue d'articles pour les journaux internationaux** : Clinical Infectious Diseases, PloS One, PloS Pathogens, BMC Microbiology, International Journal of Medical Microbiology, Pediatric Radiology, Pediatric Health, Future Microbiology, J Antimicrob. Chemother., J Infect. Diseases.

FONCTIONS DE RECHERCHE

- Membre de l'équipe EVREST de l'**UMR INSERM U1137** : IAME - Infection, Anti-infectieux, Modélisation, Evolution, dirigée par le Pr E Denamur depuis 2014
- Encadrement de **19 Masters 2**
- Encadrement de **6 Thèses de Sciences**
- Inventeur de **deux brevets** dont un avec **licence**

Points SIGAPS : 3154 ; Facteur H : 35

BIDET, Philippe

Né le : 18 août 1967

Nationalité : française

Adresse professionnelle :

Microbiologie, Hôpital Robert-Debré

48 Bd Sérurier, 75019 Paris, France

Tel: +33-1-40 03 23 40

Fax: +33-1-40 03 24 50

philippe.bidet@aphp.fr

Situation professionnelle :

MCU-PH 2ème classe ; Section CNU : Bactériologie, Virologie, Hygiène (01/09/05)

Unité Mixte de Recherche 1137 : IAME « Infection, Antimicrobiens, Modélisation, Evolution », INSERM, Universités Paris Cité

Fonctions antérieures :

- Assistant Hospitalo-Universitaire, service de Microbiologie, CHU Robert-Debré, 2000-2005.
- Médecin attaché temps plein des Hôpitaux Saint-Antoine (Bactériologie), Armand-Trousseau (Virologie) et Rotschild (Virologie) 1997-2000.
- Interne des hôpitaux du CHU de Caen 1991-1996 et service militaire effectué à Hôpital d'Instruction des Armées Sainte-Anne de Toulon

Diplômes :

- 1996 : Diplôme d'études spécialisées en Biologie Médicale et Doctorat en Médecine - CHU de Caen.
- 2003 : Diplôme Universitaire « Antibiotiques et Antibiothérapie » de l'UFR St Louis-Lariboisière
- 2007 : Thèse de Doctorat de l'université Paris V (Ecole doctorale Gc2ID)

Activités d'enseignement et de recherche :

Enseignement de la Microbiologie aux étudiants de DFGSM3 (UFR de médecine, Université Paris Cité), DES de Biologie, Master 1 enseignement théorique de l'U.E. 4D (Diagnostic microbiologique) de l'Université Paris Cité.

Membre du laboratoire associé au CNR *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*.

Responsable scientifique du laboratoire associé LA-SGA-E « Streptocoque du groupe A de l'enfant » du CNR des streptocoques (de 2006 à 2011) et Référent microbiologique du PHRC Streptopedia (Pr Albert Faye) depuis 2014

Curateur de la banque de données MLST de *Kingella kingae* hébergée sur le site de l'Institut Pasteur, Paris

(<http://bigsdB.Web.pasteur.fr/kingella/>)

Score Sigaps : 1779

COINTE, Aurélie

Née le : 12 décembre 1990 à Melun, France.

Nationalité : française

Adresse professionnelle : Service de microbiologie, CHU Robert-Debré, 48 Bd Sérurier, 75019 Paris, France

Tel: +33-1-40 03 23 40

Fax: +33-1-40 03 24 50

E-mail : aurelie.cointe@aphp.fr

Situation professionnelle :

Assistante Hospitalo-Universitaire 3^{ème} année, Service de microbiologie, CHU Robert-Debré

Fonctions antérieures :

- Praticien attachée, Service de microbiologie, CHU Robert-Debré, 2018-2019
- Internat de biologie médicale, APHP, 2013-2018

Principaux diplômes :

- Doctorat en Microbiologie, ED BioSPC, Université Paris Cité, 2021
- Lauréate de l'internat (Médaille d'or), 2018
- DIU Antibiotiques et Antibiothérapie, Université Paris Diderot, 2018
- Doctorat en Pharmacie et DES de Biologie Médicale, Université Paris Descartes, 2018

Activités d'enseignement, de recherche et d'expertise :

- Membre de l'unité Mixte de Recherche 1137 : IAME « Infection, Antimicrobiens, Modélisation, Evolution », INSERM, Université Paris Cité
- Enseignement de la Microbiologie aux étudiants de DFGSM3 (UFR de médecine, Université Paris Cité) et au DES de Biologie médicale
- Membre du du laboratoire associé au CNR *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*.
- Membre du groupe de travail pour la saisine de l'ANSES concernant « La définition des souches pathogènes de *Escherichia coli* productrices de Shiga toxines », 2022

Publications : 31, Score SIGAPS : 410

2.2.1.2 L'état des emplois rémunérés

2.2.1.2.1 CNR-ESS

Noms	Qualification	ETP
François-Xavier WEILL	Professeur Institut Pasteur	0,1
Sophie LEFÈVRE	Cadre médical Biologie	0,7
María PARDOS DE LA GÁNDARA	Ingénieure de recherche experte	0,9
Laëtitia FABRE	Ingénieure de recherche confirmée	0,5
Corinne RUCKLY	Technicienne supérieur de recherche	0,7
Monique LEJAY-COLLIN	Technicienne supérieur de recherche	0,7
Isabelle CARLE	Technicienne supérieur de recherche	0,8
Magali RAVEL	Technicienne supérieur de recherche	0,8
Véronique GUIBERT	Technicienne supérieur de recherche	0,8
Estelle SERRE	Technicienne supérieur de recherche	0,8
Chantal DEMOEN	Technicienne de recherche	0,9
Valérie DUVERNE-POLILAT	Technicienne supérieure administratif	0,2
Christelle BELLENGER	Technicienne supérieure administratif	1
TOTAL		8,9

ETP, équivalent temps plein

2.2.1.2.2 LA-RD

Noms	Qualification	ETP
Stéphane BONACORSI	PU-PH	0,10
Aurélie COINTE	PH	0,20
Philippe BIDEZ	MCU-PH	0,10
Sandrine LIGUORI	ARC-Technicienne	1,00
Pierre PHLIPAUX	Technicien	0,80
Céline COURROUX	Technicienne	0,20
Laetitia ABDENNEBI	Secrétaire	0,10
TOTAL		2,5

ETP, équivalent temps plein

2.2.1.3 Organigramme du CNR-ESS et du LA-RD

Figure 1. Organigramme du CNR-ESS

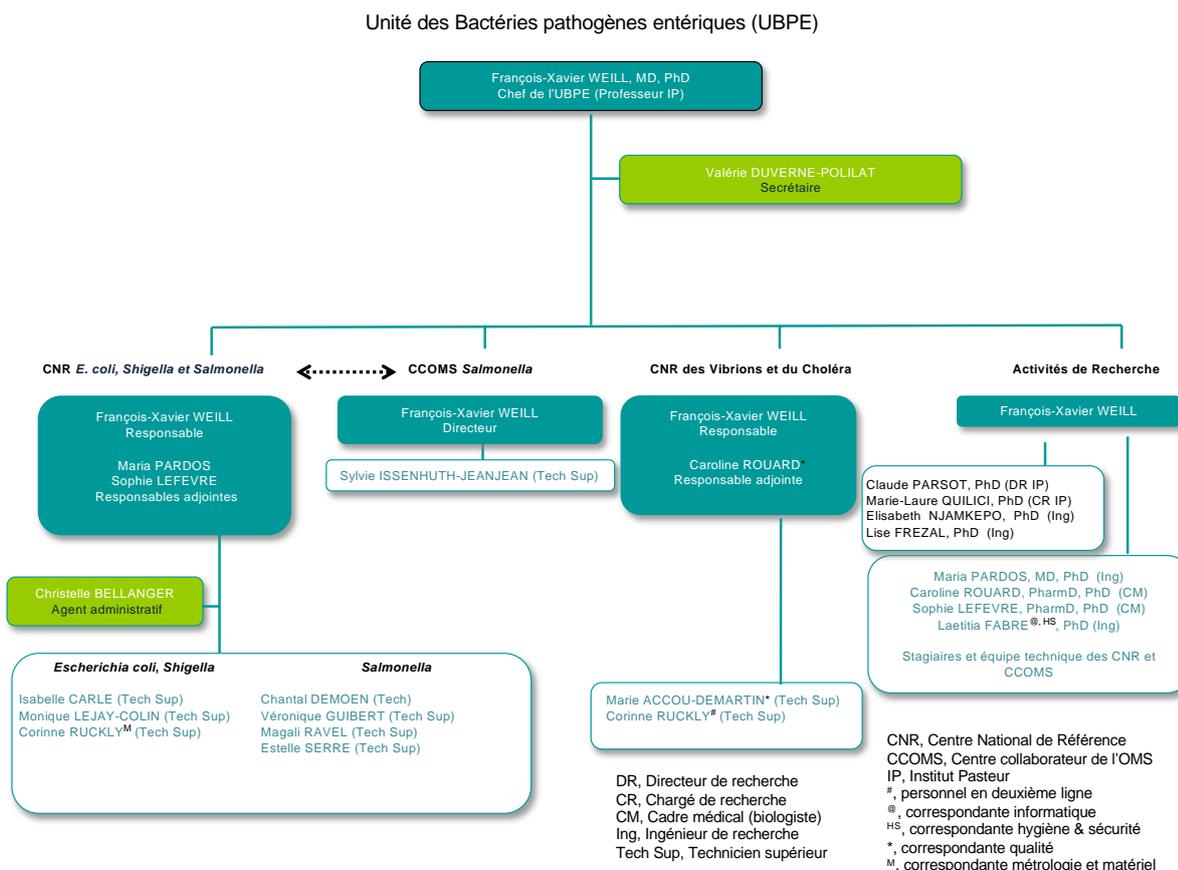


Figure 2. Organigramme du LA-RD

Responsable scientifique du LA-RD : Pr Stéphane Bonacorsi

Responsables adjoints :

Dr Aurélie Cointe : *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxine

Dr Philippe Bidet : *Escherichia coli* responsables de méningite néonatale et d'infections extra-intestinales sévères

Technicienne-ARC : Mme Sandrine Liguori (100%)

Technicien : Pierre Phlipaux (80%)

Technicienne : Céline Courroux (20%)

Secrétaire : Laetitia Abdennebi

2.2.2 En matière d'équipements et de logistique

2.2.2.1 Les locaux

2.2.2.1.1 CNR-ESS

Le CNR-ESS sera hébergé dans l'Unité des Bactéries pathogènes entériques, localisée dans le bâtiment BioTop de l'Institut Pasteur.

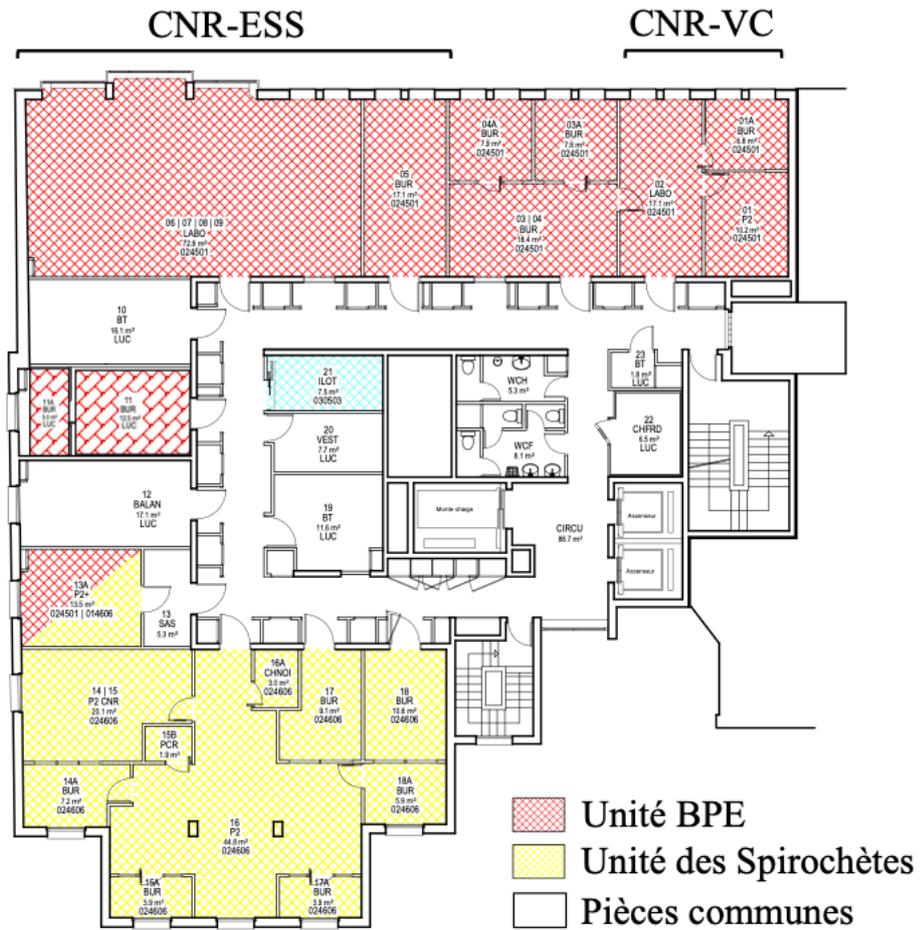
LES LOCAUX SE TROUVERONT PRINCIPALEMENT AU 3EME ETAGE DE CE BATIMENT :

- Une grande pièce (n°**06-09**) de type laboratoire P2 de 72,8 m² avec 12 paillasses et deux hottes, pour effectuer les analyses phénotypiques (en particulier la détermination de la résistance aux antibiotiques) et la préparation des lysats bactériens en vue du séquençage.
- Un secrétariat (n°**03/04**) de 18,4 m² avec deux bureaux pour effectuer la saisie informatique des renseignements épidémiologiques accompagnant les souches, l'envoi et l'archivage des résultats, ainsi que toutes les démarches administratives du CNR-ESS.
- Quatre pièces (n°**03A, 04A, 05** et **11**) pour les bureaux du personnel permanent ainsi que pour les stagiaires (17 places).
- Cinq pièces partagées avec l'Unité des Spirochètes :
 - Une pièce climatisée de 16,1 m² (n°**10**) pour les migrations par électrophorèse en agarose, les thermocycleurs, l'appareil d'acquisition d'image de gels et pour réaliser les extractions semi-automatiques d'ADN.
 - Une pièce de type P2+ de 13,5 m² (n°**13**) contenant deux hottes pour la manipulation des pathogènes de classe 3* (*Escherichia coli* entérohémorragiques, *Salmonella enterica* sérotype Typhi, et *Shigella dysenteriae* type 1).
 - Une pièce de 11,6 m² (n°**19**) contenant les agitateurs Infors, les 2 congélateurs à -80°C et l'ultracentrifugeuse.
 - Une pièce de 12 m² (n°**12**) contenant les balances et une hotte chimique.
 - Une chambre froide de 6,5 m² (n°**22**) contenant les milieux de cultures, les antisérums et les réactifs.

D'AUTRES LOCAUX SONT LOCALISES A DIFFERENTS ETAGES DU BATIMENT BIOTOP :

- Au 1^{er} étage, il existe une pièce de 10 m² (n°**16**) avec hotte pour le déballage et le préenregistrement des souches et prélèvements ainsi que des locaux (n°**14, 14A, 14B, 15** et **15A**, partagés avec l'Unité des Spirochètes) de 33,1 m² pour réaliser la PCR « marche en avant »
- Au 4^{ème} étage, il existe des bureaux (n°**03A, 04** et **04A**) avec 10 places et un laboratoire de 10,3 m² (n°**03**) pour faire les mix PCR et le séquençage « long read ».

Figure 3. Plan des locaux du CNR-ESS



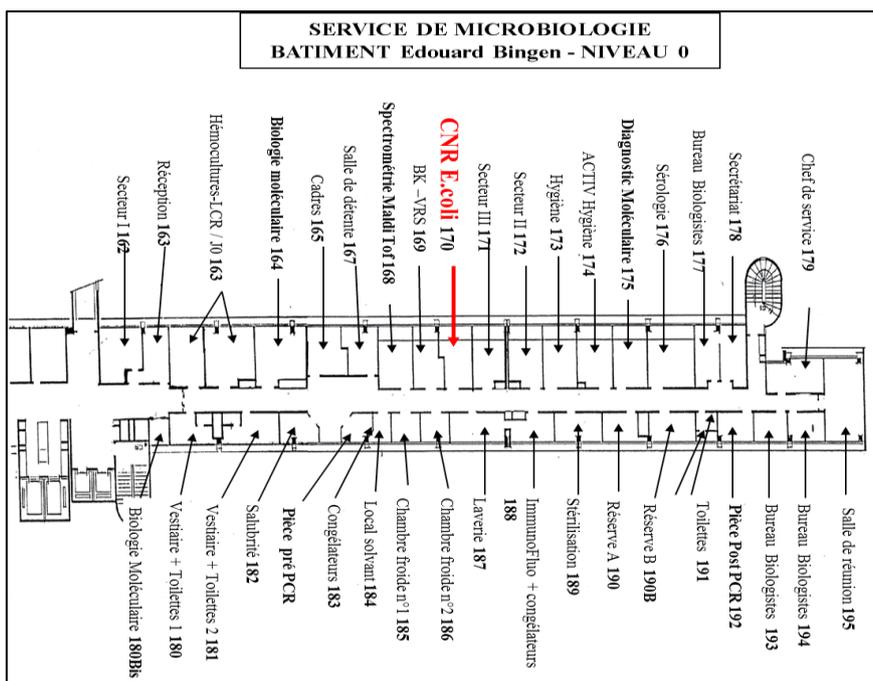
Bâtiment BioTop de l'Institut Pasteur, 3^{ème} étage

2.2.2.1.2 LA-RD

Le **LA-RD** sera hébergé 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 PCR et d'extraction des acides nucléiques (locaux communs),
- Une pièce post-PCR dédiée aux électrophorèses en agarose (locaux communs),
- Une chambre froide (locaux communs).

Figure 4. Plan des locaux du LA-RD



2.2.2.2 Les principaux équipements

2.2.2.2.1 CNR-ESS

Le **CNR-ESS** disposera dans ses locaux :

- d'un équipement classique de laboratoire de bactériologie : becs Bunsen, étuves (30°C et 37°C), centrifugeuses...
- de postes de sécurité microbiologique de type II (x4),
- d'un système automatisé de lecture et d'interprétation d'antibiogrammes SIRSCAN (I2A),
- d'un appareil pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques par la micro-méthode en dilution : Sensititre AIM avec le système VIZION (Trek Diagnostics System),
- de hottes pour la préparation des mélanges de PCR (x2), thermocycler (x 6), matériel d'électrophorèse en agarose, matériel pour l'hybridation des acides nucléiques, et d'un système de capture électronique des images de gel (Gel Doc XR+, BioRad),
- d'un appareil d'extraction semi-automatique de l'ADN bactérien (Maxwell 16 Mdx, Promega),
- d'un appareil de PCR en temps réel CFX96 (BioRad),
- d'un séquenceur d'ADN Long Read MinION Mk1C (Oxford Nanopore Technologies),
- d'un équipement informatique : 6 ordinateurs Macintosh, 11 PC et avec un accès au logiciel d'analyse BioNumerics (Applied Maths),
- d'étuves compartimentées avec agitation (Infors),
- d'une ultracentrifugeuse Beckman,
- de congélateurs à -80°C (x2).

Le **CNR-ESS** disposera à l'extérieur de ses locaux d'un accès à :

- un appareil de spectrométrie de masse de type MALDI-TOF (Microflex, Bruker Daltonics)

Le **CNR-ESS** aura également accès :

- au CCOMS (expertise et conseil de typage, accès aux souches de référence ...)
- aux structures transversales de l'Institut Pasteur telles que :
 - **Plateforme de microbiologie mutualisée (P2M)**. Cette plateforme permettra la réalisation des séquençages de génomes bactériens en temps réel dans le cadre des activités de santé publique (extracteur automatique d'ADN et séquenceur à haut débit NextSeq 500 d'Illumina).
 - **Plateforme de génomique OMICS**. Cette plateforme permettra le séquençage des génomes bactériens pour les activités de recherche (séquenceurs à haut débit MiSeq et HiSeq2500 d'Illumina).
 - **Centre de Bioinformatique, Biostatistique et Biologie intégrative (C3BI)**. Ce centre sera impliqué pour les analyses bioinformatiques et développement d'interfaces Web.
 - **Plateforme de préparation des milieux de culture**
 - **La coordination des CNR et des CCOMS**
 - **L'animalerie centrale** pour la préparation des sérums
 - **Le service informatique** pour les infrastructures informatiques
 - **La médiathèque scientifique** avec la quasi-totalité des revues de microbiologie accessibles en ligne

2.2.2.2.2 LA-RD

Le **LA-RD** disposera dans ses locaux du matériel suivant :

Matériel appartenant au laboratoire :

- Poste de sécurité microbiologique de type II
- Étuve
- Centrifugeuse
- Réfrigérateur
- Congélateur à -20°C
- Automates PCR en MAD Mobidiag et EasyPlex pour les diagnostics en urgence
- MiniVidas en MAD pour concentration des EHEC par immunocapture

En commun :

- MALDI-TOF Microflex® de Bruker pour identification bactérienne
- Automates PCR Filmarray (Biofire®) et Qiasat (Qiagen®)
- Pièce pré PCR avec poste de sécurité PCR
- Une pièce climatisée comprenant :
 - o Thermocyclers (x 3)
 - o Appareil PCR temps réel (CFX 96 et LC480)
- 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 et au séquenceur miniSeq pour séquençage ponctuel (Université Paris Diderot- Unité INSERM 1137)

2.3 BREF DESCRIPTIF DES THEMATIQUES DE RECHERCHE

2.3.1 CNR-ESS

- **Génomique comparative et évolutive** des *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* entéro-invasifs (EIEC) et *E. coli* entéro-pathogéniques (EPEC) à large échelle dans le but d'étudier des populations bactériennes particulières (émergentes, épidémiques, multirésistantes aux antibiotiques, sans réservoir connu, historiques, ...).
- Mise au point de **nouveaux outils**, en particulier génomiques, pour l'identification précise et le suivi de certaines souches ou populations bactériennes.

2.3.2 LA-RD

Les biologistes du LA-RD font tous partie de l'équipe de Recherche IAME (UMR 1137, Directeur Erick Denamur) dont la thématique principale est centrée sur *E. coli* et porte sur l'évolution, la virulence et la résistance de cet organisme modèle. Leurs thématiques de recherche portent sur la virulence et la résistance de *E. coli* responsables d'infections chez l'enfant et donc en particulier sur les EHEC et les ExPEC en particulier ceux responsables de méningite et d'infection urinaire.

- Caractérisation moléculaire des EHEC : recherche des facteurs pronostiques en établissant la relation entre gravité des symptômes (séquelles, létalité) et équipement en facteurs de virulence et sérotype moléculaire,
- Rôle du microbiote dans la survenue du SHU,
- Analyse des effets des antibiotiques sur la production des Shiga-toxines au sein des différents clones,
- Développement de techniques de typage ultra-rapide basées sur le MLVA des souches de EHEC, dans l'attente du séquençage NGS des souches, pour la gestion des investigations autour des cas groupés,
- Caractérisation génétique des *E. coli* responsables de pathologies extra-intestinales (ExPEC) : approche épidémiologique moléculaire et confrontation des caractéristiques moléculaires avec les données clinico-biologiques pour déterminer la présence de facteurs bactériens prédictifs de bon pronostic (séquelles de méningite, séquelles rénales),
- Responsabilité d'un Workpackage dans le cadre d'une ANR pour la mise au point d'un vaccin vis-à-vis des *E. coli* responsables de méningite néonatales.

2.4 CAPACITES TECHNIQUES DU LABORATOIRE

2.4.1 Liste des techniques

2.4.1.1 Liste des techniques pour les *Salmonella* (CNR-ESS)

TECHNIQUES DE CULTURE BACTERIENNE

- Culture sur différents milieux (Drigalski, TSA, BCP, XLT4, Hektoen, Kligler–Hajna, Mannitol-Mobilité).

TECHNIQUE PHENOTYPIQUE POUR L'IDENTIFICATION BACTERIENNE

- Analyse par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF (Microflex, Bruker Daltonics).

TECHNIQUES DISPONIBLES POUR L'ÉVALUATION DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

- L'**antibiogramme par diffusion en milieu gélosé** (*Enterobacteriaceae*) en suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) et de l'EUCAST, sera la technique utilisée pour les *Salmonella* dites majeures (sérotypes Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B d-tartrate- et Paratyphi C). De 16 à 32 antibiotiques (BioRad) seront testés.
- La **détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)** de certains antibiotiques par la méthode **E-test** (BioMérieux). La détermination des CMI de l'acide nalidixique, de la ciprofloxacine et de l'azithromycine sera réalisée systématiquement pour toutes les souches de *Salmonella* dites majeures. En fonction des résultats de l'antibiogramme, les CMI des céphalosporines de 3^{ème} génération et des carbapénèmes pourront être aussi déterminées.
- La **détermination des CMI** de certains antibiotiques par un système semi-automatisé de **microdilution en milieu liquide** (Sensititre, Trek Diagnostics Systems). Elle sera réalisée chaque année sur un échantillon représentatif d'un millier de souches de *Salmonella* zoonotiques à l'aide de la plaque EUVSEC3 (contenant des antibiotiques définis comme critiques par l'ECDC et l'EFSA). Une seconde plaque (EUVSEC2) sera utilisée en cas de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération ou aux carbapénèmes, détectées avec la première plaque.

Cette évaluation de la sensibilité aux antibiotiques aura pour but de suivre les tendances au cours du temps et de réaliser des corrélations entre phénotypes de résistance et présence de gènes de résistance. Aucun résultat ne sera rendu au laboratoire expéditeur.

TECHNIQUES DISPONIBLES POUR LE TYPAGE BACTERIEN

L'**analyse génomique après séquençage du génome entier bactérien (WGS, whole-genome sequencing)** a été initiée en 2017, et depuis juillet 2018 est devenue la méthode de première intention pour caractériser toutes les souches de *Salmonella* reçues au CNR-ESS. Elle restera la méthode unique pour la caractérisation des salmonelles en 2023-2027.

Les outils et logiciels utilisés après développement ou validation au CNR-ESS permettront de définir pour toute souche analysée :

- La **sous-espèce** de *Salmonella* (y compris les nouvelles, VII et VIII).
- Le **sérotype déduit** à partir de l'analyse de la région *rfb* (codant pour l'antigène O) et des gènes *fliC* et *fliB* codant pour les antigènes flagellaires.
- Le **ST7** (schéma de multilocus sequence typing (MLST) (Achtman *et al.* PLoS Pathogens 2012).
- Le type **CRISPOL** pour les souches de *S. enterica* sérotype Typhimurium et leur variant monophasique (Fabre *et al.* PLoS One 2012).

- La clusterisation parmi 12 différents groupes (de HC2 à HC2850) par la technique de **core-genome MLST** (schéma *Salmonella* d'Enterobase, <https://enterobase.warwick.ac.uk/>) (Zhou *et al.* Bioinformatics 2021).
- Le contenu en **gènes de résistance aux antibiotiques** grâce à l'outil ResFinder du Center for Genomic Epidemiology (<https://cge.food.dtu.dk/services/ResFinder/>) (Zankari *et al.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2012).

Une analyse plus discriminante des distances génétiques basées sur les « **single nucleotide polymorphisms** » (SNP) présents dans le core-genome pourra être réalisée sur des populations particulières à l'aide d'Enterobase ou d'autres outils comme RAxML (Stamatakis. Bioinformatics 2014) après élimination des zones recombinantes par Gubbins (Croucher *et al.* Nucleic Acids Research 2015).

Les résultats de typage et de sous-typage seront partagés en temps réel avec Santé publique France. Pour maintenir un réseau de laboratoires correspondants, il sera nécessaire que le CNR-ESS fasse un retour au laboratoire expéditeur sur la souche envoyée. Environ trois semaines après réception de la souche bactérienne, le CNR-ESS enverra donc un « résultat épidémiologique » basé sur l'analyse génomique et ne contenant que l'identification (genre, espèce et sous-espèce de *Salmonella*), le ST7 et le sérotype déduit.

Le **sérotypage** complet d'une souche de *Salmonella* par **agglutination** a été la méthode de référence pendant des décennies. Cette technique laborieuse requiert une longue formation du personnel technique et l'emploi d'environ 200 anti-sérums polyclonaux absorbés, préparés chez le lapin et de moins en commercialisés par les industriels. De plus, il a été démontré que les sérotypes ne reflètent qu'incorrectement la structure et l'évolution des populations de *Salmonella* (Achtman *et al.* PLoS Pathogens 2013). En conséquence depuis 2017, cette activité a été arrêtée pour être remplacé par l'analyse génomique. A titre exceptionnel, et à la demande de Santé publique France, dans le cadre d'investigation de certaines épidémies causées par des sérotypes peu fréquents sur des populations fragiles (par exemple les nourrissons), un sérotypage classique pourra être réalisé. Ce typage plus rapide (2-3 jours par rapport à un minimum de 10 jours pour le WGS) mais bien moins discriminant que l'analyse génomique permettra aux épidémiologistes d'identifier et d'interroger les cas le plus rapidement possible. Ce sérotypage classique sera considéré comme une analyse épidémiologique d'orientation avant un résultat définitif uniquement basé sur l'analyse génomique.

2.4.1.2 Liste des techniques pour les *Shigella* (CNR-ESS)

TECHNIQUES DE CULTURE BACTERIENNE

- Culture sur différents milieux (Drigalski, TSA).

TECHNIQUES D'ORIENTATION POUR IDENTIFIER LES *SHIGELLA*

- La recherche par **PCR du gène *iudA*, codant pour la bêta-glucuronidase**, la présence de ce gène permet de valider l'identification *E. coli* – *Shigella*.
- La détection par **PCR des gènes codant pour l'invasivité (*ial* et *ipaH*)** et présents sur le chromosome et le plasmide de virulence des *Shigella*. Ces gènes sont aussi présents chez les *E. coli* entéro-invasifs (EIEC), mais ces derniers sont plus rares.

TECHNIQUES POUR L'ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES

- L'**antibiogramme par diffusion en milieu gélosé (*Enterobacteriaceae*)** en suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) et de l'EUCAST, sera la technique utilisée pour toutes les souches de *Shigella* reçues au CNR-ESS. De 16 à 32 antibiotiques (BioRad) seront testés.
- La **détermination des CMI** de certains antibiotiques par la méthode **E-test** (BioMérieux). En fonction des résultats de l'antibiogramme, les CMI de l'acide nalidixique, de la ciprofloxacine, de l'azithromycine, des céphalosporines de 3^{ème} génération et des carbapénèmes pourront être déterminées.

Cette évaluation de la sensibilité aux antibiotiques aura pour but de suivre les tendances au cours du temps et de réaliser des corrélations entre phénotypes de résistance et présence de gènes de résistance. Aucun résultat ne sera rendu au laboratoire expéditeur.

TECHNIQUES POUR L'IDENTIFICATION ET LE TYPAGE DES *SHIGELLA*

L'analyse génomique après WGS est la technique de première intention au CNR-ESS depuis octobre 2021. Elle le restera au cours du prochain mandat 2023-2027.

Les outils et logiciels utilisés après développement ou validation au CNR-ESS permettent de définir pour toute souche analysée :

- La **clusterisation** par la technique du **core-genome MLST** (schéma *E. coli/Shigella* d'EnteroBase). Les souches de *Shigella* sont ainsi divisées en clusters S1, S2, S3, SON, SD1, SB12, SD8 et SD10 sur la base du HC2000 (Yassine *et al.* Nature Communications 2022). Les clusters S1 et S2 sont eux même subdivisés en cinq (S1a-S1e) et six (S2a-S2f) sous-clusters sur la base du HC1100. Le cluster S3 (souches de *S. flexneri* 1-5, X et Y) est, quant à lui, subdivisé en sept « phylogroups (PG) » définis par Connor *et al.* (Elife 2015), ce qui est phylogénétiquement plus robuste que distinction basée sur les 18 sérotypes et sous-sérotypes de *S. flexneri* (du fait de l'instabilité des prophages et plasmides modifiant l'antigène O),
- Le **sérotypage déduit** à l'aide de l'outil **ShigaPass** (Yassine *et al.* bioRxiv 2022) à partir de l'analyse de la région *rfb* (codant pour l'antigène O), du gène *fliC*, du ST7 (schéma MLST de *E. coli/Shigella* d'EnteroBase) et des spacers de la région CRISPR. Pour les souches de *S. flexneri* du cluster S3 (sérotypes 1-5, X et Y), le sérotypage *in silico* repose également sur la détection de différents prophages et plasmides modifiant l'antigène O,
- Un **génotypage de *S. sonnei***, le sérotypage prévalent en France, par la méthode de Hawkey *et al.* (Nature Communications 2021). Cette méthode repose sur la détection de 147 SNPs et classe les souches en lignées, clades, sous-clades, ... jusqu'à des clones d'intérêt avec une nomenclature informative (par exemple 3.6.1.1.2_CipR.MSM5 ou 3.7.30.4.1_OJC),
- Le contenu en **gènes de résistance aux antibiotiques** grâce à l'outil ResFinder du Center for Genomic Epidemiology (<https://cge.food.dtu.dk/services/ResFinder/>),

Une analyse plus discriminante des distances génétiques basées sur les **SNP du core-genome** pourra être réalisée sur des populations particulières à l'aide d'EnteroBase ou d'autres outils comme RAxML (Stamatakis. Bioinformatics 2014) après élimination des zones recombinantes par Gubbins (Croucher *et al.* Nucleic Acids Research 2015).

Pour maintenir un réseau de laboratoires correspondants, il est nécessaire que le CNR-ESS fasse un retour au laboratoire expéditeur sur la souche envoyée. Environ trois semaines après réception de la souche bactérienne, le CNR-ESS enverra donc un « résultat de typage à but épidémiologique » basé sur l'analyse génomique et mentionnant le cluster cgMLST (S1, S2, S3, SON, SD1, SB12, SD8 ou SD10), le sérotypage déduit et pour *S. sonnei* le génotypage.

2.4.1.3 Liste des techniques pour les EHEC (CNR-ESS)

Depuis 2017, le CNR-ESS réalise l'**analyse génomique après WGS** de toutes les souches de EHEC adressées par le LA-CNR. Cela sera poursuivi lors du prochain mandat 2023-2027.

Les outils et logiciels utilisés après développement ou validation au CNR-ESS permettront de définir pour toute souche analysée :

- Le **sérotypage *in silico*** grâce à l'outil SerotypeFinder du Center for Genomic Epidemiology (<https://cge.food.dtu.dk/services/SerotypeFinder/>) (Joensen *et al.* Journal of Clinical Microbiology 2015)
- Les **gènes de virulence** de *E. coli* grâce à l'outil VirulenceFinder du Center for Genomic Epidemiology (<https://cge.food.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>) (Joensen *et al.* Journal of Clinical Microbiology 2014), les variants du gène *stx* sont également déterminés par VirulenceFinder, ceux du gène *eae* le sont par un script interne.

- Le **ST7** (schéma de multilocus sequence typing (MLST) pour *E. coli/Shigella* d'EnteroBase).
- La clusterisation parmi les groupes HC2, HC5, HC10, HC20 et HC50 par la technique de **core-genome MLST** (schéma *E. coli/Shigella* d'EnteroBase, <https://enterobase.warwick.ac.uk/>).
- Le contenu en **gènes de résistance aux antibiotiques** grâce à l'outil ResFinder du Center for Genomic Epidemiology (<https://cge.food.dtu.dk/services/ResFinder/>).

Une analyse plus discriminante des distances génétiques basées sur les « **single nucleotide polymorphisms** » (SNP) présents dans le core-genome pourra être réalisée sur des populations particulières à l'aide d'EnteroBase ou d'autres outils comme RAxML (Stamatakis. Bioinformatics 2014) après élimination des zones recombinantes par Gubbins (Croucher *et al.* Nucleic Acids Research 2015).

Les résultats de cette analyse génomique ne seront rendus qu'à Santé publique France et au LA-CNR.

2.4.1.4 Liste des techniques pour les *E. coli* (LA-RD)

TECHNIQUES POUR L'IDENTIFICATION

- Mise en culture sur milieux spécifiques : Mac Conkey Sorbitol Cefixime Tellurite (BioMérieux), Milieu chromogène pour entérobactéries, milieu de Drigalski, Milieu chromogène STEC
- Identification par spectrométrie de masse MALDI TOF et éventuellement identification biochimique sur galerie API32E (BioMérieux)
- Détection optimisée par concentration des EHEC par Immunocapture
- PCR automatisée sur automates Mobidiag, Easyplex, Qiasat et BioFire en cas d'urgence et le WE.
- PCR conventionnelle et temps réel des gènes de virulence : *stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*, *saa*
- Diagnostic des méningites à *E. coli* décapitées par une PCR triplex maison
- PCR multiplexes de 9 gènes de virulence caractéristiques des ExPEC

TYPAGE :

- Sérogroupage 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.
- Sérogroupage par PCR multiplex permettant de détecter ceux liés aux ExPEC : O1, O2, O4, O6, O7, O16, O18, O45, O83.
- Typage moléculaire par technique MLVA
- Groupage phylogénétique des ExPEC par PCR multiplexe

SENSIBILITE AUX ANTI-INFECTIEUX :

Antibiogramme par méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA-SFM et E-test pour la détermination de la sensibilité à l'azithromycine pour les EHEC.

2.4.2 Collections de souches

2.4.2.1 Description

2.4.2.1.1 CNR-ESS

Toutes les souches de *Salmonella*, *Shigella* et *E. coli* adressées depuis 1947 à l'Unité des Entérobactéries (Pr L. Le Minor puis Pr P.A.D. Grimont), à l'Unité de Biodiversité des Bactéries Pathogènes Emergentes (Pr P.A.D. Grimont), puis à l'Unité BPE (Pr F.-X. Weill) ont été conservées en tubes gélosés gardés à température ambiante. L'ensemble de tous les sérotypes connus de *Shigella* est conservé à 80°C par le CNR-ESS. L'ensemble de tous les sérotypes connus de *Salmonella* est conservé sous forme lyophilisée au Centre Collaborateur OMS pour le typage et l'antibiorésistance de *Salmonella* hébergé par l'Unité BPE. La collection de l'Unité BPE comprend ainsi plus de 400.000 souches bactériennes.

2.4.2.1.2 LA-RD

Plusieurs collections de souches humaines sont disponibles au LA-RD depuis 1991 :

- souches de EHEC responsables de SHU et de diarrhées chez l'enfant ou de l'adulte,
- souches de *E. coli* responsables de méningites,
- souches de *E. coli* responsables de pathologie extra-intestinales

La collection de *E. coli* du LA-RD est décrite dans le tableau ci-dessous. Les souches sont toutes caractérisées selon leur sérotype, facteurs de virulence, groupe phylogénétique et sensibilité aux antibiotiques.

	EHEC	ExPEC méningite	ExPEC hors méningite
Début de la collection	1991	1994	2007
Nombre de souches	2553	499	746

2.4.2.2 Conditions de stockage

2.4.2.2.1 CNR-ESS

Tous les tubes gélosés sont conservés dans une pièce sécurisée et climatisée de 40 m² depuis 2009 (sous-sol du bâtiment 8). Pour toutes les souches isolées avant 1992 (date de l'enregistrement informatique des données accompagnant les souches), les informations relatives aux souches sont disponibles sur des cahiers et sur des fiches manuscrites stockés dans la même pièce. Certaines souches particulières (souches de référence pour les différents sérotypes de *Shigella*, souches de référence de *E. coli* pour les gènes de pathogénicité, pour les différents sérotypes O et H dans le cadre du typage moléculaire, les souches de *Shigella dysenteriae* de type 1, ou possédant des résistances particulières aux antibiotiques) sont conservées à -80°C dans l'Unité BPE.

2.4.2.2.2 LA-RD

Les souches sont conservées en cryotubes à -80°C dans un local spécifique fermé à clé.

2.4.2.3 Conditions de mise à disposition

2.4.2.3.1 CNR-ESS

La mise à disposition de ces souches se fait avec l'accord du responsable scientifique du CNR puis par la mise en place de documents contractuels spécifiques. Ainsi, est exigée pour le transfert du matériel biologique et des données associées, la mise en place *a minima* d'un accord de transfert de matériel biologique (Material Transfer Agreement - 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 pas à une contrepartie financière. Ces accords ont notamment pour objet d'assurer le transfert de la détention physique du matériel au partenaire. L'unité de recherche reconnue CNR, de part la valorisation de son savoir-faire et de son expertise sur le matériel biologique concerné, reste propriétaire des droits existants sur les souches et données associées y afférant. Différents points essentiels sont appréhendés dans ces accords :

- le partenaire s'engage à n'utiliser les souches et données associées que dans le cadre d'un programme de recherche défini spécifiquement.
- les résultats issus du programme de recherche devront systématiquement être communiqués par le partenaire au CNR; le CNR sera également associé ou remercié dans les publications et/ou aux communications.
- le tiers partenaire s'engage à ne pas transférer les souches et les données associées à des tiers et à retourner ou détruire le matériel biologique à la fin du programme de recherche.

En termes de valorisation, l'Institut Pasteur s'assure dans certaines circonstances de la copropriété des résultats issus des travaux effectués sur le matériel biologique et veille à ce que la valorisation du savoir-faire et de l'expertise du CNR ayant conservé, traité, trié et analysé le matériel biologique soit garanti au titre de l'accord.

Lorsque le matériel biologique et les données associées sont mis à disposition dans le cadre d'une collaboration scientifique par laquelle les partenaires s'associent de manière plus conséquente à la réalisation du programme de recherche, la valorisation des travaux menés conjointement devra tenir compte des apports respectifs de chacun des partenaires.

L'interdiction de l'utilisation du matériel biologique sur l'homme et sur les animaux, le cas échéant, est également stipulée dans l'accord. Enfin, le CNR n'assume aucune responsabilité quant à l'utilisation du matériel biologique par le partenaire.

2.4.2.3.2 LA-RD

Le demandeur doit contacter le responsable du laboratoire associé pour exposer les buts de son étude. La mise à disposition de ces souches ne se fera qu'après l'accord du responsable.

2.4.3 Base de données de séquences

Actuellement, plus de 40000 souches de Salmonella et Shigella et EHEC ont été séquencées par Illumina au CNR-ESS. La majorité de ces génomes est déposée immédiatement dans EnteroBase (<https://enterobase.warwick.ac.uk/>). Les short-reads associées à des métadonnées sont déposés à l'European Nucleotide Archive (ENA, www.ebi.ac.uk/ena) lors de la publication des travaux scientifiques. Les génomes non publiés sont mis à disposition dans le cadre d'investigations d'épidémies internationales ou lors de collaborations scientifiques après discussion avec le responsable scientifique du CNR-ESS.

3 ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES

Salmonella

3.1 BILAN DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES POUR *SALMONELLA* 2017-2021

3.1.1 Les activités au titre de l'expertise microbiologique

Entre 2017 et 2021,

- Le CNR-ESS a reçu et analysé **43 138** souches de *Salmonella* spp.
- Depuis juillet 2018, 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. Entre 2017 et 2021, **37 982 souches** ont été typées par cette méthode.
- Le **sérotypage classique par agglutination** était la méthode de référence pour le typage des *Salmonella* avant l'avènement du WGS. Entre 2017 et 2021, **7 119 souches ont été sérotypées**. Depuis juillet 2018, cette technique n'est utilisée que pour la consolidation de bases de données internes ou exceptionnellement, à la demande de Santé publique France, comme typage d'orientation rapide lors de l'investigation d'épidémies particulières.

Les techniques de référence et les techniques disponibles au CNR-ESS sont présentées dans le paragraphe **2.4.1 Liste des techniques**.

3.1.1.1 Évolution des techniques

3.1.1.1.1 Liste des techniques développées

Depuis avril 2017, le CNR-ESS utilise le **séquençage du génome entier** (whole-genome sequencing ou **WGS**) pour ses activités de surveillance épidémiologique. En 2017, il a été réalisé sur un échantillon correspondant à 74,1% des souches typées. En juillet 2018, le 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 **fliB**, du **CRISPOL-type** (pour le sérotype Typhimurium et son variant monophasique) et de la présence/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. Le groupement des isolats en groupes de proximité génétique HC5, HC10, HC20 et HC50 est communiqué de façon hebdomadaire à Santé publique France (SpF). Cette approche de la surveillance est désormais utilisée par la France, ainsi que par le réseau européen EpiPulse-FWD du ECDC.

Une confirmation des groupements bactériens obtenus par cgMLST 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), via le site Enterobase ou par des outils développés au CNR-ESS.

Sur le plan taxonomique, grâce au hierarchical clustering appliqué au cgMLST (niveau HC2850), il est désormais possible d'identifier toutes les espèces et sous-espèces de *Salmonella*, y compris deux nouvelles sous-espèces de *Salmonella enterica*, VII et VIII, qui ne pouvaient pas être distinguées des autres par les méthodes biochimiques traditionnelles.

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)

A l'aide de génomes représentatifs des différentes sous-espèces et espèces de *Salmonella*, un script a également été développé au CNR-ESS pour faire une identification taxonomique précise sur toutes les souches reçues.

Ces méthodes sont détaillées dans le paragraphe **2.4.1 Liste des techniques**.

3.1.1.1.2 Liste des techniques en développement

De façon à maintenir un lien avec les données de sérotypage, le CNR-ESS est en train de finaliser une base de données comprenant l'ensemble des gènes du cluster *rfb* (codant pour l'antigène « O ») des *Salmonella*. Grâce à un script, il sera possible de déterminer *in silico* l'antigène O des souches. Cela permettra d'améliorer l'inférence du sérotype pour les souches appartenant aux sérotypes rares ou ceux associés à des nouveaux profils MLST.

3.1.1.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Le CNR-ESS est l'un des principaux utilisateurs du site Enterobase. L'interaction du CNR-ESS avec l'équipe qui gère Enterobase à l'Université de Warwick (Royaume-Uni) a débouché 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, notamment pour le variant monophasique de Typhimurium. Depuis 2021, les responsables du CNR-ESS sont curateurs des bases *Salmonella* et *E. coli/Shigella* d'Enterobase.

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*.**

Une étude sur à peu près 1 000 souches de *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella* du CNR-ESS a démarré en 2020 avec l'**IR Biotyper® de Bruker**. La technologie du IR Biotyper® de Bruker analyse les vibrations des glycoprotéines par un système de spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier. Chez *Salmonella*, le CNR-ESS analysera la capacité de ce système à différencier les sérotypes, en fonction de leur antigène O (correspondant à la partie externe et variable du lipopolysaccharide (LPS) de la paroi bactérienne).

3.1.1.3 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.

3.1.1.4 Collections de matériel biologique

L'organisation, les conditions de stockage et de mise à disposition des collections de matériel biologique sont présentées dans le paragraphe 2.4.2 Collections de souches.

3.1.1.5 Activités d'expertise *Salmonella*

Depuis juillet 2018, le CNR-ESS réalise dans un but épidémiologique le **typage par WGS** comme technique de **première intention** pour toutes les souches de *Salmonella* reçues des laboratoires collaborateurs de son réseau national. Le sérotypage classique par **agglutination** n'est plus réalisé que dans **certaines conditions très particulières** et toujours en association avec le WGS (sauf pour les doublons, cf plus bas). Par exemple pour compléter la base de données MLST/sérotype du CNR-ESS quand un nouveau séquençotype MLST est identifié à partir d'une séquence génomique. Ou exceptionnellement, à la demande de Santé publique France, comme test d'orientation lors de la phase initiale de certaines investigations d'épidémies quand seul un résultat rapide permet l'interrogatoire précoce des nouveaux cas (l'agglutination permettant d'identifier le sérotype en 2 à 5 jours par rapport à 18 jours en moyenne pour le WGS). Ou enfin pour les doublons qui sont des souches issues d'un même patient, d'un même laboratoire expéditeur, d'un même type de prélèvement dans un intervalle de temps inférieur à 60 jours.

En 2021, le CNR-ESS a clôturé la plateforme « **Voozano** » pour la déclaration en ligne d'isolements de *Salmonella* et *Shigella* sans envoi de souche et sollicite désormais l'envoi de toutes les souches de *Salmonella* et *Shigella* isolées dans les laboratoires d'analyses médicales. Pour plus d'information sur cette décision, voir paragraphe 3.1.3.1.2 **Définition de "échantillon de souches isolées"**.

En 2021, le CNR-ESS a reçu **10 002** souches de *Salmonella* d'origine humaine (**Tableau 1**).

Tableau 1. Nombre de souches et de « fiches information » de *Salmonella* enregistrées de 2017 à 2021

	2017	2018	2019	2020	2021
Souches reçues au CNR-ESS	10 009	9 513	9 464	7 693	10 002
— "Absence de culture"	17	18	21	10	22
— "Bactérie autre que <i>Salmonella</i> "	78	64	50	32	48
— "Doublon"	172	166	133	427	365
— "Autres" non analysées	1 600	138	66	43	35
— Souches analysées "une par patient"	8 189	9 145	9 215	7 181	9 408
Fiches information reçues au CNR-ESS	1 919	2 037	1 427	1 100	0
— Doublons fiches	32	55	40	32	0
— Doublons fiche/souche	159	201	297	173	0
— Fiches Voozano "une par patient"	1 728	1 781	1 090	895	0
Total reçu	11 928	11 550	10 891	8 793	10 002

Des **10 002 souches reçues**, 594 ont été exclues des analyses, dont 365 identifiées comme des « doublons » (même patient, même laboratoire expéditeur, même type de prélèvement dans un intervalle de temps inférieur à 60 jours). Par ailleurs, 48 souches envoyées pour sérotypage de *Salmonella* se sont avérées être des bactéries autres que *Salmonella*. Finalement, 35 souches n'ont pas été analysées en raison de problèmes d'envoi (tube cassé, absence de culture, envoi erroné au CNR-ESS). Ainsi, **9 408 souches** de *Salmonella* ont été analysées dans le cadre des activités de **surveillance** du CNR-ESS en 2021. Ainsi se confirme la tendance à l'augmentation du nombre de souches analysées chaque année, à l'exception de 2020, première année de la pandémie à SARS-CoV-2.

Le CNR-ESS a également réalisé le typage de 13 souches de *Salmonella* non humaines isolées chez l'animal, dans des aliments ou dans l'environnement, en France, en 2021. Les souches ont été envoyées par le laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses Maisons-Alfort.

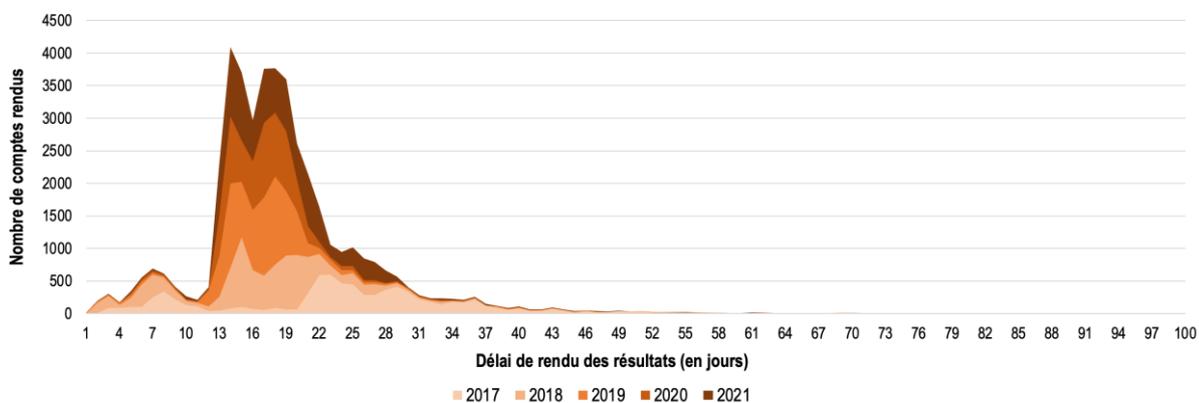
DELAI DE RESTITUTION DES RESULTATS :

Le délai moyen de restitution des résultats de typage du CNR-ESS aux laboratoires est de 19 jours (moyenne de 18 jours en 2020), avec une médiane de 18 jours (comme en 2020). Le délai de rendu des résultats dépend de la vitesse de production des séquences par la plateforme P2M de l'Institut Pasteur (voir **Annexe C**).

La diminution notable de l'activité de typage par agglutination depuis 2018 a fait disparaître le premier pic de résultats à 2 et 7 jours présent jusqu'en 2018 (**Figure 5**). Les séquences WGS sont obtenues majoritairement de 13 à 21 jours après réception des souches par le CNR-ESS.

Le nombre hebdomadaire de runs de séquençage WGS réalisés par la plateforme de séquençage P2M a augmenté en 2021. Cependant, l'activité intense de séquençage des variants du SARS-CoV-2 a entraîné une augmentation du délai du séquençage des autres pathogènes dont la surveillance est réalisée au sein de l'Institut Pasteur. Ceci explique l'augmentation du délai de rendu de certains résultats au-delà de 21 jours en 2021.

Figure 5. Délai de rendu des résultats de *Salmonella*, CNR-ESS, 2017-2021



Un compte rendu des résultats de typage 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.

3.1.1.6 Activités de séquençage

LE CNR-ESS A-T-IL EU ACCES A UNE PLATEFORME DE SEQUENÇAGE ?

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 **Annexe C**).

LE CNR-ESS A-T-IL EU ACCES A UNE EXPERTISE BIO-INFORMATIQUE ?

Voir **Annexe C**.

LE CNR-ESS A-T-IL FAIT APPEL AUX TECHNIQUES DE SEQUENÇAGE A DES FINS DE SANTE 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 **3.1.4 Contribution à l'alerte**).

DECRIRE LES OUTILS BIO-INFORMATIQUES ET LES ANALYSES CONDUITES

Les analyses de génotypage en routine sont réalisées par BLAST contre des banques de données internes (*rfb*, *fliC*, *fliB*, CRISPOL) ou publiques (MLST sur 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 **le paragraphe 2.4.1 Liste des techniques**).

Depuis 2021, 28 sérotypes différents sont soumis à EnteroBase à des fins de surveillance épidémiologique (Agona, Anatum, Bovismorbificans, Chester, Derby, Dublin, Eastbourne, Enteritidis, Hadar, Illa. 48:z4,z23:-, Infantis, Kedougou, Miami, Mikawasima, Montevideo, Muenchen, Muenster, Napoli, Newport, Poona, Rissen, Saintpaul, Stanley, Typhimurium et son variant monophasique, Veneziana, Virchow, Weltevreden).

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

OU LES SEQUENCES BRUTES SONT-ELLES DEPOSEES ? (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 Internet de l'ECDC (pour European Centre for Diseases Control) dédié au partage des alertes épidémiques sur des pathogènes d'origine alimentaire et animale, dont l'accès est restreint à certains laboratoires et services épidémiologiques (CNR et SpF en France), l'EpiPulse-FWD (European surveillance portal for infectious diseases — 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/browser/home>).

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 (fastq files) sont détruits par EnteroBase suite à l'assemblage.

NOMBRE DE SEQUENCES REALISEES A DES FINS D'INVESTIGATIONS D'EPIDEMIES ET SURVEILLANCE

Depuis juillet 2018, toutes les souches sont séquencées en première intention sauf dans certains cas très particuliers décrits dans le paragraphe 3.1.1.5. Le nombre de souches typées uniquement par WGS a augmenté au cours du mandat 2017-2022, passant de 5 663 souches en 2017 à 8 898 en 2021, avec un total de **37 982 souches** séquencées entre 2017 et 2021.

En 2021, le CNR-ESS a réalisé **9 214** séquences WGS de *Salmonella* à des fins de surveillance, soit 97,9 % des souches analysées. Cela a permis d'identifier pour les sérotypes les plus fréquents :

- **Trente-deux** épidémies à *S. enterica* sérotype **Enteritidis**, totalisant 979 souches
- **Dix-sept** épidémies causées par le variant **monophasique** de *S. enterica* sérotype Typhimurium 1,4,(5),12:i:-, totalisant 621 souches
- **Seize** épidémies à *S. enterica* sérotype **Typhimurium**, totalisant 119 souches

(Voir paragraphe 3.1.4 **Contribution à l'alerte** pour plus de détail sur les épidémies à *Salmonella* identifiées en 2021).

3.1.2 Conseil aux professionnels ou aux autorités de santé

3.1.2.1 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

3.1.2.1.1 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 :

RELEVES PERIODIQUES ENVOYES A SANTE PUBLIQUE FRANCE

Les événements signalés sur les relevés hebdomadaires et déclaration obligatoire en 2021 ont concerné :

- 331 foyers de cas groupés d'infections à *Salmonella* signalés par les laboratoires correspondants (939 cas).
- 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 (maintenant inférés *in silico*) identifiés.

RELEVES ANNUELS

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

RELEVES 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.

3.1.2.1.2 Contribution aux réseaux de surveillance nationaux, humaine et vétérinaire

Le CNR-ESS collabore avec les laboratoires de l'Anses, en particulier le Laboratoire de sécurité sanitaire des aliments de Maisons-Alfort et le LNR *Salmonella* à Ploufragan. Le CNR-ESS apporte son expertise sur le typage et sur l'utilisation du cgMLST sur EnteroBase à ces laboratoires et participent conjointement aux investigations épidémiologiques.

3.1.2.1.3 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

Chaque année le CNR-ESS transmet aux 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 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 FX 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 2021, le CNR-ESS a adressé au CCOMS le nouveau sérotype putatif suivant :

- *S. enterica* sous-espèce *enterica* de formule antigénique 6,7:m,t:e,n,z15

Le CNR-ESS fait partie du réseau européen « Epidemic Intelligence Information System for the Food- and Waterborne Diseases Network » (**EpiPulse-FWD**) du Centre Européen pour la Prévention et le Contrôle des Maladies (ECDC). En coordination avec Santé publique France, le CNR-ESS a lancé ou répondu à **47 alertes** sur EpiPulse-FWD relatives à des épidémies à *Salmonella* en 2021 (voir paragraphe **3.1.4 Alerte**).

3.1.2.2 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

En 2021, 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.

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

3.1.2.3.1 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>

La dernière mise à jour du site internet du CNR-ESS (Institut Pasteur) a été effectuée par les biologistes en février 2022.

3.1.2.3.2 Enseignements et formations aux professionnels de la santé

En 2021, le CNR-ESS a participé aux formations suivantes :

- María Pardos de la Gándara : Cours sur « *Salmonella* et salmonelloses » au Master Sciences, Technologies et Santé ; Sorbonne Université, 13 janvier 2021.
- María Pardos de la Gándara : Cours sur « *Salmonella* and salmonellosis » au Master 2 Microbiology and Biological engineering, Université Paris-Saclay, 11 février 2021.
- María Pardos de la Gándara : Cours sur « Microbiologie des *Salmonella* non-typhiques » et cours « *Salmonella* et résistance aux antibiotiques » dans le Programme RESER du Réseau International de l'Institut Pasteur, 25 mai et 15 juin 2021.
- François-Xavier Weill: Cours « Le rôle du CNR dans la surveillance des salmonelloses » et « Microbiologie des *Salmonella* typhiques » et « Evolution génomique des *Vibrio cholerae* O1 » dans le programme RESER du Réseau International de l'Institut Pasteur, 4 et 18 mai et 1er juin 2021.
- María Pardos de la Gándara: Cours « IR Biotyper Enabling Real-Time Microbial Strain Typing. New Insights into microorganism typing by FT-IR spectroscopy ». Bruker Microbiology & Diagnostics Labroots Webinar. 26 octobre 2021.
- María Pardos de la Gándara : Cours sur « Épidémiologie des salmonelles mineures : évolution, résistance et facteurs génétiques » au Master 2, Spécialité Microbiologie, option bactériologie moléculaire et médicale ; Sorbonne Université, 10 décembre 2021.
- María Pardos de la Gándara : Cours « Utilisation de la solution IR Biotyper® au Centre National de Référence des Salmonelles ». Symposium Microbiologie Bruker, 15 décembre 2021.

3.1.2.3.3 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.

En 2021, le CNR-ESS a accueilli **Margaux LEVÈQUE**, en 1^{ère} année de BTS Bioanalyses et contrôles, pour l'analyse de la solution IR Biotyper® proposée par Bruker pour le sous-typage des salmonelles (mai-juin et octobre-décembre 2021).

3.1.2.3.4 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 (limites des techniques de diagnostic commercialisées, importance des gènes de pathogénicité ou du sérotype détecté...), ou épidémiologiques sont donnés de façon quasi quotidienne par téléphone ou courrier électronique (salmonella@pasteur.fr).

3.1.3 Contribution à la surveillance épidémiologique

Entre 2017 et 2021 :

- Le **séquençage du génome complet (WGS)** est devenu la technique de première intention utilisée par le CNR-ESS pour la surveillance et l'investigation des épidémies à *Salmonella* : **37 982** génomes ont été séquencés, soit 88 % des souches analysées.
- 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 ayant été 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. Cela a permis au CNR-ESS et à SpF de créer ou de répondre à **47** alertes épidémiologiques européennes et d'investiguer plus de **71** TIAC nationales.
- En 2021, le CNR-ESS a **clôturé la plateforme Voozano** de déclaration des « fiches information » (fiches de notification de sérotypage par les laboratoires de biologie médicale, sans transmission de souches). **Le CNR-ESS encourage désormais l'envoi de TOUS les isolats de *Salmonella* d'origine humaine.**
- 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**.

3.1.3.1 Description du réseau de partenaires

3.1.3.1.1 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 Laboratoires de Biologie Médicale (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 : rendu d'un résultat de typage à but épidémiologique pour toute souche clinique reçue, conseils techniques par téléphone ou réponse aux demandes précises des LBM (bibliographie, données épidémiologiques...),

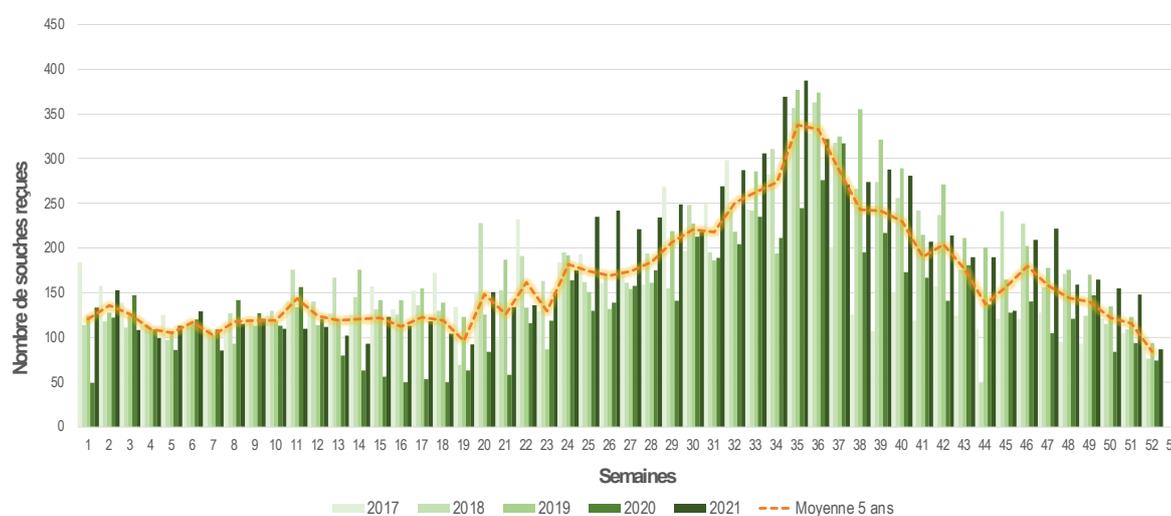
Il est important de noter que depuis quelques années, un phénomène de regroupement des LBM et de mutualisation des plateaux techniques a induit une diminution du nombre de LBM dans le réseau du CNR-ESS (**Tableau 2**).

Tableau 2. Nombre de laboratoires envoyant des souches de *Salmonella* au CNR-ESS, 2017 – 2021

Année	Laboratoires hospitaliers	LBM privés	Laboratoires (Total)
2017	398	699	1097
2018	332	527	859
2019	450	514	946
2020	374	385	759
2021	334	336	670

En 2021, le CNR-ESS a reçu des souches de **670 LBM** de France métropolitaine et d’Outre-mer (contre 759 en 2020). Ils se répartissaient en 334 laboratoires de centres hospitaliers (contre 374 en 2020) ayant adressé 3 420 souches (contre 2 972 en 2020) et 336 LBM privés (contre 385 en 2020) ayant adressé 5 988 souches (contre 4 209 en 2020).

Figure 6. Nombre de souches de *Salmonella* reçues au CNR-ESS de 2017 à 2021



En 2021, le nombre de souches reçues et analysées a été le plus élevé de toute la période 2017-2021 (9 408) (Figure 6).

3.1.3.1.2 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, jusqu'en 2020, 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 faisait, jusqu'en 2020, à l'aide d'une « fiche information » renseignée par les laboratoires correspondants et adressée au CNR-ESS par fax, e-mail ou voie postale, ou directement par saisie en ligne sur le portail Web Voozano (<https://portal.voozano.net/index.php/voo3>).

Le CNR-ESS a clôturé la plateforme Voozano 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-ESS (Figure 7).

Figure 7. 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.

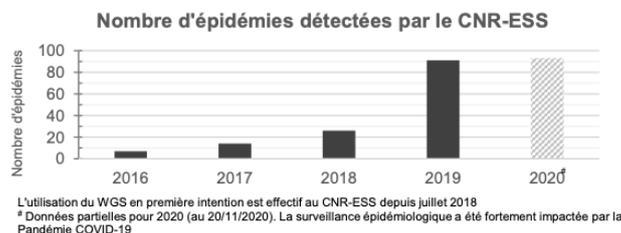
Étant maintenant en capacité d'analyser la totalité des souches réceptionnées, nous allons fermer notre plateforme de déclaration en ligne Voozanoo à **partir du 1er janvier 2021**. Les déclarations sans envoi de souches ne seront plus traitées et nous vous invitons à **nous transmettre la TOTALITE de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

Fondation reconnue d'utilité publique habilitée à recevoir dons et legs

25-28 rue du Docteur Roux
75724 Paris Cedex 15
www.pasteur.fr

3.1.3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à *Salmonella*

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

En 2021, le CNR-ESS a enregistré **9 408** isoléments de *Salmonella* en France métropolitaine, en Outre-mer et à Monaco. À la différence des années précédentes, tous ces enregistrements correspondent à des souches reçues au CNR-ESS. Le **Tableau 3** montre l'évolution du nombre de souches analysées au CNR-ESS au cours du mandat et la **Figure 8**, l'évolution depuis 1988. La clôture de Voozanoo et la campagne de sensibilisation sur l'importance de l'envoi de toutes les souches au CNR-ESS ont participé vraisemblablement au nombre record de souches reçues et analysées par le CNR-ESS en 2021.

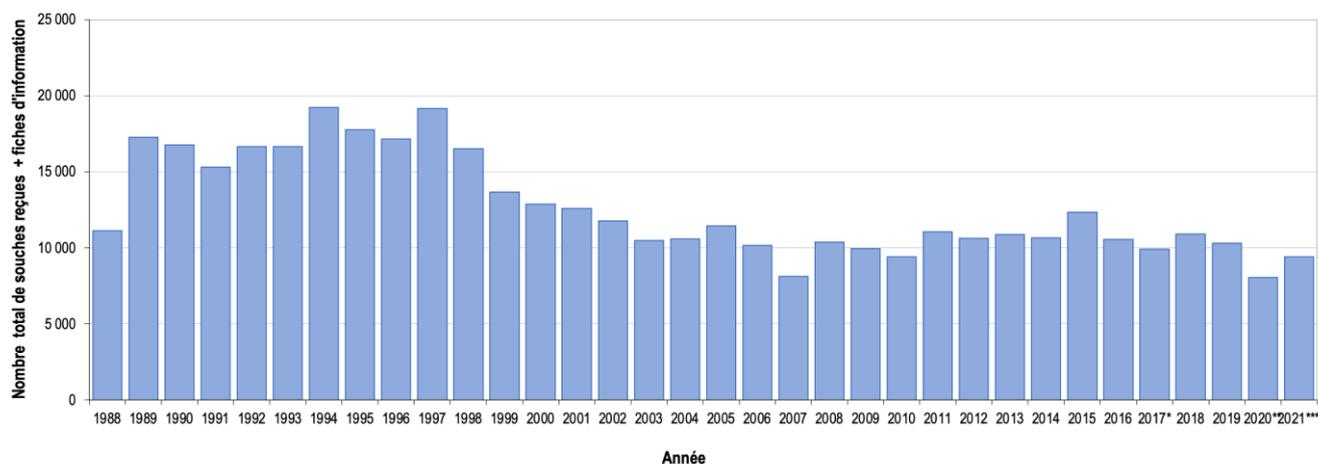
Tableau 3. Nombre de *Salmonella* analysées dans le cadre de l'activité de surveillance de 2017 à 2021

	2017	2018	2019	2020	2021
— Souches analysées "une par patient"	8 189	9 145	9 215	7 181	9 408
— Souches typées par agglutination seulement*	2 109	2 203	499	151	194
— Souches typées par WGS seulement	5 663	6 353	8 314	6 791	8 898
— Souches typées par agglutination et WGS	417	589	402	239	316
— Fiches Voozanoo "une par patient"	1 728	1 781	1 090	895	0**
Données totales "une par patient"	9 917	10 926	10 305	8 076	9 408

* « Faux doublons » : souches isolées pour un même patient à partir d'un échantillon biologique différent, ou par un autre laboratoire.

** Le CNR-ESS a fermé en décembre 2020 la plateforme Voozanoo de déclaration en ligne.

Figure 8. Nombre annuel de souches de *Salmonella* d'origine humaine enregistrées (souches reçues + « fiches information »), France métropolitaine et Outre-mer, 1988-2021



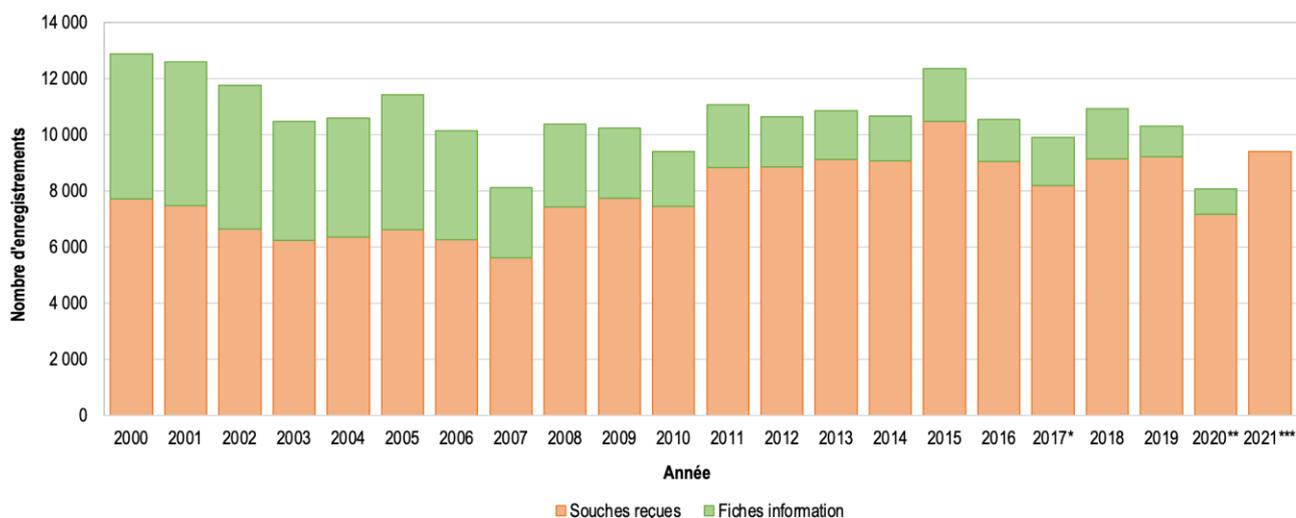
* En 2017, 1 600 souches ont été reçues au CNR-ESS mais n'ont pas été analysées.

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

*** En 2021, le CNR-ESS a arrêté l'enregistrement des « fiches information » (c'est-à-dire la déclaration par les LBM des résultats de leurs sérotypages sans envoi de souche au CNR-ESS). Le nombre de souches représente uniquement des souches reçues et typées 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 avons observé cependant une proportion de plus en plus importante de souches reçues. La part représentée par les « fiches information » dans le total des isoléments de *Salmonella* enregistrés au CNR-ESS était en diminution depuis 2005 (**Figure 9**). En 2020, cette part représentait 11 % (895/8 076) des enregistrements (tous sérotypes confondus) alors qu'elle était supérieure à 40 % avant 2005. Fort de ce constat et considérant la résolution inégalée du séquençage WGS dans le cadre de la surveillance des salmonelloses humaines, le CNR-ESS a décidé de clôturer la plateforme de déclaration en ligne en 2020 et depuis lors recommande l'envoi de toutes les souches au CNR-ESS.

Figure 9. Répartition entre souches de *Salmonella* reçues et « fiches information », 2000-2021



* En 2017, 1 600 souches ont été reçues au CNR-ESS mais pas analysées. Elles ne font donc pas partie de ces calculs.

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

*** En 2021, le CNR-ESS a arrêté l'enregistrement des « fiches d'information » (c'est-à-dire la déclaration par les LBM des résultats de leurs sérotypages sans envoi de souche au CNR-ESS). Le nombre de souches représente uniquement des souches reçues et typées au CNR-ESS.

3.1.3.2.2 Origine géographique des souches de *Salmonella* reçues

La donnée « code postal du patient » est présente pour 7 480 souches de *Salmonella* reçues et typées au CNR-ESS en 2021 (soit 79,5 % des cas). Pour le reste des souches, le code postal du laboratoire expéditeur a été pris par défaut.

En 2021, le CNR-ESS a typé **8 795** souches en provenance de France **métropolitaine** (soit 93,4 % des souches reçues et typées) et **600** de la France **d'Outre-mer**. En 2021, **Monaco**, qui collabore à la surveillance épidémiologique des salmonelles en France, a envoyé **11** souches de *Salmonella* spp.

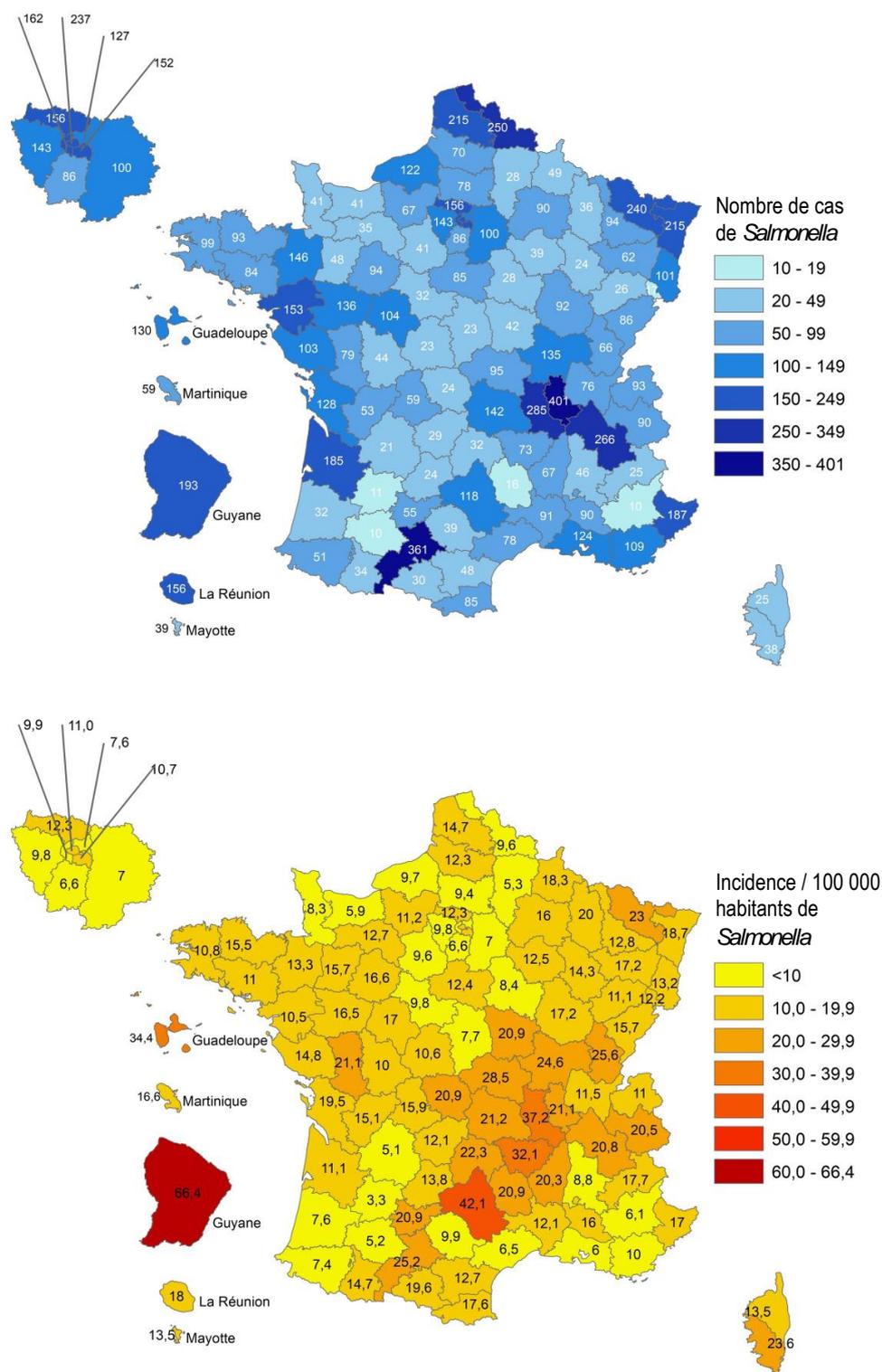
Le **Tableau 4** et la **Figure 10** donnent la répartition géographique des cas de salmonellose en France entre 2017 et 2021.

Tableau 4. Nombre de souches de *Salmonella* reçues par régions de 2017 à 2021

	2017	2018	2019	2020	2021
	n (%)				
France métropolitaine	7 557	8 545	8 543	6 643	8 795
Auvergne-Rhône-Alpes 01-03-07-15-26-38-42-43-63-69-73-74	963 (11,8)	979 (10,7)	1001 (10,9)	975 (13,6)	1666 (17,7)
Bourgogne-Franche-Comté 21-25-39-58-70-71-89-90	293 (3,6)	420 (4,6)	408 (4,4)	411 (5,7)	492 (5,2)
Bretagne 22-29-35-56	291 (3,5)	348 (3,8)	387 (4,2)	291 (4,1)	422 (4,5)
Centre-Val de Loire 18-28-36-37-41-45	248 (3)	241 (2,6)	288 (3,1)	223 (3,1)	308 (3,3)
Corse 2A-2B	44 (0,5)	60 (0,7)	58 (0,6)	62 (0,9)	63 (0,7)
Grand-Est 67-68-08-10-51-52-54-55-57-88	669 (8,2)	869 (9,5)	872 (9,5)	759 (10,6)	950 (10,1)
Hauts-de-France 02-60-80-59-62	575 (7)	574 (6,3)	556 (6)	445 (6,2)	641 (6,8)
Ile-de-France 75-77-78-91-92-93-94-95	1 540 (18,8)	1 562 (17,1)	1528 (16,6)	856 (11,9)	1163 (12,4)
Normandie 14-27-50-61-76	380 (4,6)	295 (3,2)	323 (3,5)	272 (3,8)	306 (3,3)
Nouvelle-Aquitaine 16-17-19-23-24-33-40-47-64-79-86-87	745 (9,1)	882 (9,7)	957 (10,4)	746 (10,4)	716 (7,6)
Occitanie 09-11-12-30-31-32-34-46-48-65-66-81-82	756 (9,2)	1 005 (11)	900 (9,8)	751 (10,5)	989 (10,5)
Pays de la Loire 44-49-53-72-85	550 (6,7)	700 (7,7)	611 (6,6)	470 (6,5)	534 (5,7)
Provence-Alpes-Côte d'Azur 04-05-06-13-83-84	503 (6,1)	610 (6,7)	654 (7,1)	382 (5,3)	545 (5,8)
France d'Outre-mer	620	583	661	525	600
Guadeloupe 971	103 (1,3)	145 (1,6)	143 (1,6)	127 (1,8)	130 (1,4)
Guyane 973	243 (3)	151 (1,6)	228 (2,5)	153 (2,1)	193 (2,1)
La Réunion 974	103 (1,3)	93 (1)	117 (1,3)	85 (1,2)	156 (1,7)
Martinique 972	60 (0,7)	81 (0,9)	92 (1)	83 (1,2)	59 (0,6)
Mayotte 976	77 (0,9)	89 (1)	54 (0,6)	56 (0,8)	39 (0,4)
Polynésie française* 987	26 (0,3)	21 (0,2)	26 (0,3)	17 (0,2)	20 (0,2)
St Pierre et Miquelon 975	0,0	0,0	0,0	1 (<0,1)	0,0
Nouvelle-Calédonie 988	8 (0,1)	3 (<0,1)	1 (<0,1)	3 (<0,1)	3 (<0,1)
Monaco 98	9 (0,1)	9 (0,1)	8 (0,1)	6 (0,1)	11 (0,1)
Étranger 99	3 (<0,1)	8 (0,1)	3 (<0,1)	7 (<0,1)	2 (<0,1)
TOTAL souches de <i>Salmonella</i> reçues	8 189	9 145	9 215	7 181	9 408

* 30 souches de sérotype Enteritidis en provenance de Polynésie française, isolées en 2021, ont été envoyées au CNR-ESS en avril 2022; elles ne font donc pas partie de ce rapport.

Figure 10. Nombre de cas et incidence des salmonelloses par départements en 2021



3.1.3.2.3 Répartition des *Salmonella* par sites de prélèvement

Tableau 5. Répartition des souches reçues et analysées au CNR-ESS par sites de prélèvement de 2017 à 2021

Sites de prélèvement	2017	2018	2019	2020	2021
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Selles	7 079 (86,4)	8 041 (88)	8 046 (87,3)	6 301 (87,7)	8 424 (89,5)
Sang	628 (7,7) ¹	648 (7,9) ²	677 (7,3) ³	490 (6,8) ⁴	568 (6) ⁵
Urines	325 (4)	348 (3,8)	379 (4,1)	313 (4,4)	312 (3,3)
Pus	3 (<0,1)	9 (0,1)	11 (0,1)	7 (0,1)	6 (0,1)
Bile	8 (0,1)	5 (0,05)	6 (<0,1)	11 (0,2)	3 (<0,1)
LCR	1 (< 0,1)	2 (0,02)	6 (<0,1)	3 (0,4)	1 (<0,1)
Autres	98 (1,2)	88 (1)	88 (0,9)	56 (0,8)	94 (1)
Inconnu	47 (0,6)	4 (0,4)	2 (<0,1)	0 (0)	0 (0)
TOTAL souches de Salmonella reçues	8 189	9 145	9 215	7 181	9 408

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 6%.

² Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,4%.

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 5,7%.

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

3.1.3.2.4 Distribution des *Salmonella* par classes d'âge

Tableau 6. Distribution reçues et analysées au CNR-ESS par tranches d'âge de 2017 à 2021

Classes d'âge*	2017	2018	2019	2020	2021
	N (%)				
<1 an	525 (6,4)	612 (6,7)	508 (5,5)	444 (6,2)	516 (5,5)
1-5 ans	1943 (23,7)	1 826 (20,0)	1 800 (19,5)	1469 (20,5)	1894 (20,1)
6-14 ans	974 (11,9)	1 177 (12,9)	1 147 (12,4)	989 (13,8)	1296 (13,8)
15-64 ans	3232 (39,5)	3 798 (41,5)	3 962 (43,0)	2694 (37,5)	3825 (40,7)
≥65 ans	1512 (18,5)	1 731 (18,9)	1 797 (19,5)	1584 (22,1)	1877 (20)
Inconnu	1 (< 0,1)	1 (< 0,1)	1 (<0,1)	1 (<0,1)	0 (0)
TOTAL souches de Salmonella reçues	8 189	9 145	9 215	7 181	9 408

3.1.3.2.5 Foyers de cas groupés à *Salmonella*

En 2021, **408** épisodes de cas groupés (**foyers**) ont été rapportés sur les « fiches de renseignements » accompagnant les souches reçues. Ces épisodes concernaient un minimum de **939 cas** (331 foyers pour 818 cas en 2020).

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 HC5 permettent l'identification de cas groupés. Le signalement de cas groupés par les laboratoires collaborateurs reste néanmoins très important lors des investigations d'épidémies.

En 2021, le nombre de **sérotypes** de *Salmonella* impliqués dans les foyers de cas groupés a été de **39** (48 en 2020) (**Tableau 7**).

Tableau 7. Foyers de cas groupés de *Salmonella* signalés au CNR-ESS de 2017 à 2021

	Foyers de cas groupés à <i>Salmonella</i> signalés au CNR-ESS en :				
	2017	2018	2019	2020	2021
Nombre total de foyers	316	422	434	331	408
Sérotype en cause :					
Enteritidis	92	105	140	142	184
Typhimurium	32	56	82	41	60
1,4,[5],12:i:- (monophasique)	86	113	65	43	90
TOTAL des souches reçues	8 189	9 145	9 215	7 181	9 408

Les 408 épisodes de cas groupés ont été observés dans différents contextes (**Tableau 8**).

Tableau 8. Récapitulatif des différents foyers de cas groupés à *Salmonella* de 2017 à 2021

Types de foyers de cas groupés	2017	2018	2019	2020	2021
	N épisodes (n cas)				
Nombre total de foyers	317 (699)	128 (305)	444 (1569)	331 (818)	408 (939)
Foyers familiaux	193 (444)	83 (180)	262 (604)	221 (511)	270 (608)
Collectivité	3 (3)	0	2 (3)	0	3 (16)
Travail	2 (11)	0	1 (7)	3 (5)	2 (2)
Écoles	9 (22)	4 (55)	4 (82)	4 (4)	10 (11)
Crèches	9 (17)	2 (9)	3 (3)	2 (2)	4 (4)
Foyers hospitaliers	7 (11)	7 (9)	11 (15)	14 (17)	9 (11)
Autres*	93 (191)	32 (52)	161 (855)	87 (279)	111 (287)
Nombre de sérotypes impliqués	56	41	70	49	39
TOTAL souches de <i>Salmonella</i> reçues	8 189	9 145	9 215	7 181	9 408

* Le laboratoire déclarant ayant indiqué « autres groupes de cas » ou « TIAC »

Le nombre de cas par foyer est généralement sous-représenté:

En 2017, le nombre de cas n'a pas été rapporté pour 123 foyers (38,8%)

En 2018, le nombre de cas n'a pas été rapporté pour 50 foyers (39,1%)

En 2019, le nombre de cas n'a pas été rapporté pour 155 foyers (34,9%)

En 2020, le nombre de cas n'a pas été rapporté pour 112 foyers (33,8%)

En 2021, le nombre de cas n'a pas été rapporté pour 146 foyers (35,8%)

3.1.3.2.6 Répartition des 20 principaux sérotypes de *Salmonella*

Tableau 9. Les 20 principaux sérotypes de *Salmonella* observés au CNR-ESS entre 2017 et 2021

Rang	Distribution des sérotypes (nombre de souches par sérotype) par année				
	2017**	2018*	2019*	2020*	2021
1	Enteritidis (2 109)	Enteritidis (2 486)	Enteritidis (2 212)	Enteritidis (1 880)	Enteritidis (3 199)
2	1,4,[5],12:i:- (2 101)	1,4,[5],12:i:- (2 251)	1,4,[5],12:i:- (1 818)	1,4,[5],12:i:- (1 820)	1,4,[5],12:i:- (2 086)
3	Typhimurium (1 919)	Typhimurium (1 933)	Typhimurium (1 083)	Typhimurium (793)	Typhimurium (1 044)
4	Infantis (212)	Newport (296)	Infantis (296)	Napoli (169)	Infantis (256)
5	Typhi (159)	Infantis (266)	Typhi (214)	Infantis (162)	Chester (156)
6	Newport (154)	Kentucky (177)	Newport (186)	Newport (144)	Napoli (147)
7	Kentucky (136)	Napoli (165)	Napoli (181)	Derby (132)	Derby (126)
8	Derby (130)	Typhi (159)	Derby (138)	Panama (106)	Newport (101)
9	Chester (98)	Chester (157)	Panama (133)	Dublin (91)	Coeln (95)
10	Panama (100)	Derby (135)	Stanley (126)	Typhi (84)	Montevideo (93)
11	Dublin (98)	Panama (117)	Chester (123)	Bovismorbificans (80)	Illa 48:z4,z23:- (90)
12	Agona (97)	Dublin (94)	Kentucky (120)	Illa 48:z4,z23:- (78)	Stanley (80)
13	Saintpaul (81)	Virchow (69)	Poona (112)	Chester (73)	Panama (75)
14	Weltevreden (78)	Bredeney (64)	Dublin (98)	Stanley (63)	Typhi (74)
15	Napoli (76)	Illa 48:z4,z23:- (58)	Montevideo (77)	Weltevreden (53)	Braenderup (61)
16	Virchow (64)	Livingstone (57)	Mikawasima (74) Virchow (74)	Veneziana (47)	Virchow (60)
17	Kottbus (54) Stanley (54)	Saintpaul (55)		Montevideo (45)	Weltevreden (58)
18		Agona (53)	Illa 48:z4,z23:- (72)	Livingstone (44)	Give (54)
19	Javiana (53)	Bovimorbificans (52)	Bredeney (70)	Saintpaul (43)	Dublin (49)
20	Poona (52)	Stanley (51)	Bovimorbificans (67)	Hadar (40) Kentucky (40)	Hadar (46)

* 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 liée à la difficulté des LBM de poursuivre une activité de sérotypage dans le cadre de l'accréditation ISO-15189.

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 la diminution du sérotype Typhimurium (voir **Figure 11**). Cette diminution reste inexpliquée ; elle n'est pas en lien avec l'origine géographique des isollements, 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 depuis 2019 (n = 42 en 2021) ; 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).

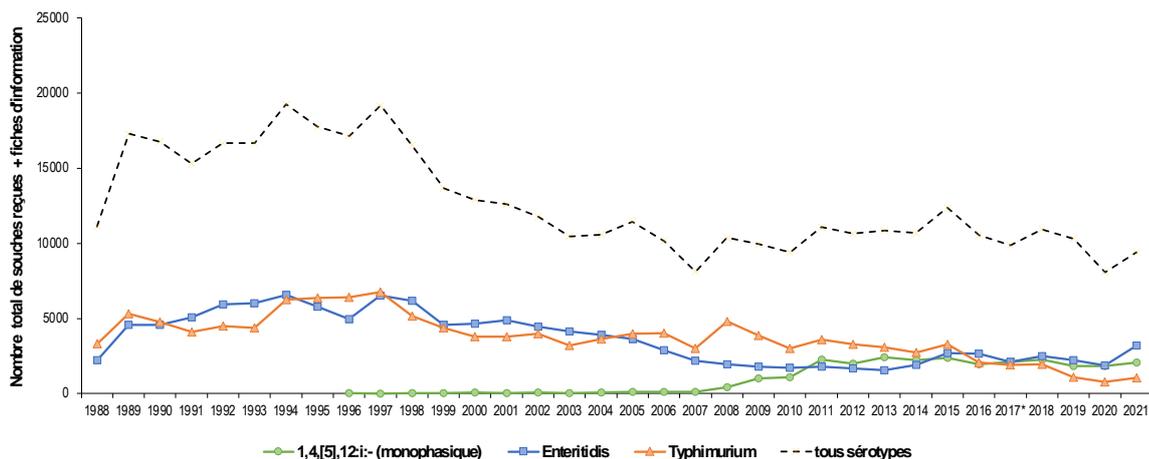
Le nombre de cas de sérotype **Typhi** a augmenté entre 2017 (n = 137) et 2019 (n = 194), mais a connu une forte diminution en 2020 (n = 84), encore observée en 2021 (n = 74), très probablement en lien avec la réduction des voyages internationaux suite aux mesures de santé publique prises dans le cadre de la lutte contre la pandémie à SARS-CoV-2.

Napoli reste un sérotype fréquent (n = 147 en 2021), mais il n'a causé aucune épidémie en 2021.

Le sérotype **Infantis** a été responsable de cinq épidémies, concernant 92 patients en France, et a fait l'objet de deux alertes internationales (alerte 2021-FWD-00063 émise par les États-Unis et une alerte du Royaume-Uni sur EWRS) pour lesquelles le cgMLST a permis d'écarter des cas liés en France.

Pour une liste exhaustive des alertes épidémiologiques, voir le paragraphe **3.1.4 Contribution à l'alerte**.

Figure 11. Évolution des principaux sérotypes de *Salmonella* isolées chez l'homme, 1988-2021



* 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

3.1.3.2.7 Évolution de la répartition des principaux sérotypes de *Salmonella* en France

Tableau 10. Nombre d'isolements annuels des principaux sérotypes en France de 2017 à 2021

	Tous sérotypes	Enteritidis	Typhimurium	1, 4,[5],12:i:-	Typhi
Souches de <i>Salmonella</i> reçues et typées au CNR-ESS en :					
2017	8 189	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
2021	9 408	3 199	1 044	2 086	74
Total 2017-2021	43 138	10 808	4 867	10 006	678
« Fiches information » reçues en :					
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
2021	0	0	0	0	0
Total 2017-2021	5 494	1 078	1 905	83	14
Souches typées et « Fiches information »					
2017	9 917	2 109	1 919	2 101	159
2018	10 926	2 486	1 933	2 251	159
2019	10 305	2 212	1 083	1 831	216
2020	8 076	1 880	793	1 820	84
2021	9 408	3 199	1 044	2 086	74
Total 2017-2021	48 632	11 886	6 772	10 089	692
Proportion « Fiches information » / total des souches typées (%) en :					
2017	17,4	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	1,1	0,9
2020	11,1	0	0,3	0,2	0
2021	0	0	0	0	0
Total 2017-2021	11	9	28	1	2

En 2020, le CNR-ESS a reçu moins de souches que les années précédentes, vraisemblablement en raison de la pandémie à SARS-CoV-2. En 2021, le nombre de souches reçues et rototypées a été le plus élevé du mandat. Le nombre de souches de sérotype **Enteritidis** a aussi été le plus élevé de la série quinquennale, ceci en lien avec plusieurs épidémies causées par ce sérotype en 2021, notamment l'épidémie de l'alerte 2021-FWD-00065-FR (voir le paragraphe **3.1.4 Contribution à l'alerte**).

3.1.3.2.8 Le sérotype Typhi

En 2021, 74 souches de *S. enterica* sérotype Typhi ont été analysées au CNR-ESS. Le **Tableau 11** précise, le lieu de la contamination probable des cas entre 2017 et 2021, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignements. 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 11. Origine géographique des souches de sérotype Typhi (une par patient), 2017-2021

Pays de contamination	Nombre de patients				
	2017	2018	2019	2020	2021
Afrique	22	23	19	2	12
Afrique (sans précision)		2			
Afrique du Sud		1			
Algérie		1			
Bénin	1				
Burkina Faso		1			
Cameroun					1
Comores		3		1	3
Côte d'Ivoire		1	1		1
Égypte		1			
Guinée	2	3			
Madagascar	3	2	1		
Mali	3	3	3		1
Maroc	6	4	7		
Mauritanie			1		1
Niger					1
République Centrafricaine		1			
Sénégal	4		3	1	4
Sierra Leone	1				
Soudan			2		
Tchad	1		1		
Tunisie	1				
Amériques	7	11	12	0	2
Amériques (sans précision)		1			
Brésil		3			
Haïti	2		1		
Mexique	5	7	11		2
Asie	30	40	55	6	9
Asie (sans précision)	2	1			
Bangladesh	5	2	6		
Cambodge			1	1	
Chine	1				
Inde	17	14	13	3	2
Indonésie			2		
Irak		1	1		
Japon					1
Laos			3		
Liban					1
Maldives			1		
Myanmar			4		
Népal	1				
Pakistan	2	19	24	2	4
Qatar		1			
Syrie		1			
Sri Lanka	1	1			
Thaïlande	1				
Turquie					1

(à suivre page suivante)

Pays de contamination	Nombre de patients				
	2017	2018	2019	2020	2021
Europe	2	1	3	1	0
Bulgarie	1				
Espagne			1		
Hongrie			1		
Italie	1				
Pays-Bas			1		
Royaume-Uni		1			
Suisse				1	
France d'Outre-mer	49	52	69	49	2
Guadeloupe					1
Guyane	8	2	30	10	
Martinique		1			
Mayotte	40	47	36	39	
La Réunion	1	2	3		
Polynésie française					1
Pays de destination non précisé	27	19	23	5	28*
France métropolitaine (pas de voyage)		3	13	21	21**
TOTAL	137	149	194	84	74

En 2021 :

* un patient était originaire du Mali

** trois patients avec une souche XDR étaient originaires d'Afghanistan

** un patient était originaire du Pakistan

En 2020 et 2021, dans le contexte de la pandémie à SARS-CoV-2 et des restrictions aux voyages internationaux, le nombre de cas de *S. enterica* sérotype Typhi a diminué drastiquement en France par rapport aux années précédentes.

Depuis janvier 2019, le CNR-ESS envoie systématiquement une lettre aux laboratoires expéditeurs quand l'information sur la notion de voyage n'est pas renseignée pour les cas causés par *S. enterica* sérotypes Typhi et Paratyphi A, Paratyphi B (dt-) et Paratyphi C (Lettre pour les LBM à propos de la notion de voyage pour les sérotypes majeurs. **Figure 12**).

Figure 12. Lettre pour les LBM à propos de la notion de voyage pour les 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,

3.1.3.2.9 Le sérotype Paratyphi A

En 2021, neuf souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi A ont été répertoriées au CNR-ESS. Le **Tableau 12** précise, si indiqué sur la fiche de renseignements, le lieu de la contamination pour les cas entre 2017 et 2021.

Tableau 12. Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi A (une par patient) 2017-2021

Pays de contamination	Nombre de patients				
	2017	2018	2019	2020	2021
Afrique	3	4	3	0	2
Guinée			1		
Mali	1	2			
Maroc	1				
Maurice		1			
Sénégal	1	1	2		2
Asie	16	23	33	16	3
Asie (sans précision)		1			
Afghanistan			1		
Bangladesh	1	1			2
Cambodge	3	9	8	8	
Hong-Kong	1				
Inde	9	10	19	4	
Myanmar			1		
Népal			1		
Pakistan		1	3	2	1
Sri Lanka	1	1			
Thaïlande	1			2	
Europe	0	0	1	0	0
Espagne			1		
Pays de contamination non précisé	7	8	3	2	2**
France métropolitaine (pas de voyage)			1	1*	2***
TOTAL	26	35	41	19	9

* Voyage au Cambodge en 2019

** Un patient originaire d'Inde

*** Un patient rapportait un contact avec un parent revenant du Maroc

En 2020 et 2021, 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.

3.1.3.2.10 Le sérotype Paratyphi B

Le sérotype Paratyphi B est associé à des fièvres paratyphoïdes ou à des diarrhées fébriles. Classiquement, les souches se différencient en fonction de leur capacité à fermenter le d-tartrate (dt). Les souches de sérotype **Paratyphi B** (dt-) sont associées à une pathologie de type fièvre paratyphoïde, et celles de sérotype **Paratyphi B biotype Java** (dt+) sont associées à de simples diarrhées. 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 2021, huit souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi B (dt-) ont été répertoriées au CNR-ESS.

Le **Tableau 13** 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 2017 et 2021.

Tableau 13. Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi B (dt-) (une par patient) 2017–2021

Pays de contamination	Nombre de patients				
	2017	2018	2019	2020	2021
Afrique	1	1	2	0	0
Maroc		1	2		
Tunisie	1				
Asie	2	3	1	0	0
Indonésie					
Irak		1			
Bangladesh		1			
Turquie	2	1	1		
Amérique	4	4	4	1	2
Amérique (sans précision)			1		
Argentine	1			1	1
Bolivie	3	1	2		1
Pérou		3	1		
Europe	0	0	1	0	0
Espagne			1		
Pays de contamination non précisé	7	6	4	0	3
France métropolitaine (pas de voyage)			2	3	3
TOTAL	14	14	14	4	8

3.1.3.3 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 (v1.0 Avril 2021). En 2021, **974 souches** (soit 10,3 % 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 = 160) ; **1,4,[5],12:i:-** (n = 105)
- 10 % des souches de sérotype **Typhimurium** (n = 116)
- 50 % des souches des sérotypes suivants : **Newport** (n = 51) ; **Infantis** (n = 129) ; **Derby** (n = 65) ; **Dublin** (n = 26) ; **Virchow** (n = 32) ; **Hadar** (n = 25)
- 100 % des souches pour certains sérotypes comme : **Kentucky** (n = 42), **Paratyphi B biotype Java** (dt+) (n = 27)
- 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 = 74), **Paratyphi A** (n = 9) et **Paratyphi B** (dt-) (n = 8).

3.1.3.3.1 Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de *Salmonella*

Les abréviations utilisées dans ce rapport sont les suivantes : 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, triméthoprim ; 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 2021) ont été suivies.

Les données globales de la résistance sont indiquées dans le **Tableau 14**. 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.

Tableau 14. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de *Salmonella*

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017 (n = 986) (N = 8 189)	2018 (n = 1 210) (N = 9 145)	2019 (n = 1 183) (N = 9 215)	2020 (n = 861) (N = 7 181)	2021 (n = 974) (N = 9 408)
Ampicilline	34	26,3	21	19,5	18,2
Céfotaxime	1,1	1,4	1,9	0,7	1
Méropénème	0	0	0	0	0
Gentamicine	2,1	9	5,1	2,8	1,5
Acide nalidixique	12,3	25,8	23,9	14,6	14,7
Ciprofloxacine	2,4 (14,6)*	8,3 (27,5)*	13,9 (25,9)*	5,6 (9,4)*	5,5 (16,3)*
Azithromycine	0,5	0,6	0,3	0,3	1,2
Chloramphénicol	7,3	5,5	6,1	7	5,4
Sulfamides	38,7	30	20,6	23,9	22
Triméthoprim	6,3	6	5,2	3,4	7
Tétracycline	36,8	31	23,6	24,4	22,3
Colistine	4,9	8,5	5,7	6,2	4,5

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 < CMI ≤ 0,5) et CIP_R (résistante, ≥ 1 mg/L). Nous souhaitons continuer à faire cette distinction et utiliserons le terme de « sensibilité diminuée » (CIP_{SD}) pour une CMI de la ciprofloxacine comprise dans l'intervalle suivant (0,06 < CMI ≤ 0,5) et « résistance de haut niveau » (CIP_{HN}) pour CMI ≥ 1 mg/L.

La résistance à la **colistine**, (CMI ≥ 4 mg/L) a été observée en 2021, principalement chez le sérotype **Dublin** (21/26 ; 80,8 %), mais aussi chez quelques souches d'autres sérotypes : **Enteritidis** (12/160 ; 7,5 %), **Typhimurium** (7/116 ; 6,6 %), **Napoli** (2/7 ; 28,5 %), **Derby** (1/65 ; 1,5 %), **1,4,[5],12:i:-** (1/105 ; 1 %). Cependant, aucun gène de résistance connu n'a été à ce jour identifié pour ces souches.

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, Napoli) intrinsèquement moins sensibles à la colistine (Agero *et al.* Foodborne Pathog Dis 2012, Ricci *et al.* mBio 2020). Cela pourrait expliquer nos résultats.

3.1.3.3.2 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium, 2017- 2021

Tableau 15. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhimurium

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017	2018	2019	2020	2021
	(n = 118) (N = 958)	(n = 95) (N = 978)	(n = 103) (N = 1 043)	(n = 101) (N = 791)	(n = 116) (N = 1 044)
Aminopénicillines ¹	56,8	87,5	43,7	34,7	23,6
C3G ²	3,4	4,2	3,9	1	0,9
Carbapénèmes ³	0	0	0	0	0
Gentamicine	1,7	3,2	4,9	0	1,9
Acide nalidixique	9,3	9,5	7,8	11,9	10,4
Ciprofloxacine	0 (12,7)*	1,1 (13,7)*	1,9 (11,7)*	0 (11,9)*	0 (11,3)*
Sulfamides	60,2	59	36,9	41,6	28,3
Triméthoprim	15,3	10,5	11,7	2	3,8
Chloramphénicol	40,7	27,4	23,3	24,8	20,8
Tétracycline	54,2	52,6	32	38,6	31,1
Azithromycine	0	1,1	0	0	0
Colistine	0,8	4,2	1	2	6,6

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

En 2021, une souche de sérotype Typhimurium contenait le gène *bla*_{CTX-M-15} codant pour une bêta-lactamase de spectre étendu (**BLSE**) (profil complet de résistance AMP CTX GEN CHL SMX TMP TET CIP_{SD}) sans notion de voyage.

Parmi les 12 souches de sérotype Typhimurium ayant une sensibilité diminuée à la **ciprofloxacine**, quatre contenaient des gènes de type *qnr* (*qnrB1*, *qnrB19*).

Sept 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 ou à l'azithromycine.

3.1.3.3.3 Résistance aux antibiotiques du variant 1,4,[5],12:i:- (monophasique), 2017-2021

Tableau 16. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype 1,4,[5],12:i:- (monophasique)

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017	2018	2019	2020	2021
	(n = 260) (N = 2 062)	(n = 112) (N = 2 196)	(n = 87) (N = 1748)	(n = 101) (N = 1 816)	(n = 105) (N = 2 086)
Aminopénicillines ¹	83,8	87,5	78,2	78,2	88,6
C3G ²	0,4	0	0	0	1,9
Carbapénèmes ³	0	0	0	0	0
Gentamicine	2,3	2	1,1	2	2,9
Acide nalidixique	2,3	2,7	0	2	6,7
Ciprofloxacine	1,5 (3,8)*	0,9 (2,7)*	0 (0)*	0 (2)*	1 (10,5)*
Sulfamides	89,2	86,6	73,6	75,2	83,8
Triméthoprime	8,5	5,4	5,7	2	10,5
Chloramphénicol	5	3,6	2,3	0	6,7
Tétracycline	91,2	91	75,9	76,2	81,5
Azithromycine	0,4	0	0	0	2,9
Colistine	0,8	3,6	0	0	1

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

En 2021, 93 souches de **sérotype 1,4,[5],12:i:-** sur les 105 analysées (88,6 %) étaient résistantes à l'ampicilline, et parmi elles, 76 avaient le profil de **multirésistance** AMP SMX TET (présence des gènes *bla*_{TEM-1B}, *sul2* et *tet(B)*).

Dix 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 *qnrS1*.

Deux souches étaient résistantes aux céphalosporines de troisième génération (**C3G**), codant pour les gènes *bla*_{CTX-M-1} et *bla*_{CTX-M-9}, respectivement. Pour la première, le profil complet de résistance était AMP CTX CHL SMX TMP TET CIP_{SD} et aucune information de voyage n'était fournie ; pour la seconde, le profil était AMP CTX SMX TMP CIP_{HN} et un voyage en Côte d'Ivoire dans les mois précédents à l'apparition des symptômes a été rapporté par le patient.

Aucune souche de ce sérotype n'était résistante aux carbapénèmes.

Trois souches ont montré une CMI ≥ 32 mg/L à l'**azithromycine**, mais une seule contenait un gène de résistance connu, *mph(G)*.

Enfin, une souche de ce sérotype avait une CMI de 4 mg/L à la **colistine**, mais aucun gène de résistance acquis n'a été mis en évidence.

3.1.3.3.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis, 2017-2021

Tableau 17. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Enteritidis

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017 (n = 196) (N = 1 578)	2018 (n = 95) (N = 1 917)	2019 (n = 109) (N = 2148)	2020 (n = 100) (N = 1 880)	2021 (n = 160) (N = 3 199)
Aminopénicillines ¹	5,6	7,4	5,5	1	1,3
C3G ²	1,5	0	0	0	0
Carbapénèmes ³	0	0	0	0	0
Gentamicine	0,5	0	0	0	0
Acide nalidixique	28,6	18,9	21,1	10	11,3
Ciprofloxacine	1 (29,6)*	1,1 (22,1)*	0,9 (16,5)*	0 (10)*	0 (11,3)*
Sulfamides	3,1	5,3	1,8	1	0
Triméthoprim	0,5	1,1	1,8	1	0,6
Chloramphénicol	3,1	1,1	1,8	1	0
Tétracycline	4,1	6	3,7	1	0,6
Azithromycine	0	0	0	0	0
Colistine	14,3	26,3	24,8	8	7,5

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

Les souches de sérotype Enteritidis typées au CNR-ESS étaient majoritairement **sensibles** à tous les antibiotiques testés.

La seule résistance notable était celle aux **quinolones**. Chaque année, plus de 10 % des souches portent une mutation sur la sous-unité *gyrA* de la gyrase (D87Y était la mutation la plus fréquente en 2021), responsable de la sensibilité diminuée à la ciprofloxacine.

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 du LPS.

3.1.3.3.5 Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky, 2017-2021

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 neuf des 42 souches analysées de ce sérotype en 2021 (21,4 %) présentaient un profil de pan-sensibilité aux antibiotiques. Aucune souche de sérotype Kentucky n'était résistante aux carbapénèmes ou à la colistine, en 2021.

Tableau 18. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Kentucky

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017	2018	2019	2020	2021
	(n = 16) (N = 137)	(n = 163) (N = 166)	(n = 110) (N = 112)	(n = 40) (N = 40)	(n = 42) (N = 42)
Aminopénicillines ¹	100	70,6	60,9	77,5	61,9
C3G ²	6,3	3,7	0,9	7,5	2,4
Carbapénèmes ³	0	1,2	0	0	0
Gentamicine	56,3	56,4	46,4	47,5	19
Acide nalidixique	93,8	69,9	78,2	90	76,2
Ciprofloxacine	93,8 (93,8)*	88,3 (89)*	78,2 (0)*	87,5 (2,5)*	76,2 (76,2)*
Sulfamides	75	73	68,2	77,5	50
Triméthoprim	12,5	14,1	13,6	22,5	28,6
Chloramphénicol	12,5	6,1	7,3	27,5	9,5
Tétracycline	75	80,4	71,8	85	57,1
Azithromycine	100	2,5	0,9	5	4,8
Colistine	6,3	1,2	0,9	2,5	0

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

En 2021, les souches multirésistantes de ce sérotype restaient associées avec les pays du Maghreb :

- Une souche sans notion de voyage produisait une **BLSE** codée par le gène *bla*_{CTX-M-14}, avec un profil de multirésistance AMP CTX GEN SMX TET CIP_{HN}.
- Une souche était résistante à l'**azithromycine** (CMI = 32 mg/L), mais aucun gène n'a été identifié pouvant expliquer ce phénotype.

3.1.3.3.6 Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby, 2017-2021

Tableau 19. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Derby

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017	2018	2019	2020	2021
	(n = 15) (N = 126)	(n = 66) (N = 131)	(n = 65) (N = 130)	(n = 67) (N = 132)	(n = 65) (N = 126)
Aminopénicillines ¹	6,7	3	6,2	6	10,8
C3G ²	0	1,5	0	1,5	0
Carbapénèmes ³	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	3	0	0	0
Acide nalidixique	0	1,5	0,5	1,5	1,5
Ciprofloxacine	0 (0)*	1,5 (4,5)*	0 (7,7)*	0 (3)*	0 (1,5)*
Sulfamides	46,7	42,4	47,7	49,3	43,1
Triméthoprim	6,7	1,5	9,2	4,5	9,2
Chloramphénicol	0	6,1	4,6	16,4	1,5
Tétracycline	33,3	42,4	49,2	38,8	32,3
Azithromycine	0	0	0	0	3,1
Colistine	0	0	1,5	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

En 2021,

- Une souche avait une CMI de 32 mg/L (résistance) à l'**azithromycine**, mais aucun gène n'a été identifié. Une deuxième souche, avec CMI > 64 mg/L portait le gène *mph(G)*. Aucune notion de voyage n'a été fournie pour ces deux souches.
- Une souche avait une CMI = 4 mg/L à la **colistine**, mais aucun gène du type *mcr* n'a été identifié.
- Aucune souche de sérotype Derby n'était résistante aux C3G, aux carbapénèmes, ou à la gentamicine.

3.1.3.3.7 Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis, 2017- 2021

Tableau 20. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Infantis

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017 (n = 20) (N = 208)	2018 (n = 127) (N = 259)	2019 (n = 140) (N = 285)	2020 (n = 82) (N = 160)	2021 (n = 129) (N = 256)
Aminopénicillines ¹	5	3,1	5,7	7,3	4,7
C3G ²	0	0,8	1,4	0	0,8
Carbapénèmes ³	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	2,4	0,8
Acide nalidixique	25	11	10,7	15,9	16,3
Ciprofloxacine	0 (30)*	0 (11)*	2,9 (10,7)*	9,8 (7,3)*	7 (16,3)*
Sulfamides	35	12,6	10,7	14,6	18,6
Triméthoprim	10	1,6	5	7,3	9,3
Chloramphénicol	5	3,1	0,7	4,9	3,1
Tétracycline	25	12,6	12,1	12,2	14,7
Azithromycine	0	1,6	0	0	1,6
Colistine	0	0	0	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

En 2021,

- Une souche du sérotype Infantis portait un gène **BLSE** du type *bla*_{CTX-M-65}, dans un contexte de multirésistance AMP CTX GEN CHL SUL TMP TET CIP_{SD}. Le patient a rapporté un voyage récent au Pérou.
- Deux souches étaient résistantes à l'**azithromycine** (CMI = 32 mg/L ou CMI > 64 mg/L). Le gène *erm(B)* a été identifié chez l'une d'elles.
- Aucune souche de sérotype Infantis n'était résistante aux carbapénèmes ou à la colistine.

3.1.3.3.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport, 2017- 2021

Tableau 21. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Newport

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017	2018	2019	2020	2021
	(n = 18) (N = 153)	(n = 142) (N = 290)	(n = 88) (N = 179)	(n = 73) (N = 144)	(n = 51) (N = 101)
Aminopénicillines ¹	5,6	2,8	8	9,6	7,8
C3G ²	0	0,7	1,1	1,4	0
Carbapénèmes ³	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	1,4	0	0	0
Acide nalidixique	0	1,4	2,3	0	5,9
Ciprofloxacine	0 (0)*	2,1 (4,2)*	1,1 (8)*	0 (0)*	2 (9,8)*
Sulfamides	27,8	2,1	5,7	2,7	7,8
Triméthoprim	0	1,4	2,3	1,4	5,9
Chloramphénicol	0	0,7	3,4	1,4	5,9
Tétracycline	5,6	2,1	6,8	2,7	7,8
Azithromycine	0	0	1,1	0	3,9
Colistine	0	2,8	2,3	2,7	0

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

En 2021,

- Deux souches de ce sérotype avaient un profil de **multirésistance** incluant de la résistance à l'**azithromycine** : AMP CHL SUL TMP TET AZI CIP_{SD}, causé par les gènes *bla_{CARB-2}*, *floR*, *sul1*, *dfrA1*, *tet(A)*, *mph(A)* et *qnrA1*. Aucune notion de voyage n'a été rapportée pour ces patients.
- Une souche était résistante à la **ciprofloxacine** (CMI = 4 mg/L) dans un contexte de **multirésistance** AMP SUL TET CIP_{HN}. La résistance à la ciprofloxacine était causée par une combinaison d'une mutation chromosomique dans la région QRDR (pour « Quinolone-resistance determining region ») (mutation *gyrA* S83Y) et la présence du gène d'origine plasmidique *qnrS1*.
- Aucune souche du sérotype Newport n'était résistante aux C3G, aux carbapénèmes ou à la colistine.

3.1.3.3.9 Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar, 2017- 2021

Tableau 22. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Hadar

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017	2018	2019	2020	2021
	(n = 6) (N = 50)	(n = 25) (N = 49)	(n = 22) (N = 44)	(n = 21) (N = 40)	(n = 25) (N = 46)
Aminopénicillines ¹	0	12	9,1	9,5	0
C3G ²	0	0	4,5	0	0
Carbapénèmes ³	0	0	0	0	0
Gentamicine	16,7	0	0	0	0
Acide nalidixique	66,7	80	86,4	81	48
Ciprofloxacine	0 (66,7)*	4 (80)*	4,5 (86,4)*	9,5 (71,4)*	8 (60)*
Sulfamides	0	4	9,1	0	0
Triméthoprim	0	4	9,1	0	0
Chloramphénicol	0	0	0	0	0
Tétracycline	50	72	95,5	81	60
Azithromycine	0	0	0	0	0
Colistine	0	0	0	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

En 2021, le profil de résistance le plus fréquent chez les souches de sérotype Hadar était l'association de résistance à la **tétracycline** et à la **ciprofloxacine** (résistance de bas niveau, CMI entre 0,25 et 0,5 mg/L) liée aux gènes acquis *tet(A)* et *qnrB19*, respectivement (n = 6 souches), ou *tet(A)* et la présence de mutations chromosomiques dans le QRDR de type *gyrA* D87N. Aucune notion de voyage n'a été rapportée pour ces patients.

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

3.1.3.3.10 Résistance aux antibiotiques du sérotype Dublin, 2017- 2021

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 d'ascite, de liquide synovial ou de liquide péricardique. A noter également que 74,2 % des patients étaient âgés de 60 ans et plus.

Tableau 23. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Dublin

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017	2018	2019	2020	2021
	(n = 12) (N = 83)	(n = 44) (N = 94)	(n = 41) (N = 90)	(n = 42) (N = 89)	(n = 26) (N = 49)
Aminopénicillines ¹	0	4,5	2,4	2,4	0
C3G ²	0	0	0	0	0
Carbapénèmes ³	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	2,4	0
Acide nalidixique	0	0	4,9	2,4	3,8
Ciprofloxacine	0 (0)*	0 (2,3)*	2,4 (2,4)*	2,4 (0)*	0 (3,8)*
Sulfamides	0	0	2,4	4,8	0
Triméthoprim	0	0	2,4	0	0
Chloramphénicol	0	0	0	4,8	3,8
Tétracycline	0	6,8	2,4	2,4	0
Azithromycine	8,3	0	0	2,4	0
Colistine	91,7	100	85,4	88,1	80,8

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

En 2021, les souches de sérotype Dublin étaient dans la plupart des cas sensibles aux antibiotiques, et aucune souche n'était résistante aux C3G ou aux carbapénèmes.

Il faut souligner le pourcentage de souches avec CMI = 4-8 mg/L à la **colistine** (21 des 26 souches analysées, soit 80,8 %). Comme pour le cas du sérotype Enteritidis, également membre du groupe D, des mécanismes liés à la synthèse du LPS pourraient être impliqués dans ce phénomène.

3.1.3.3.11 Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow, 2017- 2021

Tableau 24. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Virchow

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017	2018	2019	2020	2021
	(n = 10) (N = 60)	(n = 32) (N = 67)	(n = 36) (N = 71)	(n = 16) (N = 29)	(n = 32) (N = 60)
Aminopénicillines ¹	20	18,8	5,6	0	3,1
C3G ²	0	0	2,8	0	0
Carbapénèmes ³	0	0	0	0	0
Gentamicine	10	18,8	2,8	0	0
Acide nalidixique	30	50	41,7	1	16,5
Ciprofloxacine	0 (40)*	6,3 (50)*	5,6 (44,4)*	0 (6,3)*	3,1 (18,8)*
Sulfamides	20	0	0	0	6,3
Triméthoprim	20	21,9	0	0	6,3
Chloramphénicol	10	0	0	0	0
Tétracycline	20	25	2,8	0	9,4
Azithromycine	0	0	0	0	0
Colistine	0	12,5	0	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

En 2021, six souches de sérotype Virchow étaient résistantes à la **ciprofloxacine** : cinq souches avec sensibilité diminuée (CMI = 0,12-0,5 mg/L) et une souche avec résistance de haut niveau (CMI = 1 mg/L).

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

3.1.3.3.12 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi, 2017- 2021

Tableau 25. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhi

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017 (n = 130) (N = 149)	2018 (n = 135) (N = 149)	2019 (n = 192) (N = 194)	2020 (n = 83) (N = 84)	2021 (n = 74) (N = 74)
Aminopénicillines ¹	3,8	6,7	12,5	1,2	12,2
C3G ²	0	2,2	5,7	0	5,4
Carbapénèmes ³	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	31,5	38,5	37	13,3	24,3
Ciprofloxacine	10 (31,5)*	5,9 (38,5)*	10,4 (34,4)*	1,2 (13,3)*	6,8 (28,4)*
Cotrimoxazole	5,4	8,1	14,1	2,4	12,2
Chloramphénicol	5,4	8,1	13,5	2,4	9,5
Tétracycline	0,8	0,7	2,1	0	4,1
Azithromycine	0	0	0	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

En 2021, quatre souches XDR (profil AMP CTX CHL SUL TMP CIP_{HN}) ont été identifiées au CNR-ESS. Ces souches XDR, de génotype 4.3.1.1.P1, résistantes aux C3G (gène de BLSE *bla*_{CTX-M-15}) et à la ciprofloxacine (*gyrA* S83F et *qnrS*) ont été décrites pour la première fois au Pakistan en 2016 (Klemm *et al.* mBio 2018). Dans un cas, un voyage récent au Pakistan a été rapporté et dans les trois autres cas les patients étaient d'origine afghane.

La résistance aux **quinolones** était fréquente et en lien avec l'Asie du Sud :

- Seize souches avaient une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (CMI = 0,125-0,5 mg/L), dûe à une mutation dans la région QRDR (*gyrA* S83F, S83Y ou DN87N). Pour six patients un voyage en Inde ou au Pakistan était rapporté.
- Trois souches avaient une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (CMI = 0,125 mg/L), mais restaient sensibles à l'acide nalidixique (CMI = 8 mg/L). Ces souches avaient une mutation dans le gène *gyrB* (codant pour S464F). Ces trois souches étaient issues de patients revenant du Pakistan ou du Liban.

Les 49 souches en provenance ou avec notion de voyage en Outre-mer analysées en 2021 (six de Guyane et 16 de Mayotte) étaient toutes sensibles à tous les antibiotiques testés.

En 2021, aucune souche de sérotype Typhi n'était résistante 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 de type *mcr* n'a été détecté par l'analyse WGS).

3.1.3.3.13 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A, 2017- 2021

Tableau 26. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi A

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017	2018	2019	2020	2021
	(n = 3) (N = 27)	(n = 33) (N = 34)	(n = 40) (N = 41)	(n = 19) (N = 19)	(n = 9) (N = 9)
Aminopénicillines ¹	0	0	0	0	0
C3G ²	0	0	0	0	0
Carbapénèmes ³	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	66,7	78,8	95	89,5	88,9
Ciprofloxacine	66,7 (66,7)*	0 (78,8)*	7,5 (87,5)*	0 (89,5)*	0 (88,9)*
Cotrimoxazole**	0**	0	0	0	0
Chloramphénicol	33,3	0	0	0	0
Tétracycline	0	0	0	0	0
Azithromycine	33,3	0	0	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3ème génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

En 2021, les neuf souches de sérotype Paratyphi A reçues portaient une mutation dans la région QRDR de type *gyrA* S83F ou S83Y. Pour sept de ces souches le phénotype **CIP_{SD}** a été mis en évidence (CMI = 0,5 mg/L). Pour toutes ces souches résistantes, à l'exception de deux, une notion de séjour à l'étranger précédant les symptômes, ou la visite d'un membre de la famille ressortissant d'un pays endémique, était indiquée. Il s'agissait de séjours en Afrique (Maroc, Sénégal) ou en Asie (Bangladesh, Inde, Pakistan).

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

3.1.3.3.14 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B, 2017- 2021

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 27. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi B

Antibiotique	% de souches résistantes									
	2017		2018		2019		2020		2021	
	(dt-)	Java (dt+)	(dt-)	Java (dt+)	(dt-)	Java (dt+)	(dt-)	Java (dt+)	(dt-)	Java (dt+)
	(n = 7)	(n = 2)	(n = 14)	(n = 27)	(n = 14)	(n = 51)	(n = 5)	(n = 13)	(n = 8)	(n = 27)
	(N = 20)	(N = 34)	(N = 14)	(N = 35)	(N = 14)	(N = 51)	(N = 5)	(N = 14)	(N = 8)	(N = 27)
Aminopénicillines ¹	0	0	0	22,2	0	3,9	0	7,7	0	3,7
C3G ²	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Carbapénèmes ³	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	0	0	42,9	0	7,1	0	20	1	12,5	3,7
Ciprofloxacine	0 (0)*	0 (0)*	0 (42,9)*	0 (3,7)*	0 (7,7)*	0 (0)*	0 (20)*	0 (7,7)*	0 (12,5)*	0 (3,7)*
Sulfamides**	14,3***	0	0	3,7	0	5,9	0	7,7	0	7,4
Chloramphénicol	0	0	0	11,1	0	2	0	0	0	3,7
Tétracycline	0	0	0	14,8	0	7,8	0	0	0	3,7
Azithromycine	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

En 2021, une seule souche de sérotype Paratyphi B (dt-) avait une sensibilité diminuée à la **ciprofloxacine** (CMI = 0,25 mg/L). Aucune notion de voyage n'a été fournie pour ce patient. Les autres souches de sérotype Paratyphi B (dt-) étaient sensibles à tous les antibiotiques.

3.1.3.3.15 Résistance aux antibiotiques des autres sérotypes

En 2021, un tirage au sort sur les sérotypes non analysés habituellement a été réalisé dans le but d'analyser 5 % des souches appartenant à ces sérotypes.

Tableau 28. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques des autres sérotypes

Antibiotique	% de souches résistantes				
	2017	2018	2019	2020	2021
	111 sérotypes (n = 286) (N = 2 544)	7 sérotypes (n = 99) (N = 204)	57 sérotypes (n = 136) (N = 2 697)	48 sérotypes (n = 94) (N = 1 938)	58 sérotypes (n = 115) (N = 2 281)
Aminopénicillines ¹	5,9	4	5,1	0	2,6
C3G ²	0,7	1	1,5	0	0,9
Carbapénèmes ³	0	0	0	0	0
Gentamicine	0,7	1	0,7	0	0,9
Acide nalidixique	5,2	3	1,5	3,2	4,3
Ciprofloxacine	0,3 (8,7)*	1 (4)*	1,5 (6,6)*	0 (3,2)*	2,6 (6,1)
Sulfamides	16,4	7,1	5,9	3,2	5,2
Triméthoprim	4,9	0	6,6	2,1	6,1
Chloramphénicol	2,1	2	1,5	1,1	2,6
Tétracycline	8,4	4	8,1	3,2	7,8
Azithromycine	0	1	0	0	0,9
Colistine	0,3	5,1	0	3,2	1,7

n : Nombre de souches étudiées

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

¹ Ampicilline à partir de 2017

² Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime à partir de 2017)

³ Méropénème

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

En 2021, les souches de ces 48 sérotypes étaient relativement sensibles aux antibiotiques.

- Une souche de sérotype Rissen avait une résistance aux C3G causée par le gène de céphamycinase *bla_{CMY-2}*. Aucune notion de voyage pour le patient n'accompagnait cette souche.
- Deux souches de sérotype Napoli avaient une CMI de 4 mg/L à la colistine. Aucun gène de type *mcr* n'a été identifié. Il faut noter que le sérotype Napoli appartient au groupe D pour lequel ce phénotype a été décrit.

3.1.3.4 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 la distribution et les tendances évolutives des principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les *Salmonella*.

Dans les pages suivantes, les **Tableau 29 à Tableau 33** indiquent les gènes de résistance aux bêta-lactamines (codant pour des BLSE, céphamycinases ou carbapénèmes), à l'azithromycine et à la colistine, retrouvés chez les *Salmonella* de 2017 à 2021. À noter, aucun gène de résistance aux carbapénèmes n'a été identifié parmi les souches reçues par le CNR-ESS en 2020 et 2021.

Tableau 29. *Salmonella* contenant des gènes de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE)

Gènes	Sérotypes (n)				
	2017	2018	2019	2020	2021
<i>bla</i> _{CTX-M-1}	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1) Corvallis (1) Derby (1) Goldcoast (1) Infantis (1)	London (1) Typhimurium (1)	Bredeney (1) Hadar (1) Infantis (1) Livingstone (1) Typhimurium (4)	Derby (1) Typhimurium (2)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (7) Typhimurium (2)
<i>bla</i> _{CTX-M-3}	Agbeni (1) Derby (1) Mbandaka (1)	Agama (1) Telekebir (1)	0	0	0
<i>bla</i> _{CTX-M-9}	Rissen (1) Typhimurium (24)	Typhimurium (13)	Typhimurium (15)	Typhimurium (4)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1) Kedougou (1) Typhimurium (2)
<i>bla</i> _{CTX-M-14}	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (3) Kottbus (1) Strathcona (1)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1) Derby (1) Livingstone (1) Typhimurium (1)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1) Alachua (1) Kentucky (1) Rissen (1)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1) Kentucky (1)	Kentucky (1) Rissen (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-15}	0	Agona (1) Hessarek (1) Typhi (3) Typhimurium (3) Rissen (2)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (2) Cerro (1) Derby (1) Dublin (1) Rissen (1) Typhi (11) Typhimurium (3)	London (1) Typhimurium (2)	Arechavaleta (1) Saintpaul (1) Typhi (4) Typhimurium (5) Virchow (1)
<i>bla</i> _{CTX-M-32}	0	Infantis (1) Newport (1)	0	0	0
<i>bla</i> _{CTX-M-55}	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (2) Give (1) Kentucky (1) Newport (2)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1) Meleagridis (1)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (2) Bovismorbificans (1) Schwarzengrund (1) Uganda (2)	Schwarzengrund (1) Typhimurium (1)	0
<i>bla</i> _{CTX-M-65}	Infantis (2)	Infantis (3)	Indiana (1) Infantis (7)	Indiana (1) Infantis (2)	Infantis (2)
<i>bla</i> _{SHV-12}	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1)	Kentucky (1) Napoli (1)	Virchow (1)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1)
<i>bla</i> _{TEM-52}	Derby (1)	0	0	0	Coeln (1)

n : Nombre de souches

Tableau 30. *Salmonella* contenant des gènes de céphamycinase

Gènes	Sérotypes (n)				
	2017	2018	2019	2020	2021
<i>bla</i> _{AAC-3}	Enteritidis (1)	Typhimurium (1)	0	0	0
<i>bla</i> _{ACT-7}	0	0	Dublin (1)	0	0
<i>bla</i> _{ACT-12}	0	0	Illia 48:z4,z23:- (1)	0	0
<i>bla</i> _{CMY-2}	Typhimurium (2)	Typhimurium (2)	Minnesota (2)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (2)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1)
	Derby (1)	63:-- (1)	Typhimurium (2)	Newport (2)	Bovismorbificans (1)
	Kentucky (2)		Agona (1)	Kentucky (1)	Enteritidis (1)
	Miami (1)		Bovismorbificans (1)		Heidelberg (1)
	Minnesota (1)		Haifa (1)		Infantis (1)
	Stanley (1)		Newport (1)		Minnesota (1)
<i>bla</i> _{CMY-4}	Typhimurium (2)	Typhimurium (1)	0	Kentucky (1)	0
<i>bla</i> _{CMY-48}	0	Typhimurium (1)	0	0	0
<i>bla</i> _{CMY-66}	0	0	Zanzibar (1)	0	0
<i>bla</i> _{CMY-74}	Derby (1)	0	0	0	0
	Typhimurium (1)				0
<i>bla</i> _{CMY-78}	0	0	Newport (1)	0	0
<i>bla</i> _{CMY-83}	0	0	Enteritidis (1)	0	0
<i>bla</i> _{CMY-110}	0	0	Schwarzengrund (1)	0	0
<i>bla</i> _{DHA-1}	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (3)	Typhimurium (1)	Coeln (1)
	Kentucky (1)	Anatum (2)	Anatum (1)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1)	
<i>bla</i> _{DHA-2}	0	Weltevreden (1)	0	0	0
<i>bla</i> _{DHA-4}	0	Sandiego (1)	Colorado (1)	0	0
			Montevideo (1)		0
<i>bla</i> _{DHA-13}	0	Kentucky (1)	Enteritidis (1)	0	0
<i>bla</i> _{DHA-16}	0	0	Napoli (1)	0	0
<i>bla</i> _{DHA-22}	0	0	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1)	0	0

n : Nombre de souches

Tableau 31. *Salmonella* contenant des gènes de carbapénèmase

Gènes	Sérotypes (n)				
	2017	2018	2019	2020	2021
<i>bla</i> _{OXA-48}	Kentucky (3)	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1)	Baidon (1)	0	0
	Poona (1)	Illia 48:z4,z23:- (1)	Enteritidis (1)		
	Postdam (1)	Derby (1)	Virchow (1)		
	Saintpaul (1)	Enteritidis (2)			
		Kentucky (1)			
<i>bla</i> _{VIM-1}	0	Typhimurium (1)	0	0	0
<i>bla</i> _{VIM-2}	Kentucky (5)	0	0	0	0
<i>bla</i> _{NDM-1}	Westhampton (1)	0	0	0	0
<i>bla</i> _{NDM-2}	Kentucky (1)	0	<u>1,4,[5],12:i:-</u> (1)	0	0

n : Nombre de souches

Tableau 32. *Salmonella* contenant des gènes de résistance à l'azithromycine

Gènes	sérotypes (n)				
	2017	2018	2019	2020	2021
<i>mph(A)</i>	1,4,[5],12:i:- (5)	1,4,[5],12:i:- (2)	1,4,[5],12:i:- (3)	1,4,[5],12:i:- (2)	1,4,[5],12:i:- (5)
	Bareilly (1)	Blockley (1)	Blockley (5)	Blockley (1)	Albany (1)
	Blockley (2)	Bovismorbificans (1)	Enteritidis (2)	Kentucky (2)	Ampeyeme (1)
	Bredeney (1)	Brancaster (1)	Indiana (2)	Muenster (1)	Arechavaleta (1)
	Enteritidis (2)	Derby (1)	Java (1)	Rubislaw (1)	Bovismorbificans (1)
	Indiana (1)	Goldcoast (8)	Kentucky (1)	Schwarzengrund (1)	Indiana (1)
	Kentucky (2)	Indiana (2)	Napoli (2)	Typhimurium (1)	Kentucky (1)
	Newport (2)	Infantis (1)	Newport (1)		Newport (2)
	Rissen (2)	Kentucky (5)	Rissen (4)		Rissen (1)
	Saintpaul (1)	London (1)	Schwarzengrund (1)		Sheffield (2)
	Typhimurium (1)	Panama (1)	Typhimurium (1)		Typhimurium (1)
		Rissen (3)			
		Stanley (1)			
		Typhimurium (4)			
<i>mph(B)</i>	0	0	1,4,[5],12:i:- (2)	1,4,[5],12:i:- (3)	1,4,[5],12:i:- (4)
			Saintpaul (1)	Kentucky (1)	Saintpaul (5)
			Typhimurium (2)	Saintpaul (3)	Typhimurium (2)
			Typhimurium (1)		
<i>mph(E)</i>	0	0	Ohio (1)	0	0
<i>mph(G)</i>	0	0	0	0	1,4,[5],12:i:- (1)
					Derby (1)
					Infantis (1)
					Stanley (1)
<i>mef(B)</i>	0	0	0	1,4,[5],12:i:- (4)	0
<i>msr(E)</i>	0	0	0	1,4,[5],12:i:- (2)	0
<i>erm(B)</i>	0	0	0	0	Infantis (1)
<i>erm(42)</i>					Minnesota (1)

n : Nombre de souches

Tableau 33. *Salmonella* contenant des gènes de résistance à la colistine

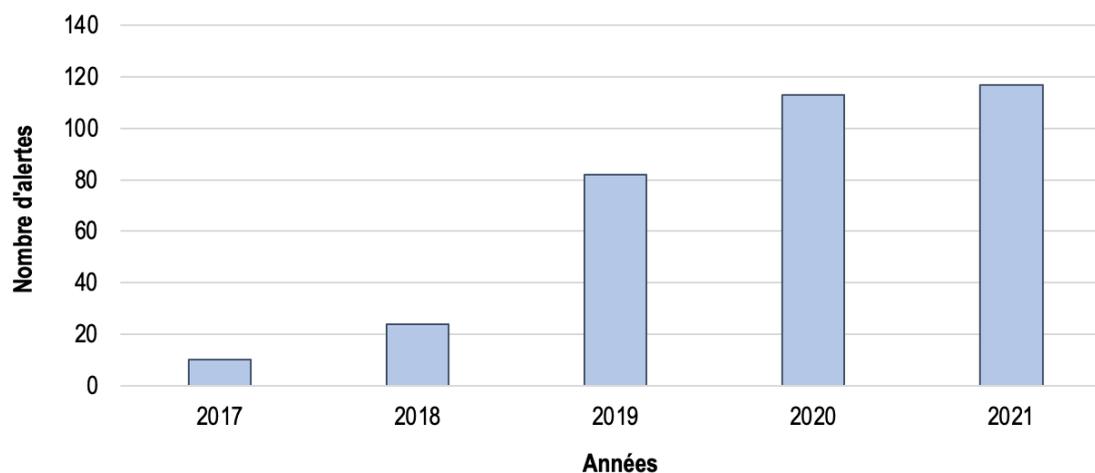
Gènes	sérotypes (n)				
	2017	2018	2019	2020	2021
<i>mcr-1</i>	1,4,[5],12:i:- (14)	1,4,[5],12:i:- (7)	1,4,[5],12:i:- (3)	1,4,[5],12:i:- (4)	1,4,[5],12:i:- (5)
		Kentucky (1)	Kentucky (1)	Kentucky (1)	Typhimurium (1)
		Typhimurium (1)			Chester (1)
					Enteritidis (1)
				Stanleyville (1)	
<i>mcr-3</i>	1,4,[5],12:i:- (4)	1,4,[5],12:i:- (2)	1,4,[5],12:i:- (3)	0	0
	Typhimurium (1)				
<i>mcr-5</i>	0	Typhimurium (1)	0	0	0

n : Nombre de souches

3.1.4 Contribution à l'alerte

Depuis la mise en route du typage des *Salmonella* par WGS en routine en 2018, la détection de groupements génomiques (clusters épidémiques) a augmenté de façon notable (**Figure 13**).

Figure 13. Évolution du nombre d'alertes à *Salmonella* analysées par le CNR-ESS



En 2021, le CNR-ESS a participé à l'investigation de **71 TIAC** en France. Le **Tableau 34** donne les informations relatives à ces alertes. De plus, en 2021, le CNR-ESS en collaboration avec SpF, a créé ou répondu à **46 alertes** européennes, via le système EpiPulse-FWD. Le **Tableau 35** montre les détails de ces alertes.

Une importante épidémie à *S. enterica* sérotype Enteritidis ST11 HC5_2301 a été identifiée en août 2021, en France. Elle a fait objet d'une alerte sur le portail EpiPulse (2021-FWD-00065-FR), puis d'une investigation internationale (ROA *Salmonella* Enteritidis ST11). Plus de 220 cas ont été identifiés en France et quatre pays du réseau ont aussi déclaré des cas : Danemark, Espagne, Norvège, Pays-Bas et le Royaume-Uni. Un lien avec la consommation d'œufs d'origine espagnole a été mis en évidence pour un certain nombre de cas.

Tableau 34. Alertes épidémiques à *Salmonella* en France, 2021

Alerte	Sérotype	ST	HC5	Création	N	Aliment
TIAC 717685	Enteritidis	11	254733	08/01/2021	3	œufs
-	Enteritidis	11	249526	15/01/2021	0	-
-	1,4,5,12:i:-	34	252304	19/01/2021	11	charcuterie
-	Infantis	32	234372	26/01/2021	12	-
-	1,4,5,12:i:-	34	227991	29/01/2021	16	-
-	Montevideo	4	220447	02/02/2021	42	-
-	Montevideo	4	253797	02/02/2021	16	-
TIAC 717497	—	-	-	05/02/2021	-	-
TIAC 718398	1,4,5,12:i:-	34	221304	23/03/2021	39	charcuterie
-	Infantis	32	81300	26/03/2021	7	-
TIAC 718401	1,4,12:i:-	34	183118	20/04/2021	68	œufs
TIAC 718500	Enteritidis	11	258133	20/04/2021	1	-
TIAC 718631	Typhimurium	19	263435	20/04/2021	4	œufs
TIAC 719401	Typhimurium	19	238939	10/05/2021	7	œufs
TIAC 718938	IV:40:z4,z23:-	4350	-	28/05/2021	7	fromage
TIAC 718940	Enteritidis	11	270279	28/05/2021	1	-
TIAC 363057 / 718936	Enteritidis	11	269751	31/05/2021	17	fromage
TIAC 718935	1,4,5,12:i:-	34	205231	31/05/2021	17	riz
2021/235	Give	516	270372	01/06/2021	11	charcuterie
2021/235	Give	516	270380	01/06/2021	13	charcuterie
-	Typhimurium	19	142832	03/06/2021	10	-
TIAC 719411	Typhimurium	19	272738	04/06/2021	6	viande hachée
-	Typhimurium	19	265623	11/06/2021	10	charcuterie
TIAC 719127	Typhimurium	19	226585	15/06/2021	24	-
TIAC 719400	Enteritidis	11	277333	17/06/2021	1	poulet
TIAC 719089	1,4,5,12:i:-	34	88279	18/06/2021	16	produit laitier
TIAC 719090	Enteritidis	11	205198	18/06/2021	2	charcuterie
TIAC 719469	Enteritidis	11	278407	24/06/2021	5	œufs
TIAC 719486	1,4,5,12:i:-	34	143224	30/06/2021	32	charcuterie
-	Virchow	16	82819	30/06/2021	25	kebab
-	Chester	1954	239044	06/07/2021	54	-
-	Enteritidis	11	274671 / 274667	06/07/2021	53	fromage
TIAC 719970	Typhimurium	19	198105	15/07/2021	4	œufs
TIAC 377328	Enteritidis	11	281290	30/07/2021	1	charcuterie
TIAC 376680	Enteritidis	11	149274	02/08/2021	24	-
TIAC 719420	non reçu	-	-	02/08/2021	-	-
TIAC 719485	Typhimurium	19	277893	02/08/2021	3	pâtisserie
TIAC 719653	Enteritidis	11	56883	02/08/2021	12	œufs
TIAC 719655	Enteritidis	11	272837	02/08/2021	3	œufs
TIAC 719661	1,4,5,12:i:-	34	185089	02/08/2021	17	-
-	Enteritidis	11	278407	02/08/2021	5	œufs
TIAC 720159	Enteritidis	11	280600	04/08/2021	2	œufs
TIAC 720203	1,4,5,12:i:-	34	279943	06/08/2021	36	charcuterie
-	Infantis	32	178352	09/08/2021	11	-
-	Enteritidis	11	279772	09/08/2021	8	-
TIAC 377944	1,4,5,12:i:-	34	279943	10/08/2021	36	charcuterie
TIAC 378278	Typhimurium	19	281112	10/08/2021	2	foie et cœur de mouton
TIAC 378494	1,4,5,12:i:-	34	279943	10/08/2021	36	œufs
TIAC 720204	Enteritidis	11	284001	10/08/2021	1	fromage
-	Infantis	32	276776	11/08/2021	29	-
-	Stanley	29	266554	11/08/2021	30	-
TIAC 379493	non reçu	-	-	15/08/2021	-	porc
-	Enteritidis	11	1998	19/08/2021	13	-
-	Infantis	32	245006	23/08/2021	33	-
-	Veneziana	2207	281191	27/08/2021	4	-
-	Enteritidis	11	281008	31/08/2021	51	-
-	Typhimurium	19	282454	15/09/2021	18	-
-	Enteritidis	11	56205	06/10/2021	32	œufs
TIAC 714902	non reçu	-	-	14/10/2021	-	œufs
TIAC 714927	non reçu	-	-	14/10/2021	-	charcuterie
TIAC 715357	Enteritidis	11	56771	14/10/2021	7	œufs
TIAC 715360	Enteritidis	11	242879	14/10/2021	2	-
-	Enteritidis	11	287881	18/10/2021	25	-
-	Enteritidis	11	263859	18/10/2021	33	-
-	Enteritidis	11	149190	18/10/2021	9	-
-	1,4,12:i:-	34	158951	18/10/2021	11	-
-	Enteritidis	11	241133	18/11/2021	66	œufs
-	Enteritidis	11	153887	24/11/2021	79	-
-	London	155	-	26/11/2021	25	-
-	Typhimurium	34	242001	08/12/2021	22	-
TIAC 392719	Enteritidis	11	281008	22/12/2021	51	produit laitier

Tableau 35. Alertes épidémiques internationales à *Salmonella*, 2021

Alerte	Sérotype	ST	HC5	Création	N	Aliment
2018-FWD-00029-FR/UI-483-FR	1,4,5,12:i-	34	111251	09/08/2021	212	viande hachée
2021-FWD-00013-DK / UI-709-DK	Typhimurium	36	255636	17/03/2021	0	-
2021-FWD-00004-US	Oranienburg	-	-	12/02/2021	0	-
2021-FWD-00005-FI / UI-699-FI	Typhimurium	19	254767	19/02/2021	0	-
2021-FWD-00006-DE / UI-700-DE	Senftenberg	14	256595	26/02/2021	1	-
2021-FWD-00007-FI / UI-701-FI	Enteritidis	11	256463	01/03/2021	0	-
2021-FWD-00008-NO / UI-704-NO / TIAC 719656	Enteritidis	11	223660	02/08/2021	30	-
2021-FWD-00010-NZ / UI-706-NZ	Enteritidis	183	256554	04/03/2021	0	-
2021-FWD-00011-NL / UI-707-NL	Enteritidis	11	3516	09/03/2021	1	-
2021-FWD-00014-NO / UI-710-NO	Dublin	10	254971	25/03/2021	4	fromage
2021-FWD-00015-NZ	Enteritidis	11	259117	31/03/2021	0	-
2021-FWD-00018-SE / UI-714-SE	Enteritidis	11	127644	15/04/2021	0	-
2021-FWD-00020-SE / UI-716-SE	Mbandaka, Havana, Amsterdam, Orion	413 / 1526	-	26/04/2021	0	-
2021-FWD-00024-IS / UI-718-IS	Chester	1954	-	30/04/2021	0	-
2021-FWD-00025-NL / UI-720-NL	1,4,5,12:i-	34	263831	06/05/2021	0	-
2021-FWD-00030-DE	Typhimurium	19	270486	01/06/2021	0	-
2021-FWD-00031-US	Weltevreden	365	260854	12/02/2021	0	-
2021-FWD-00033-FR / UI-728-FR / TIAC 718939	Enteritidis	11	258691	15/06/2021	25	-
2021-FWD-00035-NL	Montevideo	2327	274902	24/06/2021	0	-
2021-FWD-00038-DK / UI-719-DK	Branderup	22	259996	03/05/2021	7	-
2021-FWD-00039-FI	Typhimurium	19	276756	06/07/2021	0	-
2021-FWD-00045-FR	1,4,5,12:i-	34	90629	06/07/2021	72	-
2021-FWD-00056-US	Typhimurium	19	279663	03/08/2021	0	-
2021-FWD-00061-US	Typhimurium	19	277767	26/08/2021	0	-
2021-FWD-00063-US	Infantis	32	280233	26/08/2021	0	-
2021-FWD-00065-FR_TIAC 719654	Enteritidis	11	2301	02/08/2021	224	œufs
2021-FWD-00066-DK	Litchfield	214	283880	13/09/2021	0	-
2021-FWD-00068-NO	Enteritidis	11	1348	14/09/2021	8	reptiles
2021-FWD-00069-DK	Chester	1954	282756	14/09/2021	7	-
2021-FWD-00072-SE	Coeln	1995	284720	22/09/2021	36	-
2021-FWD-00074-NL	Typhimurium	36	29652	23/09/2021	3	-
2021-FWD-00076-SE	1,4,5,12:i-	34	142761	28/09/2021	2	-
2021-FWD-00078-BE	Enteritidis	11	285136	29/09/2021	0	-
2021-FWD-00078-BEbis	Enteritidis	11	2197	29/09/2021	0	-
2021-FWD-00079-NO	Gaminara	239	-	30/09/2021	3	-
2021-FWD-00083-US	Oranienburg	23	-	09/10/2021	22	-
2021-FWD-00084-IS	Typhimurium	36	29652	11/10/2021	3	-
2021-FWD-00087-DE	Mikawasima	-	-	25/10/2021	0	-
2021-FWD-00088-FR	Enteritidis	11	56628	02/10/2021	82	-
2021-FWD-00089-DK	Enteritidis	11	1358	02/11/2021	99	-
2021-FWD-00090-SE	1,4,5,12:i-	34	290894	04/11/2021	0	-
2021-FWD-00091-BE	Enteritidis	11	112130	15/11/2021	3	-
2021-FWD-00092-BE	1,4,5,12:i-	34	290896	15/11/2021	0	-
EWRS-UK juin 2021	Infantis	32	102117	18/06/2021	0	-
2021-FWD-00105-DE	Serenli	-	-	21/12/2021	0	-
2021-FWD-xxxxx UK	Kedougou	1543	251571	02/07/2021	1	-
2021-FWD-xxxxx UK	Typhimurium	19	284225	04/10/2021	3	-

***Shigella*/EIEC**

3.2 BILAN DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES POUR *SHIGELLA*/EIEC 2017-2021

3.2.1 Les activités au titre de l'expertise microbiologique

Au cours du dernier mandat (2017-2021) :

- **Le CNR-ESS a reçu et analysé 5 710 cultures bactériennes**, transmises comme appartenant au pathovar *Shigella*/EIEC, par le réseau des laboratoires de biologie médicale de France métropolitaine et d'Outre-mer.
- **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 en **2020 et 2021** : fermeture des écoles, des restaurants, interdiction des rassemblements et limitation des voyages.

3.2.1.1 Evolution des techniques

Les différentes techniques de référence pour l'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 le paragraphe 2.4.1 Liste des techniques.

Depuis avril 2017, les souches de *Shigella*/EIEC reçues au CNR-ESS sont systématiquement séquencées (voir paragraphe 2.4.1 Liste des techniques).

Jusqu'en septembre 2021, l'identification et le typage des *Shigella* au CNR-ESS s'effectuaient encore selon les techniques de référence de **bactériologie classique** : tests biochimiques et sérotypage par agglutination.

Parallèlement, le développement et la validation d'une méthode de **sérotypage *in silico*** ont été réalisés au CNR-ESS. Depuis octobre 2021, cette méthode a définitivement remplacé le sérotypage classique par agglutination comme **technique de typage en première intention**. Au cours du développement une base de données des séquençotypes MLST7 (pour MultiLocus Sequence Typing, selon le schéma 7 gènes de EnteroBase <https://enterobase.warwick.ac.uk/>) et des valeurs de HC100, HC400 et HC200 (pour Hierarchical Clustering appliqué au core genome MLST, selon le schéma d'EnteroBase) a été validée pour l'ensemble des sérotypes connus de *Shigella*. **Ces données ont été publiées** dans « Yassine I., Lefèvre S., Hansen E.E. *et al.* Population structure analysis and laboratory monitoring of *Shigella* by core-genome multilocus sequence typing. Nat Commun 13, 551 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28121-1> »

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** (pour single nucleotide polymorphism), via le site EnteroBase.

3.2.1.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Le CNR-ESS est un des principaux utilisateurs du **site EnteroBase** (<https://enterobase.warwick.ac.uk/>). En juillet 2019, l'interaction du CNR avec l'équipe qui gère EnteroBase à l'université de Warwick (Royaume-Uni) a mené 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 clusters épidémiques**. Le responsable scientifique du CNR-ESS est le curateur de la base *E. coli/Shigella*.

Les kits syndromiques de PCR multiplex se sont également largement répandus depuis quelques années dans les Laboratoires de Biologie Médicale (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 importants 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 systèmes distribués à ce jour en France (principalement Microflex® de Bruker et Vitek®MS de Biomérieux) ne proposent pas de différenciation des *Shigella*/EIEC par rapport aux autres *Escherichia coli*. Au cours du mandat 2017-2021 le CNR-ESS a évalué les performances du système Microflex® de Bruker dans l'objectif de développer de nouvelles approches d'analyse des données et d'améliorer l'identification des *Shigella*/EIEC. Les *Shigella*/EIEC sont des *E. coli* ayant acquis un plasmide de virulence, codant pour des protéines spécifiques. De plus ce pathovar présente un profil métabolique déficient caractéristique, par rapport à la majorité des autres *E. coli*. Les spécificités de son protéome en font un bon candidat pour l'identification par la méthode de spectrométrie de masse. Cependant au cours de nos expériences nous n'avons pas observé de signal spécifique des *Shigella*/EIEC parmi les données détectées. La technologie Microflex® de Bruker, associée au protocole de traitement des échantillons proposé, ne semble pas adaptée à cette problématique analytique. Ces résultats confirment ceux d'une étude effectuée aux Pays-Bas « Van den Beld *et al.* MALDI-TOF MS Using a Custom-Made Database, Biomarker Assignment, or Mathematical Classifiers Does Not Differentiate *Shigella* spp. and *Escherichia coli*. Microorganisms 10, 435 (2022) » qui conclue à la nécessité d'utiliser des tests supplémentaires pour distinguer *Shigella*.

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*. 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 de *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella* du CNR-ESS a démarré en 2020 avec l'**IR Biotyper® de Bruker.**

3.2.1.3 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>)

3.2.1.4 Collections de matériel biologique

L'organisation, les conditions de stockage et la mise à disposition des collections de matériel biologique sont détaillées dans le paragraphe **2.4.2 Collections de souches.**

3.2.1.5 Activité de routine du CNR-ESS

De 2017 à 2021, le CNR-ESS a analysé la totalité des **5 710 souches** isolées des cultures bactériennes transmises par son réseau de laboratoires de biologie médicale (LBM) de France métropolitaine et d'Outre-mer.

De 2017 à septembre 2021, nous avons réalisé une identification biochimique systématique de toutes les souches reçues, ainsi qu'un sérotypage classique par agglutination. Une analyse par biologie moléculaire (PCR des gènes de virulence) a été effectuée sur toutes les souches non évocatrices d'un sérotype connu, dans le but de détecter de nouveaux sérotypes de *Shigella* spp. et des EIEC, mais aussi pour éliminer les bactéries autres que *Shigella*/EIEC, envoyées par erreur par les LBM. 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.

Depuis octobre 2021, les tests biochimiques ainsi que les tests d'agglutination ont été abandonnés au profit d'un dépistage systématique par PCR des principaux pathovars de *E. coli*, suivie d'un **sérotypage *in silico*** des souches positives à *Shigella*/EIEC, à partir des séquences obtenues par WGS.

Les résultats détaillés de ces analyses sont présentés dans le paragraphe **3.2.3 Contribution à la surveillance épidémiologique**.

Au total, entre 2017 et 2021, **83 %** (4 739 / 5 710) des souches réceptionnées ont été confirmées comme des ***Shigella* spp.** (n = 4 718) ou des **EIEC** (n = 21). Les autres souches (**17 %**, 971/5710) étaient des « **bactéries autres que *Shigella*/EIEC** », de type *E. coli* atypiques le plus fréquemment. Ce pourcentage de mauvaise identification des *Shigella* par les LBM a été multiplié par 5 au cours des 8 dernières années (4% en 2014, 6% en 2015, 12% en 2016, 17% en 2017, 21% en 2018 et 2019, 26% en 2020 et 19% en 2021). Ceci est attribuable à l'abandon de plus en plus répandu des tests d'agglutination. Les tests biochimiques utilisés seuls ne sont pas capables de différencier les *Shigella* des *E. coli* déficients. Cette tendance est vraisemblablement liée à la difficulté des laboratoires d'analyses médicales de maintenir une activité de sérotypage dans le cadre de l'accréditation ISO-15189.

Tableau 36. Nombre de souches enregistrées au CNR-ESS de 2017 à 2021*

	2017	2018	2019	2020	2021
<i>Shigella</i> /EIEC	1 013	1 117	1 238	563	808
Bactéries autres que <i>Shigella</i> /EIEC	173	236	259	147	156
Nombre total de souches enregistrées	1 186	1 353	1 497	710	964

*par date de réception au CNR-ESS (quelle que soit la date de prélèvement)

Attention, les effectifs des enregistrements diffèrent des effectifs de surveillance. Ces derniers, présentés dans le paragraphe **3.2.3 Contribution à la surveillance épidémiologique**, s'intéressent aux souches isolées strictement au cours de l'année et excluent les souches transmises en double.

Un compte rendu des résultats de typage (sérotypage jusqu'en septembre 2021, puis typage génomique depuis octobre 2021) a été systématiquement transmis par voie postale à tous les LBM expéditeurs. Ces résultats à visée épidémiologique sont transmis à titre informatif pour encourager les LBM à poursuivre leur participation à la surveillance nationale. Toute discordance avec nos résultats peut être également l'occasion d'une prestation de conseil sur les limites du processus de diagnostic en place dans le LBM concerné. Les résultats du sous-typage (cgMLST et analyse SNP) 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.

3.2.1.6 Activités hors routine du CNR-ESS

En 2017 : 18 souches supplémentaires ont été étudiées dans le cadre d'études épidémiologiques avec l'étranger (Bangladesh et Cambodge).

Une souche d'origine animale (singe) a été reçue et analysée en 2017.

En 2018 : 44 échantillons humains supplémentaires (selles ou souches) ont été analysés dans le cadre de l'étude sur les performances du kit de PCR multiplex BD Max®.

En 2019 : 58 échantillons humains supplémentaires (selles) ont été analysés en 2019 dans le cadre de l'étude sur les performances du système de PCR multiplex BD Max® .

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

En 2020 et 2021, aucun échantillon en provenance de l'étranger ni aucune souche d'origine animale n'ont été reçus.

3.2.1.7 Activités de séquençage

LE CNR A-T-IL EU ACCES A UNE PATEFORME DE SEQUENÇAGE ?

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 C**).

LE CNR A-T-IL EU ACCES A UNE EXPERTISE BIO-INFORMATIQUE ?

Voir l'**Annexe C**

LE CNR A-T-IL FAIT APPEL AUX TECHNIQUES DE SEQUENÇAGE A DES FINS DE SANTE PUBLIQUE ?

Le séquençage par WGS est devenu la technique de première intention au CNR-ESS. Les données sont utilisées dans le cadre de la surveillance et lors des investigations d'épidémies.

NOMBRE DE SEQUENCES REALISEES A DES FINS D'INVESTIGATIONS D'EPIDEMIES ET DE SURVEILLANCE

Depuis avril 2017, toutes les souches reçues et identifiées comme *Shigella*/EIEC sont systématiquement séquencées à des fins de surveillance (voir paragraphe **3.2.3 Contribution à la surveillance épidémiologique**). **Entre 2017 et 2021, le CNR-ESS a séquencé plus de 4600 souches de *Shigella* spp. ou EIEC.**

OU LES SEQUENCES BRUTES SONT-ELLES DEPOSEES ? (FASTQ ET FASTA 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.

3.2.2 Conseil aux professionnels ou aux autorités de santé

3.2.2.1 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 en provenance des laboratoires de biologie médicale. 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 type de prélèvement ainsi que des renseignements épidémiologiques permettant de mettre en évidence des épidémies potentielles et leurs origines. Ces fiches et les résultats d'analyse obtenus permettent l'interface avec Santé publique France à différents niveaux. La surveillance se fait lors de la validation des résultats par le CNR-ESS 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.

3.2.2.2 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens (ECDC)

Le CNR-ESS répond aux alertes internationales 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.

3.2.2.3 Etude et description de nouveaux sérotypes de *Shigella*.

Le CNR-ESS travaille avec son unité de recherche de rattachement (UBPE, Institut Pasteur) à la description des nouveaux sérotypes de *Shigella*. Dans une publication récente nous avons ainsi proposé l'attribution de nouveaux sérotypes à tous les sérotypes provisoires décrits dans la littérature internationale jusqu'à ce jour : « Yassine I., Lefèvre S. *et al.* Population structure analysis and laboratory monitoring of *Shigella* by core-genome multilocus sequence typing. Nat Commun 13, 551 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28121-1> ».

3.2.2.4 Enquêtes et autres études 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 2021. Cette étude a nécessité un nettoyage des bases de données du CNR-ESS et la création d'une base de données unique.
- Étude des différents clusters génomiques de *Shigella* multi-résistantes aux antibiotiques, circulant en France métropolitaine. La rédaction d'un article est en cours de finalisation.

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

3.2.2.5.1 Diffusion des données de surveillance et des productions du CNR

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

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

La dernière mise à jour du site internet du CNR-ESS a été effectuée par les biologistes en février 2022.

3.2.2.5.2 Enseignements et formations aux professionnels de la santé

En 2021, le CNR-ESS a participé aux formations suivantes pour les *Shigella* et autre pathovars de *E. coli* :

- Sophie Lefèvre : Cours « Microbiologie des principaux pathovars entériques de *E. coli* ». Le 25 mai 2021 dans le cadre du programme RESER du Réseau International de l'Institut Pasteur.

3.2.2.5.3 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.

En 2021, le CNR-ESS a accueilli pour les shigelles et les *E. coli* :

- **Marion CHEVALIER**, étudiante en double licence « Sciences de la vie et Informatique » dont le sujet était l'évaluation des performances du spectromètre de masse Microflex® de Bruker dans la différenciation *Shigella/E. coli* (juin-juillet 2021).
- **Iman YASSINE**, doctorante (cotutelle entre l'Université Paris Cité et l'Université Libanaise), analyse la structure des populations de *Shigella* par approche génomique.
- **Carolina SILVA NODARI**, post-doctorante, qui étudie la structure des populations et la résistance aux antibiotiques des EPEC qui circulaient en Europe après la deuxième guerre mondiale.

3.2.2.5.4 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 (limites des techniques de diagnostic commercialisées, importance des gènes de pathogénicité ou du sérotype détecté...), ou épidémiologiques sont donnés de façon quasi quotidienne par téléphone ou courrier électronique (colishig@pasteur.fr).

Au cours du mandat 2017-2021, le CNR-ESS a eu un rôle important de conseil sur les performances et les limites des nouvelles technologies commercialisées pour le diagnostic des *Shigella*/EIEC. Voir la partie « Travaux d'évaluation des techniques » dans le chapitre sur les activités d'expertise de ce présent rapport.

3.2.3 Contribution à la surveillance épidémiologique

3.2.3.1 Introduction

A la différence des données issues de notre activité d'expertise (voir le paragraphe 3.2.1), les données de surveillance sont présentées en fonction des **dates de prélèvement** (et non de la date de réception au CNR-ESS) :

Entre 2017 et 2021 nous avons ainsi recensé un total de **5 343 isoléments* de *Shigella*/EIEC** répartis en métropole et en Outre-mer :

Année de prélèvement	Souches* de <i>Shigella</i> spp.	Souches* de EIEC	« Fiches information »**
2017	962	1	256
2018	1151	4	249
2019	1167	7	163
2020	565	2	40
2021	769	7	NA**
Total	4614	21	708

* **Chiffres obtenus après dédoublement des souches**: exclusion des souches isolées chez un même patient dans un intervalle de deux mois, ou dans un intervalle supérieur à 2 mois si les souches présentent la même valeur de HC5 (voir explication de la technique de sous-typage par étude du séquençotype cgMLST dans le paragraphe 2.4.1 Liste des techniques).

** Les « fiches information » correspondent à des souches de *Shigella* déclarées par des LBM sans transmission d'aucun isolement. Ces dernières étaient collectées jusqu'à fin 2020, par voie postale, fax, e-mail ou directement via un **portail Web Voozаноо** dédié à la déclaration en ligne des cas de shigellose et de salmonellose.

Depuis la fermeture de la plateforme Voozаноо, le 31 décembre 2020, le **CNR-ESS encourage la transmission systématique et en temps réel de TOUS les isoléments de *Shigella*/EIEC (en parallèle de ceux de *Salmonella*)**.

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

3.2.3.2 Description du réseau de partenaires et distribution des cas enregistrés

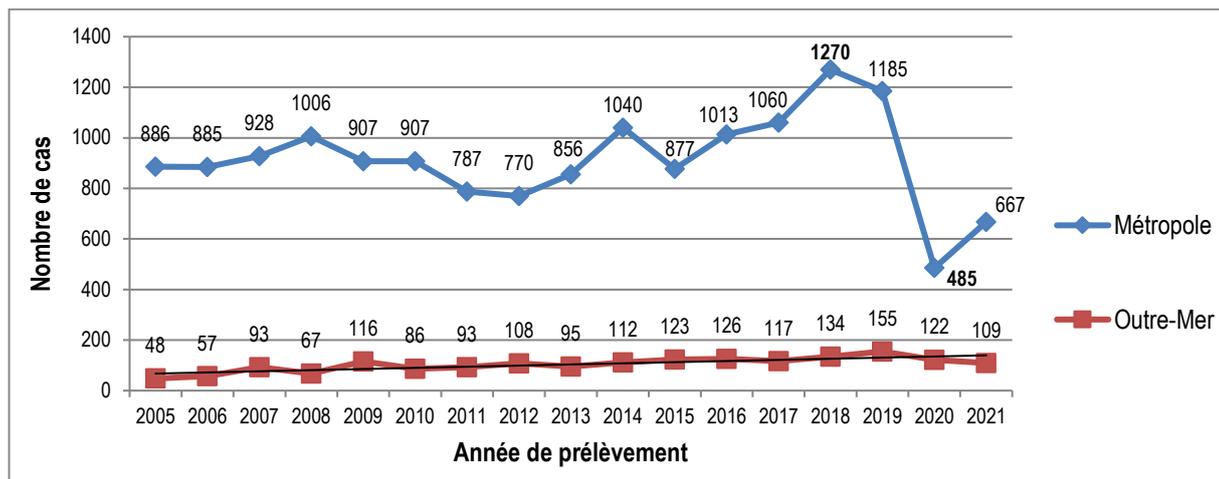
3.2.3.2.1 Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-ESS

Le CNR-ESS collabore depuis de nombreuses années avec **un réseau d'environ 1 000 laboratoires** (laboratoires privés ou laboratoires hospitaliers), 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 3.1.3.1.1** de la partie *Salmonella*.

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

Le nombre total de cas enregistrés en France métropolitaine était **inhabituellement faible** en **2020 et 2021**, et deux fois moins élevé qu'entre 2017 et 2019 (**Figure 14**). Les mesures de restriction mises en place dans le cadre de la **pandémie à SARS-CoV2** (distanciation physique, 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 du nombre de cas présentée en **Figure 16** dans laquelle on observe une baisse du nombre de cas pendant les périodes de confinement. En Outre-mer, nous n'avons pas observé cette même diminution. 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 et influence la représentativité de ces données.

Figure 14. Nombre de cas d'infections à *Shigella* spp. ou EIEC (souches et « fiches information»)*, France métropolitaine et Outre-mer, 2005-2021



*fin des « fiches information » au 31/12/2020

La Figure 15 présente quant à elle la répartition par département du nombre de cas d'infection à *Shigella*/EIEC enregistrés en 2021, ainsi que leur incidence pour 100 000 habitants. Ces cas provenaient de 83 départements de France métropolitaine et de trois départements d'Outre-mer (Guyane, La Réunion et Mayotte).

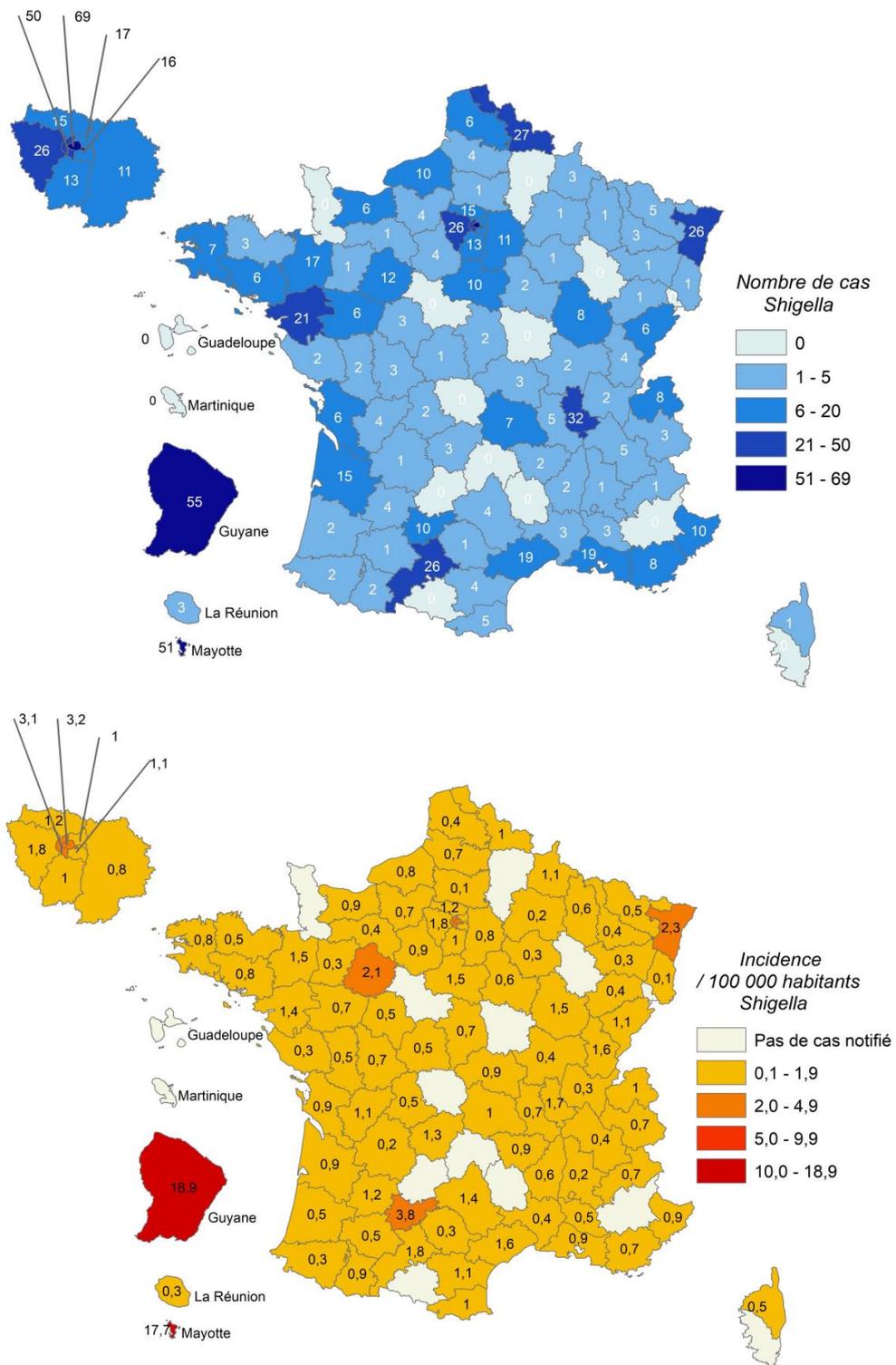
Méthode : Pour déterminer le département d'origine des souches de Shigella reçues au CNR-ESS, le « code postal du patient » est utilisé par défaut. La donnée « code postal du laboratoire expéditeur » est utilisée dans deux situations particulières : lorsque la donnée « code postal du patient » n'est 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, les départements métropolitains avec les taux d'incidence les plus élevés n'étaient pas les mêmes d'une année sur l'autre :

- En 2021, les trois départements principaux étaient **82_Tarn-et-Garonne**, **75_Paris** et **92_Hauts-de-Seine**. Leurs taux d'incidence respectifs étaient répartis entre 3,1 et 3,8 / 100 000 habitants.
- 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 répartis 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 impactés avec des taux d'incidence jusqu'à 4 fois supérieurs à ceux de 2020 et deux fois supérieurs à ceux de 2021 (de 5,0 à 8,7 / 100 000 habitants).

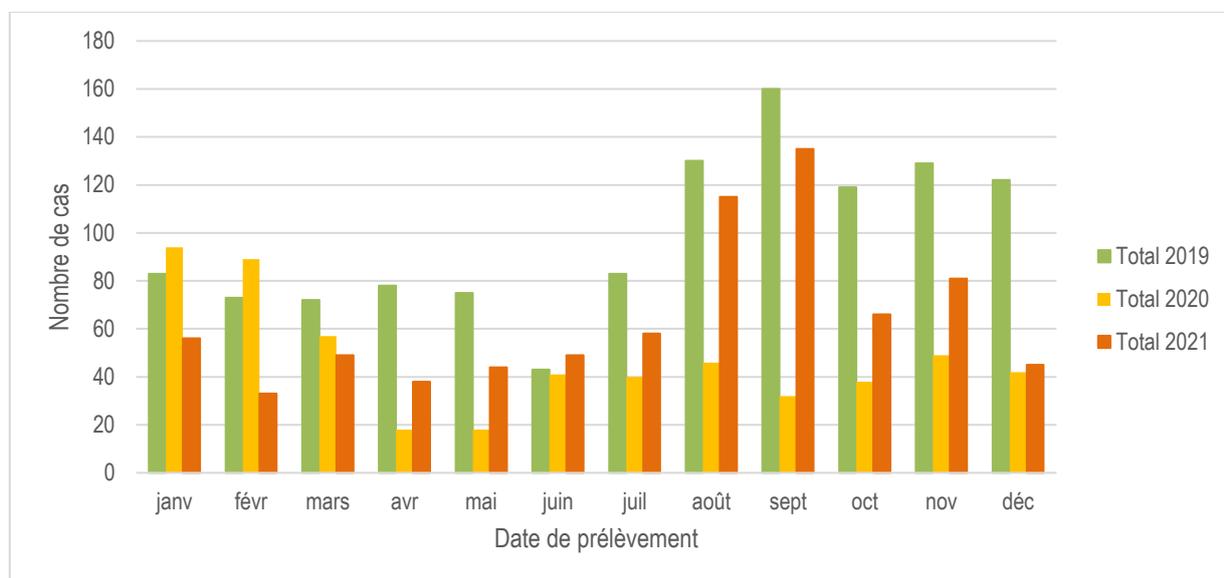
En Outre-mer seulement trois départements (Guyane, Mayotte et La Réunion) ont transmis des souches au CNR-ESS en 2021. Les taux d'incidence pour la Guyane étaient de 18,9 / 100 000 habitants en 2021 vs 20,8 en 2020 et 34,6 en 2019. Pour Mayotte, 17,7 / 100 000 habitants en 2021 vs 15,4 en 2020 et 14,8 en 2019. Pour La Réunion 0,3 / 100 000 habitants en 2021 vs 2,1 en 2020 et 1,9 en 2019. Ces taux d'incidence sont beaucoup plus élevés en Guyane française et à Mayotte qu'en métropole. 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 en 2020 et 2021.

Figure 15. Cartes du nombre de cas et de l'incidence des infections à *Shigella* spp ou EIEC par département (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2021)



La **Figure 16** représente la distribution mensuelle du nombre de cas de shigellose signalés en France entre 2019 et 2021. Cette figure a pour but d'illustrer l'impact des différentes mesures mises en place pendant la pandémie à SARS-CoV-2 sur la diminution du nombre de cas recensés au CNR (mi-mars à mi-mai 2020 : 1^{er} confinement strict avec fermeture des écoles, mise en place du télétravail, interdiction de circulation à plus de 1 km du domicile, etc... ; puis rassemblements limités jusqu'à l'instauration du passe vaccinal).

Figure 16. Distribution mensuelle des cas de shigellose (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2019-2021)



3.2.4 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à *Shigella*/EIEC

3.2.4.1 Origine des prélèvements

La répartition en fonction du site de prélèvement, de la totalité des 769 isollements de *Shigella* spp. enregistrés au CNR-ESS en 2021, est présentée dans le **Tableau 37**. Comme chaque année la très grande majorité de ces prélèvements (761/769, 99 %) était d'origine intestinale. Les bactériémies ainsi que les infections urinaires à *Shigella* spp. restent exceptionnelles.

Tableau 37. Répartition des sites de prélèvement des *Shigella* spp. (France métropolitaine et Outre-mer, 2021)

	Total
Selles/ Écouvillon rectal	761
Urines	2
Sang	4
Biopsie anale/intestinale	2
Total	769

Les 7 souches de **EIEC** ont été isolées de prélèvement de selles.

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

3.2.4.2.1 Répartition par sérogroupes et par sérotypes

La répartition des différents sérogroupes et sérotypes des 667 souches reçues de *Shigella*/EIEC enregistrées en France métropolitaine en 2021 est présentée dans les **Tableau 38 et 39**.

Tableau 38. Distribution annuelle des différents sérotypes de *Shigella* (France métropolitaine, 2017-2021)

Sérotype	Année de prélèvement	2017	2018	2019	2020	2021
<i>Shigella boydii</i>		34 [35]	42 [50]	20 [20]	4 [6]	10
1		1	1	3	–	2
2		14	20	4	2	1
4		1	5	4	–	1
5		–	1	1	–	–
8		–	–	1	1	1
9		–	–	1	–	–
10		2	3	1	1	–
11		10	3	–	–	1
13		–	1	–	–	–
14		3	1	1	–	1
18		–	1	3	–	–
19		1	3	1	–	1
20		2	3	–	–	1
22* (ancien sérotype provisoire E1621-54)		–	–	–	–	1
<i>Shigella dysenteriae</i>		15 [16]	14 [15]	14 [15]	3 [3]	8
2		5	2	5	1	2
3		1	4	2	–	2
4		1	–	–	–	–
6		–	–	–	–	1
9		1	–	–	–	–
12		2	1	3	–	–
14		–	–	–	–	1
16* (ancien sérotype provisoire 97-10607/96-204)		3	7	4	1	1
17* (ancien sérotype provisoire 93-119)		–	–	–	1	1
sérotype provisoire SH-111		2	–	–	–	–
<i>Shigella flexneri</i>		266 [284]	328 [354]	355 [373]	212 [215]	227
1a		2	3	3	1	2
1b		41	70	63	62	78
2a		107	108	113	74	63
2b		6	10	10	7	1
3a		27	43	70	41	47
3b		2	3	3	8	6
4a		–	4	1	–	–
4av		10	8	12	2	8
6		28	39	46	8	9
X		2	1	–	–	1
Xv (ancien sérotype 4v*)		8	4	6	1	2
Y		3	4	4	1	3
Yv		1	4	2	2	1
7a et 7b* (ancien sérotype provisoire 1c)		29	27	22	5	6
<i>Shigella sonnei</i>		530 [717]	635 [842]	626 [763]	226 [260]	415
a		13	34	28	6	NR
e		5	4	1	1	NR
f		–	–	1	–	NR
g		346	397	410	180	NR
g (mannitol-)		79	127	103	6	NR
g (mannitol- et ONPG-)		–	–	–	–	NR
g (ONPG-)		85	72	83	32	NR
g (ODC-)		2	–	–	1	NR
NST (ST152)		–	1	–	–	NR
Génosérotype <i>Shigella sonnei</i> **		NR	NR	NR	NR	415**
<i>Shigella</i> spp.		– [7]	– [5]	– [3]	– [1]	–
Total <i>Shigella</i>		845 [1 059]	1 019 [1 266]	1 015 [1 177]	445 [485]	660

NR : non recherché. NST : non sérotypable.

*Nouveaux sérotypes décrits dans la publication <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28121-1>.

**Le sérotypage *in silico* a remplacé le sérotypage par agglutination au CNR en octobre 2021. Depuis octobre 2021, le biotype des *Shigella sonnei* n'est plus réalisé, mais a été remplacé par un génotypage plus discriminant (Hawkey *et al.* Nature Communications 2021).

De 2017 à 2020, les chiffres entre crochets [] correspondent au total du nombre de souches + « fiches information ». La déclaration par fiche information sans envoi de souches a été arrêtée au 31 décembre 2020.

Tableau 39. Distribution annuelle des différents sérotypes de EIEC (France métropolitaine, 2017-2021)

Sérotype	Année de prélèvement	2017	2018	2019	2020	2021
O8:H19 (ST4267_HC1100_4423)		-	1	1	-	-
O28ac:H7 (ST311_HC1100_4305)		-	1	1	-	-
O96:H19 (ST99_HC1100_96)		1	-	-	-	1
O121:H30 (ST6_HC1100_604)		-	1	4	-	4
O124:H7 (ST270_HC1100_4305)		-	1	1	-	1
O132:H21 (ST6_ST12764_HC1100_604)		-	-	-	-	1
O143:H26 (ST280_HC1100_4376)		-	-	1	-	-
Total EIEC		1	4	8	-	7

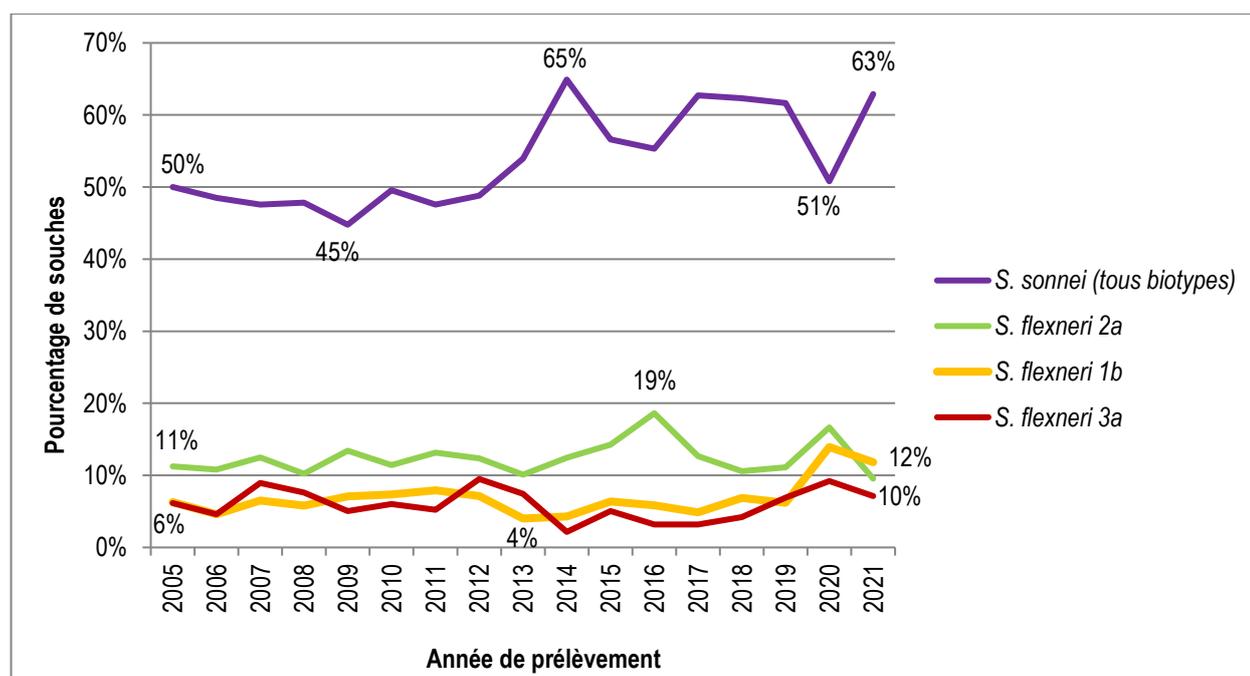
Le sérotype des EIEC a été obtenu par sérotypage *in silico*. Il est associé dans ce tableau avec les informations du cluster génomique, caractérisé par le séquençotype MLST et la valeur HC1100 de cgMLST.

En 2021, de façon habituelle, *S. sonnei* (415/660, 63 %) et *S. flexneri* (227/660, 34 %) ont été les sérogroupes les plus fréquemment isolés en métropole. *S. boydii* (10/660, 2 %) et *S. dysenteriae* (8/660, 1 %) sont restés très faiblement représentés.

S. sonnei est le type majoritaire en France métropolitaine depuis plus de 10 ans. Il est de plus en augmentation depuis 2005.

S. flexneri 2a (63/660, 10 %) et *S. flexneri 1b* (78/660, 12 %) étaient les 2^{ème} et 3^{ème} sérotypes les plus représentés en 2020 et 2021. La brusque augmentation des *S. flexneri 1b* peut s'expliquer par la circulation d'un nouveau clone épidémique décrit ci-après dans le paragraphe 3.2.6 Contribution à l'alerte.

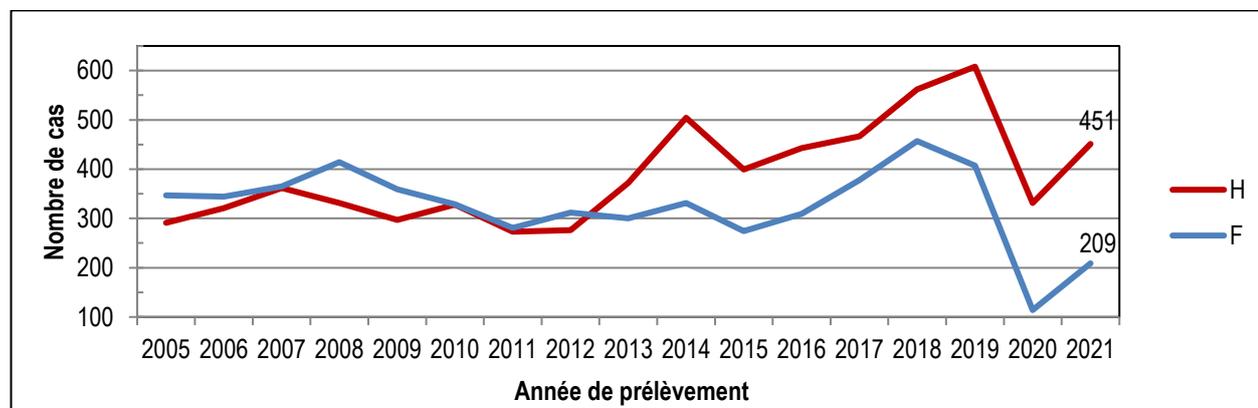
Figure 17. Évolution des principaux sérotypes de *Shigella* (souches, France métropolitaine, 2005-2021)



3.2.4.2.2 Répartition par sexe

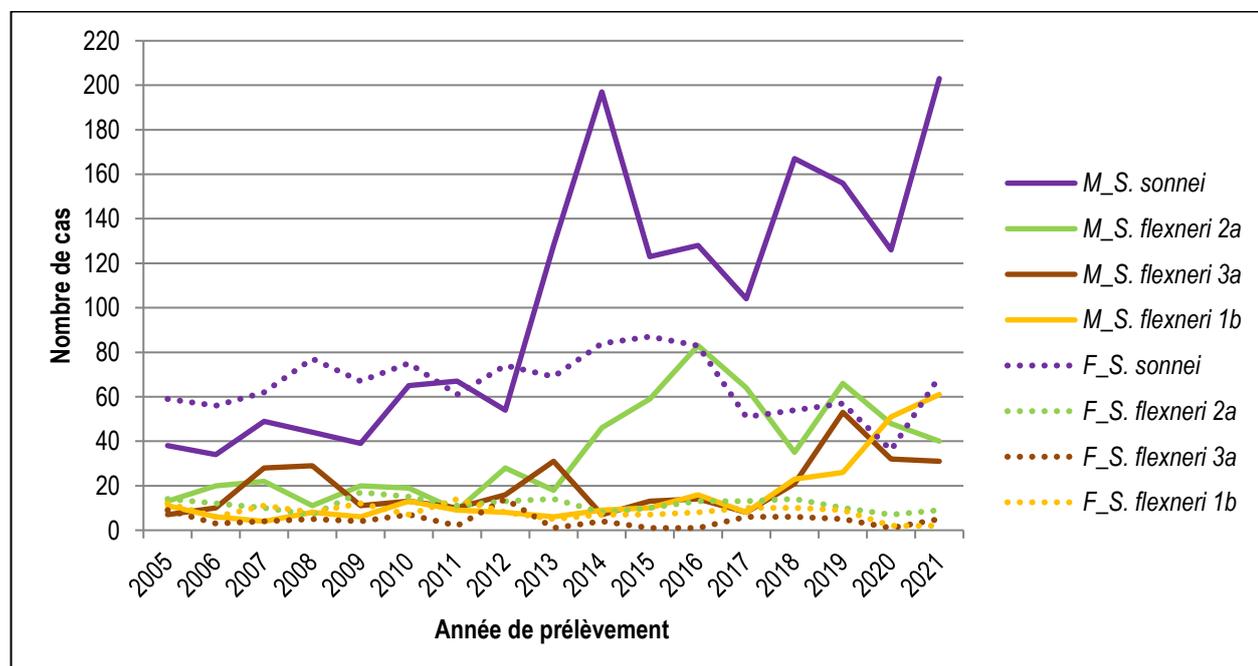
Depuis 2013, le nombre de cas masculins de shigellose est systématiquement supérieur à celui des femmes. Cette tendance se confirme en 2021 avec un **sex-ratio_{H/F} = 2,2**. Ce dernier a presque doublé au cours des 5 dernières années (sex-ratio_{H/F_2017} = 1,2) (**Figure 18**).

Figure 18. Évolution des cas de shigellose par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2021)



Parmi les cas de shigellose acquise localement (sans notion de voyage), un déséquilibre du sex-ratio a été observé au sein de la population âgée de 16 à 60 ans (**Figure 19**): pour les souches de *S. sonnei* à partir de 2013, puis également pour les *S. flexneri* 2a à partir de 2014. En 2019, ce déséquilibre était présent pour la première fois parmi les souches de *S. flexneri* 3a et de *S. flexneri* 1b. Dans ces situations le nombre de cas féminins reste constant tandis qu'il ne cesse d'augmenter chez les hommes.

Figure 19. Patients âgés de 16-60 ans diagnostiqués avec *S. sonnei*, *S. flexneri* 2a, *S. flexneri* 3a ou *S. flexneri* 1b sans notion de voyage hors de France, par sexe (souches, France métropolitaine, 2005-2021)



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 la fiche épidémiologique du CNR-ESS.

3.2.4.2.3 Répartition par âge

La **Figure 20** ainsi que le **Tableau 40** montrent le détail de la répartition des cas de shigellose par classe d'âge en France métropolitaine en 2021. Comme les années précédentes, deux **pics d'incidence** chez les **0–9 ans** et chez les **20–54 ans** ont été observés. L'incidence la plus basse était retrouvée de façon habituelle dans la population des 60 ans et plus.

Figure 20. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches, France métropolitaine, 2021)

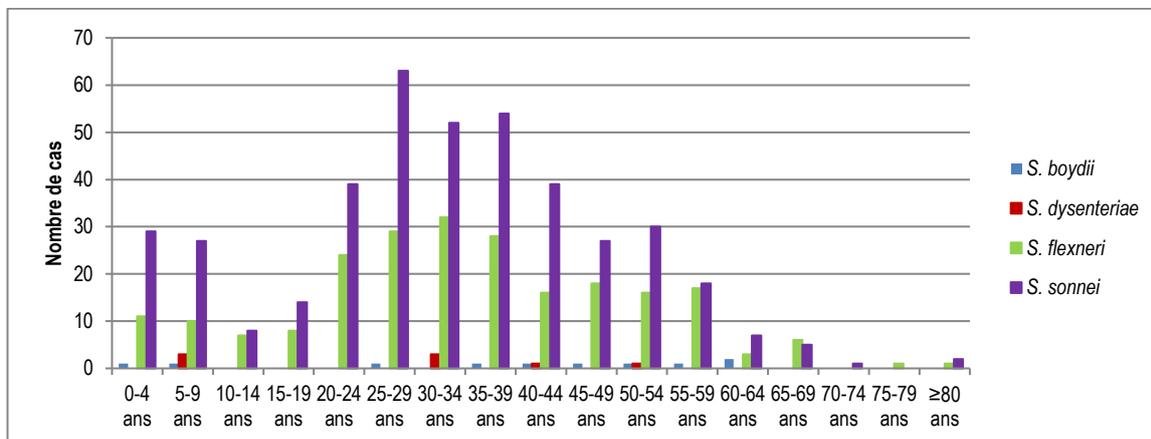


Tableau 40. Incidence des cas de shigellose par classe d'âge (souches, France métropolitaine, 2021)

	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	Total	Incidence (pour 100 000 hab.)
0-4 ans	1	0	11	29	41	1,19
5-9 ans	1	3	10	27	41	1,05
10-14 ans	0	0	7	8	15	0,37
15-19 ans	0	0	8	14	22	0,55
20-24 ans	0	0	24	39	63	1,67
25-29 ans	1	0	29	63	93	2,59
30-34 ans	0	3	32	52	87	2,21
35-39 ans	1	0	28	54	83	2,03
40-44 ans	1	1	16	39	57	1,41
45-49 ans	1	0	18	27	46	1,07
50-54 ans	1	1	16	30	48	1,12
55-59 ans	1	0	17	18	36	0,84
60-64 ans	2	0	3	7	12	0,30
65-69 ans	0	0	6	5	11	0,29
70-74 ans	0	0	0	1	1	0,03
75-79 ans	0	0	1	0	1	0,04
≥80 ans	0	0	1	2	3	0,07
Age inconnu	0	0	0	0	0	-
Total	10	8	227	415	660	1,01

Source : Insee - Estimations de population au 1^{er} janvier 2022, par dépt., sexe et classe d'âge quinquennal

3.2.4.2.4 Notion de voyage

Les **Tableaux 41 et 42** présentent les notions de voyage associées aux 660 cas d'infection à *Shigella* et 7 cas d'infection à EIEC en France métropolitaine en 2021. Comme en 2020, le nombre de souches de *Shigella* associées à un **voyage à l'étranger en 2021 était inhabituellement faible** (19% en 2021, 15 % en 2020, vs 31 % en 2019 et 36 % en 2018). Ces chiffres sont à interpréter au regard des restrictions de voyage pendant la pandémie de Covid-19. Parallèlement, le nombre de souches avec déclaration d'acquisition autochtone n'a pas évolué (18% en 2021, 22 % en 2020, 18 % en 2019 et 15 % en 2018). Enfin, le nombre élevé de dossiers non renseignés pour cette notion de voyage reste majoritaire (413/606, 63 % en 2021).

Tableau 41. Notion de voyage associée aux cas de shigellose (souches, France métropolitaine, 2021)

Sérogroupe/Sérotype	Nbre de cas	Notion de voyage*	Aucun voyage
<i>Shigella boydii</i>	10	2 (20 %)	2 (20 %)
1	2	-	1
2	1	-	-
4	1	-	-
8	1	-	-
11	1	-	-
14	1	-	-
19	1	1 Cameroun	-
20	1	1 Cameroun	-
22	1	-	1
<i>Shigella dysenteriae</i>	8	6 (75 %)	1 (13%)
2	2	2 Côte d'Ivoire	-
3	2	1 Côte d'Ivoire	-
6	1	1 Cameroun	-
14	1	1 Cameroun	-
16	1	-	1
17	1	1 Maroc	-
<i>Shigella flexneri</i>	227	29 (13%)	36 (16 %)
1a	2	2 Maroc	-
1b	78	1 Afrique ; 1 Côte d'Ivoire ; 4 Maroc ; 1 Togo	<u>16</u>
2a	63	1 Afrique du Sud ; 1 Brésil ; 1 Espagne ; 1 Kenya ; 2 Maroc	6
2b	1	-	-
3a	47	1 Australie, 1 Malawi	<u>9</u>
3b	6	-	-
4av	8	1 Bénin ; 1 Sénégal	2
6	9	1 Côte d'Ivoire ; 2 Maroc	2
X	1	-	-
Xv	2	1 Afrique ; 1 Cameroun	-
Y	3	1 Espagne ; 1 Grèce	-
Yv	1	1 Bangladesh	-
7a et 7b (ancien sérotype provisoire 1c)	6	1 Cameroun ; 1 Côte d'Ivoire	1
<i>Shigella sonnei</i>*	415	90 (22 %)	81 (20%)
	415	6 Afrique, 1 Algérie, 1 autre ; 1 Bénin ; 2 Cameroun ; 2 Côte d'Ivoire ; 1 Djibouti ; 10 Egypte ; 2 Espagne ; 1 Gambie ; 1 Inde ; 1 Indonésie ; 1 Irak ; 1 Kenya ; 2 Liban ; 1 Mali ; 32 Maroc ; 1 Mauritanie ; 2 Mayotte ; 1 Mexique ; 2 Mozambique ; 1 Nigeria ; 1 Pakistan ; 1 Rwanda ; 8 Sénégal ; 7 Tanzanie	<u>81</u>
Total <i>Shigella</i>	660	127 (19 %)	120 (18 %)

* Le sérotypage *in silico* a remplacé le sérotypage par agglutination au CNR en octobre 2021. Depuis octobre 2021 le biotype des *S. sonnei* n'est plus réalisé, mais remplacé par un typage plus discriminant (Hawkey *et al.* Nature Communications 2021).

Tableau 42. Notion de voyage associée aux cas d'infection à EIEC (souches, France métropolitaine, 2021)

Sérotype de EIEC	Nbre de cas	Notion de voyage*	Aucun voyage
O96:H19 (ST99_HC1100_96)	1	1 Tanzanie	-
O121:H30 (ST6_HC1100_604)	4	1 Sénégal	3
O124:H7 (ST270_HC1100_4305)	1	-	1
O132 :H21 (ST12764_HC1100_604)	1	1 Algérie	-
Total EIEC	7	3	4

Les sérotypes de EIEC renseignés dans ce tableau proviennent du sérotypage *in silico*.

3.2.4.3 Analyse de la distribution en France d'Outre-mer et analyse de tendances

3.2.4.3.1 Répartition par sérogroupes et par sérotypes

La répartition des différents sérogroupes et sérotypes des 109 *Shigella* enregistrés en Outre-mer en 2021 est présentée dans le **Tableau 43**.

Tableau 43. Distribution des différents sérogroupes et sérotypes de *Shigella* spp. et EIEC (souches, Outre-mer, 2021)

Sérotype	Guyane française (973)	La Réunion (974)	Mayotte (976)	Total
<i>Shigella flexneri</i>	46	-	32	78
1b	21	-	3	24
2a	8	-	8	16
2b	-	-	2	2
3a	16	-	13	<u>29</u>
3b	1	-	1	2
4av	-	-	3	3
Y	-	-	2	2
<i>Shigella sonnei</i>*	9	3	19	31
Total <i>Shigella</i>	55	3	51	109
EIEC	-	-	-	-
Total <i>Shigella</i>/EIEC	55	3	51	109

* Le sérotypage *in silico* a remplacé le sérotypage par agglutination au CNR en octobre 2021. Depuis octobre 2021 le biotype des *S. sonnei* n'est plus réalisé, mais remplacé par un typage plus discriminant (Hawkey *et al.* Nature Communications 2021).

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**.

En 2021, aucune *S. boydii*, ni *S. dysenteriae*, ni aucun EIEC n'ont été transmis.

3.2.4.3.2 Répartition par sexe

Contrairement à ce qui a été observé en France métropolitaine, les cas de shigellose en Outre-mer étaient prédominants chez les femmes en 2021 (sex-ratio_{H/F_GuyaneFrançaise} = 23/32 = 0,72 ; sex-ratio_{H/F_Mayotte} = 23/28 = 0,82). Parmi les cas d'infection à *S. flexneri* 2a, 1b, 3a et *S. sonnei*, nous n'avons pas observé de déséquilibre H>F chez les 16-60 ans comme en métropole.

3.2.4.3.3 Répartition par âge

La **Figure 21** ainsi que le **Tableau 44** présentent la répartition par classe d'âge des cas de shigellose notifiés en Outre-mer (Guyane française, Mayotte et La Réunion) en 2021. Comme chaque année une large majorité des cas correspondait à des enfants de **0-4 ans**, suivie par les jeunes adultes de **25-34 ans**.

Figure 21. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches, Outre-mer, 2021)

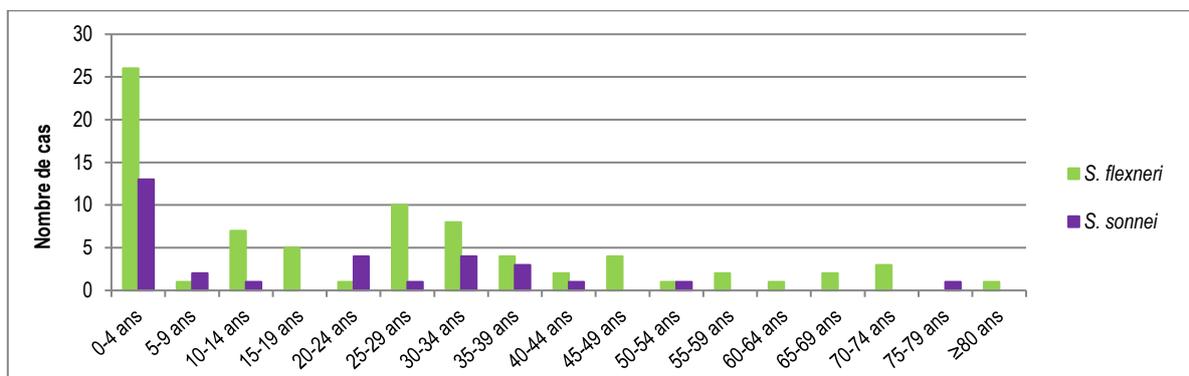


Tableau 44. Incidence des cas de shigellose (souches, Outre-mer, 2021)

	<i>Incidence (pour 100 000 hab.)</i>
0-4 ans	29,2
5-9 ans	2,2
10-14 ans	5,9
15-19 ans	4,1
20-24 ans	5,5
25-29 ans	12,9
30-34 ans	13,1
35-39 ans	7,5
40-44 ans	3,3
45-49 ans	4,6
50-54 ans	2,3
55-59 ans	2,5
60-64 ans	1,5
65-69 ans	3,8
70-74 ans	8,3
75-79 ans	4,2
≥80 ans	3,2
Total	7,5

Source : Insee - Estimations de population au 1^{er} janvier 2022, par dépt., sexe et classe d'âge quinquennal (Données pour Guyane, La Réunion et Mayotte)

3.2.4.3.4 Notion de voyage

Parmi les 109 *Shigella* spp. transmises par les laboratoires d'Outre-mer, aucun renseignement de voyage à l'étranger n'était indiqué.

3.2.4.4 Distribution des séquences types (ST)

Les sept EIEC isolés en France métropolitaine en 2021 appartenait aux ST suivants, selon le schéma MLST 7 gènes *E. coli/Shigella* d'EnteroBase :

Sérotype	MLST	HC1100 (cgMLST*)	Nbre de souches
O121:H30	ST6	604	4
O132:H21	ST12764	604	1
O124:H7	ST270	4305	1
O96:H19	ST99	96	1

Les principaux ST des 769 souches de *Shigella* spp. analysées au CNR-ESS en 2021 sont présentés dans la Figure 22 et le Tableau 45.

Figure 22. Principaux ST associés aux *Shigella* spp. (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2021)

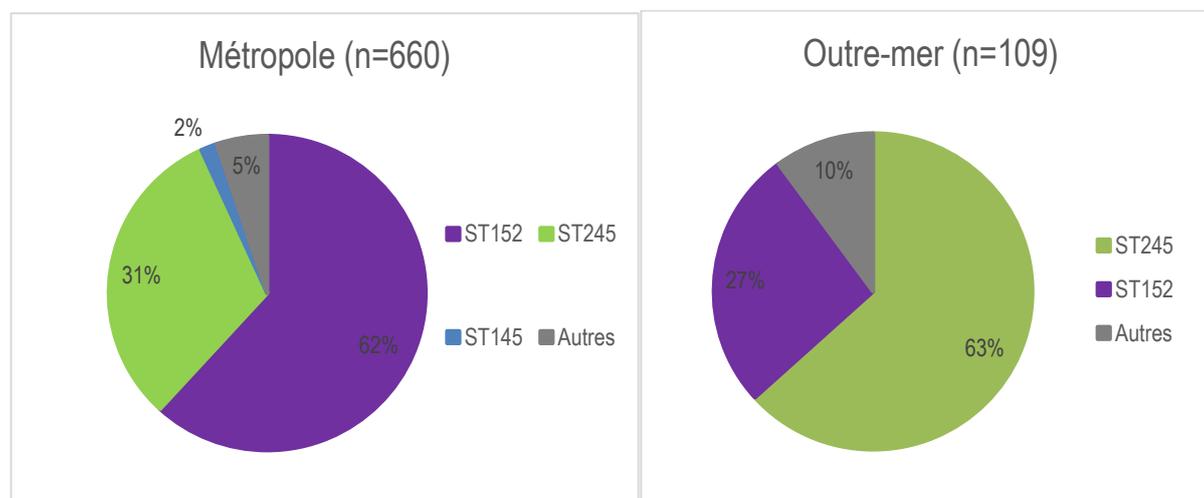


Tableau 45. Principaux ST et sérotypes associés des *Shigella* spp. (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2021)

	Métropole	Outre-mer
ST145	11	-
<i>Shigella boydii</i> 2	1	-
<i>Shigella boydii</i> 4	1	-
<i>Shigella flexneri</i> 6	9	-
ST152	411	29
<i>Shigella sonnei</i>	411	29
ST245	208	69
<i>Shigella flexneri</i> 1a	2	-
<i>Shigella flexneri</i> 1b	78	21
<i>Shigella flexneri</i> 1c	1	-
<i>Shigella flexneri</i> 2a	61	15
<i>Shigella flexneri</i> 2b	1	2
<i>Shigella flexneri</i> 3a	44	29
<i>Shigella flexneri</i> 3b	6	1
<i>Shigella flexneri</i> 4av	3	-
<i>Shigella flexneri</i> sérotype provisoire 1c (7a et 7b)	5	-
<i>Shigella flexneri</i> X	1	-
<i>Shigella flexneri</i> Xv	2	-
<i>Shigella flexneri</i> Y	3	1
<i>Shigella flexneri</i> Yv	1	-
ST630	4	4
<i>Shigella flexneri</i> 4av	4	3
<i>Shigella flexneri</i> Y	-	1
ST7384	-	4
<i>Shigella flexneri</i> 1b	-	3
<i>Shigella flexneri</i> 3b	-	1

Les valeurs de ce tableau correspondent au nombre de souches.
Seuls les ST observés chez plus de trois souches sont indiqués dans ce tableau.

3.2.5 Surveillance de la résistance des *Shigella* aux antibiotiques

3.2.5.1 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 2021 (n = 769).

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 46**.

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 46. 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 3 % (20/660) des souches étaient sensibles à tous les antibiotiques testés (phénotype sauvage). Le **Tableau 47** donne le pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches de France métropolitaine en 2021.

Tableau 47. Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de *Shigella* (souches, France métropolitaine, 2021)

	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	Moyenne
Souches testées	10	8	227	415	Total=660
Sensibles	0%	25%	6%	1%	3%
AMP	40%	75%	89%	51%	64%
CAZ/CTX/CRO	0%	0%	6%	32%	22%
STR	80%	75%	88%	88%	88%
AKN	0%	0%	0%	0%	0%
GEN	0%	0%	3%	0%	0%
TMP	90%	75%	68%	98%	88%
SMX	100%	75%	35%	86%	68%
CHL	20%	25%	76%	1%	27%
TET	80%	63%	89%	80%	83%
CIP	0%	0%	15%	46%	34%
AZM	0%	0%	37%	42%	39%

En gras, les valeurs ≥ 50 %.

En Outre-mer, 22 % (24/109) des souches étaient sensibles à tous les antibiotiques testés (phénotype sauvage). Il s'agissait majoritairement de *S. sonnei*. Le **Tableau 48** présente le pourcentage de résistance aux antibiotiques des souches d'Outre-mer en 2021.

Tableau 48. Pourcentage de résistance aux antibiotiques des différents sérogroupes de *Shigella* (souches, Outre-mer, 2021)

	<i>S. boydii</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>	Moyenne
Souches testées	0	0	78	31	Total=109
Sensibles	NA	NA	6%	61%	22%
AMP	NA	NA	65%	29%	55%
CAZ/CTX/CRO*	NA	NA	0%	0%	0%
STR	NA	NA	94%	32%	76%
AKN	NA	NA	0%	0%	0%
GEN	NA	NA	0%	0%	0%
TMP	NA	NA	28%	35%	30%
SMX	NA	NA	17%	32%	21%
CHL	NA	NA	65%	26%	54%
TET	NA	NA	91%	23%	72%
CIP**	NA	NA	0%	0%	0%
AZM**	NA	NA	1%	0%	0%

NA : Non applicable ; En gras, les valeurs ≥ 50 %.

*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 = 769 en 2021). Cette nouvelle technique nous a permis d'identifier la présence des gènes de résistance aux antibiotiques suivants (**Tableau 49**) :

Tableau 49. Caractérisation des principaux gènes de résistance aux antibiotiques détectés par WGS (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2021)*

Résistance à	<i>Shigella</i> spp (n = 769)
β-LAC*	<i>bla</i> _{OXA-1} <i>bla</i> _{TEM-1A} <i>bla</i> _{TEM-1B} <i>bla</i> _{TEM-1C} <i>bla</i> _{TEM-1D} <i>bla</i> _{TEM-35}
AMI	<i>strA</i> = <i>aph(3'')-Ib</i> <i>strB</i> = <i>aph(6)-Id</i> <i>aadA1</i> <i>aadA2</i> <i>aadA5</i> <i>aac(3)-IIa</i> <i>aac(3)-IIId</i>
COL	-
PHEN	<i>catA1</i>
SUL	<i>sul1</i> <i>sul2</i> <i>sul3</i>
TET	<i>tet(A)</i> <i>tet(B)</i>
TMP	<i>dfrA1</i> <i>dfrA5</i> <i>dfrA7</i> <i>dfrA8</i> <i>dfrA14</i> <i>dfrA17</i>

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

*Attention, les gènes de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération, à l'azithromycine et aux fluoroquinolones sont décrits ci-après dans le paragraphe **3.2.5.2 Résistances émergentes chez *Shigella* spp.**

3.2.5.2 Résistances émergentes chez *Shigella* spp.

3.2.5.2.1 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 2021, 39 % (258/660) des souches en provenance de **France métropolitaine** présentaient une résistance à l'azithromycine (**Figure 23**). Les différents sérotypes sont décrits dans le **Tableau 50**.

Figure 23. Prévalence des *Shigella* AZM-R (souches, France métropolitaine, 2014-2021)

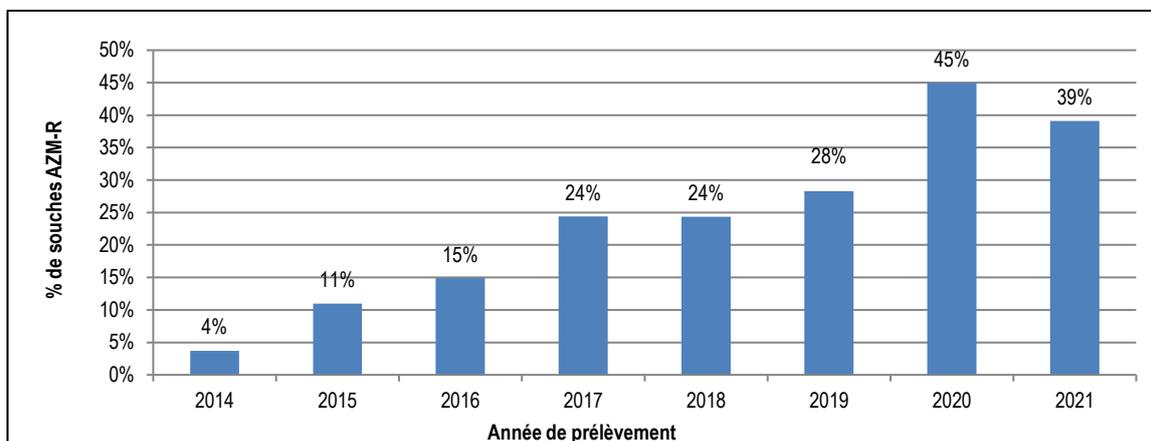


Tableau 50. Sérotypes des *Shigella* AZM-R (souches, France métropolitaine, 2021)

Sérotypes	n
<i>Shigella sonnei</i>	173
<i>Shigella flexneri</i>	85
1b	18
1c	1
2a	26
3a	34
3b	5
Y	1
Total	258

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* isolée d'un patient de **Guadeloupe**, qui correspondait au clone métropolitain multi-résistant HC5_2712 (voir paragraphe **3.2.6 Contribution à l'alerte**).

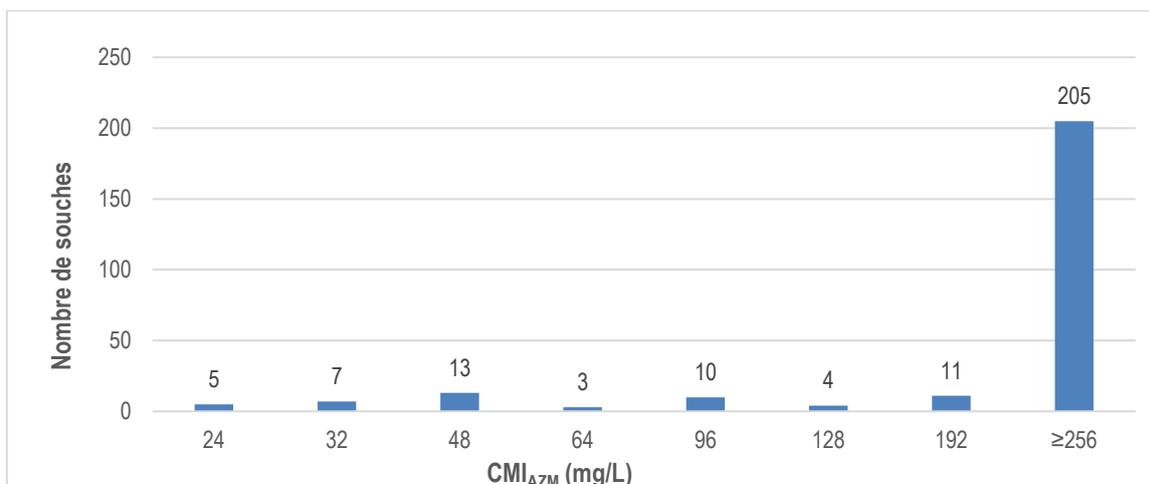
En **2019**, une souche AZM-R de *S. flexneri* 1b et une souche AZM-R de *S. flexneri* 2a en provenance de **Guyane française** ont été identifiées.

En **2020**, une souche AZM-R de *S. sonnei* isolée d'un habitant de **La Réunion** a été détectée. Il déclarait ne pas avoir voyagé. La souche présentait le profil hautement résistant C3G CIP SXT AZM.

En **2021**, une souche AZM-R de *S. flexneri* 3a isolée d'un habitant de **Guyane française** a été identifiée.

Les CMI de l'azithromycine pour les souches de métropole présentait une nette **prédominance de hauts niveaux de résistance** (≥ 256 mg/L) (Figure 24).

Figure 24. CMI des *Shigella* AZM-R (souches, France métropolitaine, 2021)

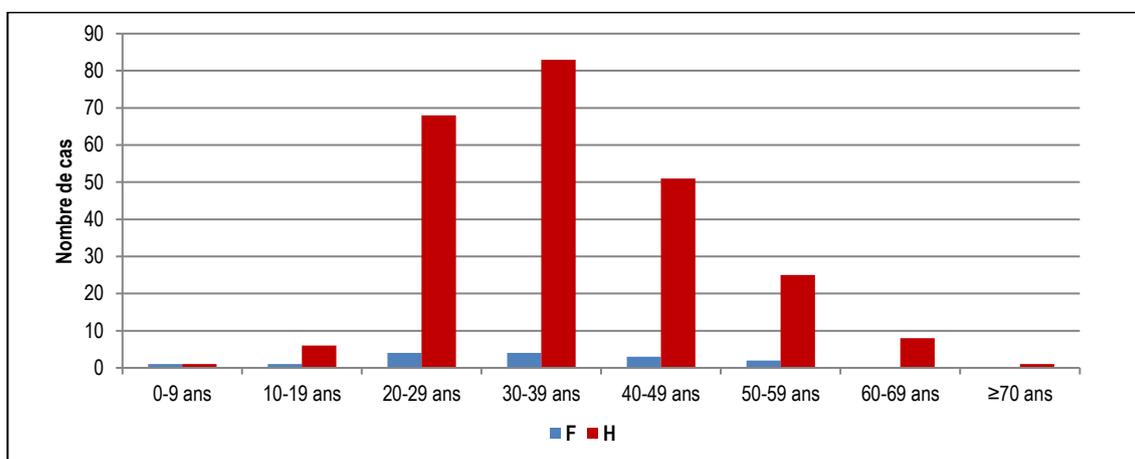


La souche d'Outre-mer présentait une CMI = 48 mg/L et un profil *mph(A)*+, *ermB*-.

Le gène *mph(A)* a été détecté chez 96 % (247/258) 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 11 souches AZM-R ne possédant pas le gène *mph(A)*, le gène *erm(B)* était systématiquement présent, seul, avec une CMI de 24 à >256 mg/L.

Comme chaque année, les souches de *Shigella* AZM-R de 2021 étaient majoritairement isolées chez des **hommes de 20-59 ans** (227/258, 88 %) (Figure 25).

Figure 25. Patients (âge et sexe) infectés par *Shigella* AZM-R (souches, France métropolitaine, 2021)



Parmi les 76 cas pour lesquels l'item sur la notion de voyage était renseigné, **87 %** (66/76) précisait une **absence de voyage** hors de France métropolitaine, 3 % (2/76) un voyage en Europe (Espagne) et les 10 % restants (8/76) un voyage en Australie, au Cameroun, en Egypte, en Irak, au Liban ou au Pakistan.

3.2.5.2.2 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 26**). En 2021, 34 % (222/660) des souches en provenance de **France métropolitaine** présentaient une résistance à la ciprofloxacine. Les différents sérotypes sont décrits dans le **Tableau 51**.

Figure 26. Prévalence des *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2005-2021)

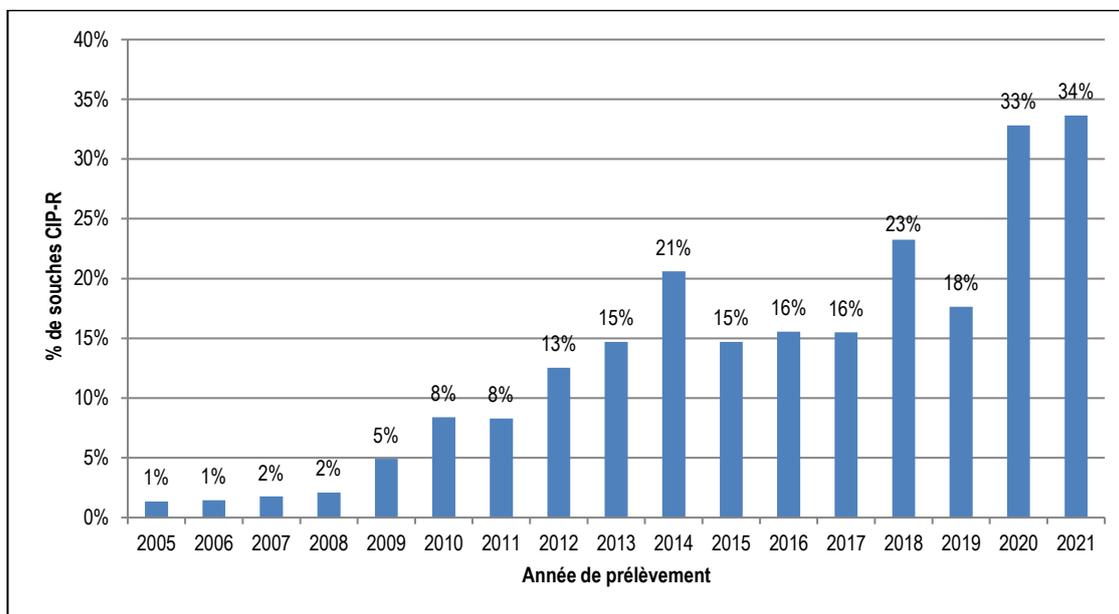


Tableau 51. Sérotypes des *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2021)

Sérotypes	n
<i>Shigella sonnei</i>	189
<i>Shigella flexneri</i>	33
2a	32
Y	1
Total	222

La première souche de *Shigella* CIP-R **en provenance d’Outre-mer** a été détectée en **2018**. Il s’agissait d’une souche de *S. sonnei* isolée d’un patient de **Guadeloupe**, qui correspondait au clone métropolitain multi-résistant HC5_2712 (voir paragraphe **3.2.6 Contribution à l’alerte**).

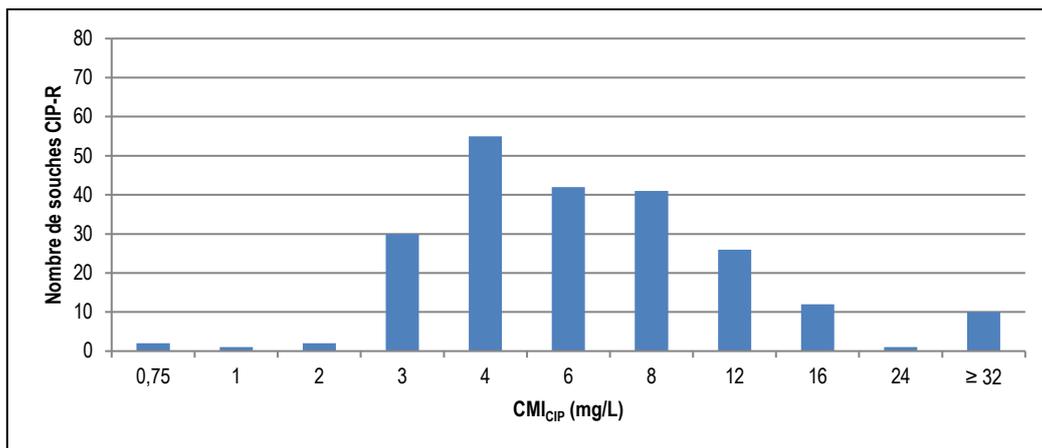
En 2019, une souche CIP-R de *S. flexneri* 2b en provenance de **La Réunion** a été identifiée.

En 2020, une souche CIP-R de *S. sonnei* isolée d’un habitant de **La Réunion** a été détectée. Il déclarait ne pas avoir voyagé. La souche présentait le profil hautement résistant C3G CIP SXT AZM.

En 2021, le CNR-ESS n’a **pas détecté** de souche de *Shigella* CIP-R **en provenance d’Outre-mer**.

Les CMI de la ciprofloxacine pour les *Shigella* CIP-R sont présentées dans la Figure 27.

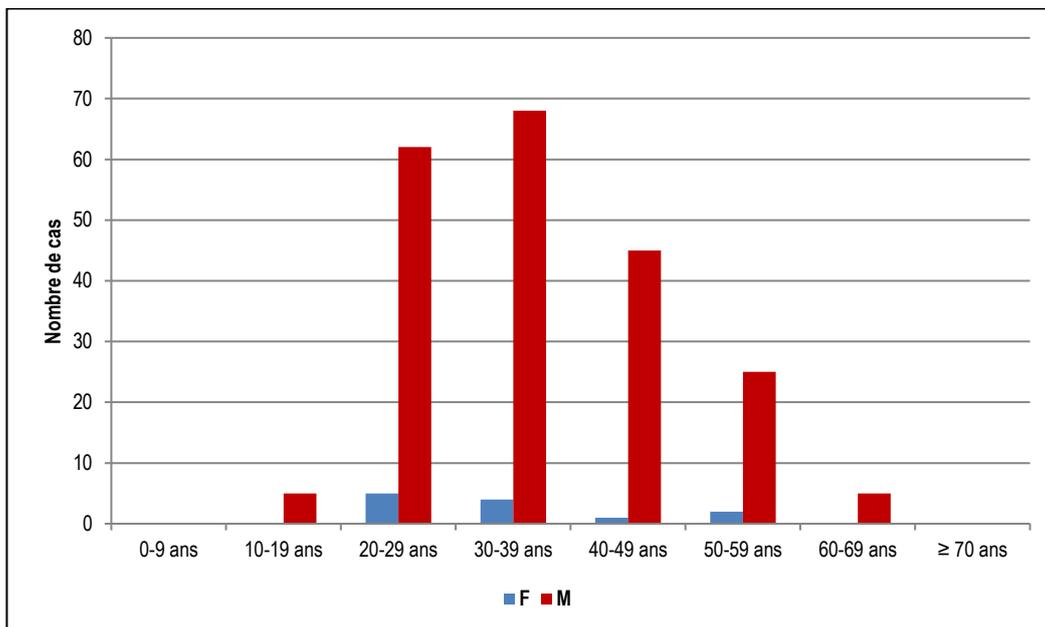
Figure 27. CMI des *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2021)



La notion de voyage était renseignée chez 29 % (65/222) des cas de shigellose CIP-R. Parmi ces derniers, la majorité (58/65, 89 %) signalait l'**absence de séjour en dehors de métropole**.

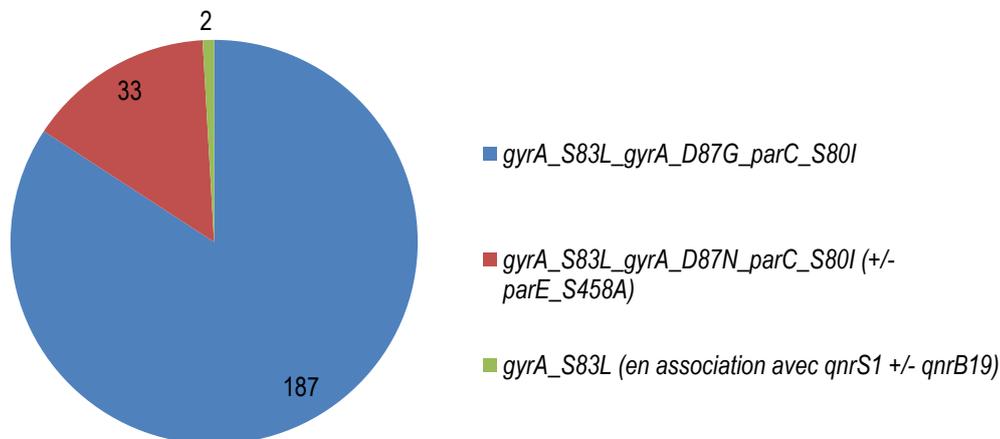
Alors que les souches CIP-R étaient originellement strictement associées à un voyage à l'étranger, ces dernières semblent désormais circuler localement sur le territoire métropolitain, et tout particulièrement parmi les **hommes de 20–59 ans** (200/222, 90 %), comme pour les souches AZM-R (Figure 28).

Figure 28. Patients (âge et sexe) infectés par *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2021)



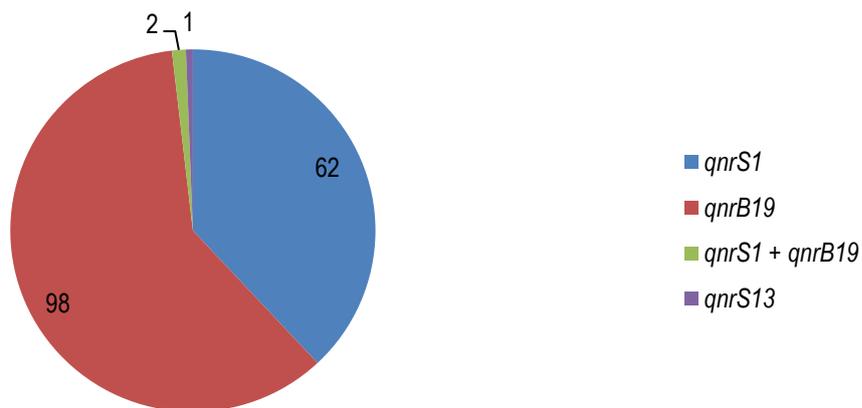
Grâce au WGS, nous avons étudié les **mutations** de la région chromosomique impliquée dans la résistance aux quinolones (**QRDR**). Ces dernières étaient présentes dans la totalité des 222 souches de *Shigella* CIP-R de **métropole** (**Figure 29**).

Figure 29. Mutations chromosomiques (QRDR) des *Shigella* CIP-R (souches, France métropolitaine, 2021)



Nous avons également détecté des gènes de résistance aux quinolones médiés par des plasmides (**PMQR**) chez un total de 163 souches de *Shigella* CIP-S ou CIP-R de **métropole** (**Figure 30**).

Figure 30. Déterminants PMQR des *Shigella* CIP-S et CIP-R (souches, France métropolitaine, 2021)

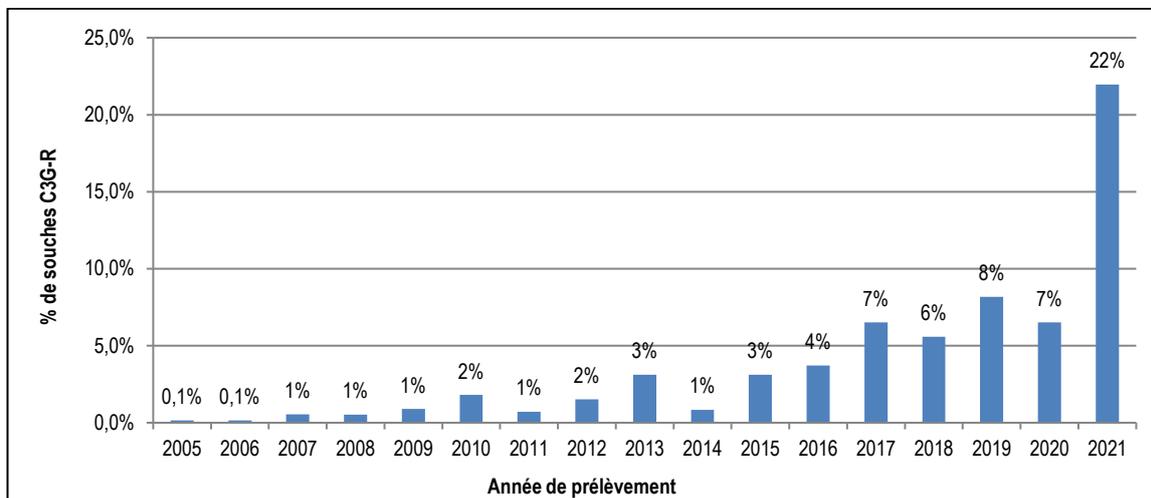


En 2021, aucun gène PMQR n'a été détecté parmi les *Shigella* en provenance d'**Outre-mer**.

3.2.5.2.3 Résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération

En 2021, **22 %** (145/660) des souches de *Shigella* en provenance de métropole présentaient une **résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G-R ; CMI > 1 mg/L)**, ce qui représente un bond considérable par rapport aux années antérieures. L'évolution du pourcentage des souches C3G-R en métropole depuis 2005 est présentée dans la **Figure 31**.

Figure 31. Prévalence des *Shigella* C3G-R (souches, France métropolitaine, 2005-2021)



Parmi les 145 souches de *Shigella* C3G-R de **métropole**, 91 % (132/145) étaient des **S. sonnei**. Les différents sérotypes sont décrits dans le **Tableau 52**.

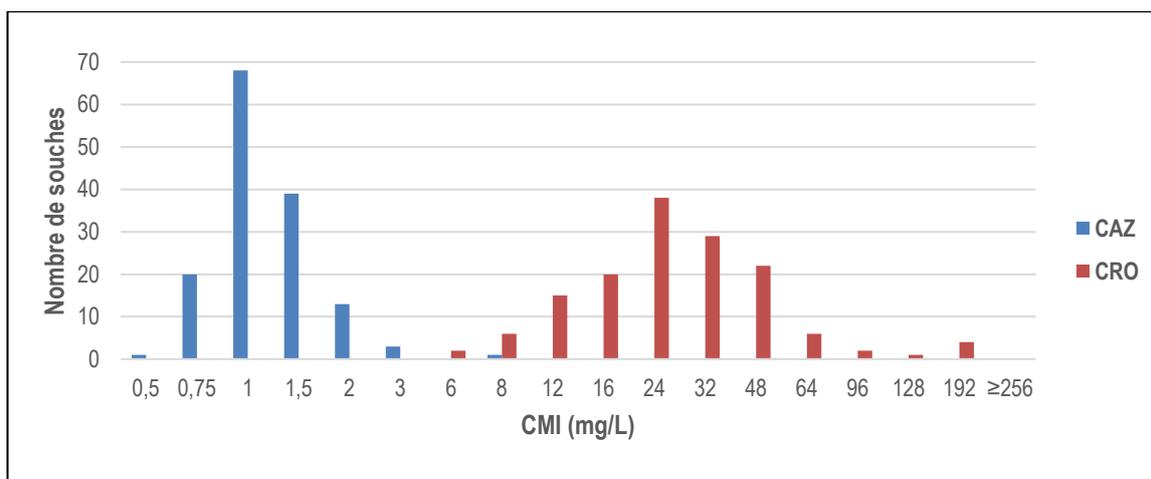
Tableau 52. Sérotypes des *Shigella* C3G-R (souches, France métropolitaine, 2021)

Sérotypes	n
<i>Shigella sonnei</i>	132
<i>Shigella flexneri</i>	13
1b	6
2a	6
3a	1
Total	145

En Outre-mer, aucune souche C3G-R n'a été enregistrée en **2021**. 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 et en 2020, une souche de *S. flexneri* 1b et une *S. flexneri* 4av en provenance de Mayotte avaient été détectées, ainsi que deux souches de *S. sonnei* en provenance de La Réunion, toutes productrices de CTX-M-15.

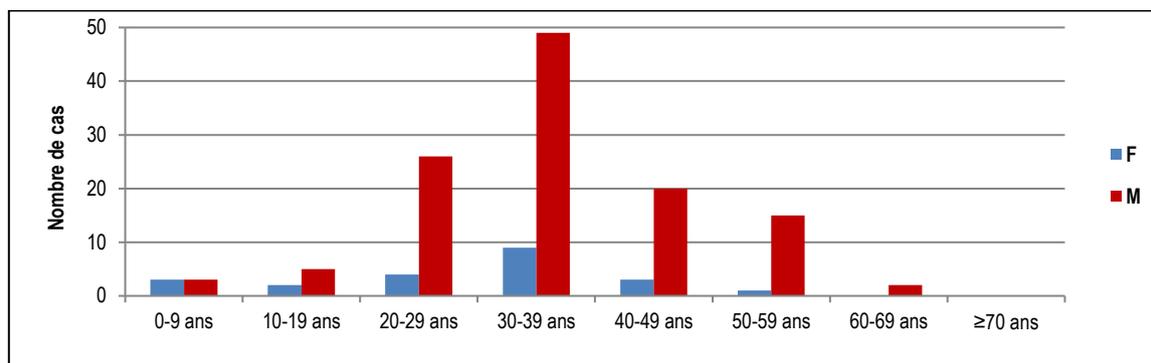
Les CMI de la ceftazidime (CAZ) et de la ceftriaxone (CRO) pour les souches C3GR de métropole sont présentées dans la Figure 32.

Figure 32. CMI des *Shigella* C3G-R (souches, France métropolitaine, 2021)



Comme les années précédentes, la répartition des âges (Figure 33) parmi les cas métropolitains infectés par des souches C3G-R montrait une majorité de cas âgés de 20 à 59 ans (130/145, 90 %). Depuis 2020, nous avons observé de manière additionnelle un net déséquilibre du sexe-ratio dans cette catégorie d'âge (110 hommes *versus* 20 femmes, en 2021).

Figure 33. Patients (âge et sexe) infectés par *Shigella* C3G-R (souches, France métropolitaine, 2021)

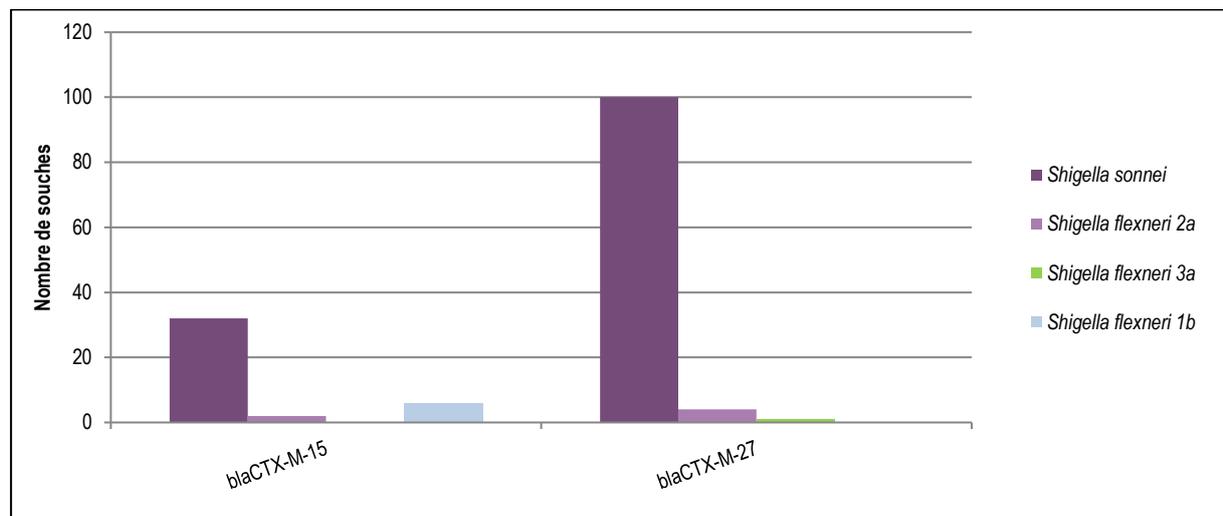


La notion de voyage était renseignée chez 46 % (67/145) des cas de shigellose C3G-R de métropole. Pour la première fois en 2021, une large majorité des cas (47/67, 70%) mentionnaient l'absence de voyage en dehors de France métropolitaine. Ce pourcentage correspond à l'émergence d'un clone de profil de résistance C3G STR CIP TET SXT AZM décrit dans le paragraphe 3.2.6 Contribution à l'alerte.

La notion de voyage en Egypte s'est maintenue en 2021, comme les années précédentes, en première position des destinations des cas ayant déclaré un voyage hors de France métropolitaine (10/67, 15%). Les onze cas restants rapportaient un voyage en Afrique (sans précision), au Cameroun, en Espagne, en Irak, au Liban, au Mozambique, au Pakistan. Un cas ne précisait pas la destination.

Grâce au WGS, les **gènes de résistance** aux céphalosporines de 3^{ème} génération ont été systématiquement recherchés. En 2021 les gènes de BLSE appartenait tous à la famille des *bla*_{CTX-M} (voir **Figure 34**).

Figure 34. Gènes responsables de la résistance aux C3G chez *Shigella* (souches, France métropolitaine, 2021)



En 2021 pour la première fois, le gène *bla*_{CTX-M-27} était le plus fréquemment retrouvé chez les *Shigella* C3G-R. Ce résultat correspond à l'émergence du clone de *Shigella sonnei* de profil de résistance **C3G STR CIP TET SXT AZM** décrit dans le paragraphe **3.2.6 Contribution à l'alerte**.

3.2.6 Contribution à l'alerte

En 2021, 10 épidémies nationales ont été détectées par le CNR-ESS et ont été notifiées à Santé publique France :

- Un nouveau clone de **S. sonnei** (HC5_98748, **Génotype 3.6.1.1.2_CipR.MSM5**) a émergé en métropole en 2021. Il s'agit d'un clone **hautement résistant aux antibiotiques** (profil de résistance **C3G STR CIP TET SXT AZM**). Quatre-vingt-dix-neuf souches de ce profil ont été recensées au CNR-ESS tout au long de l'année 2021 (vs 4 souches en 2020). 97% des cas (96/99) étaient des **hommes, de 19 à 68 ans**, résidant systématiquement en métropole. Parmi les 42 cas ayant renseigné la notion de voyage, 93 % (39/42) indiquaient l'**absence de voyage à l'étranger**. Deux cas déclaraient un retour d'Espagne et un cas un retour du Cameroun.
- Quatre clones, déjà détectés les années précédentes, poursuivent leur circulation au sein de la **communauté HSH métropolitaine**:
 - **S. sonnei**, HC5_2712, **Génotype 3.6.1.1.2_CipR.MSM5**. Ce clone émerge en France métropolitaine depuis juillet 2018 (voir rapport 2018, alerte UI-486 du Royaume-Uni, 18/06/2018), et présente majoritairement le profil de multi-résistance **AMP STR CIP TET SXT AZM**. En 2021, **une souche** avait acquis un gène *bla_{CTX-M-15}* lui conférant une **résistance supplémentaire** aux céphalosporines de 3^{ème} génération. Soixante-dix-huit nouveaux cas ont été détectés en 2021 en métropole, dont 95% d'hommes (75/79) âgés de 21 à 66 ans. L'item sur la notion de voyage a été renseigné chez 8 d'entre eux : 88 % (7/8) indiquaient l'absence de voyage à l'étranger, un patient mentionnait un voyage au Liban. Aucune souche de ce clone ne nous a été transmise d'Outre-mer en 2021.
 - **S. flexneri 1b**, HC5_81361, de profil de résistance **AMP STR TET CHL SXT +/- AZM**. Quarante-et-un cas ont été détectés en 2021 (comme en 2020). 95 % étaient des hommes, âgés de 21 à 59 ans. L'item sur la notion de voyage a été renseigné pour 10 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 2021.
 - **S. flexneri 3a**, HC5_47221 de profil de résistance **AMP STR TET CHL AZM**. Vingt-six cas ont été détectés en 2021 (comme en 2020). Quatre-vingt-douze pourcent (24/26) de ces cas étaient des hommes, âgés de 20 à 83 ans. Parmi ces derniers l'item sur la notion de voyage a été renseigné chez quatre cas, qui indiquaient tous l'absence de voyage à l'étranger. Aucune souche de ce clone ne nous a été transmise d'Outre-mer en 2021.
 - **S. flexneri 2a**, HC5_127362. Son profil de résistance aux antibiotiques était **AMP STR CIP TET CHL TMP**. Huit nouveaux cas ont été détectés tout au long de l'année 2021 (*versus* un cas en 2019 et neuf cas en 2020). Tous étaient des hommes âgés de 24 à 51 ans. Parmi ces derniers l'item sur la notion de voyage a été renseigné chez un seul cas qui indiquait l'absence de voyage à l'étranger. Aucune souche de ce clone ne nous a été transmise d'Outre-mer en 2021.
- **Entre aout et novembre 2021**, deux autres cas groupés ont été recensés en métropole :
 - **S. flexneri 3a**, HC5_122888 : neuf cas, **exclusivement des hommes**, âgés de 23 à 57 ans, résidant dans plusieurs départements.
 - **S. sonnei**, HC5_26701 (**Génotype 3.6.2**) : cinquante cas, 34 femmes et 16 hommes, aussi bien des enfants que des adultes (de 2 ans à 62 ans). L'item sur la notion de voyage a été renseigné pour 19 d'entre eux et indiquait un retour du **Maroc** pour 53% (10/19) et l'absence de voyage à l'étranger pour les 9 autres cas.
- Contrairement aux années précédentes, aucun cas groupé n'a été détecté dans des établissements confessionnels pour la petite enfance en 2021. Les mesures d'hygiène imposées par la pandémie Covid-19 semblent avoir eu un impact favorable dans ces établissements.
- **En Outre-mer**, nous avons détecté trois clones majoritaires :
 - **S. flexneri 1b**, HC5_125469, circulant en **Guyane française**. Son profil de résistance aux antibiotiques était **STR TET**. Vingt-deux cas ont été détectés tout au long de l'année 2021. Ils étaient

âgés de 2 ans à 72 ans.

- **S. flexneri 3a, HC5_127383**, circulant également en **Guyane française**. Son profil de résistance aux antibiotiques était **AMP STR TET CHL +/- SMX TMP AZM**. Treize cas ont été détectés tout au long de l'année 2021. Ils étaient âgés de 2 mois à 66 ans.
- **S. flexneri 3a, HC5_127383**, circulant à **Mayotte**. Son profil de résistance aux antibiotiques était **AMP STR TET CHL**. Treize cas ont été détectés tout au long de l'année 2021. Ils étaient âgés de 2 mois à 66 ans.

En 2021, nous avons répondu à **deux alertes européennes** :

- Alerte CORRUS/DGS (UK, décembre 2021) : Le Royaume-Uni notifiait un groupe de 15 cas confirmés d'infection à *S. sonnei*, HC5_182557. Ils indiquaient que 11/15 cas avaient déclaré avoir consommé des aliments provenant d'une même chaîne nationale de restaurants, et que l'ingrédient le plus fréquemment consommé était l'oignon de printemps (91%). Nous n'avons détecté aucune souche avec ce profil génomique.
- [2021-FWD-00104](#) (Denmark, 21/12/2021) : Le Danemark déclarait une épidémie de 68 cas infectés par des EIEC entre novembre et décembre 2021. Deux sérotypes de EIEC ont été décrits O136:H- et O96:H19. Nous n'avons déclaré aucune souche de EIEC du premier sérotype et un cas d'infection à EIEC O96:H19 qui déclarait un retour de voyage en Tanzanie.

Escherichia coli

3.3 BILAN DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES POUR *ESCHERICHIA COLI* 2017-2021

3.3.1 Les activités au titre de l'expertise microbiologique

En 2021, un total de 1 295 échantillons, dont 1 030 prélèvements de selles et 259 souches de *E. coli* ont été reçus au LA-RD, représentant une hausse de 18 % du nombre total d'échantillon reçus comparativement à l'année précédente.

La répartition des différents types de prélèvements, leur origine et leur nombre sont résumés dans le **Tableau 53**.

Tableau 53. Les différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au LA-RD en 2021

Inventaire des prélèvements	1295
Prélèvement humains	
Selles	1030
Extrait d'ADN /Selles	1
Biopsie intestinale	5
Souches humaines isolées de :	
Selles	114
Hémoculture	74
Urines	23
LCR	19
Biopsie organe	15
Pus profond	5
Prélèvement respiratoire	2
Liquide péritonéal	2
Prélèvement vaginal	1
Placenta	1
Souches alimentaires	3
Total général (2021)	1295

3.3.1.1 Activités d'expertise des *Escherichia coli* entéro-hémorragiques (EHEC) en 2021

Concernant l'activité d'expertise EHEC, le LA-RD a reçu, en 2021, 1208 échantillons dont 1 030 selles et 114 souches isolées de selles. Le détail des différents échantillons est répertorié dans le **Tableau 54**.

Tableau 54. Les différents types de prélèvements reçus en 2021 pour la recherche de EHEC

Nature du prélèvement	N
Selles	1030
Souche/Selles	114
Souche/Hémoculture	29
Souche/Urines	13
Biopsie digestive + Souche/Biopsie digestive	13
Souche/Pus profond	3
Souches alimentaires	3
Souche/Liquide péritonéal	1
ADN/Selles	1
LCR	1
Total EHEC (2021)	1 208

Ces prélèvements concernaient 1 088 patients suivis par **144 services hospitaliers** dont 3 hors métropoles ou des **structures de biologie privées (n = 63)**. 73,4 % des prélèvements proviennent d'un CH/CHU (799/1 088), 25,7 % d'un LABM (280/1 088) et 0,8 % d'un laboratoire autre (par exemple vétérinaire) pour expertise (9/1 088).

3.3.1.1.1 Analyse de la répartition des symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC en 2021

En 2021, 1 208 prélèvements de selles et/ou souches ont été reçus pour 1 088 patients. Les symptômes ayant motivé la recherche de *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC) sont répertoriés dans le **Tableau 55**.

Tableau 55. Symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC (souches ou selles) en 2021

Symptômes	N	%
SHU/Suspicion de SHU	396	32,8 %
DGS	276	22,8 %
Diarrhée	272	22,5 %
Aucun renseignement	97	8,0 %
Entourage asymptomatique de SHU	61	5,0 %
MAT/Suspicion de MAT	37	3,1 %
Don de selles	19	1,6 %
Diarrhée chronique	12	1,0 %
Diarrhée (GS) fébrile	10	0,8 %
Rectorragie	5	0,4 %
Asymptomatique	5	0,4 %
Colite/iléite	3	0,2 %
Troubles digestifs	3	0,2 %
Epidémiosurveillance	3	0,2 %
Choc septique	2	0,2 %
Diarrhée et IR	2	0,2 %
Fièvre	2	0,2 %
Péritonite	1	0,1 %
Pyonéphrose	1	0,1 %
Méningite	1	0,1 %
Total général (2021)	1208	

3.3.1.1.2 Résultats obtenus sur les prélèvements de selles en 2021

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 et présent 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 dans la grande majorité des cas. Le **sérogroupe moléculaire** a également été réalisé sur toutes les souches de EHEC isolées ou reçues.

Sur les 1 030 prélèvements de selles reçus, la recherche directe des gènes de Shiga-toxines par amplification génique *in vitro* (PCR) a été positive pour 448 patients, soit 43,5 % des patients pour lesquels des selles ont été reçues. Ce taux de positivité est stable par rapport à l'année précédente (40,3 % en 2020).

Pour les patients positifs (n = 448), dans 62,3 % des cas, les résultats de la PCR directe sur les selles après enrichissement ont été corrélés aux résultats obtenus après culture de celles-ci (n = 279 souches isolées, 275 patients). Pour 173 autres patients (38,7 %) la recherche directe des gènes de Shiga-toxines sur les selles était positive sans qu'aucune souche EHEC n'ait pu être isolée.

3.3.1.1.3 Souches de *E. coli* d'origine humaine productrices de Shiga-toxines isolées en 2021

En 2021, 279 souches de EHEC ont été isolées (ou reçues) et caractérisées par le LA-RD puis le génome total a été séquencé et analysé par le CNR-ESS. Les analyses mises en place permettent d'identifier le sérotype, le MLST-7 gènes, le cgMLST du schéma *E. coli/Shigella* d'Enterobase (<https://enterobase.warwick.ac.uk/>) et 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/>).

Ces souches ont été isolées chez 275 patients présentant les symptômes répertoriés dans **Tableau 56**.

Tableau 56. Symptômes des patients avec souches isolées en 2021

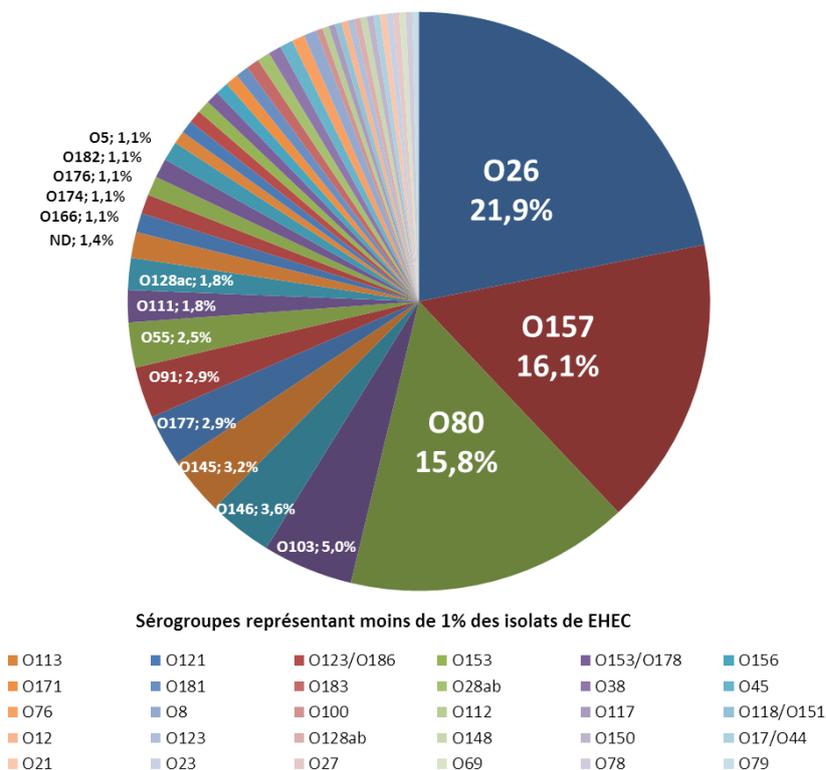
Symptômes	N	%
SHU ou MAT	115	41,8%
Diarrhée	75	27,3%
DGS	57	20,7%
Entourage asymptomatique de SHU	6	2,2%
Aucun renseignement	5	1,8%
Diarrhée (GS) fébrile	4	1,5%
Asymptomatique	3	1,1%
Diarrhée chronique	2	0,7%
Rectorragie	2	0,7%
Fièvre	2	0,7%
Colite/iléite	2	0,7%
Diarrhée et IR	1	0,4%
Sepsis/SHU + Méningite	1	0,4%
Total général (2021)	275	

Toutes pathologies confondues, les sérogroupe majoritairement isolés (> 10 %) en France en 2021 étaient (**Figure 35**) les suivants :

- O26 (n = 61) : 21,9 %
- O157 (n = 45) : 16,1 %
- O80 (n = 44) : 15,8 %

Après la baisse observée pour le sérotype O157 en 2020 (8 % des souches isolées, n = 19), il fait à nouveau jeu égal avec le sérotype O80 en 2021, toutes pathologies confondues.

Figure 35. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés toutes pathologies confondues en 2021 (n = 279)

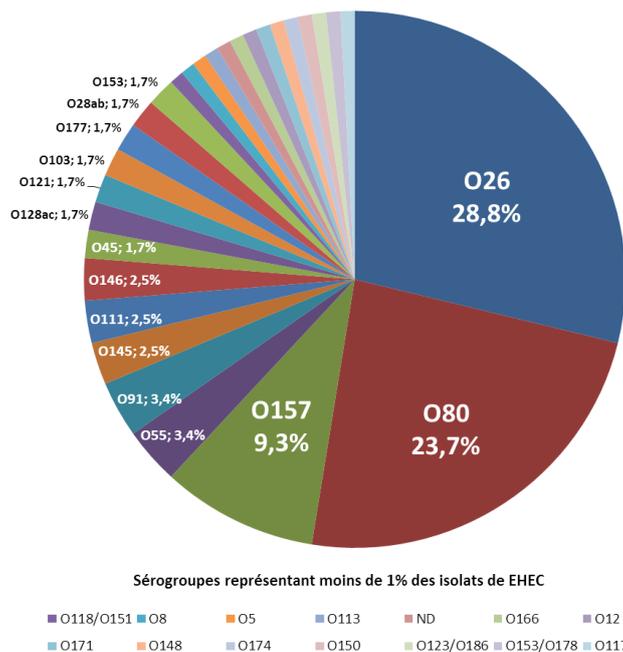


Pour les SHU/MAT typiques (175 *stx+*), 118 souches ont été isolées (deux souches de sérogroupes différents pour deux patients). Tous âges confondus, les deux sérogroupes majoritaires sont :

- **O26** : 34 souches isolées soit 28,8 %
- **O80** : 28 souches isolées soit 23,7 %

Parmi les cas de SHU/MAT, le sérotype O157 représente 9,3 % des souches isolées (n = 11), le plaçant ainsi, à nouveau, en 3^{ème} position pour cette catégorie clinique en France en 2021 (Figure 36).

Figure 36. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés au cours des SHU/MAT tous âges confondus en 2021 (n = 118)



En 2021, la prévalence des différents sérogroupes de EHEC est superposable à celle de 2019 et confirme la place prépondérante du séro groupe EHEC O26 en France, suivi des sérogroupes EHEC O80 et O157.

Les résultats du sérotypage moléculaire par WGS pour l'ensemble des souches isolées (n = 279) sont présentés dans le **Tableau 57**.

Tableau 57. Sérotypage moléculaire par WGS des souches isolées en 2021

	WGS H																		Total général
	H2	H4	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H14	H16	H18	H19	H21	H25	H26	H28	H30	H49	
O26							61												61
O157			45																45
O80	44																		44
O103	14																		14
O146													7			3			10
O145														1		8			9
O177							1							7					8
O91						3			3				2						8
O55					6			1											7
O111				5															5
O128ac	5																		5
ND			1									1	2						4
O166																3			3
O174	1												2						3
O176		3																	3
O182														3					3
O5	1				1								1						3
O113													2						2
O121													2						2
O123/O186						1				1									2
O153		2																	2
O153/O178												2							2
O156														2					2
O171														2					2
O181										1								1	2
O183											2								2
O28ab					2														2
O38															2				2
O45	2																		2
O76													2						2
O8		1								1									2
O100																		1	1
O112													1						1
O117			1																1
O118/O151										1									1
O12														1					1
O123	1																		1
O128ab	1																		1
O148				1															1
O150	1																		1
O17/O44											1								1
O21													1						1
O23				1															1
O27																		1	1
O69							1												1
O78		1																	1
O79										1									1
Total général	70	7	47	7	9	4	63	1	5	3	3	9	16	16	2	14	2	1	279

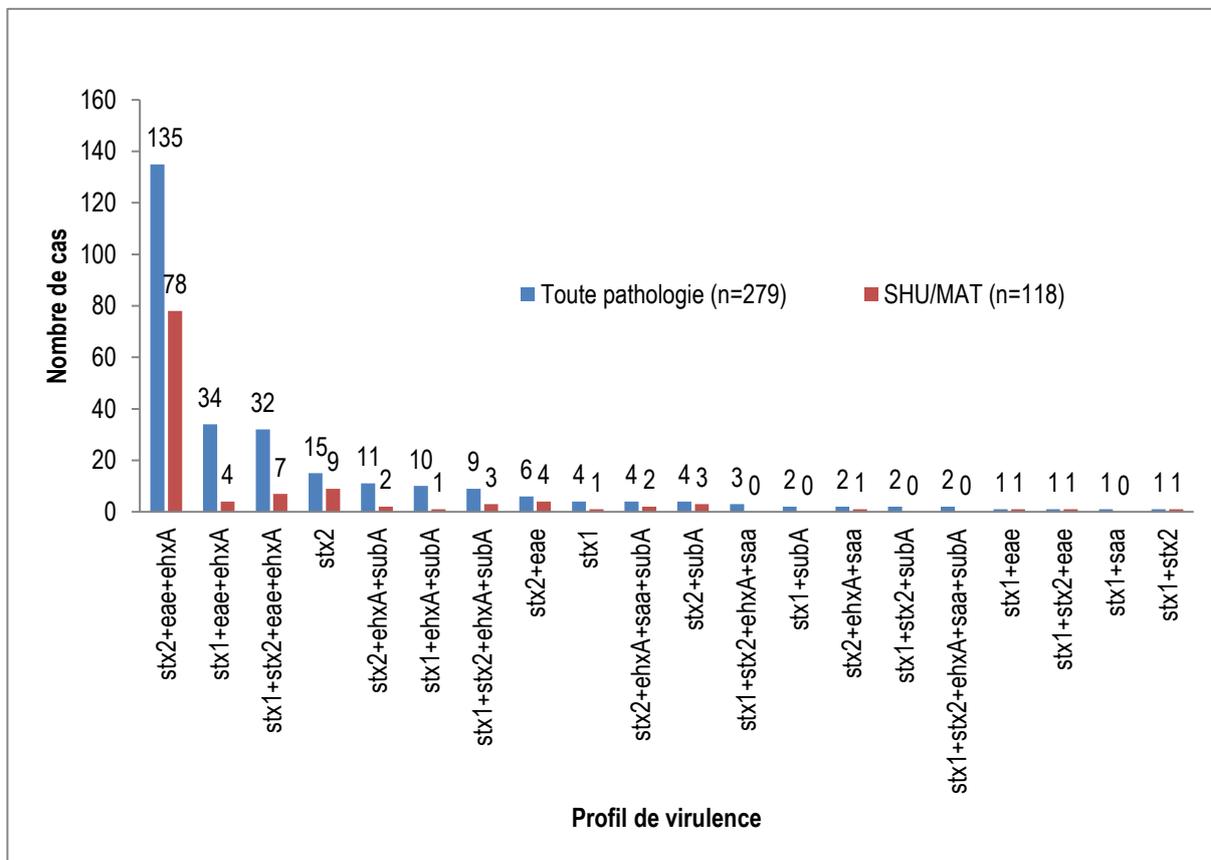
3.3.1.1.4 Analyse des profils de virulence

En 2021, le profil le plus souvent retrouvé est le profil ***stx2+eae+ehxA*** avec 48,4 % des souches, tous sérotypes confondus et toutes pathologies confondues. Il est retrouvé dans 66,1 % des souches isolées au cours des SHU/MAT. **Le gène *stx2* seul est plus largement associé à un SHU/MAT que le gène *stx1* seul** (83,9 % et 5,9 % des souches respectivement). Le profil *stx2+eae+ehxA* apparaît avec un potentiel infectieux de 0,57 (n = 78/135); 5 fois supérieur à celui du profil *stx1+eae+ehxA* qui est de 0,11 (n = 4/34).

Le gène *saa* et le gène de la subtilase *subA* sont retrouvés chez 8 et 44 souches respectivement. **Le gène *saa* n'est retrouvé que dans les souches dépourvues du gène *eae***. Le gène *aggR* n'a été retrouvé chez aucune souche.

La distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2021 est indiquée dans la **Figure 37**.

Figure 37. Distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2021



La répartition des profils de virulence des souches de EHEC (n = 279) en fonction du sérotype est représentée respectivement dans les tableaux 58 à 60.

Le **Tableau 58** : souches de EHEC appartenant aux **sérotypes les plus fréquemment** incriminés dans les infections à EHEC (≥ 3 souches isolées en 2021) et regroupant un total de 231 souches.

Le **Tableau 59** : souches de EHEC appartenant aux **sérotypes les moins fréquemment** rencontrés (< 3 souches isolées en 2021) et regroupant un total de 44 souches.

Le **Tableau 60** : souches de EHEC **non sérotypables** par méthode moléculaire WGS (quatre souches) ; une de ces souche a été responsable de SHU.

Le **profil majoritaire stx2+eae+ehxA** est retrouvé chez 100 % des souches de sérotype O80, 63,9 % des souches de sérotype O26, et chez la moitié des souches de sérotype O157 (48,8 % des souches).

Tableau 58. Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les plus fréquemment isolés en 2021

	Sérogroupes de EHEC															Total général	
	O26	O157	O80	O103	O146	O145	O177	O91	O55	O111	O128ac	O166	O174	O176	O182		O5
Profil de virulence	stx2+eae+ehxA	39	22	44			9	7		6	1						128
	stx1+eae+ehxA	13			11			1			2				3	2	32
	stx1+stx2+eae+ehxA	5	22		3						2						32
	stx2					1		3					1				5
	stx2+ehxA+subA					2		1			4	1					8
	stx1+ehxA+subA					2								3		1	6
	stx1+stx2+ehxA+subA					4		1				1					6
	stx2+eae	4	1									1					6
	stx1																0
	stx2+ehxA+saa+subA													1			1
	stx2+subA																0
	stx1+stx2+ehxA+saa													1			1
	stx1+subA											1					1
	stx2+ehxA+saa							2									2
	stx1+stx2+subA					1		1									2
	stx1+stx2+ehxA+saa+subA																0
	stx1+eae																0
	stx1+stx2+eae																0
	stx1+saa									1							1
	stx1+stx2																0
Total général	61	45	44	14	10	9	8	8	7	5	5	3	3	3	3	3	231

Tableau 59. Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les moins fréquemment isolés en 2021

		Sérogroupes de EHEC														Total général
		O113	O121	O123/O186	O153	O153/O178	O156	O171	O181	O183	O28ab	O38	O45	O76	O8	
Profil de virulence	stx2+eae+ehxA		2				1					2			5	
	stx1+eae+ehxA						1								1	
	stx1+stx2+eae+ehxA														0	
	stx2	1		1						2				2	6	
	stx2+ehxA+subA										1				1	
	stx1+ehxA+subA								1				2		3	
	stx1+stx2+ehxA+subA			1								1			2	
	stx2+eae														0	
	stx1							1							1	
	stx2+ehxA+saa+subA							1	1						2	
	stx2+subA				2	1									3	
	stx1+stx2+ehxA+saa					1				1					2	
	stx1+subA														0	
	stx2+ehxA+saa														0	
	stx1+stx2+subA														0	
	stx1+stx2+ehxA+saa+subA	1								1					2	
	stx1+eae														0	
	stx1+stx2+eae														0	
	stx1+saa														0	
	stx1+stx2														0	
Total général	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	28	

		Sérogroupes de EHEC															Total général
		O100	O112	O117	O118/O151	O12	O123	O128ab	O148	O150	O17/O44	O21	O23	O27	O69	O78	
Profil de virulence	stx2+eae+ehxA						1			1							2
	stx1+eae+ehxA													1			1
	stx1+stx2+eae+ehxA																0
	stx2	1	1						1								3
	stx2+ehxA+subA						1					1					2
	stx1+ehxA+subA														1		1
	stx1+stx2+ehxA+subA																0
	stx2+eae																0
	stx1			1												1	2
	stx2+ehxA+saa+subA																0
	stx2+subA												1				1
	stx1+stx2+ehxA+saa																0
	stx1+subA											1					1
	stx2+ehxA+saa																0
	stx1+stx2+subA																0
	stx1+stx2+ehxA+saa+subA																0
	stx1+eae				1												1
	stx1+stx2+eae								1								1
	stx1+saa																0
	stx1+stx2					1											1
Total général	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16

Tableau 60. Profil de virulence des EHEC non sérogroupables par méthode moléculaire WGS en 2021

WGS_O	WGS_H	WGS_MLST	WGS_stx1	WGS_stx2	WGS_eae	WGS_ehxA	WGS_saa	WGS_aggR	WGS_subA
ND	fliC_H21	ST40	stx1c	-	-	-	-	-	-
ND	fliC_H21	ST442	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
ND	fliC_H7	ST1727	-	stx2d	-	-	-	-	-
ND	fliC_H19	ST1125	-	stx2a	-	ehxA	saa	-	subA

Pour 173 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, sachant que dans la moitié des cas (n = 87), la PCR temps réel avait un CT très tardif (> 30). Parmi ces 173 patients, 58 ont présenté un SHU/MAT.

Pour 153 de ces 173 patients, une PCR conventionnelle des gènes de virulence a été réalisée, et a montré une prédominance du gène *stx2* (n = 89). Le gène *stx1* est retrouvé dans 26 cas et l'association *stx1+stx2* dans 38 cas. Le profil *stx2+eae+ehxA* est largement majoritaire (**Tableau 59**). Parmi ces patients, 32 présentaient un SHU/MAT et six une DGS.

Tableau 61. Profil de virulence directement par PCR sur les selles sans isolement de souches en 2021

		N	%
Profil de virulence	<i>stx2+eae+ehxA</i>	52	34,0 %
	<i>stx1+stx2+eae+ehxA</i>	17	11,1 %
	<i>stx2</i>	13	8,5 %
	<i>stx1+stx2+ehxA</i>	12	7,8 %
	<i>stx2+eae</i>	12	7,8 %
	<i>stx1+eae+ehxA</i>	9	5,9 %
	<i>stx2+ehxA</i>	8	5,2 %
	<i>stx1</i>	7	4,6 %
	<i>stx1+eae</i>	4	2,6 %
	<i>stx1+ehxA</i>	3	2,0 %
	<i>stx1+stx2</i>	3	2,0 %
	<i>stx1+stx2+eae+ehxA+saa</i>	3	2,0 %
	<i>stx1+saa</i>	2	1,3 %
	<i>stx1+stx2+ehxA+saa</i>	2	1,3 %
	<i>stx2+ehxA+saa</i>	2	1,3 %
	<i>stx2+saa</i>	2	1,3 %
	<i>stx1+eae+ehxA+saa</i>	1	0,7 %
	<i>stx1+stx2+eae</i>	1	0,7 %
	Total général (2021)	153	

Pour ces 153 patients, la PCR détectant les sérogroupes majeurs a également été réalisée et a permis d'obtenir des résultats pour 57 patients. En ce qui concerne les SHU, le sérotype O26 est retrouvé dans 38 % des cas (Tableau 62).

Tableau 62. Résultats du sérogroupage par PCR directe sur selles sans souche isolée en 2021

		SHU/MAT	DGS
Sérogroupes	O26	8	1
	O145	4	1
	O121	3	1
	O80	2	0
	O91	2	6
	O111	1	0
	O157	1	3
	O103	0	1
	O121	0	1
	Total	21	14

3.3.1.1.5 Analyse des sous-types des gènes *stx* par WGS

La détermination des sous-types des gènes *stx* a été réalisée sur les 279 souches isolées en 2021 et leur répartition globale est représentée sur le **Tableau 63**. Le détail des souches responsables de SHU/MAT est présente dans le **Tableau 64**. Le sous-type *stx2a* seul ou en association est retrouvé dans 37,3 % des souches toutes pathologies confondues et dans 50 % des souches responsables de SHU. **Les sous-types *stx2a* et *stx2d* cumulent à eux deux 59 % de toutes les souches mais surtout 80 % des souches responsables de SHU.**

Tableau 63. Répartition globale des sous-types de *stx* en 2021 (toutes pathologies confondues)

		Sous-type Stx	N	%
Profil de virulence		<i>stx2a</i>	80	28,7%
		<i>stx2d</i>	60	21,5%
		<i>stx1a</i>	36	12,9%
		<i>stx1a+stx2a</i>	22	7,9%
		<i>stx2c</i>	17	6,1%
		<i>stx1c</i>	16	5,7%
		<i>stx1a+stx2c</i>	14	5,0%
		<i>stx2b</i>	13	4,7%
		<i>stx1c+stx2b</i>	8	2,9%
		<i>stx1a+stx2b</i>	3	1,1%
		<i>stx1a+stx2d</i>	2	0,7%
		<i>stx2a+stx2c</i>	2	0,7%
		<i>stx2e</i>	1	0,4%
		<i>stx2b+stx2c</i>	1	0,4%
		<i>stx2i</i>	1	0,4%
		Δ <i>stx2d</i>	1	0,4%
		<i>stx1a+stx2g</i>	1	0,4%
	<i>stx2 ND</i>	1	0,4%	
		Total général	279	

Tableau 64. Répartition globale des sous-types de *stx* en 2021 (souches responsables de SHU/MAT)

		Sous-type Stx	N	%
Profil de virulence		<i>stx2a</i>	51	43,2%
		<i>stx2d</i>	34	28,8%
		<i>stx2c</i>	7	5,9%
		<i>stx1a+stx2a</i>	7	5,9%
		<i>stx1a</i>	6	5,1%
		<i>stx1c+stx2b</i>	3	2,5%
		<i>stx2b</i>	2	1,7%
		<i>stx2d</i>	2	1,7%
		<i>stx1c</i>	1	0,8%
		Δ <i>stx2d</i>	1	0,8%
		<i>stx1a+stx2d</i>	1	0,8%
		<i>stx1a+stx2g</i>	1	0,8%
		<i>stx2a + stx2c</i>	1	0,8%
		<i>stx2b + stx2c</i>	1	0,8%
		Total général	118	

Les répartitions des profils des sous-types en tenant compte des sérogroupes les plus fréquents et les plus rares sont présentées respectivement dans les tableaux 65 à 67.

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

- Séro groupe O26 : sous-type *stx2a* dans 78,7 % des souches
- Séro groupe O80 : sous-type *stx2d* dans 95,5 % des souches
- Séro groupe O157 : sous-type *stx2c* dans 53,3% des souches

Tableau 65. Répartition des profils des sous-types de *stx* en fonction des sérogroupes de EHEC les plus fréquents parmi les souches isolées en 2021 (toute pathologie)

	Sérogroupes de EHEC															Total général	
	O26	O157	O80	O103	O146	O145	O177	O91	O55	O111	O128ac	O166	O174	O176	O182		O5
stx2a	43	12	2			6	2	4	1								70
stx2d			41			3	1	3	2		1		1				52
stx1a	13			11			1		1	2					3	2	33
stx1a+stx2a	5	9		2						2							18
stx2c		9					6										15
stx1c					2							1		3		1	7
stx1a+stx2c		13															13
stx2b					3			1			4	1					9
stx1c+stx2b					4							1					5
stx1a+stx2b					1			2									3
stx1a+stx2d				1									1				2
stx2a+stx2c		2															2
stx2e																	0
stx2b+stx2c													1				1
stx2i																	0
Δstx2d			1														1
stx1a+stx2g																	0
stx2																	0
Total général	61	45	44	14	10	9	8	8	7	5	5	3	3	3	3	3	231

Tableau 66. Répartition des profils de sous-types de *stx* en fonction des sérogroupes de EHEC les plus rarement isolés en 2021 (toute pathologie)

	Sérogroupes de EHEC													Total général			
	O113	O121	O123/O186	O153	O153/O178	O156	O171	O181	O183	O28ab	O38	O45	O76		O8		
stx2a		2	1			1		1		2		2					9
stx2d	1			2			1										4
stx1a																	0
stx1a+stx2a					1				2								3
stx2c				1										1			2
stx1c						1	1	1					2				5
stx1a+stx2c	1																1
stx2b										1							1
stx1c+stx2b			1								1						2
stx1a+stx2b																	0
stx1a+stx2d																	0
stx2a+stx2c																	0
stx2e														1			1
stx2b+stx2c																	0
stx2i																	0
Δstx2d																	0
stx1a+stx2g																	0
stx2																	0
Total général	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	28

		Sérogroupe de EHEC															Total général	
		O100	O112	O117	O118/O151	O12	O123	O128ab	O148	O150	O17/O44	O21	O23	O27	O69	O78		O79
Profil de virulence	stx2a																	0
	stx2d		1				1		1									3
	stx1a			1	1										1			3
	stx1a+stx2a									1								1
	stx2c																	0
	stx1c											1				1	1	3
	stx1a+stx2c																	0
	stx2b							1					1	1				3
	stx1c+stx2b																	0
	stx1a+stx2b																	0
	stx1a+stx2d																	0
	stx2a+stx2c																	0
	stx2e																	0
	stx2b+stx2c																	0
	stx2i	1																1
	Δstx2d																	0
	stx1a+stx2g						1											1
	stx2											1						1
Total général	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16	

Tableau 67. Répartition des profils de variants stx pour les souches non sérogroupables par méthode WGS en 2021

		ND
Profil de virulence	stx2a	1
	stx2d	1
	stx1a	
	stx1a+stx2a	
	stx2c	
	stx1c	1
	stx1a+stx2c	
	stx2b	
	stx1c+stx2b	1
	stx1a+stx2b	
	stx1a+stx2d	
	stx2a+stx2c	
	stx2e	
	stx2b+stx2c	
	stx2i	
	Δstx2d	
	stx1a+stx2g	
	stx2	
Total général	4	

3.3.1.1.6 Analyse des sous-types du gène *eae* par WGS

Parmi les 279 souches, 209 souches possédaient le gène *eae* (74,9 %), dont les principaux sous-types sont les suivants:

- *eae*-β : 35,9 % des souches et majoritairement des EHEC O26 (100 %)
- *eae*-γ : 25,4 % des souches et exclusivement des EHEC O157 (100 %).
- *eae*-ξ : 24,9 % des souches et dans 100 % des EHEC O80, O55 et O45.

La présence de *eae*-ξ (sous-type rare de *eae*) au sein de trois sérogroupe différents souligne la **proximité des souches O80, O55 et O45**, ce qui a été attesté par un travail de recherche publié en 2021 par le LA-RD. **Un probable échange de l'opéron codant le LPS** s'est produit entre ces différentes souches.

La répartition des sous-types d'*eae* en fonction du sérotype est représentée dans le **Tableau 68**.

Tableau 68. Répartition des sous-types du gène *eae* en fonction du sérotype EHEC en 2021

		Sous-types d'intimine (<i>eae</i>)						Total général	
		<i>eae</i> β	<i>eae</i> γ	<i>eae</i> ξ	<i>eae</i> ε	<i>eae</i> θ2	<i>eae</i> ζ		<i>eae</i> ND
Sérotypes	O26	61							61
	O157		45						45
	O80			44					44
	O103				14				14
	O145	1	8						9
	O177	8							8
	O55			6					6
	O111					5			5
	O182						3		3
	O121				2				2
	O156					1	1		2
	O45			2					2
	O5	2							2
	O118/O151	1							1
	O123				1				1
	O128ac	1							1
	O150						1		1
	O17/O44							1	1
	O69	1							1
Total général	75	53	52	17	6	5	1	209	

3.3.1.1.7 Autres facteurs de virulence (*aggR*, *saa* et *subA*)

Les gènes codant pour les facteurs de virulence des *E. coli* enteroaggrégants (*aggR*), le gène *saa* et le gène codant la subtilase (*subA*) sont également recherchés par PCR et/ou WGS.

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

Sur les 12 souches porteuses du gène *saa*, aucune ne portait le gène *eae*. Six souches portaient également le gène *subA*, dont trois responsables de SHU (2 adultes et 1 enfant) (**Tableau 69**).

Le gène *subA* a été retrouvé chez 44 souches responsables, en particulier, de 11 cas de SHU, et de 10 cas de DGS. Les souches subtilase positives possèdent les gènes *stx1c* seul (n = 12), *stx2* seul (n = 19) ou l'association *stx1+stx2* (n = 13). La distribution des sous-types de *stx* est particulière puisque *stx1c* et *stx2b* prédominent largement** (retrouvés respectivement dans 80 % des souches *stx1+* et dans 72 % des souches *stx2+*). **Aucune souche ne possédait le gène *eae*. Le sérotype O146 est toujours le sérotype prédominant** (neuf souches) et a été responsable de trois cas de SHU/MAT (**Tableau 70**). A noter, de plus, que plus de **50 % des patients étaient des adultes** ce qui constitue une autre particularité des souches *subA+*.**

Tableau 69. Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène *saa* en 2021

Age	Symptômes	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>
30 A	DGS	O174	H2	<i>stx1a</i>	<i>stx2d</i>	-	<i>ehxA</i>	+	-	-
6 A	DGS	O91	H21	-	<i>stx2a</i>	-	<i>ehxA</i>	+	-	-
71 A	DIARRHEE	O55	H12	<i>stx1a</i>	-	-	-	+	-	-
76 A	DGS	O153/O178	H19	<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>	-	<i>ehxA</i>	+	-	-
54 A	SHU	O171	H25	-	<i>stx2d</i>	-	<i>ehxA</i>	+	-	+
13 A	DGS	O181	H49	-	<i>stx2a</i>	-	<i>ehxA</i>	+	-	+
2 M	FIEVRE	O183	H18	<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>	-	<i>ehxA</i>	+	-	+
1 M	SHU	ND	H19	-	<i>stx2a</i>	-	<i>ehxA</i>	+	-	+
52 A	DGS	O174	H21	-	<i>stx2d</i>	-	<i>ehxA</i>	+	-	+
56 A	DGS	O113	H21	<i>stx1a</i>	<i>stx2c</i>	-	<i>ehxA</i>	+	-	+
25 A	DGS	O183	H18	<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>	-	<i>ehxA</i>	+	-	-
92 A	SHU	O91	H21	-	<i>stx2a</i>	-	<i>ehxA</i>	+	-	-

Tableau 70. Détails cliniques, sérotype et profil de virulence des souches porteuses du gène *subA* en 2021

Age	Symptômes	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>
1 A	SHU	O146	H21	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	+
15 A	DGS	O23	H8	-	stx2b	-	ehxA	-	-	+
8 M	SHU	O146	H21	stx1c	-	-	ehxA	-	-	+
8 A	DIARRHEE	O128ac	H2	-	stx2b	-	ehxA	-	-	+
70 A	SHU	O153/O178	H19	-	stx2c	-	-	-	-	+
82 A	DIARRHEE	O146	H21	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	+
4 M	DIARRHEE	O21	H21	stx1c	-	-	-	-	-	+
71 A	DIARRHEE CHRONIQUE	O176	H4	stx1c	-	-	ehxA	-	-	+
77 A	DIARRHEE	O78	H4	stx1c	-	-	ehxA	-	-	+
59 A	SHU	O153	H4	-	stx2d	-	-	-	-	+
59 A	SHU	O128ac	H2	-	stx2b	-	ehxA	-	-	+
47 A	DIARRHEE	O166	H28	stx1c	-	-	-	-	-	+
78 A	DGS	O166	H28	-	stx2b	-	ehxA	-	-	+
68 A	SHU	O153	H4	-	stx2d	-	-	-	-	+
11 M	DIARRHEE	O181	H16	stx1c	-	-	ehxA	-	-	+
10 A	DIARRHEE	O176	H4	stx1c	-	-	ehxA	-	-	+
69 A	AUCUN RENSEIGNEMENT	O5	H19	stx1c	-	-	ehxA	-	-	+
54 A	SHU	O171	H25	-	stx2d	-	ehxA	+	-	+
80 A	DIARRHEE	O146	H21	stx1c	-	-	ehxA	-	-	+
13 A	DGS	O181	H49	-	stx2a	-	ehxA	+	-	+
9 J	DGS	O123/O186	H10	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	+
82 A	DIARRHEE	ND	H21	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	+
21 A	DIARRHEE	O27	H30	-	stx2b	-	-	-	-	+
20 A	SHU	O91	H14	-	stx2b	-	ehxA	-	-	+
1 M	DIARRHEE	O128ac	H2	-	stx2b	-	ehxA	-	-	+
2 M	FIÈVRE	O183	H18	stx1a	stx2a	-	ehxA	+	-	+
4 A	AUCUN RENSEIGNEMENT	O38	H26	-	stx2b	-	ehxA	-	-	+
78 A	DGS	O146	H21	-	stx2b	-	ehxA	-	-	+
20 J	ASYMPTOMATIQUE	O76	H19	stx1c	-	-	ehxA	-	-	+
1 M	SHU	ND	H19	-	stx2a	-	ehxA	+	-	+
3 A	FIÈVRE	O91	H14	stx1a	stx2b	-	-	-	-	+
87 A	DIARRHEE	O76	H19	stx1c	-	-	ehxA	-	-	+
35 A	ENTOURAGE	O146	H21	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	+
33 A	SHU	O166	H28	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	+
70 A	ILEITE	O128ab	H2	-	stx2b	-	ehxA	-	-	+
11 A	DGS	O128ac	H2	-	stx2b	-	ehxA	-	-	+
52 A	DGS	O174	H21	-	stx2d	-	ehxA	+	-	+
3 M	DIARRHEE	O38	H26	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	+
56 A	DGS	O113	H21	stx1a	stx2c	-	ehxA	+	-	+
28 J	DGS	O146	H28	-	stx2b	-	ehxA	-	-	+
89 A	ASYMPTOMATIQUE	O176	H4	stx1c	-	-	ehxA	-	-	+
88 A	DGS	O146	H28	stx1a	stx2b	-	-	-	-	+
8 A	DIARRHEE	O91	H14	stx1a	stx2b	-	ehxA	-	-	+
69 A	SHU	O146	H21	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	+

3.3.1.1.8 Analyse des MLST

L'analyse MLST des 279 souches a permis de mettre en évidence 60 ST dont 7 représentent 68,5% des souches (**Tableau 71**).

Tableau 71. La répartition des ST en fonction du sérotype (> 6 souches par ST)

		Sérogroupe de EHEC														Total général	
		O26	O157	O80	O103	O145	O146	O55	O177	O45	O5	O91	ND	O118/O151	O123		O69
MLST	ST21	59												1		1	61
	ST301			43				6		2							51
	ST11		43														43
	ST17				12										1		13
	ST442						7					2	1				10
	ST342					1			4		2						7
	ST32					6											6
	Total général	59	43	43	12	7	7	6	4	2	2	2	1	1	1	1	191

En 2021, les souches appartenant aux sérotypes O26, O157, O80, O103, O145, O146 et O55 se distribuent dans un ST majoritaire (ST21, ST11, ST301, ST17, ST32, ST442 et ST301 respectivement). De plus, **l'ensemble des souches de sérotype O26, O157, O80, O103 et O145 appartiennent à un seul complexe clonal** (STc29, STc11, STc301, STc20 et STc32 respectivement).

3.3.1.1.9 Analyse des cgMLST-HC5

Cette analyse a été réalisée uniquement pour les sérotypes les plus fréquents (O26, O157, O80) et permet de préciser de façon plus fine la relation génétique entre les souches et donc l'existence d'un cluster possible.

Pour les 61 souches de **sérotype O26** isolées en 2021 (**Tableau 72**), nous observons 52 cgMLST-HC5 différents parmi lesquels 46 ne sont représentés que par une seule souche. Les 15 autres souches (soit 25% des O26) sont regroupées dans six clusters génomiques, dont le plus important regroupe 4 souches **HC5_65006** (un SHU et trois DGS). Ce cluster génomique HC5_65006 avait été identifié en 2020 au cours d'une épidémie de SHU liée à une baignade dans **le lac Léman** mais aussi chez des patients consommateurs de **Reblochon**.

Pour les 45 souches de **sérotype O157**, nous observons 26 cgMLST-HC5 différents, parmi lesquels 21 ne sont représentés que par une souche. Cinq clusters génomiques ont été identifiés dont les deux plus importants regroupaient neuf souches (**HC5_111396**) et sept souches (**HC5_157735**) respectivement. La première épidémie, au mois de février/mars 2021, menant à cinq SHU et une DGS, a été confirmée par la mise en évidence d'un cluster génomique (HC5_157735), sans qu'aucune source de contamination n'ait pu être identifiée. La seconde épidémie, dans le Nord de la France en septembre 2021, a mené à 35 cas investigués dont huit (deux SHU, six DGS) confirmés par séquençage (HC5_111396). Elle a fait suite à une **TIAC multisites** (quatre établissements scolaires) liée à la **consommation de concombre rémoulade** dans lequel la souche épidémiogène (HC5_111396) a également été identifiée.

Pour les 44 souches de **sérotype O80**, nous observons 35 cgMLST-HC5 différents parmi lesquels 29 ne sont représentés que par une seule souche. Six clusters avec plus d'une souche ont été identifiés et contiennent 15 souches soit 33 % des souches de O80. **Aucune source de contamination n'a été identifiée** pour ces clusters.

Tableau 72. Analyse des cgMLST-HC5 des sérogroupes O26 (A), O157 (B) et O80 (C) en 2021

A)	cgMLST_HC5	Symptômes					Total général	
		SHU	DIARRHEE	DGS	ENTOURAGE	DIARRHEE FEBRILE		RECTORRAGIE
	65006	1		3				4
	170711	2			1			3
	109358	1	1					2
	179074	2						2
	83580	2						2
	173528		1		1			2
	Total 6 clusters*	8	2	3	2	0	0	15
	Autres cgMLST_HC5 (HC5 uniques)	26	14	3	1	1	1	46
Total EHEC O26								61

B)	cgMLST_HC5	Symptômes					Total général	
		DGS	SHU/MAT	DIARRHEE	RECTORRAGIE	AUCUN RENSEIGNEMENT		
	111396	8	1				9	
	157735	1	5	1			7	
	127801	1		2			3	
	158931	3					3	
	52358	1				1	2	
	Total 5 clusters*	14	6	3	0	1	24	
	Autres cgMLST_HC5 (HC5 uniques)	9	5	6	1	0	21	
Total EHEC O157								45

C)	cgMLST_HC5	Symptômes						Total général
		SHU/MAT	DIARRHEE	DGS	PANCOLITE	DIARRHEE ET IR	DIARRHEE FEBRILE	
	174189	1	2	1				4
	35179	1		1		1		3
	163033	2						2
	181227	1	1					2
	160972		1				1	2
	170716	2						2
	Total 6 clusters*	7	4	2	0	1	1	15
	Autres cgMLST_HC5 (n=29 HC5 ≠)	21	6	0	1	0	0	29
Total EHEC O80								44

*Cluster : cgMLST-HC5 > 1souche

** Non renseigné

3.3.1.1.10 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 21 cas de SHU, soit 76 personnes prélevées (symptomatique ou non) dans l'entourage familial. Parmi elles, 16 (20 %) étaient positives (10 souches isolées). Les souches isolées présentaient le même profil que celle du cas index de SHU.

3.3.1.2 Récapitulatif des activités d'expertise des EHEC pour la période 2017-2021

Depuis 2017, l'identification des EHEC sur souches ou à partir de prélèvements biologiques est exclusivement réalisée au Laboratoire associé LA RD. Le séquençage complet du génome des EHEC est réalisé au CNR-ESS à partir de souches bactériennes identifiées/confirmées par le LA-RD. L'arrêt définitif de la sérologie des EHEC a été acté au 1^{er} avril 2017 dans la mesure où cette technique à visée épidémiologique n'était pas valide pour le diagnostic.

De 2017 à 2021 le CNR-ESS et le LA-RD ont reçu 6 726 prélèvements, dont 5 223 selles, et 1 317 souches humaines. L'activité concernant les EHEC a augmenté de 29% en ce qui concerne les selles et de 28,6 % en ce qui concerne les souches par rapport à la mandature précédente (4 050 selles et 1 024 souches). Elle a été marquée par deux épidémies liées à la consommation de fromage au lait cru (2018 et 2019). En 2020, 1^{ère} année de la pandémie à SARS-CoV-2, le nombre de recherche de EHEC a franchement diminué mais a nettement réaugmenté dès 2021.

Tableau 73. Récapitulatif de la répartition des différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au CNR-ESS et au LA-RD pour *E. coli*, période 2017-2021

Type de prélèvement	Laboratoire	2017	2018	2019	2020	2021	Total
Selles ou écouvillonnage rectal	CNR-ESS	46	NA	NA	NA	NA	46
	LA-RD	939	1118	1195	895	1030	5177
	Total	985	1118	1195	895	1030	5223
Extrait d'ADN de selles	CNR-ESS						
	LA-RD	20	11	9	11	1	52
	Total	20	11	9	11	1	52
Autres prélèvements d'origine humaine	CNR-ESS	108*					0
	LA-RD	6	6	3	6	5	20
	Total	114	6	3	6	5	134
Souches humaines	CNR-ESS	80					80
	LA-RD	224	308	264	185	256	1237
	Total	304	308	264	185	256	1317
Souches d'autres origines**	CNR-ESS						0
	LA-RD		7	3		3	13
	Total		7	3		3	13
Total		1423	1432	1471	1097	1295	6726

NA : depuis avril 2017, tous les échantillons avec demande de diagnostic d'infection à EHEC sont transmis au LA-RD.

*sérum

**animale, alimentaire, industrielle, études

3.3.1.2.1 Analyse de l'activité EHEC de 2017 à 2021

Au cours de cette période, le CNR-ESS-LA a reçu 5 223 selles et la PCR *stx* était positive pour 2 235 prélèvements (42,8%). A partir de ces prélèvements positifs, 1 306 souches EHEC (58,4%) ont été isolées. Au total, 1 343 souches productrices de Shiga-toxine ont été caractérisées dont 37 adressées par les laboratoires pour confirmation (n=1 334 patients).

3.3.1.2.2 Analyse des sérogroupes des souches EHEC isolées au cours de la période 2017- 2021

La prévalence des sérogroupes les plus fréquents (n > 10 isolats) parmi les souches EHEC entre 2017 et 2021 est représentée sur la **Figure 38**.

Les sérogroupes O26, O80 et O157 prédominent largement et représentent 59,3 % des isolats. Ces trois sérogroupes sont aussi les plus fréquemment associés aux infections sévères à EHEC (SHU).

Le sérotype O26 constitue le sérotype le plus fréquemment isolé, avec un pic en 2018 et en 2019, en relation avec deux épidémies liées à la consommation de fromage non pasteurisé.

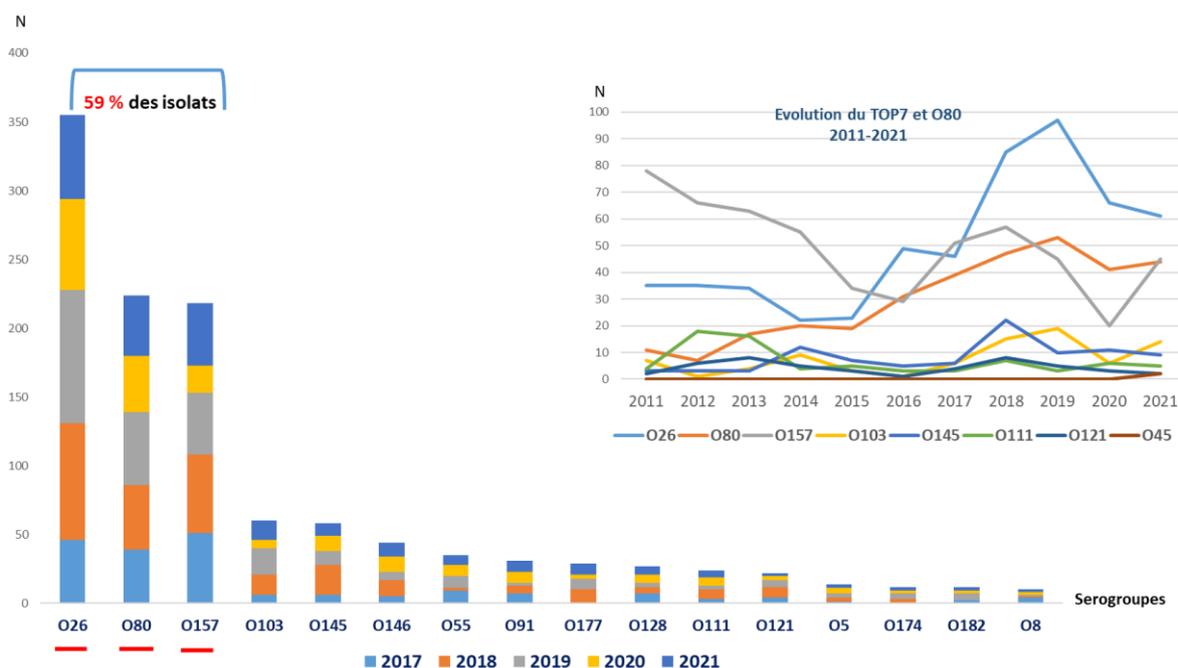
Le sérotype O80 a émergé en France en 2010 et il n'a cessé de progresser jusqu'en 2019 représentant le second sérotype. Sa progression semble s'être stabilisée sur ces deux dernières années. Ce sérotype, retrouvé dans les SHU des très jeunes enfants, présente une virulence hybride à la fois intestinale et extra-intestinale. Il fait l'objet d'une investigation poussée en lien avec les services vétérinaires et Santé publique France, son origine restant à ce jour toujours inconnue.

Le sérotype O157 est à présent le troisième sérotype alors qu'il prédominait largement au début des années 2010.

A noter la progression du sérotype O146, très peu représenté dans les années précédentes.

Le sérotype O104, responsable de l'épidémie franco-allemande en 2011, n'a été isolé que dans deux cas sporadiques de DGS entre 2017 et 2021.

Figure 38. Répartition des sérogroupes de EHEC les plus fréquents (n > 10 isolats) entre 2017-2021 et évolution des serogroupes appartenant au TOP7 et O80 de 2011 à 2021 en France



3.3.1.2.3 Analyse des profils de virulence des souches EHEC isolées au cours de la période 2017- 2021

La présence des gènes *stx1* et *stx2* codant respectivement les Shiga-toxines Stx1 et Stx2 a été recherchée sur les 1 343 souches isolées. Le gène *eae*, codant l'attachement et l'effacement aux cellules épithéliales présents chez les EHEC et les EPEC, ainsi que les gènes *ehxA* codant l'enterohémolysine et *saa* ont été systématiquement recherchés.

La recherche des gènes codant pour les facteurs de virulence des *E. coli* enteroaggrégants (*aggR*) a été réalisée sur les souches ne possédant pas le gène *eae*.

La nature du sous-type des gènes *eae* et Stx (*stx1* et *stx2*) ainsi que le gène *subA* codant la subtilase ont été mis en évidence par séquençage.

La répartition des profils de virulence des souches de EHEC en fonction des sérogroupes les plus fréquents (≥ 10 isolats) et toutes pathologies confondues est représentée dans le **Tableau 74**.

Trois profils de virulence prédominant ($>10\%$ des isolats) :

- *stx2+eae+ehxA*,
- *stx1+eae+ehxA*
- *stx1+stx2+eae+ehxA*

Le profil ***stx2+ eae + ehxA*** est le profil le plus représenté (57,2 %). Certains sérogroupes présentent ce profil dans plus de 85 % des souches (O80, O145, O55, O177 et O121). Les sérogroupes O26 et O157 ne le possèdent que dans respectivement 53,8 et 55,5 % des cas en raison d'une plus grande diversité de profils. Ainsi, chez les souches O26, deux autres combinaisons ***stx1+ eae + ehxA***, ***stx2+eae*** sont largement présentes (24 % et 15 % respectivement) tandis que la combinaison ***stx1+ stx2 +eae +ehxA*** est présente chez 43 % des souches O157.

Les sérogroupes O146, O91, O128 ne présentent jamais l'un des trois profils de virulence majoritaires et se caractérisent par une grande diversité de profils avec la présence du gène codant la subtilase dans au moins 30 % des souches.

Tableau 74. Répartition des profils de virulence des souches de EHEC en fonction des sérogroupes les plus fréquents (> 10 isolats) et toutes pathologies confondues (2017-2021)

Profil de virulence	Sérogroupes les plus fréquents (n>10)																Total
	O26	O80	O157	O103	O145	O146	O55	O91	O177	O128	O111	O121	O5	O174	O182	O8	
<i>stx2+eae+ehxA</i>	191	221	121	2	54		30		28		1	22			2		672
<i>stx1+eae+ehxA</i>	86	1	1	44	4				1		5	13			10		165
<i>stx1+stx2+eae+ehxA</i>	18		94	12							14						138
<i>stx2+eae</i>	56	2	2			1	1			2	3						67
<i>stx2+ehxA+subA</i>						11		2		17							30
<i>stx2</i>						2		13						4		8	27
<i>stx1+stx2+ehxA+subA</i>						17		6									23
<i>stx2+ehxA</i>						2		1		6							9
<i>stx1+ehxA+subA</i>						7						1					8
<i>stx1+stx2+subA</i>						1		4		1							6
<i>stx1+eae</i>	2			1			1				1						5
<i>stx1</i>						2	1									1	4
<i>stx1+stx2+ehxA+saa</i>														4			4
<i>stx2+ehxA+saa</i>								2						1			3
<i>stx1+saa</i>							2									1	3
<i>stx1+stx2+ehxA</i>						1				1							2
<i>stx1+stx2</i>								2									2
<i>stx2+ehxA+saa+subA</i>														1			1
<i>stx2+subA</i>														1			1
<i>stx1+ehxA</i>								1									1
<i>stx1+stx2+ehxA+saa+subA</i>														1			1
<i>stx2+eae+ehxA+subA</i>	1																1
<i>stx1+stx2+eae+ehxA+subA</i>				1													1
<i>stx2+eae+subA</i>	1																1
Total général	355	224	218	60	58	44	35	31	29	27	24	22	14	12	12	10	1175

3.3.1.2.4 Analyse des sous-types des gènes *stx* et *eae* par WGS des souches EHEC isolées au cours de la période 2017- 2021

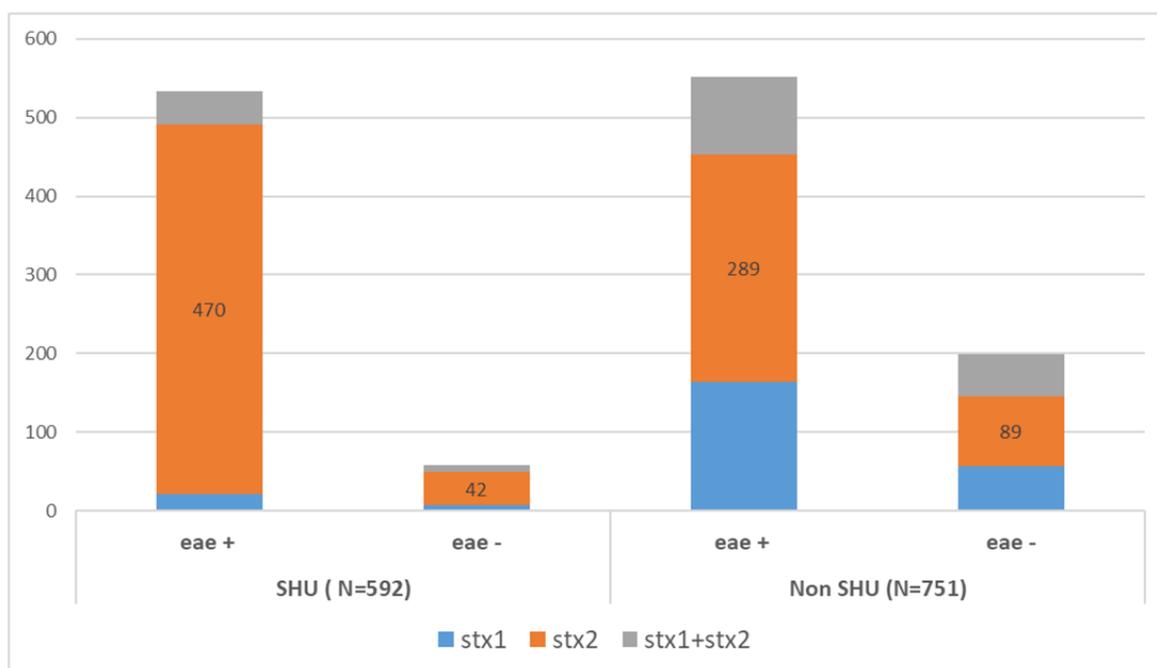
Nature de la Shiga-toxine et présence d'intimine selon le contexte clinique.

La **Figure 39** montre la prévalence des gènes *stx1*, *stx2* et *eae* au sein des souches de EHEC isolées de patients avec SHU versus celles isolées de patients sans SHU.

Globalement Stx2 prédomine largement (66 %) sur Stx1 (18 %) et l'association Stx1+Stx2 (15 %). Le pouvoir pathogène est nettement plus marqué pour Stx2 (57 %) que pour Stx1 (11 %) et Stx1+Stx2 (25 %).

Figure 39. Prévalence des gènes *stx* et *eae* en fonction de la clinique et pouvoir pathogène potentiel (2017-2021)

Gène	Global		SHU n=592		Non SHU n=751		Pouvoir pathogène potentiel en %
	N	%	N	%	N	%	
<i>stx1+</i>	248	18,5	28	4,7	220	29,3	11,3
<i>stx2 +</i>	890	66,3	512	86,5	378	50,3	57,5
<i>stx1+ stx2</i>	205	15,3	52	8,8	153	20,4	25,4
<i>eae +</i>	1086	80,9	534	90,2	552	73,5	



Sous-types de Stx

L'étude de la combinaison des sous-types des gènes *stx1* et *stx2* et du gène *eae* permet d'affiner les profils de virulence les plus fréquemment retrouvés chez les patients SHU en comparaison avec les patients sans SHU. Cette étude est résumée dans le **Tableau 75**.

Les trois sous-types de Stx1 (a, c, et d) ont été identifiés ainsi que les six sous-types classiques de Stx2 (a, b, c, d, e, f, g). Parmi les sous types de Stx2 plus récents, seul Stx2i a été détecté.

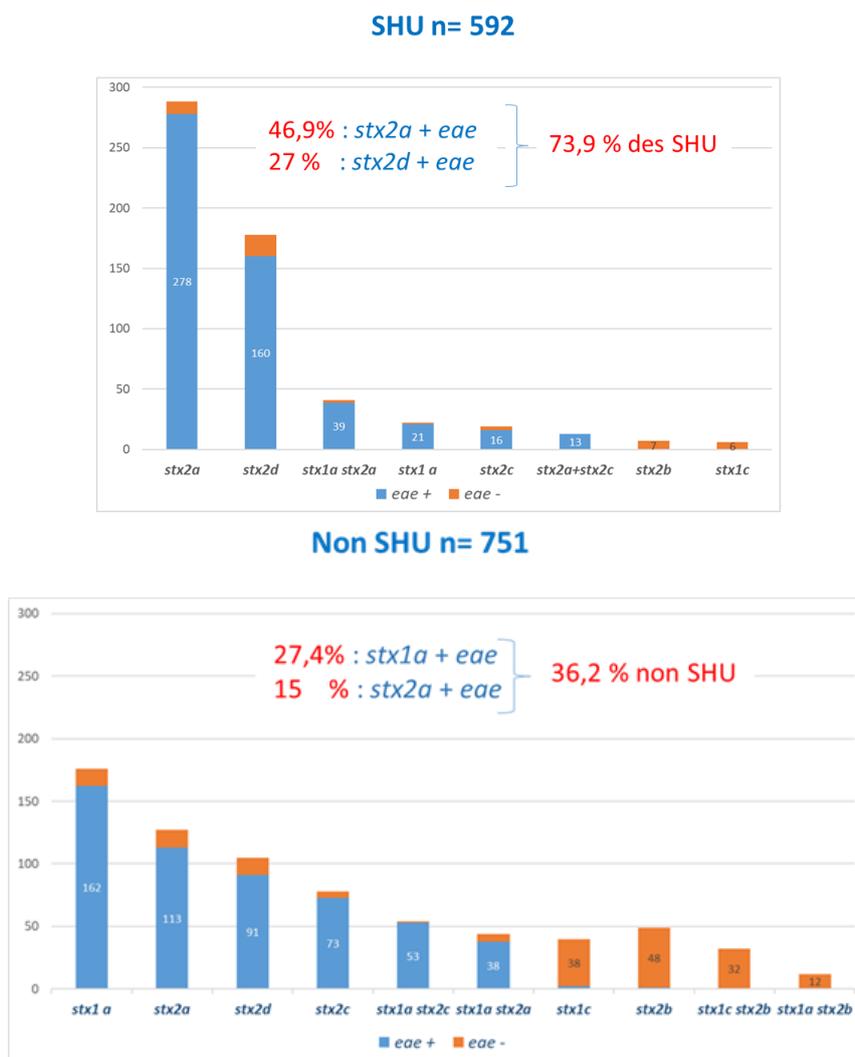
Dans l'ensemble, les gènes *stx2a* associés au gène *eae* ainsi que le gène *stx2d* associé au gène *eae* sont retrouvés dans 73,9% des cas de SHU. L'association du sous-type *stx1a* au *stx2a* et au gène *eae* est retrouvée dans 6,6 % des cas. Ces trois profils totalisent plus de 80 % des SHU.

Au sein des souches isolées de patients sans SHU, ces trois profils sont présents mais devancés par le profil *stx1a+eae* qui représente 27,4 % des souches alors que ce profil n'est présent que dans 3,5 % des souches de SHU, soulignant son faible pouvoir pathogène. Les autres sous-types de Stx associés au SHU ont une prévalence plus faible et les sous types *stx2e*, *stx2f*, *stx2g* et *stx2i* ont une prévalence très faible, seul ou en association. Le **Tableau 75** et la **Figure 40** résument les résultats de l'analyse de la pathogénicité des EHEC. Le « top 3 » des sous-types de Stx est surligné en bleu.

Tableau 75. Synthèse de l'analyse de pathogénicité des EHEC selon la clinique et selon le gène (2017-2021).

	SHU (N=592)						Non SHU (N=751)					
	eae +		eae -		Total		eae +		eae -		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
stx1	21	3,5	7	1,2	28	4,7	164	21,8	56	9,5	220	37,2
stx1 a	21	3,5	1	0,2	22	3,7	162	27,4	14	2,4	176	29,7
stx1c	0	0	6	1,0	6	1,0	2	0,3	38	6,4	40	5,3
stx1d	0	0	0	0	0	0	0	0,0	4	0,5	4	0,5
stx2	470	79,4	42	7,1	512	86,5	289	38,5	89	11,9	378	50,3
stx2a	278	46,96	10	1,7	288	48,6	113	15,0	14	1,9	127	16,9
stx2b	0	0,0	7	1,2	7	1,2	1	0,1	48	6,4	49	6,5
stx2c	16	2,7	3	0,5	19	3,2	73	9,7	5	0,7	78	10,4
stx2d	160	27,0	18	3,0	178	30,1	91	12,1	14	1,9	105	14,0
stx2e	0	0	1	0,2	1	0,2	0	0	6	0,8	6	0,8
stx2f	2	0,3	0	0	2	0,3	0	0	0	0	0	0
stx2g	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0	0
stx2i	0	0	0	0	0	0,0	0	0	1	0,1	1	0,1
stx2a+stx2c	13	2,2	0	0	13	2,2	9	1,2	0	0	9	1,2
stx2a+stx2b	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,1	1	0,1
stx2a+stx2d	0	0	2	0,3	2	0,3	1	0,1	0	0	1	0,1
stx2b+ stx2c	0	0	1	0,2	1	0,2	0	0	0	0	0	0
stx2c+stx2d	1	0,2	0	0	1	0,2	1	0,1	0	0	1	0,1
stx1+stx2	43	7,3	9	1,5	52	8,8	99	13,2	54	7,2	153	20,4
stx1a stx2a	39	6,6	2	0,3	41	6,9	38	5,1	6	0,8	44	5,9
stx1a stx2b	0	0,0	1	0,2	1	0,2	0	0	12	2,0	12	2,0
stx1a stx2c	2	0,3	0	0	2	0,3	53	7,1	1	0,1	54	7,2
stx1a stx2d	2	0,3	2	0,3	4	0,7	5	0,7	3	0,4	8	1,1
stx1a stx2g	0	0,0	1	0,2	1	0,2	0	0	0	0	0	0
stx1c stx2b	0	0,0	3	0,5	3	0,5	0	0	32	4,3	32	4,3
stx1a stx2a stx2c	0	0,0	0	0	0	0	3	0,4	0	0	3	0,4

Figure 40. Synthèse de l'analyse de pathogénicité des EHEC selon la clinique et selon le gène (2017-2021).



Sous-types d'intimine

Parmi les 1 343 souches, 1 052 possédaient le gène *eae* (78,3 %). Le sous-type n'a pas été déterminé pour 34 souches.

Les principaux sous-types sont :

- *eae-β* : 38 % des souches et majoritairement dans le séro groupe O26 (99 %)
- *eae-γ* : 25,8 % des souches et majoritairement dans le séro groupe O157 (100 %)
- *eae-ξ* : 24 % des souches et dans 99 % des séro groupes O80.

La répartition des sous-types en fonction du sérotype est représentée dans le **Tableau 76**.

Tableau 76. Répartition des sous-types d'intimine en fonction du sérotype

Sérotype	Variants eae							Total	
	<i>eae θ</i>	<i>eae γ</i>	<i>eae ξ</i>	<i>eae ε</i>	<i>eae ζ</i>	<i>eae θ2</i>	<i>eae θ</i>		<i>eae α1</i>
O26	343	2							345
O80		2	218						220
O157		212							212
O103		1		58					59
O145	6	49							55
O55		2	28						30
O177	29								29
O111	1					20	2		23
O121			1	21					22
O5	13								13
O182					11				11
O156					6	1			7
O128	2								2
O150		1			1				2
O45			2						2
O69	2								2
O98					2				2
ND					1				1
O109	1								1
O118/O151	1								1
O123				1					1
O127						1			1
O146		1							1
O15	1								1
O151				1					1
O165				1					1
O172				1					1
O181		1							1
O27								1	1
O4				1					1
O70	1								1
O76						1			1
O84					1				1
Total général	400	271	249	84	22	23	2	1	1052

Autres facteurs de virulence (*aggR*, *saa* et *subA*)

Le gène *aggR* a été identifié chez quatre souches : deux souches de EHEC O104, l'une responsable d'une DGS avec douleurs abdominales chez un enfant de 12 ans et l'autre responsable de SHU chez un enfant de 12 ans qui est décédé. Pour les deux autres, il s'agissait de deux EHEC de sérotype O92 responsables de deux SHU pédiatriques.

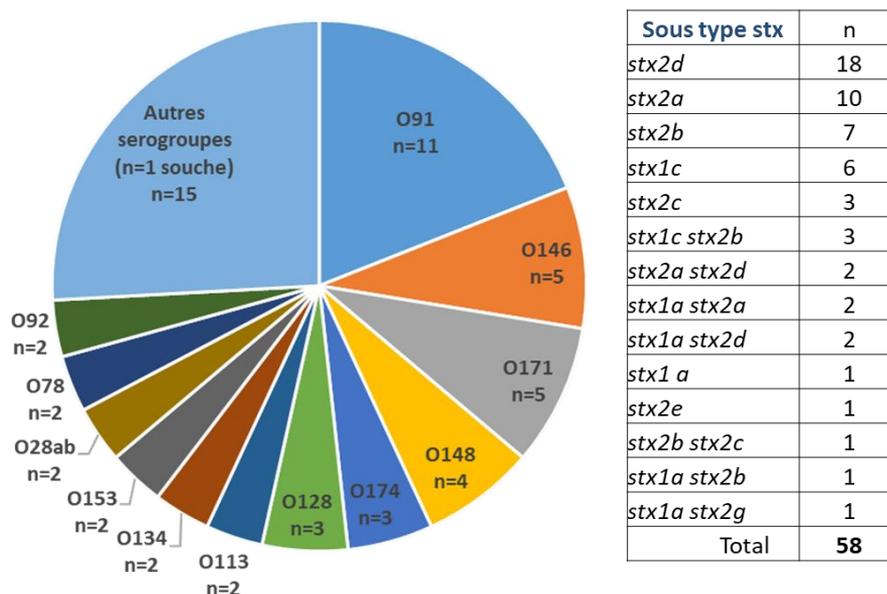
Sur les 42 souches porteuses du gène *saa*, une seule portait un variant du gène *eae* (*eae θ*). Onze ont été responsables de SHU uniquement chez des adultes dont cinq souches possédaient également le gène de la subtilase.

Le gène *subA* a été retrouvé chez 128 souches responsables, entre autres, de 21 cas de SHU (15 adultes et six enfants), 35 cas de DGS et 54 cas de diarrhée simple. Aucune souche ne possédait le gène *eae*. Les sérotypes les plus représentés sont les sérotypes O146 (n = 29), O128 (n = 18) et O91 (n = 12).

Cas particulier des SHU *stx+* *eae* –

De 2017 à 2021, 58 cas de SHU ont eu une recherche de *Stx* positive sans gène *eae* associé. Les deux principaux sérotypes retrouvés étaient le sérotype O91 (n = 11) et le sérotype O146 (n = 5). Le gène *stx2* était prépondérant (87,2 %), en particulier les sous-types *stx2d* et *stx2a*. Les gènes *subA*, *saa* et *aggR* étaient retrouvés respectivement dans 45 %, 22 % et 6 % des souches. Les caractéristiques de ces souches isolées de patients SHU *stx+* *eae* – sont représentées dans la **Figure 41**.

Figure 41. Sérogroupes et facteurs de virulence des souches impliquées dans les SHU *stx+* *eae-* (2017-2021)



3.3.1.2.5 Analyse des MLST

L'analyse MLST des 1 343 souches a permis de mettre en évidence 112 ST dont 16 représentent 84 % des souches (Tableau 77).

Tableau 77. La répartition des ST en fonction du sérotype (> 10 souches par ST)

MLST	Sérogroupes												Total	
	O26	O80	O157	O103	O145	O146	O55	O91	O177	O128	O111	O121		O5
ST21	310													313
ST301		220					30							252
ST11			210											210
ST17				54										57
ST32					48									48
ST29	39							1						41
ST442						34	2							39
ST342					6			12					13	31
ST25										23				23
ST655												22		22
ST16											20			20
ST300														19
ST10														17
ST33								16						16
ST641								12						12
ST738						8								12

Les souches les plus fréquemment isolées appartiennent majoritairement à un seul ST. Ainsi le sérotype O26 se répartit majoritairement dans le ST21, les sérogroupes O80 et O55 dans le ST301, le sérotype O103 dans le ST17, le sérotype O145 dans le ST32 et le sérotype O157 dans le ST11.

3.3.1.2.6 Analyse des cgMLST-HC5 des sérogroupe O26, O80 et O157

Cette analyse a été réalisée par le CNR-ESS uniquement pour les sérogroupe les plus fréquents (O26, O157, O80). Elle permet de préciser de façon plus fine l'appartenance à un clone et donc l'existence d'un cluster possible. Elle est représentée dans le **Tableau 78**.

Pour le serogroupe O26, le cgMLST-HC5 était disponible pour 309 souches. On observe 224 cgMLST-HC5 différents parmi lesquels 202 ne sont représentés que par une seule souche. Vingt deux clusters contiennent 107 souches soit 34,6 % des souches de O26. Les clusters HC5_65006 et HC5_75047 sont prédominants et associés à un SHU dans 19 % des cas. Le cluster HC5_75047 a été responsable de l'épidémie liée à la consommation de fromage au lait cru en 2019 (St Félicien).

Pour le sérogroupe O80, le cgMLST-HC5 était disponible pour 188 souches. On observe 124 cgMLST-HC5 différents parmi lesquels 104 ne sont représentés que par une seule souche. Vingt clusters avec plus d'une souche ont été identifiés et contiennent 84 souches soit 44,7 % des souches de O80. Le cluster HC5_35179 est le plus fortement associé au SHU (19 %).

Pour le sérogroupe O157, le cgMLST-HC5 était disponible pour 167 souches. On observe 128 cgMLST-HC5 différents parmi lesquels 114 ne sont représentés que par une seule souche. Quatorze clusters avec plus d'une souche ont été identifiés et contiennent 53 souches soit 31,7 %. Une grande diversité est observée pour les souches O157.

Tableau 78. Analyse des cgMLST-HC5 des sérogroupes O26, O80 et O157 (2017-2021)

cgWGSHC5	SYMPTOMES				Total
	DGS	SHU	DIARRHEE	ENTOURAGE	
EHEC O26					EHEC O26
65006*	1	19	1	1	22
75047		19	2		21
80763	1	11			12
83592	2	3	3	2	10
65074	1	3			4
99010		3			3
143456		3			3
149587		3			3
38792*		3			3
2002		1	1		2
38792		2			2
112794		2			2
112797		2			2
124217		1		1	2
139918		2			2
144499		2			2
151038		1		1	2
170711		2			2
173528			1	1	2
179074		2			2
74867*				2	2
80767*			2		2
Total 22 clusters principaux	5	84	10	8	107
Autres clusters	37	100	61	4	202

cgWGSHC5	SYMPTOMES				Total
	DGS	SHU	DIARRHEE	ENTOURAGE	
EHEC O80					EHEC O80
35179*	5	23	5	0	33
74950		4	1		5
80832		4	1		5
140495		5			5
174189	1	1	2		4
74928*		2	2		4
74912		1	1		2
80828		1	1		2
81259		1	1		2
96671		1		1	2
98407		1	1		2
114994			2		2
143459		1	1		2
144505		2			2
149582		1	1		2
160972			2		2
163033		2			2
181227		1	1		2
74958*		2			2
80832*	1	1			2
Total 20 clusters principaux	7	54	22	1	84
Autres clusters	8	65	30	1	104

cgWGS HC5	SYMPTOMES				Total
EHEC O157	DGS	SHU	DIARRHEE	ENTOURAGE	EHEC O157
111396	8	1			9
64670*	2	5			7
15946	2	4			6
158694	1	5			6
65640*	1	1	1	2	5
173529	1		2		3
74870*	3				3
74816	1		1		2
75403	1		1		2
115318		2			2
117556		1		1	2
129016	2				2
156688	1		1		2
74815*	2				2
Total 14 clusters principaux	25	19	6	3	53
Autres clusters	51	21	40	2	114

3.3.1.3 Activités d'expertise des *Escherichia coli* extra-intestinaux (ExPEC) en 2021

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

Le LA-RD a reçu 19 souches de *E. coli* isolées du LCR de 17 enfants et de deux adultes. Parmi ces 15 enfants (six filles et neuf garçons), 12 étaient des nouveau-nés âgés de 1 à 15 jours et trois étaient des nourrissons âgés de 1 mois. Six d'entre eux sont nés prématurément (< 35 SA). Les deux autres enfants étaient âgés de 5 et 13 ans. Les deux patients adultes étaient âgés de 58 et 60 ans.

Les résultats de l'étude des facteurs de virulence sont présentés dans le **Tableau 79** et permettent d'incrémenter la base de données française des méningites à *E. coli*.

Tableau 79. Facteurs de virulence des *E. coli* responsables de méningites en 2021 (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
501	M	4 jours	B21	neg	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
502	M	60 ans	D	neg	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	II	-	-	-
503	M	18 jours	B2	O16	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	II	-	-	+
506	F	5 ans	B2	neg	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
507	F	6 jours	A	neg	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
508	M	6 jours	C	neg	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+
509	M	8 Jours	B21	O1	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
510	M	1 mois	C	neg	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+
511	M	8 Jours	B2	neg	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
513	F	12 jours	B21	O1	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
514	M	58 ans	B2	neg	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	+	+
515	M	12 jours	B21	O1	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
517	F	1 mois	B21	O45	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
518	F	13 jours	B21	O18	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
519	F	8 Jours	B21	O18	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
521	M	17 jours	B21	O18	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
522	F	13 ans	B1	neg	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
523	F	1 mois	F	O1	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
524	M	15 jours	F	O1	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-

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

Le LA-RD a reçu 65 souches de ExPEC hors méningites isolées des prélèvements suivants :

- Hémocultures n = 45
- Urines n = 10
- Arbre respiratoire n = 2
- Biopsie rénale n = 2
- Liquide péritonéal n = 1
- Placenta n = 1
- Pus profond n = 2
- Prélèvement vaginal n = 1
- Selles n = 1

Ces souches ont été isolées chez 58 patients présentant :

- Choc septique n = 16 dont 6 à point de départ digestif
- Pyélonéphrite n = 12
- SHU/MAT n = 9
- Meningite n = 6 dont une décapitée
- Chorioamniotite n = 3
- IMF n = 2
- Enterocolite n = 1
- Fasciite (décès) n = 1
- Mort fœtale in utero n = 1
- Pneumopathie nécrosante n = 1
- Salpingectomie n = 1
- Non renseigné n = 5

Les caractéristiques de ces souches sont indiquées dans le **Tableau 80**.

Tableau 80. Caractéristiques des souches de ExPEC hors méningites en 2021 LA-RD

n° souche	Sexe	age	origine du prélevement	groupe phylogénétique	Capsule K1	ChuA	Hra	YjaA	TSPEK_C2	FyuA	Hly	sfa/foc	PAP C	Aer	PAP G	cnt1	ibaA	iron
RDEx751	F	23 ans	hémoculture	D	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx752	M	10 mois	ecbu	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	II+III	+	-	+
RDEx753	F	21 ans	placenta	B2	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	+	+
RDEx754	M	57 ans	hémoculture	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
RDEx755	F	75 ans	ecbu	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
RDEx756	M	1 jour	hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	II	-	-	+
RDEx757	M	69 ans	hémoculture	A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx758	F	6 jours	hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	II	+	-	+
RDEx759	M	28 jours	ecbu	B2	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	II	+	-	+
RDEx760	M	30 jours	hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	II	-	-	-
RDEx761	M	50 ans	hémoculture	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
RDEx762	F	63 ans	hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx763	M	66 ans	aspiration bronchique	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	-	+
RDEx764	M	1 jour	hémoculture	F	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx765	F	8 jours	hémoculture	B1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx766	M	65 ans	hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	+	+
RDEx767	F	33 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	II	-	-	-
RDEx768	F	25 ans	PV	F	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	II	-	-	-
RDEx769	F	67 ans	ecbu	B1	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx770	F	67 ans	hémoculture	B1	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx771	M	7 jours	hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx772	M	65 ans	ecbu	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	+	+
RDEx773	M	65 ans	hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	+	+
RDEx774	M	9 jours	selles	U	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx775	M	8 jours	hémoculture	U	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx776	M	8 jours	hémoculture	U	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx777	M	18 jours	hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	II	-	-	-
RDEx778	M	2 mois	liquide périto	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx779	M	2 mois	pus profond	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx780	F	55 ans	hémoculture	B21	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	+	-
RDEx781	M	38 ans	plaie cuisse gauche	B1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx782	M	81 ans	hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	II	-	-	-
RDEx783	F	66 ans	hémoculture	C	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx784	M	61 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx785	M	79 ans	hémoculture	B1	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx786	F	27 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx787	M	2 jours	hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx788	F	74 ans	ecbu	U	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx789	M	12 jours	ecbu	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	II	-	-	+
RDEx790	F	1 jour	hémoculture	D	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx791	M	3 mois	ecbu	B2	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	II	-	-	-
RDEx792	M	9 jours	hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	III	+	-	+
RDEx793	F	35 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx794	M	1 mois	hémoculture	D	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx795	M	2 mois	hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx796	F	10 jours	hémoculture	A	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx797	M	65 ans	hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	II	-	-	-
RDEx798	M	1 mois	hémoculture	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	II	-	-	-
RDEx799	F	31 ans	rein gauche	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx800	M	1 mois	hémoculture	D	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	II	-	-	+
RDEx801	M	24 jours	hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	II	-	-	+
RDEx802	F	25 ans	hémoculture	B2	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
RDEx803	F	56 ans	hémoculture	B2	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+
RDEx804	M	3 mois	hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	II	-	-	+
RDEx805	F	34 ans	hémoculture	B2	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	III	+	-	+
RDEx806	M	26 jours	hémoculture	B2	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	II	+	-	+
RDEx807	M	38 ans	LBA	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
RDEx808	M	36 ans	greffon/graisse péri-rénale	D	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx809	M	36 ans	hémoculture	D	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx810	M	36 ans	ecbu	D	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
504	M	18 jours	hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	II	-	-	+
505	M	19 jours	ecbu	B2	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	II	-	-	+
512	M	8 jours	hémoculture	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
516	M	12 jours	hémoculture	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	II	-	-	+
520	M	17 jours	hémoculture	B21	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+

3.3.1.4 Récapitulatif des activités d'expertise des ExPEC pour la période 2017-2021

Entre 2017 et 2021, le LA-RD a reçu 268 souches d'ExPEC se répartissant comme suit :

- 76 souches de méningites
- 177 souches responsables de bactériémies survenues dans des contextes sévères
- 49 souches responsables d'infections urinaires graves
- 9 souches isolées de prélèvements pulmonaires
- 7 souches isolées de placenta
- 7 souches isolées de pus profonds
- 7 souches isolées de liquide péritoneal
- 4 souches isolées de prélèvements post-mortem
- 3 souches isolées de prélèvement vaginal post chorioamniotite
- 2 souches isolées de la sphère ORL
- 2 souches isolées de ponction articulaire
- 1 souche isolée de moelle osseuse

EXPEC RESPONSABLES DE MENINGITES

Les souches de méningites comprenaient 64 souches isolées chez l'enfant et 12 souches responsables de méningites chez l'adulte.

a) Concernant les 61 souches isolées chez des nouveau-nés âgés de moins de trois mois (24 filles et 37 garçons):

- ✓ Le gène *fyuA* codant la yersiniabactine est présent chez toutes les souches responsables de méningites néonatales. Les autres gènes codant des systèmes de capture du *fer*, *chuA*, *aer* et *iroN* sont retrouvés respectivement dans 90,2 %, 85,2 % et 70 % des cas.

Gènes de virulence	n	%
<i>fyuA</i>	61	100,0
<i>ChuA</i>	55	90,2
<i>Aer</i>	52	85,2
<i>iroN</i>	43	70,5
<i>PAP C</i>	35	57,4
<i>PAP G</i>	32	52,5
<i>sfa/foc</i>	17	27,9
<i>Hra</i>	12	19,7
<i>ibeA</i>	12	19,7
<i>Hly</i>	7	11,5
<i>cnf1</i>	4	6,6

- ✓ Les profils de virulence des souches isolées de méningites néonatales sont représentés dans le tableau suivant :

Profil de virulence	Serogroupes										Total
	neg	O18	O1	O2	O45	O7	O6	O16	O4	O83	
<i>ChuA fyuA PAP C Aer PAP G iroN</i>	2		4	3	7						16
<i>ChuA fyuA PAP C Aer PAP G</i>	1		1			4					6
<i>ChuA fyuA Aer</i>	2	1	1				1				5
<i>ChuA fyuA sfa/foc Aer ibeA iroN</i>		4									4
<i>ChuA fyuA Aer iroN</i>	3										3
<i>ChuA Hra fyuA sfa/foc Aer ibeA iroN</i>		3									3
<i>ChuA fyuA</i>	2										2
<i>ChuA fyuA Hly PAP C Aer PAP G iroN</i>			1						1		2
<i>ChuA Hra fyuA Hly sfa/foc PAP C Aer PAP G cnf1 iroN</i>				1				1			2
<i>fyuA PAP C Aer iroN</i>	2										2
<i>ChuA fyuA iroN</i>	1										1
<i>ChuA fyuA PAP C Aer</i>			1								1
<i>ChuA fyuA sfa/foc Aer iroN</i>		1									1
<i>ChuA Hra fyuA Hly PAP C Aer PAP G</i>				1							1
<i>ChuA Hra fyuA Hly sfa/foc PAP C PAP G cnf1 ibeA iroN</i>									1		1
<i>ChuA Hra fyuA Hly sfa/foc PAP C PAP G cnf1 iroN</i>				1							1
<i>fyuA Aer</i>	1										1
<i>fyuA Aer iroN</i>	1										1
<i>Hra fyuA</i>	1										1
<i>Hra fyuA sfa/foc Aer ibeA iroN</i>		1									1
Total	16	13	8	8	7	4	2	1	1	1	61

Le profil *chuA fyuA papC papG aer et iroN* est le plus fréquent et est retrouvé chez 26 % des souches. Le gène *papG*, associé à l'urovirulence, est donc présent dans ce profil majoritaire mais aussi dans plus de 50 % des souches responsables de méningite.

77 % de ces souches ont un sérotype capsulaire K1. Les antigènes somatiques majoritaires sont O18 (n = 13), O1 (n = 8), O2 (n = 8), O45 (n = 7), O7 (n = 4) et O83 (n = 1).

Les souches appartiennent majoritairement (67 %) au phylogroupe B2 (n = 51 dont 31 au sous-groupe B21); 13,1 % au phylogroupe F (n = 8), 9,8 % au phylogroupe D (n = 6). Les autres souches appartiennent aux phylogroupes A (n = 2), C (n = 2) et B1 (n = 1).

b) Concernant les trois souches isolées chez des enfants de plus de 3 mois (7 mois, 5 ans et 13 ans) :

Seule une souche était de sérotype capsulaire K1. Aucune souche n'appartenait à un des sérotypes usuels impliqués dans les méningites.

c) Concernant les 12 souches isolées chez les adultes :

Six d'entre elles possédaient l'antigène capsulaire K1 ; six appartiennent à des sérotypes usuels de méningite et les profils de virulence étaient tous différents. Les souches appartiennent majoritairement au groupe phylogénétique B2.

Les profils de virulence des souches de méningite de l'adulte sont synthétisés dans le tableau suivant :

Age	Sexe	Groupe phylogénétique	Sérogroupe	Capsule K1	Profil de virulence
66 ans	M	B1	neg	-	<i>Hra fyuA PAP C Aer iroN</i>
58 ans	M	B2	neg	-	<i>ChuA Hra fyuA Hly sfa/foc PAP C PAP G cnf1 ibeA iroN</i>
76 ans	M	B2	O2	-	<i>ChuA Hra fyuA Hly sfa/foc PAP C Aer PAP G cnf1 iroN</i>
66 ans	F	B2	O4	-	<i>ChuA Hra fyuA Hly sfa/foc PAP C PAP G cnf1 iroN</i>
73 ans	F	B2	O16	+	<i>ChuA fyuA Hly PAP C Aer PAP G iroN</i>
71 ans	F	B2	O7	+	<i>ChuA fyuA sfa/foc ibeA iroN</i>
53 ans	M	B21	O1	+	<i>ChuA fyuA PAP C Aer PAP G iroN</i>
60 ans	F	B21	O1	+	<i>ChuA fyuA PAP C Aer PAP G iroN</i>
91 ans	F	B21	O18	+	<i>ChuA Hra fyuA sfa/foc Aer ibeA iroN</i>
55 ans	M	C	neg	-	<i>Aer iroN</i>
60 ans	M	D	neg	-	<i>ChuA fyuA Hly PAP C PAP G</i>
62 ans	F	D	neg	-	<i>ChuA fyuA PAP C Aer PAP G</i>

EXPEC HORS MENINGITES

- a) **177 souches de bactériémies** ont été adressées au LA-RD en raison de tableaux cliniques particulièrement sévères ou inhabituels : choc septique grave, urosepsis maternel, ...

Les principaux facteurs de virulence sont représentés dans le tableau suivant :

Gène	%
<i>fyuA</i>	81,4
<i>ChuA</i>	78,5
<i>Aer</i>	59,9
<i>iroN</i>	46,9
<i>PAP C</i>	42,4
<i>PAP G</i>	37,3
<i>Hra</i>	29,4
<i>sfa/foc</i>	23,7
<i>Hly</i>	23,7
<i>cnf1</i>	16,9
<i>ibeA</i>	15,3

Ces facteurs peuvent être combinés les uns aux autres et donner de nombreux profils de virulence différents. 40% des souches étaient de sérogroupe capsulaire K1. Le sérogroupe O n'a pas été déterminé de façon systématique.

b) Infections urinaires

Les principaux facteurs de virulence des 49 souches isolées d'infections urinaires sont représentés dans le tableau suivant. Ces facteurs peuvent être combinés les uns aux autres et donner de nombreux profils de virulence différents.

Gène	%
<i>fyuA</i>	77,6
<i>ChuA</i>	77,6
<i>Aer</i>	69,4
<i>iroN</i>	46,9
<i>PAP C</i>	46,9
<i>PAP G</i>	44,9
<i>Hra</i>	24,5
<i>sfa/foc</i>	20,4
<i>Hly</i>	18,4
<i>cnf1</i>	16,3
<i>ibeA</i>	2,0

3.3.2 Conseil aux professionnels ou aux autorités de santé

3.3.2.1 Contribution à la diffusion des données de surveillance et production du CNR

Les résultats concernant le diagnostic d'infection à EHEC, et en particulier des SHU des enfants de moins de 15 ans (selles et souches) mais aussi des adultes, sont communiqués dès leur positivité à SpF par téléphone ou par mail sécurisé.

Tous les phénomènes anormaux (excès de cas liés à un sérotype particulier, regroupement temporo-spatial ou à une souche avec un profil de résistance aux antibiotiques inhabituel) sont signalés immédiatement par téléphone à nos interlocuteurs de SpF.

Les rapports d'activité complets du CNR-ECS (depuis celui de 2006) sont consultables (fichiers pdf) sur le site Web de l'Institut Pasteur à l'adresse suivante :

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

Le CNR-ESS-LA participe à la rédaction annuelle du BEH concernant la surveillance du SHU des enfants de moins de 15 ans en France.

3.3.2.2 Participation au CNQ

Le CNR-ESS et le LA-RD participent aux EEQ organisés par le ECDC en association avec le Statens Institut en Danemark.

Par contre le LA-RD a mis à disposition, pour les laboratoires, des souches non viables de EHEC nécessaires aux évaluations de méthodes, indispensables à la mise en place de nouveaux tests diagnostiques.

3.3.2.3 Enseignement/formation

Les responsables du CNR-ESS enseignent dans le cadre du programme RESER du Réseau international de l'Institut Pasteur avec le cours « Microbiologie et surveillance des principaux pathovars de *E. coli* intestinaux ».

Les responsables du LA-RD enseignent dans le cadre :

- du cours de Bactériologie médicale de l'Institut Pasteur avec « Les *E. coli* producteurs de Shiga-toxines » (LA-RD)
- de l'enseignement universitaire sur les *E. coli* intestinaux et extraintestinaux (S. Bonacorsi, P. Mariani-Kurkdjian, P. Bidet, A. Cointe):
- L3 UFR de Médecine
- DES de Biologie
- DIU de Pathologie infectieuse pédiatrique (organisé par le Groupe De Pathologie Infectieuse Pédiatrique)
- Master 2 de microbiologie MBVP de Paris-Saclay : UE "Mécanismes cellulaires et moléculaires des interactions hôtes-microorganismes"
- Master 2 de l'université Paris Descartes « Host Pathogen Interaction Course »
- Master 2, module épidémiologie spécialité microbiologie, option bactériologie moléculaire et médicale, Université Paris VI
- de la formation continue en médecine ambulatoire (S. Bonacorsi, P. Mariani-Kurkdjian, P. Bidet) (participation aux journées de pathologie infectieuse pédiatrique ambulatoire organisées par le Dr Cohen).
- de la formation continue aux techniciens de laboratoire (S. Bonacorsi, P. Mariani-Kurkdjian, P. Bidet, A. Cointe).

3.3.2.4 Information et conseils aux biologistes, praticiens et épidémiologistes

Des informations pratiques à destination des biologistes et cliniciens (analyses réalisées, fiche de renseignements à compléter, conditions d'envoi, de transport, recommandations et conduites à tenir...) sont accessibles sur le site Web du LA-RD (<https://cnr-escherichiacoli-robertdebre.aphp.fr/>).

Tout résultat positif non connu par le laboratoire expéditeur est systématiquement transmis par téléphone au clinicien en charge du patient +/- au biologiste du laboratoire. Le compte rendu final est envoyé au laboratoire expéditeur par courrier postal pour tous les échantillons adressés.

Les responsables du CNR-ESS et du LA-RD sont sollicités quotidiennement par voie téléphonique ou électronique (colishig@pasteur.fr ou e.coli@aphp.fr) ou via le réseau de microbiologistes médicaux sur Internet ([Réseau-microbiologie-medicale@yahoogroupes.fr](mailto:Reseau-microbiologie-medicale@yahoogroupes.fr)) pour des conseils microbiologiques ou thérapeutiques à destination de biologistes, cliniciens, épidémiologistes,...

Un article didactique et deux chapitres d'un ouvrage ont été rédigés par le LA-RD en 2021 pour publication en 2022. Ils permettent aux laboratoires d'avoir toutes les informations concernant la détection des souches EHEC et de résumer la conduite à tenir face à un résultat positif en Shiga Toxine :

- Cointe A, Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S. **Conduite à tenir et prise en charge d'un patient présentant une gastroentérite à *Escherichia coli* entérohémorragique**. Revue de Biologie Médicale /N° 364 – 2021, publié dans le numéro de Janv-Fev 2022.
- Référentiel en Microbiologie Médicale **REMIC 2022**
 - o Gastroentérites (S. Bonacorsi)
 - o *E. coli* entérohémorragiques (S. Bonacorsi, A. Cointe, P. Mariani-Kurkdjian)

Le Pr Bonacorsi a été sollicité par la CNAM comme expert auprès du groupe de travail chargé d'établir la place des PCR multiplexes dans le diagnostic des gastro-enterites et particulier celle de la PCR *stx*.

Les responsables du CNR-ESS-LA participent à toutes les réunions multidisciplinaires (SPF, DGS, DGAI,...) lors des investigations d'épidémie.

3.3.3 Contribution à la surveillance épidémiologique

3.3.3.1 Réseau partenaire

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...).

3.3.3.2 Analyse des caractéristiques épidémiologiques des infections à EHEC en 2021

En 2021, 448 patients ont eu une recherche de EHEC positive (isolement de souche ou PCR positive sur les selles): 275 patients avec souches isolées (dont quatre avec deux souches différentes) et 173 patients n'ayant qu'une PCR positive sur les selles. Le **Tableau 81** détaille les principaux symptômes des patients ayant une recherche EHEC positive. L'année 2021 a été marquée par un sepsis à EHEC *stx1+* chez un nouveau-né à J8 de vie (deux hémocultures positives) associé à une méningite (PCR positive sans souche isolée).

Tableau 81. Principal symptôme observé chez les patients ayant une recherche de EHEC positive (isolement d'une souche ou PCR positive) en 2021

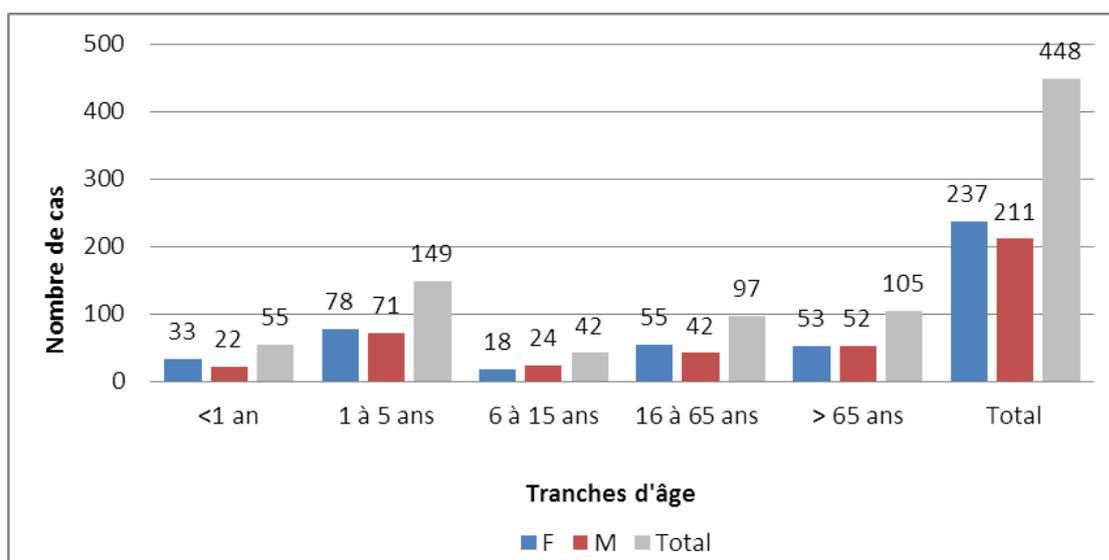
Symptômes	Total	%
SHU ou MAT	175	39,1%
Diarrhée simple	139	31,0%
DGS	89	19,9%
Entourage asymptomatique d'un patient SHU	13	2,9%
Diarrhée (GS) fébrile	9	2,0%
Non renseigné	7	1,6%
Diarrhée chronique	5	1,1%
Asymptomatique	3	0,7%
Colite/Iléite	3	0,7%
Fièvre isolée	2	0,4%
Rectorragie	2	0,4%
Diarrhée + IR	1	0,2%
Total général	448	

A noter, huit souches (deux SHU et six DGS) ont été isolées dans le cadre d'une TIAC en septembre 2021.

La prévalence des EHEC la plus importante est retrouvée chez les enfants de moins de 15 ans (246 cas soit 54,9 %) et principalement dans la tranche d'âge de 1 à 5 ans (149 cas, soit 33,2 %) et les moins de 1 an (n = 55; 12,3 %). Au total 45,6% des patients avec recherche de EHEC positive ont 5 ans ou moins. Le sex-ratio (H/F) est de 0,89 tout âge confondu et de 0,84 pour les moins de 5 ans (**Figure 42**).

En 2021, quatre nouveau-nés ont eu une infection à EHEC dont deux compliquées d'un SHU et/ou d'un sepsis. Pour le premier, âgé de 21 jours, aucune source de contamination n'a été retrouvée mais son entourage avait également une PCR *stx* positive. Le second, âgé de 8 jours, s'est compliqué d'une méningite avec une PCR *stx* positive dans le LCR (EHEC O117:H7). Les deux derniers nouveau-nés (âgés de 9 et 28 jours) ont été atteints d'une DGS avec des épisodes diarrhéiques rapportés dans la famille sans aucun prélèvement réalisé dans l'entourage.

Figure 42. Classe d'âge et sexe des patients ayant une recherche de EHEC positive en 2021



Concernant les souches isolées, 279 souches de EHEC ont été isolées chez 275 patients et se répartissent en 47 sérogroupes dont trois sont majoritaires :

- O26 (n = 61) : 21,9 %
- O157 (n=45) : 16,1 %, qui après la baisse observée en 2020 est revenu au niveau des années précédentes
- O80 (n = 44) : 15,8 %

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

- **Enfants âgés de 0 à 5 ans** : 135 souches dont trois sérogroupes majoritaires :
 - o O26 (41 cas, soit 30,4 %)
 - o O80 (27 cas, soit 20,0 %)
 - o O157 (16 cas, soit 11,9 %)
- **Enfants âgés de 6 à 15 ans** : 33 souches isolées dont trois sérogroupes majoritaires :
 - o O157 (12 cas, soit 36,4 %)
 - o O26 (neuf cas, soit 27,2 %)
 - o O145 (deux cas, soit 6,1 %)
 - o **Aucune souche de O80** n'a été isolée dans cette tranche d'âge.
- **Patients de 16 à 65 ans** : 52 souches isolées dont trois sérogroupes majoritaires :
 - o O157 (11 cas, soit 21,2 %)
 - o O80 (sept cas, soit 13,5 %)
 - o O26 (six cas, soit 11,5 %)
- **Pour les patients de plus de 65 ans**, 59 souches isolées avec trois sérogroupes majoritaires :
 - o O80 (10 cas, soit 16,9 %)
 - o O157 (six cas, soit 10,2 %)
 - o O26 (cinq cas, soit 8,5 %)

Au total, nous notons que **la répartition du trio majeur O26, O80, O157 varie grandement selon l'âge**. O26 malgré sa forte prédominance chez le moins de 5 ans est en 3^{ème} place chez les 16 ans et plus. A l'inverse, O157 est retrouvé dans toutes les catégories d'âge, à l'exception des moins de 1 an.

Tous les résultats sont représentés dans le **Tableau 82**.

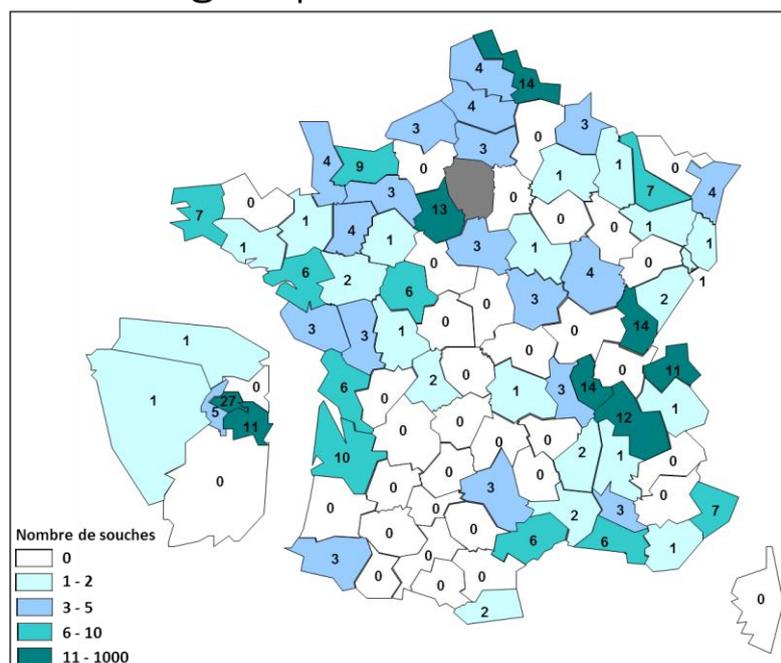
Tableau 82. Répartition des différents sérogroupes de EHEC (souches isolées) par classe d'âge et par sexe des patients en 2021

Sérogroupes	Tranches d'âge										Total général
	< 1 an		1-5 ans		6-15 ans		16-65 ans		> 65 ans		
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	
O26	3	4	17	17	4	5	3	3	4	1	61
O157		1	8	7	6	6	8	3	4	2	45
O80	5	2	13	7			3	4	3	7	44
O103	2	1	5	2			1		2	1	14
O146	2		1				1	1	4	1	10
O145		1	1	1	1	1		1	2	1	9
O177			4	2				2			8
O91				1	1	1	1		3	1	8
O55		2	1	2			1			1	7
O111	1			2			1	1			5
O128ac	2					2		1			5
ND	1						1		1	1	4
O166							2			1	3
O174								2	1		3
O176						1			1	1	3
O182			1					1	1		3
O5						1	1			1	3
O113							1		1		2
O121	1			1							2
O123/O186		1					1				2
O153								1		1	2
O153/O178									1	1	2
O156								1	1		2
O171							2				2
O181	1					1					2
O183	1							1			2
O28ab				2							2
O38		1	1								2
O45			1						1		2
O76	1								1		2
O8						1			1		2
O100									1		1
O112							1				1
O117		1									1
O118/O151									1		1
O12										1	1
O123				1							1
O128ab										1	1
O148								1			1
O150					1						1
O17/O44				1							1
O21		1									1
O23						1					1
O27							1				1
O69										1	1
O78										1	1
O79				1							1
Total général	20	15	53	47	13	20	29	23	34	25	279

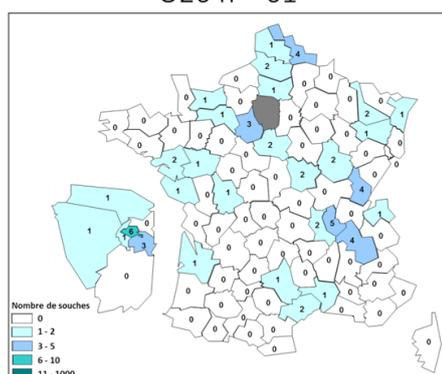
La répartition géographique des souches isolées en 2021 est indiquée sur la **Figure 43**. Les régions dans le nord-ouest et à l'est de la France sont celles avec la plus forte prévalence.

Figure 43. Répartition départementale des souches de EHEC isolées en 2021 (n = 279) sur le territoire français

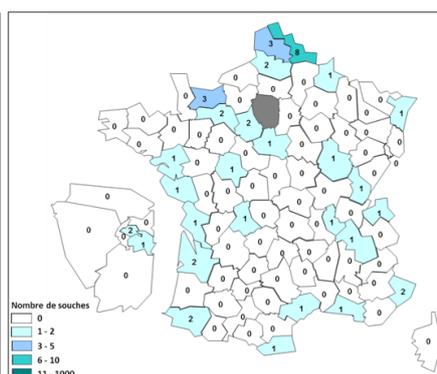
Tous sérogroupes confondus n = 279



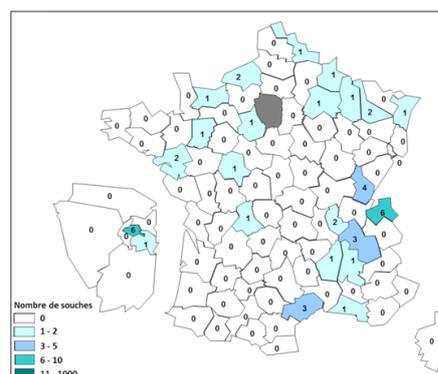
O26 n = 61



O157 n = 45



O80 n = 44



3.3.3.3 Résultats microbiologiques pour les cas de SHU pédiatriques en 2021

Parmi les 120 cas de SHU ou suspicion de SHU chez des patients de moins de 15 ans en 2021, l'étude microbiologique a donné les résultats suivants :

- Pour 83 enfants de moins de 15 ans, une souche de EHEC a été isolée appartenant à 17 sérogroupes dont les 3 principaux sont :
 - o O26 (32 cas, soit 38,6 %)
 - o O80 (21 cas, soit 25,3 %)
 - o O157 (huit cas, soit 9,6 %)
- Pour 37 patients, la PCR était positive dans les selles sans isolement de souche avec une PCR sérogroupage positive dans les selles permettant pour 11 cas d'incriminer possiblement les sérogroupes suivants : EHEC O26 (n = 5), EHEC O80 (n = 2), EHEC O121 (n = 2), EHEC O145 (n = 2).

Les patients étaient âgés en moyenne de 2,3 ans (Extrêmes : 21 jours à 11 ans) avec un sex- ratio H/F de 0,69.

3.3.3.4 Résultats microbiologiques pour les cas de SHU/MAT adultes en 2021

En 2021, pour 55 adultes atteints de SHU ou de MAT, la recherche de EHEC a été positive avec **35 souches de EHEC** isolées (pour 33 patients) et 22 PCR positives sans souche isolée. Un antécédent de transplantation solide (principalement rénale) était rapporté dans 7 cas/55.

- Les 35 souches isolées (pour 33 patients) appartenaient à 21 sérogroupes dont les principaux sont les suivants :
 - o O80 (sept cas, soit 20,0%)
 - o O91 (quatre cas, soit 11,4 %)
 - o O157 (trois cas, soit 8,6 %)
 - o O111 (deux cas, soit 5,7 %)

Le sérotype O80 apparaît donc comme, en 2020, le premier incriminé dans les SHU de l'adulte avec le sérotype O91.

- Pour **22 patients**, la **PCR était positive dans les selles sans isolement de souche** avec une PCR sérotypage positive dans les selles permettant pour huit cas d'incriminer possiblement les sérogroupes suivants : EHEC O26 (n = 3), EHEC O145 (n = 2), O80 (n = 1), O91 (n = 1) et O121 (n = 1).

Les patients adultes étaient âgés en moyenne de 60,3 ans avec un sex- ratio de 0,83.

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.

3.3.3.5 Bilan des caractéristiques épidémiologiques des infections à EHEC sur la période 2017-2021

Au cours de cette période, le CNR-ESS-LA a reçu 5 223 selles et la PCR *stx* était positive pour **2 235** des prélèvements (**42,8 %**). A partir de ces prélèvements positifs, 1 306 souches EHEC (58,4 %) ont été isolées. **Au total, 1 343 souches productrices de Shiga-toxine ont été caractérisées, dont 37 adressées par les laboratoires pour confirmation (n = 1 334 patients).**

Parmi ces souches de EHEC isolées, 1 175 se répartissent dans 16 sérogroupes comprenant au moins 10 isolats et 140 souches se distribuent au sein de différents sérogroupes (n < 10). Pour 28 souches, le sérotype n'a pas pu être déterminé, y compris par séquençage.

L'analyse de l'activité a été faite uniquement à partir des souches de EHEC isolées. Les caractéristiques démographiques, cliniques et microbiologiques des patients pour lesquelles une souche de EHEC a été isolée sont détaillées dans les paragraphes suivants.

3.3.3.5.1 Caractéristiques des patients ayant une souche EHEC isolée

De 2017 à 2021, 5 502 patients ont eu une demande de recherche de EHEC. La recherche de EHEC a été positive pour **1 334 de ces patients avec 1 343 souches isolées** (pour neuf patients, deux souches ont été isolées) soit 24,2 %. Les symptômes donnant lieu à la recherche de EHEC sont synthétisés dans le **Tableau 83**.

Tableau 83. Symptômes observés chez les patients (n = 1334) avec isolement de souches (n = 1343) (2017-2021)

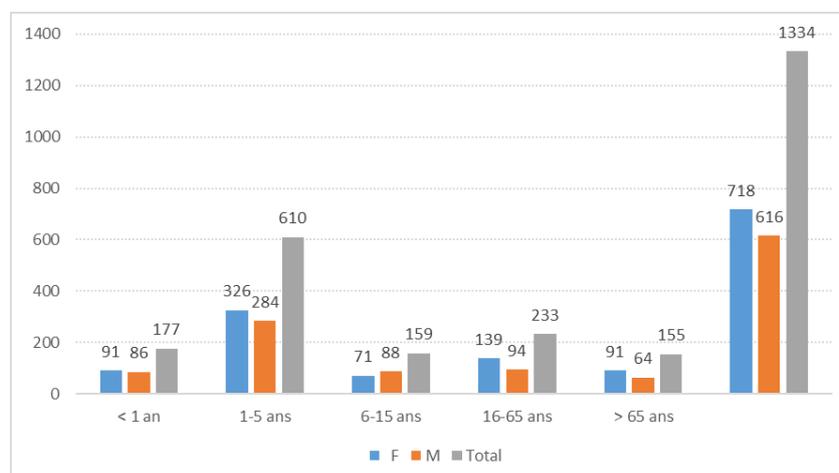
Symptomes	N	%
SHU / MAT	592	44,4
Diarrhée	368	27,6
Diarrhée glairo-sanglante	278	20,8
Cas contact	31	2,3
Non renseigné	19	1,4
Diarrhée chronique	15	1,1
Diarrhée chez immunodéprimé	7	0,5
Asymptomatique	7	0,5
Diarrhée de retour	6	0,4
Douleurs abdominales	5	0,4
Rectorragie	2	0,1
Dépistage systématique avant embauche en restauration	2	0,1
Pancolite	1	0,1
Essai clinique (porteur sain pour transplantation fécale)	1	0,1
Total	1334	100

592 patients atteints de SHU représentent 44,4 % des recherches positives de EHEC. Pour 659 patients (49 %), le symptôme indiqué était une diarrhée aiguë, dont près de la moitié était sanglante. Si 100 % des SHU étaient hospitalisés, 41,4 % des patients « non-SHU » étaient signalés comme hospitalisés.

Tout symptôme confondu, la prévalence la plus importante est retrouvée dans la tranche d'âge de 1 à 5 ans (45,8 % des patients). Une prévalence de 29 % est retrouvée chez les patients de plus de 16 ans, augmentation notable par rapport à la précédente mandature (20,7 %) et ce, probablement en lien avec une recherche de EHEC beaucoup plus fréquente chez les adultes depuis l'épidémie de 2011 qui avait touché principalement des adultes. (Figure 44).

Le sex-ratio F/M est de 0,85.

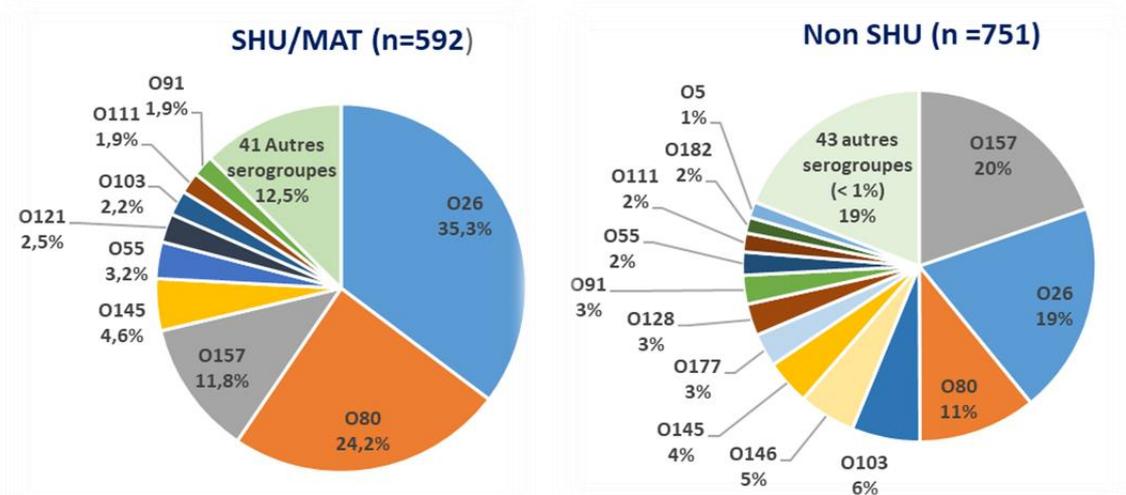
Figure 44. Classe d'âge et sexe des patients avec recherche de EHEC positive (2017-2021)



3.3.3.5.2 Distribution des sérogroupes selon la clinique et selon l'âge des patients

La prévalence des sérogroupes en fonction des symptômes (SHU vs Non SHU) est représentée dans la **Figure 45**.

Figure 45. Répartition des principaux sérogroupes de EHEC selon la clinique (SHU/Non SHU) (2017-2021)



Le pouvoir pathogène potentiel (capacité à induire une pathologie sévère) des neuf sérogroupes responsables de plus de 1 % des SHU a été évalué par le rapport entre le nombre de souches de ce sérogroupe associées à un SHU sur le nombre total de souches isolées de ce même sérogroupe et figure dans le **Tableau 84**.

Tableau 84. Pouvoir pathogène potentiel des différents sérogroupes des EHEC (2017-2021)

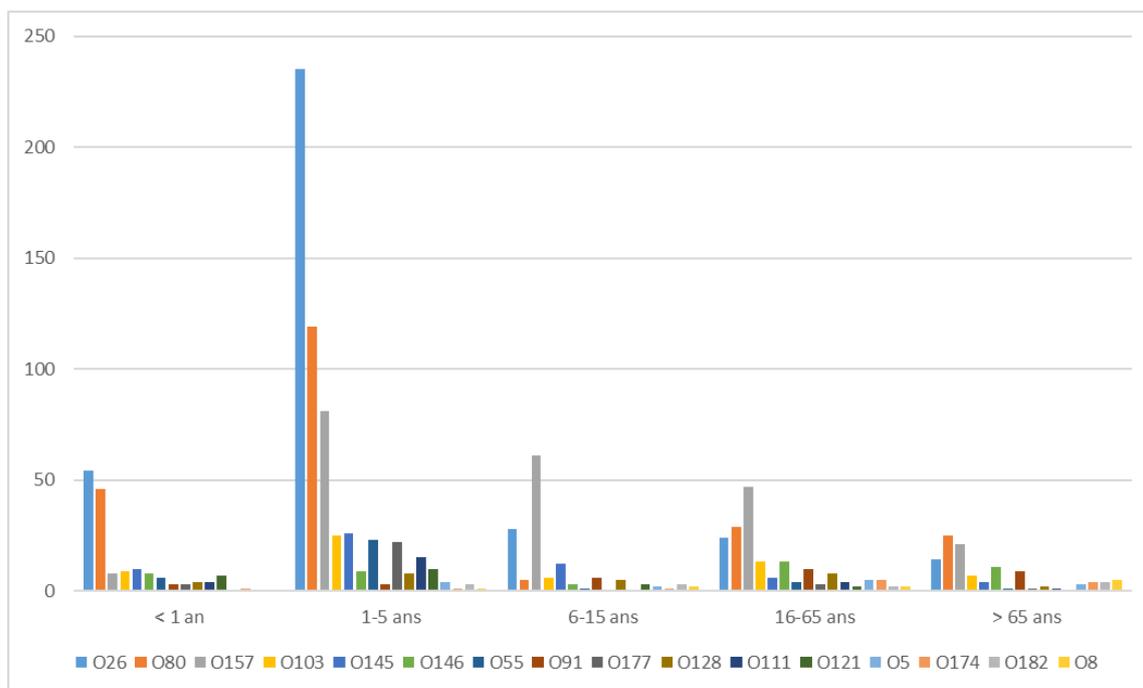
Sérogroupe	Prévalence %		Pouvoir pathogène potentiel (%)
	SHU (N=592)	Non SHU (N=751)	
O26	35,3	19,4	58,9
O80	24,2	10,8	63,8
O157	11,8	19,7	32,1
O145	4,6	4,1	46,6
O55	3,2	2,1	54,3
O121	2,5	0,9	68,2
O103	2,2	6,2	21,7
O91	1,9	2,6	45,8
O111	1,9	1,7	35,5

Quatre sérogroupes possèdent un pouvoir pathogène potentiel supérieur à 50 % avec dans l'ordre décroissant les O121, O80, O26 et O55. Le sérogroupe O55 ne fait pas partie habituellement du Top5 ou Top7 des souches responsables de SHU dans la littérature. Cette situation apparaît spécifique à la France avec la description récente d'un groupe clonal O55 probablement issu du groupe clonal O80 (cf infra).

Les sérogroupes O157 et O103 possèdent le pouvoir pathogène le plus faible, 32 et 21% respectivement. Ce faible pouvoir pathogène des souches O157 peut être mis en relation avec la baisse de leur prévalence sur ces 10 dernières années. A noter, que le sérogroupe O146 (n = 44) est le plus fréquemment identifié après les sérogroupes du Top7 mais n'a été responsable que de cinq SHU et présente donc un potentiel de pathogénicité, en termes de SHU, quasi nul.

Dans la tranche d'âge la plus atteinte (< 5 ans), les trois sérogroupes majeurs représentent 70,7% des souches avec dans l'ordre décroissant O26 : 38 %, O80 : 19 % et O157 : 13 % (**Figure 46**). Mais au-delà de cette tranche d'âge, c'est le sérogroupe O157 qui prédomine jusqu'à l'âge de 65 ans puis le O80 chez les personnes âgées.

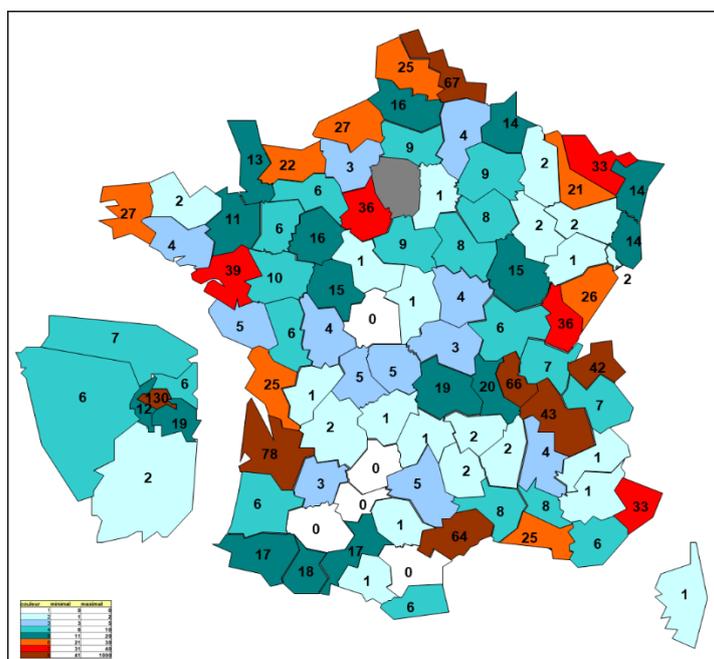
Figure 46. Répartition des sérogroupes par classe d'âge (2017-2021)



3.3.3.5.3 Répartition géographique

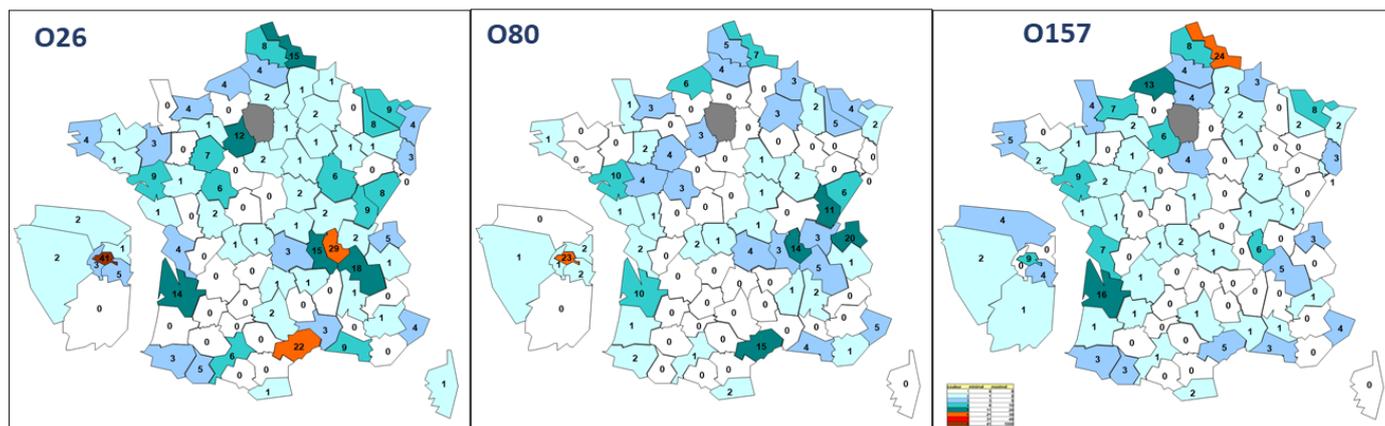
La répartition géographique par département des souches de EHEC isolées entre 2017 et 2021 est représentée dans la **Figure 47**. Six départements sont représentés par plus de 40 souches : Paris, la Gironde, le Nord, le Rhône, l'Isère et la Haute Savoie. Globalement les départements les plus pourvoyeurs d'infections à EHEC sont distribués, à l'exception de Paris et de l'Eure-et-Loir, sur le littoral et les frontières (excepté les Pyrénées).

Figure 47. Répartition géographique par département des souches de EHEC isolées entre 2017 et 2021, LA-RD



Alors que la répartition géographique des souches O26 et O80 est plutôt homogène, les souches O157 ont une plus forte prévalence dans la région Nord (**Figure 48**).

Figure 48. Répartition départementales des souches de sérogroupes O26, O80 et O157 EHEC isolées entre 2017 et 2021, LA-RD



3.3.3.6 Bilan des caractéristiques épidémiologiques des infections à ExPEC sur la période 2017-2021

3.3.3.6.1 ExPEC responsables de méningites

Au cours de la période 2017-2021, 76 souches responsables de méningites ont été reçues par le LA-RD, incluant 64 souches isolées chez l'enfant et 12 chez l'adulte.

- ✓ 61 souches ont été isolées chez des nouveau-nés âgés de moins de 3 mois (24 filles et 37 garçons):

La répartition des souches selon l'âge était habituelle avec une majorité de souches (n = 47) isolées durant la période néonatale (<28 jours, dont sept < 48h) et 14 souches isolées chez des nouveau-nés âgés d'un à 3 mois.

- ✓ Trois souches ont été isolées chez des enfants de plus de 3 mois (7 mois, 5 ans et 13 ans).

3.3.3.6.2 ExPEC hors méningites

177 souches de bactériémies ont été adressées au LA-RD en raison de tableaux cliniques particulièrement sévères ou inhabituels : choc septique grave, urosepsis maternel.

Ces bactériémies ont conduit à 28 décès (15 %). Quarante-trois pour cent sont survenues chez des adultes entre 16 et 65 ans, 30 % chez des adultes de plus de 65 ans et 27 % chez des enfants.

3.3.3.7 Surveillance de la résistance aux anti-infectieux en 2021 (LA-RD)

3.3.3.7.1 Sensibilité aux antibiotiques des souches de EHEC en 2021

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 279 souches de EHEC isolées en 2021, en particulier vis-à-vis des antibiotiques suivants :

- Bêta-lactamines : amoxicilline (AMX) et céfotaxime (CTX)
- 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.

Comme les années précédentes, les souches de EHEC appartenant au sérotype O157 sont globalement plus sensibles aux antibiotiques que les souches de EHEC non O157. La résistance combinée à l'amoxicilline, au cotrimoxazole, à la tétracycline et au chloramphénicol est en grande partie expliquée par les souches de EHEC O80:H2 porteuses d'un plasmide de résistance aux antibiotiques.

La prévalence de la résistance exprimée en pourcentage est indiquée dans le **Tableau 85**.

Tableau 85. Prévalence de la résistance (en %) aux antibiotiques des souches EHEC en 2021 (LA-RD)

% de Résistance	AMX	CTX	Aminosides	SXT	NAL	CIP
O157 (n = 45)	7,3 %	2,4%	4,9%	4,9%	2,4%	0%
Non O157 (n = 234)	30,5 %	0%	5,4%	25,6%	24,4%	0,4%

En raison des fortes concentrations intraluminales de l'azithromycine (AZM), les CMI AZM ont été déterminées vis-à-vis des souches isolées en 2021 par la méthode de l'E-test et figurent dans le **Tableau 86**. Aucune souche résistante à l'azithromycine n'a été détectée en 2021.

Tableau 86. CMI à l'azithromycine des souches EHEC isolées en 2021 au LA-RD

	CMI 50 (mg/L)	CMI 90 (mg/L)	Intervalle (mg/L)
O157 (n = 45)	4	6	2 – 6
Non O157 (n = 234)	4	6	2 – 8

3.3.3.7.2 Sensibilité aux antibiotiques des souches de ExPEC en 2021

La sensibilité des souches aux principales familles d'antibiotiques en particulier AMX, CFM, CTX, gentamicine (GEN), Nal et CIP a été étudiée par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA-SFM (**Tableau 87**).

Tableau 87. Prévalence de la résistance aux antibiotiques des souches ExPEC reçues en 2021 au LA-RD

	AMX	CFM	CTX	SXT	Nal	CIP
ExPEC méningites (n = 19)	52,6 %	10,5 %	10,5 %	6 %	10,5 %	10,5 %
ExPEC hors méningites (n = 65)	56,9 %	13,8 %	4,6 %	43 %	21,5 %	6,1 %

En 2021, quatre souches productrices de BLSE ont été isolées dont une responsable d'une méningite.

3.3.3.8 Surveillance de la résistance aux anti-infectieux sur la période 2017-2021 (LA-RD)

3.3.3.8.1 Sensibilité aux antibiotiques des souches de EHEC sur la période 2017-2021

Le LA-RD a étudié la sensibilité des 1 343 souches de EHEC isolées entre 2017 et 2021, en particulier vis-à-vis des antibiotiques suivants :

- Bêta-lactamines : amoxicilline (AMX) et céfotaxime (CTX)
- 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 de chaque année correspondante.

Parmi les 1 343 souches, 881 présentent une sensibilité à tous les antibiotiques testés, soit 65,6 % de souches. Les sérogroupes les plus sensibles aux antibiotiques sont O26 (n = 280), O157 (n = 199), O103 (n = 48), O145 (n = 47) et O146 (n = 43).

L'analyse de la résistance aux antibiotiques a été réalisée sur les sérogroupes O26, O80 et O157 (**Tableau 88**).

Tableau 88. Prévalence (%) de la résistance aux principaux antibiotiques exprimée en pourcentage pour les souches de sérogruppe O157, O26 et O80 (2017-2021)

Antibiotiques	% de résistance		
	Sérogruppe		
	O157 n=218	O26 n= 355	O80 n= 224
AMOXICILLINE	8,8	19,7	93,1
CEFOTAXIME	3,1	0	0,5
TOBRAMYCINE	1,9	0	11,3
GENTAMICINE	2,5	0	11,8
ACIDE NALIDIXIQUE	1,3	1,1	95,1
TMP-SULFAMETHOXAZOLE	5,6	3,4	90,6
CHLORAMPHENICOL	1,9	1,4	11,8
TETRACYCLINES	6,3	21,7	70,0

Les souches de EHEC O157 sont globalement plus sensibles aux antibiotiques que les souches de EHEC O26 et O80. La résistance combinée à l'amoxicilline, au cotrimoxazole, à la tétracycline et au chloramphénicol est en grande partie expliquée par les souches de EHEC O80:H2 porteuses d'un plasmide de résistance aux antibiotiques.

Pendant cette période, **neuf souches productrices de BLSE** ont été identifiées : un EHEC O80 chez un patient SHU, six EHEC O157 (deux SHU, deux DGS, deux diarrhées) et deux EHEC O55 (un SHU, un DGS).

Les CMI AZM ont été déterminées vis-à-vis des 1 343 souches isolées entre 2017 et 2021 par la méthode de l'E-test et figurent dans le **Tableau 89**.

Deux souches résistantes à l'azithromycine ont été détectées (>256 mg/L).

Tableau 89. Distribution des CMI (mg/L) de l'azithromycine pour les EHEC isolés entre 2017 et 2021

	CMI 50 (mg/L)	CMI 90 (mg/L)	Intervalle (mg/L)
Global (n = 1 343)	4	6	1,5 – > 256
O26 (n = 355)	4	6	1,5-32
O80 (n = 224)	4	6	1,5-32
O157 (n = 45)	4	4	2 – 32

3.3.3.8.2 Sensibilité aux antibiotiques des souches de ExPEC sur la période 2017-2021

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

La prévalence de la résistance aux antibiotiques des souches ExPEC exprimée en pourcentage est détaillée dans le **Tableau 90**.

Tableau 90. Prévalence (%) de la résistance aux principaux antibiotiques pour les ExPEC isolés entre 2017 et 2021

	% de résistance	
	Méningites n = 76	Hors méningites n = 333
Amoxicilline	48,7	54,4
Cefixime	9,2	8,7
C3G (CRO/CTX)	9,2	6,0
Cotrimoxazole	21,1	33,9
Ac. Nalidixique	15,8	21,3
Ciprofloxacine	10,5	8,4
Gentamicine	2,6	4,5

Au cours de cette période, trois souches productrices de BLSE ont été responsables de méningites (versus quatre dans la mandature précédente) et 15 souches productrices de BLSE (versus 26 dans la mandature précédente) ont été isolées dans les pathologies hors méningite avec une résistance associée aux quinolones et au cotrimoxazole.

3.3.4 Contribution à l'alerte

3.3.4.1 Investigation des cas groupés des EHEC entre 2017 et 2021

Les cas groupés à EHEC survenus au cours des cinq dernières années ont principalement été liés à la consommation de fromages au lait cru contaminés par des souches O26:H11 (source commune de contamination suspectée ou avérée). Au cours de cette période est également survenue la première épidémie française liée à une eau de baignade.

ANNEE 2017 :

Parmi les 26 investigations épidémiologiques menées autour de cas groupés par SpF en 2017, seule celle survenant dans le cadre d'une TIAC a permis l'identification de la source commune de contamination.

Toxi-infection alimentaire collective (TIAC) à EHEC O8:H9 et *Salmonella* : en octobre 2017 est survenue dans le Jura, une TIAC conduisant à 44 cas symptomatiques parmi les 150 convives d'une fête. Tous ont présenté une diarrhée sanglante et aucun cas de SHU n'a été signalé. Deux bactéries entéropathogènes ont été identifiées chez les malades : un EHEC de sérotype rare O8:H9 porteur d'une *Stx2e*, exceptionnellement impliqué chez l'Homme, et une *Salmonella* de sérotype 1,4,[5],12:i:- (variant monophasique de Typhimurium). Après investigation par SpF, l'aliment en cause a été identifié comme un dessert à base de gelée préparé sur place dans lequel les deux pathogènes ont été identifiés.

ANNEE 2018 :

Dix-sept investigations ont été menées par SpF en 2018 en lien avec des regroupements temporo-spatiaux de cas de SHU pédiatriques (n = 10), des cas de D/DGS dans l'entourage d'un SHU pédiatrique (n = 5) ou faisant suite à la mise en évidence d'un cluster par les données génomiques (n = 2). Parmi ces 17 investigations, trois ont permis l'identification d'une source de contamination commune comme la consommation de reblochon, issue d'un producteur différent entre les trois épisodes.

Cas groupés à EHEC O80:H2 : sept cas de diarrhée survenue dans l'entourage d'un SHU à EHEC O80:H2 (*stx2+*, *eae+*, *ehxA+*) ont été signalés à SpF. Les investigations ont permis d'identifier la consommation d'un reblochon issu d'un petit producteur comme source probable. Un signal O80 a été détecté dans les restes de ce fromage sans qu'aucune souche n'ait pu être isolée pour confirmation absolue. Par précaution, des mesures de gestion ont tout de même été mises en place au sein de la production.

Cas groupés de SHU à EHEC O26:H11 : début mai 2018, un cluster génomique de trois cas de SHU a été identifié en lien avec une souche EHEC O26:H11 (*stx2+*, *eae+*, *ehxA+*) appartenant au ST21 et au cgMLST HC5_65006.

Les investigations ont confirmé un lien épidémiologique entre les cas et la consommation de reblochons au lait cru fabriqués sur un même site de production. Un total de quinze cas, âgés de 1 à 5 ans, dont 12 confirmés et trois probables ont été identifiés, menant à 13 cas de SHU et deux cas de diarrhée (une diarrhée simple et une diarrhée sanglante). Tous les cas de SHU ont été hospitalisés et un enfant est décédé. Cette épidémie a touché la France entière avec des dates de début de symptômes des cas comprises entre le 26 février et le 18 mai 2018. La consommation de reblochon au lait cru fabriqué sur un même site de production a été rapportée par l'ensemble des cas. Quatre souches de STEC O26 appartenant au cluster épidémique ont été isolées sur les filtres à lait des fournisseurs de lait du producteur incriminé sans qu'aucune souche n'ait été identifiée dans le lait ou le produit final. Les investigations de traçabilité et vétérinaire menées par la Direction Générale de l'Alimentation et les Directions Départementales de la Protection des populations (DDPP) auprès du producteur ont conduit au retrait-rappel de l'ensemble des lots de reblochon fabriqués sur le site de production pendant la période compatible avec l'achat des produits rapportés par les familles de cas.

Second cas groupés de SHU à EHEC O26:H11 : deux cas groupés de SHU à EHEC O26:H11 (*stx2+*, *eae+*, *ehxA+*) résidant dans la même région ont été identifiés en décembre 2018. La consommation d'un même lot de reblochon au lait cru a été retrouvée, dans lequel la souche épidémiogène a été identifiée, conduisant à un retrait-rappel du lot en question.

ANNEE 2019 :

Dix-neuf investigations ont été conduites par SpF en 2019 en lien avec des regroupements temporo-spatiaux de cas de SHU pédiatriques (n = 9), des cas de D/DGS dans l'entourage d'un SHU pédiatrique (n = 6), faisant suite à la mise en évidence d'un cluster par les données génomiques (n = 3) ou à une récurrence de SHU (n = 1). Dans tous les cas, aucune source commune de contamination n'a pu être identifiée, à l'exception d'une épidémie liée à la consommation de Saint Félicien et Saint Marcellin au lait cru.

Cas groupés de SHU à EHEC O26:H11 : début avril 2019, un cluster génomique de cinq cas de SHU a été identifié en lien avec une souche EHEC O26:H11 (*stx2+*, *eae+*, *ehxA+*) appartenant au ST21 et au cgMLST HC5_75047.

Cette souche épidémique a finalement été identifiée chez 23 patients, 22 enfants (âge médian 22 mois) et un adulte, entre le 10 avril et le 8 septembre 2019. Parmi ces patients, 20 ont déclaré un SHU et trois, une diarrhée simple. Tous les cas de SHU ont été hospitalisés dont six avec des complications neurologiques. Une consommation de Saint Félicien et/ou de Saint Marcellin a été rapportée chez 15 cas par le cas lui-même (n = 11) ou par son entourage familial (n = 4). Un lien possible entre un producteur commun de ces fromages et l'achat de fromages issus de ce producteur a été établi par la traçabilité des achats (carte de fidélité) pour sept cas. Par précaution, les mesures de retrait-rappel ont été mises en place dès le 27 avril. Les investigations menées au sein du site de production n'ont pas permis d'identifier la souche épidémique et donc d'identifier formellement la source de contamination. Bien que ces fromages aient été exportés à l'étranger, aucun autre cas d'infections à EHEC O26 en lien avec l'épidémie n'a été rapporté.

ANNEE 2020 :

Dix-sept investigations ont été conduites par SpF en 2020 en lien avec des regroupements temporo-spatiaux de cas de SHU pédiatriques ou d'infections à STEC (n = 10), des cas de D/DGS dans l'entourage d'un SHU pédiatrique (n = 4), faisant suite à la mise en évidence d'un cluster par les données génomiques (n = 1) ou à des suspicions de TIAC à EHEC sans complication clinique (n = 2). Deux investigations ont permis d'émettre une hypothèse sur la source commune de contamination, en lien avec la consommation de fromage au lait cru et la baignade dans un lac d'eau douce (**Tableau 91**).

Cas groupés de SHU à EHEC O26:H11 : sept cas de SHU pédiatriques rapportant la consommation d'un même type de fromage au lait cru de vache ont été rapportés entre le 4 mai et le 22 juin 2020. Cinq cas ont été confirmés par l'isolement d'une même souche de EHEC O26:H11 (*stx2+* *eae+* *ehxA+*) appartenant au ST21 et au HC5_65006. Un seul établissement de fabrication a été identifié par la traçabilité des fromages sans qu'un lot commun soit néanmoins identifié.

Second cas groupés de SHU à EHEC O26:H11 : cinq cas de SHU ont été identifiés en juillet et août 2020 en lien avec la fréquentation d'une même plage et l'ingestion d'eau du lac et/ou de sable mouillé par les enfants sans autre exposition commune identifiée. Pour ces cinq cas, une souche de EHEC O26:H11 (*stx2+* *eae+* *ehxA+*) appartenant au ST21 et au HC5_65006 a été identifiée. Trente-huit prélèvements environnementaux (eau et sédiments) ont été réalisés entre le 10 août et le 2 septembre par l'ARS. Une souche de STEC non O26 et quatre souches de EPEC O26:H11 (*eae+* *stx* -) ont été identifiées, témoignant d'un risque de contamination de la zone de baignade par des souches pathogènes pour l'Homme. Ces résultats ont conduit à une fermeture administrative de la plage.

ANNEE 2021 :

Parmi les clusters génomiques identifiés en 2021, deux épisodes de cas groupés à EHEC O157:H7 ont été investigués par SpF.

Cas groupés de SHU et DGS à EHEC O157:H7 : la première épidémie, au mois de février/mars 2021, menant à cinq SHU et une DGS, a été confirmée par la mise en évidence d'un cluster génomique (HC5_157735), sans qu'aucune source de contamination n'ait pu être identifiée.

TIAC menant à des cas de DGS et SHU à EHEC O157:H7 : le 9 septembre 2021, l'ARS des Hauts-de-France était alerté, par un pédiatre d'un centre hospitalier de Lille et les services en charge de la restauration collective d'une commune de la métropole lilloise, de la survenue d'une dizaine de cas de gastro-entérite, dont quatre hospitalisés, chez des élèves, tous demi-pensionnaires fréquentant deux écoles primaires de cette commune. La survenue groupée dans le temps et l'espace, de plusieurs cas de gastro-entérite touchant des élèves ayant fréquenté des services de restauration collective desservis par une même cuisine centrale a très vite fait évoquer l'hypothèse d'une TIAC multi-sites. Le 13 septembre, deux enfants ont été hospitalisés pour SHU typique avec confirmation de la présence d'un EHEC dans les selles. **Au total, 35 cas** de gastro-entérite ont été recensés avec diarrhée glairo-sanglante et fièvre (>38°C) dans la moitié des cas. Dix cas ont été hospitalisés, dont deux enfants âgés de 9 et 10 ans, qui ont développé un SHU ayant nécessité plusieurs jours de prise en charge en réanimation et séances d'épuration extra-rénale (dialyse). Parmi les 31 cas primaires, 26 étaient des enfants demi-pensionnaires dans quatre établissements scolaires et cinq étaient des adultes bénéficiant du portage de repas à domicile préparés par la même cuisine centrale. Les sites de restauration collective des cas étaient tous approvisionnés par la cuisine centrale municipale suggérant l'existence d'une source commune de contamination. L'enquête microbiologique a permis de confirmer la présence d'une même souche de EHEC O157:H7 (*stx1 stx2 eae ehxA*) appartenant au ST11 et au HC2_111396, dans les coprocultures de huit cas, dont les deux enfants ayant développé un SHU, sur neuf cas ayant bénéficié de recherche de EHEC. Cette même souche a été identifiée dans la **salade de concombre**, incriminée par l'enquête épidémiologique. Une défaillance dans le processus de décontamination, associée à un épluchage incomplet des concombres contaminés, a été mise en évidence par l'enquête vétérinaire, contribuant à la survenue de cette TIAC.

Le **Tableau 91** synthétise les principaux cas groupés à EHEC en France et le **Tableau 92** énumère les alertes internationales à EHEC en 2021.

Tableau 91. Synthèse des principaux cas groupés d'infections à EHEC en France sur la période 2017-2021

Mois-Année	Sérotype de EHEC	Nombre de cas (SHU/décès)	Mode de contamination suspecté ou confirmé
Septembre 2021	O157:H7	35 (2/0)	Salade de concombre
Février-Mars 2021	O157:H7	6 (5/0)	-
Juillet-Aout 2020	O26:H11	5 (5/0)	Baignade dans un lac
Mai-Juin 2020	O26:H11	7 (7/0)	Fromage au lait cru
Avril-Septembre 2019	O26:H11	23 (20/0)	Fromage au lait cru (St Marcellin et/ou St Félicien)
2018	O80:H2	8 (1/0)	Fromage au lait cru (Reblochon)
Février-Mai 2018	O26:H11	15 (13/1)	Fromage au lait cru (Reblochon)
Décembre 2018	O26:H11	2 (2/0)	Fromage au lait cru (Reblochon)
Octobre 2017	O8:H9	44 (0/0)	TIAC (dessert de type gelée)

Tableau 92. Synthèse des alertes internationales de cas groupés d'infection à EHEC sur la période 2017-2021

EPIS Urgent Inquiry	Année	Créée par	STEC	HC5	Cas France
UI-400	2017	Allemagne	O103	Abs. Seq.	0
UI-428	2017	Royaume-Uni	O145	51153	0
UI-449	2017	Royaume-Uni	O157:H7	51131	0
UI-454	2017	Danemark	O63:H6	60054	0
UI-491	2018	Irlande	O157:H7	Abs. Seq.	0
UI-499	2018	Royaume-Uni	O157:H7	70533	0
UI-511	2018	Danemark	O111	74537	0
UI-515	2018	Danemark	O26:H11	75977	0
UI-528	2018	Royaume-Uni	O157:H7	16081	0
UI-549	2019	États-Unis/CDC	O103:H2	92890	0
UI-562	2019	Royaume-Uni	O157:H7	98077	0
UI-566	2019	Allemagne	O26:H11	Abs. Seq.	0
UI-567	2019	Autriche	O157:H7	Abs. Seq.	0
UI-575	2019	Danemark	O157:H7	Abs. Seq.	0
UI-585	2019	Royaume-Uni	O117:H7	53287	0
UI-596	2019	Norvège	O ? :H2	110989	0
UI-598	2019	Royaume-Uni	O157:H7	109194	0
UI-610	2019	Royaume-Uni	O26:H11	73277	0
UI-612	2019	Finlande	O26:H11	Abs. Seq.	0
UI-637	2020	Royaume-Uni	O157	118254	0
UI-640	2020	Allemagne	OgN3:H25	135946	0
UI-662	2020	Royaume-Uni	O157	143776	0
UI-683	2020	Royaume-Uni	O157	149567	0
UI-684	2020	Autriche	O146:H28	Abs. Seq.	0
UI-685	2020	Belgique	O145	136116	1
UI-686	2020	Finlande	O157	151004	0
UI-693	2020	Allemagne	O26:H11	152512	0
UI-717	2021	Pays-Bas	O26 :H11	160923	0
2021-FWD-00040	2021	Norvège	O157	171826	0
2021-FWD-00060	2021	Finlande	O103	175262	0
2021-FWD-00064	2021	Royaume-Uni	O26	144781	0
2021-FWD-00070	2021	Pays-Bas	O157	176778	0
2021-FWD-00080	2021	Belgique	O26	177396	0
2021-FWD-00081	2021	Belgique	O157	74816	0
EWRS	2021	Royaume-Uni	O157	168057	0
PFN_RSI_UK	2021	Royaume-Uni	O157	163050	0

3.3.4.2 Investigation des cas groupés des *E. coli* extra-intestinaux entre 2017 et 2021

Sur la période 2017-2021, aucun cas groupé impliquant des ExPEC n'a eu lieu.

4 LISTE DES PUBLICATIONS 2012-2021

4.1 PUBLICATIONS NATIONALES CNR-ESS ET LA-RD

1. Jourdan-Da Silva N, Le Hello S (2012). Salmonelloses en France, 2002-2010 : tendances en épidémiologie humaine, émergence de la souche monophasique, principaux aliments impliqués dans les dernières épidémies. *Bull Epidemiol Hebd.* HS: 25-29.
2. Madec J-Y, Haenni M, Jouy E, Granier S, Weill FX, Le Hello S (2012). Les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de dernières générations : de l'animal à l'Homme. *Bull Sant. Anim Alim.* 53: 37-39.
3. Guillon F, Chasset P, Le Hello S, Granier SA (2013). Investigation épidémiologique du premier foyer lié à *Salmonella* Kentucky hautement résistante aux fluoroquinolones détecté en élevage avicole en France. *Bull Sant. Anim Alim.* 201: 57.
4. Le Hello S (2014). *Salmonella* : une bactérie multi-résistante aux antibiotiques dans nos assiettes. *J Anti-Infect.* 16: 192-198.
5. Colomb-Cotinat M, Le Hello S, Rosières X, Lailler R, Weill FX, Jourdan-Da Silva N (2014). Salmonelloses chez des jeunes enfants et exposition aux reptiles domestiques : investigation en France métropolitaine en 2012. *Bull Epidemiol Hebd.* 1-2: 2-7
6. Colomb-Cotinat M, Le Hello S, Rosières X, Lailler R, Weill FX, Jourdan-Da Silva N (2014). Cas publiés de salmonelloses chez les jeunes enfants secondaires à une exposition aux reptiles : revue bibliographique 1993-2013. *Bull Epidemiol Hebd.* 1-2: 8-16
7. King L, Mariani-Kurkdjian P, Gouali M (2012). Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France. *Bull Sant. Anim Alim.* 50 : 29-30
8. Cohen R, Raymond J, Gendrel D, Bingen E (2012). Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique. *Escherichia coli*, un pathogène sous les feux des projecteurs. *Arch Pediatr.* 19 (S3): S77-79
9. Durrmeyer X, Cohen R, Bingen E, Aujard Y (2012). Stratégies thérapeutiques des méningites néonatales à *Escherichia coli*. *Arch Pediatr.* 19(S3): S140-144
10. Gaschignard J, Levy C, Bingen E, Cohen R (2012). Épidémiologie des méningites néonatales à *Escherichia coli*. *Arch Pediatr.* 19(S3): S129-134
11. Mariani-Kurkdjian P, Bingen E (2012). *Escherichia coli* O104:H4 : un pathotype hybride. *Arch Pediatr.* 19(S3): S97-100
12. Bidet P, Bonarcorsi S, Bingen E (2012). Facteurs de pathogénicité et physiopathologie des *Escherichia coli* extra-intestinaux. *Arch Pediatr.* 19(S3): S80-92
13. Loirat C, Mariani-Kurkdjian P, Fremeaux-Bacchi V (2013). Le syndrome hémolytique et urémique en 2013. *Arch Pediatr.* 20(8): 827-30
14. Gouali M, Weill FX (2013). Les *Escherichia coli* enterohémorragiques : des entérobactéries d'actualité. *Rev francoph lab.* 449(2): 44-49
15. Mariani-Kurkdjian P (2013). *Escherichia coli* producteurs de Shigatoxines. Médecine Thérapeutique Pédiatrique. *Progr Pédiatr.* 16: 4.
16. Gouali M, Weill FX (2013). Les *Escherichia coli* entérohémorragiques : des entérobactéries d'actualité. *Presse Med.* 42(1): 68-75.
17. Bassi C, Merle C, Fenières A, Le Hello S, Mélik N, Donguy M-P, Lailler R, Jourdan-Da Silva N (2013). Epidémie de salmonellose à *Salmonella* Typhimurium et sérotype 4,12:i:, Paris, Novembre 2012 à Février 2013. *Bull Epidemiol Hebd.* 11-12: 176-180.

18. Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S (2014). Diagnostic des infections à *Escherichia coli* entéro-hémorragiques. *Feuillets de Biologie*. 317.
19. Bonacorsi S (2014). Diagnostic des infections bactériennes intestinales. *REMIC*.
20. Weill FX, Le Hello S, Grimont PAD (2015). *Salmonella*. Actualités Permanentes en Bactériologie Clinique, 2ème ed. 2015, ESKA, Paris, Section VII, Chapitre 3, pp. 1-38.
21. Le Hello S & Weill FX (2015). Salmonelles et salmonelloses. In Esnouf, C., Fioramonti, J., Laurieux, B. *L'Alimentation à découvert*, CNRS Editions, p. 189.
22. Mariani-Kurkdjian P & Bonacorsi S (2016). Diagnostic des infections à *Escherichia coli* enterohémorragique. *Rev francoph lab*. 486: 45-52.
23. Van der Mee-Marquet N et le groupe de travail du Haut Conseil de Santé publique (Chéron G, Bonacorsi S, Bruyand M, King L, Le Goaster C, Loirat C, Mariani-Kurkdjian P, Pellane I, Vaillant V, Weill FX) (2016). Conduite à tenir en cas de gastroentérites à *Escherichia coli* enterohémorragique. *Rev francoph lab*. 486: 53-59.
24. Le Hello S (2016). *Enterobacteriaceae* (y compris *Yersinia*). In 3^e édition de bactériologie médicale. Techniques usuelles. Eds : Ploy M.C, Denis F.
25. Weill FX, Le Hello S et Grimont PAD (2018) *Salmonella*. In 3^e édition du Précis de bactériologie clinique. Eds : Riegel P, Favennec L, Paugam A, Pozetto B. Editions ESKA.
26. Vignaud ML, Noel V, Saussac M, Pardos de Gándara M, Amat JP, Moury F, Leclerc V, Leblanc JC, Lailier R, Danan C (2021). Approche combinée d'analyses de séries temporelles et génomiques / exemple de la détection d'une augmentation de la présence de *Salmonella* Goldcoast en filière avicole. *Bull Sant Anim Alim*. 92 : 1-6.

4.2 PUBLICATIONS INTERNATIONALES CNR-ESS ET LA-RD

1. Haase JK, Brown DJ, Weill FX, Mather H, Foster G, Brisse S, Wain J, Achtman M (2012). Population genetic structure of 4,12:a:- *Salmonella enterica* strains from harbor porpoises. *Appl Environ Microbiol*. 78(24): 8829-8833.
2. Kermas R, Touati A, Brasme L, Le Magrex-Debar E, Mehrane S, Weill FX, De Champs C (2012). Characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Salmonella enterica* serotype Brunei and Heidelberg at the Hussein Dey hospital in Algiers (Algeria). *Foodborne Pathog Dis*. 9(9): 803-808.
3. Le Hello S, Weill FX, Guibert V, Praud K, Cloeckart A, Doublet B (2012). Early strains of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Kentucky sequence type 198 from Southeast Asia harbor *Salmonella* genomic island 1-J variants with a novel insertion sequence. *Antimicrob Agents Chemother*. 56(10): 5096-5102.
4. Achtman M*, Wain J*, Weill FX*, Nair S*, Zhou Z, Sangal V, Krauland MG, Hale JL, Harbottle H, Uesbeck A, Dougan G, Harrison LH, Brisse S (2012). *S. enterica* MLST Study Group. Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in *Salmonella enterica*. *PLoS Pathog*. 8(6): e1002776. *co-premiers auteurs
5. Fabre L, Zhang J, Guigon G, Le Hello S, Guibert V, Accou-Demartin M, de Romans S, Lim C, Roux C, Passet V, Diancourt L, Guibourdenche M, Issenhuth-Jeanjean S, Achtman M, Brisse S, Sola C, Weill FX (2012). CRISPR typing and subtyping for improved laboratory surveillance of *Salmonella* infections. *PLoS One*. 7(5): e36995.
6. Boumart Z, Roche SM, Lalande F, Virlogeux-Payant I, Hennequet-Antier C, Menanteau P, Gabriel I, Weill FX, Velge P, Chemaly M (2012). Heterogeneity of persistence of *Salmonella enterica* serotype Senftenberg strains could explain the emergence of this serotype in poultry flocks. *PLoS One*. 7(4): e35782.

7. Le Hello S, Brisabois A, Accou-Demartin M, Josse A, Marault M, Francart S, Da Silva NJ, Weill FX (2012). Foodborne outbreak and nonmotile *Salmonella enterica* variant, France. *Emerg Infect Dis.* 18(1): 132-134.
8. Hendriksen RS, Le Hello S, Bortolaia V, Pulsrikarn C, Nielsen EM, Pornruangmong S, Chaichana P, Svendsen CA, Weill FX, Aarestrup FM (2012). Characterization of isolates of *Salmonella enterica* serovar Stanley, a serovar endemic to Asia and associated with travel. *J Clin Microbiol.* 50(3): 709-720.
9. Raguenaud ME, Le Hello S, Salah S, Weill FX, Brisabois A, Delmas G, Germonneau P (2012). Epidemiological and microbiological investigation of a large outbreak of monophasic *Salmonella* Typhimurium 4,5,12:i:- in schools associated with imported beef in Poitiers, France, October 2010. *Euro Surveill.* 17(40): 20289.
10. Gossner CM, van Cauteren D, Le Hello S, Weill FX, Terrien E, Tessier S, Janin C, Brisabois A, Dusch V, Vaillant V, Jourdan-da Silva N (2012). Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype 4,[5],12:i:- infection associated with consumption of dried pork sausage, France, November to December 2011. *Euro Surveill.* 17(5): 20071.
11. Holt KE, Baker S, Weill FX, Holmes EC, Kitchen A, Yu J, Sangal V, Brown DJ, Coia JE, Kim DW, Choi SY, Kim SH, da Silveira WD, Pickard DJ, Farrar JJ, Parkhill J, Dougan G, Thomson NR (2012). *Shigella sonnei* genome sequencing and phylogenetic analysis indicate recent global dissemination from Europe. *Nat Genet.* 44(9): 1056-1059.
12. King LA, Nogareda F, Weill FX, Mariani-Kurkdjian P, Loukiadis E, Gault G, Jourdan-DaSilva N, Bingen E, Macé M, Thevenot D, Ong N, Castor C, Noël H, Van Cauteren D, Charron M, Vaillant V, Aldabe B, Goulet V, Delmas G, Couturier E, Le Strat Y, Combe C, Delmas Y, Terrier F, Vendrely B, Rolland P, de Valk H (2012). Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 associated with organic fenugreek sprouts, France, June 2011. *Clin Infect Dis.* 54(11): 1588-1594.
13. Grad YH, Lipsitch M, Feldgarden M, Arachchi HM, Cerqueira GC, Fitzgerald M, Godfrey P, Haas BJ, Murphy CI, Russ C, Sykes S, Walker BJ, Wortman JR, Young S, Zeng Q, Abouelleil A, Bochicchio J, Chauvin S, Desmet T, Gujja S, McCowan C, Montmayeur A, Steelman S, Frimodt-Møller J, Petersen AM, Struve C, Krogfelt KA, Bingen E, Weill FX, Lander ES, Nusbaum C, Birren BW, Hung DT, Hanage WP (2012). Genomic epidemiology of the *Escherichia coli* O104:H4 outbreaks in Europe, 2011. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 109(8): 3065-3070.
14. Bargui F, D'Agostino I, Mariani-Kurkdjian P, Alberti C, Doit C, Bellier N, Morin L, Galli Gibertini G, Smail A, Zanin A, Lorrot M, Dauger S, Neve M, Faye A, Armoogum P, Bourrillon A, Bingen E, Mercier JC, Bonacorsi S, Nigrovic LE, Titomanlio L (2012). Factors influencing neurological outcome of children with bacterial meningitis at the emergency department. *Eur J Pediatr.* 171: 1365-1371.
15. Bingen E, Bidet P, Birgy A, Sobral E, Mariani P, Cohen R (2012). In vitro interaction between cefixime and amoxicillin-clavulanate against extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* causing urinary tract infection. *J Clin Microbiol.* 50: 2540-2541.
16. Grad YH, Lipsitch M, Griggs AD, Haas BJ, Shea TP, McCowan C, Montmayeur A, FitzGerald M, Wortman JR, Krogfelt KA, Bingen E, Weill FX, Tietze E, Flieger A, Lander ES, Nusbaum C, Birren BW, Hung DT, Hanage WP (2012). Reply to Guy *et al.*: Support for a bottleneck in the 2011 *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *Proc Natl Acad Sci USA.* 109: E3629-3630.
17. Jourdan-da Silva N, Watrin M, Weill FX, King LA, Gouali M, Mailles A, van Cauteren D, Bataille M, Guettier S, Castrale C, Henry P, Mariani P, Vaillant V, de Valk H (2012). Outbreak of haemolytic uraemic syndrome due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 among French tourists returning from Turkey, September 2011. *Euro Surveill.* 17(4): 20065.
18. Lemaître C, Bidet P, Bingen E, Bonacorsi S (2012). Transcriptional analysis of the *Escherichia coli* ColV-Ia plasmid pS88 during growth in human serum and urine. *BMC Microbiol.* 12: 115 .

19. Pouillot F, Chomton M, Blois H, Courroux C, Noelig J, Bidet P, Bingen E, Bonacorsi S (2012). Efficacy of bacteriophage therapy in experimental sepsis and meningitis caused by a clone O25b:H4-ST131 *Escherichia coli* strain producing CTX-M-15. *Antimicrob Agents Chemother.* 56: 3568-3575.
20. Kerouanton A, Rose V, Weill FX, Granier SA, Denis M (2013). Genetic diversity and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella enterica* serotype derby isolated from pigs, pork, and humans in France. *Foodborne Pathog Dis.* 10(11): 977-984.
21. Larsson JT, Torpdahl M, MLVA working group, Møller Nielsen E (2013). Proof-of-concept study for successful inter-laboratory comparison of MLVA results. *Euro Surveill.* 18(35): 20566.
22. Nadon CA, Trees E, Ng LK, Møller Nielsen E, Reimer A, Maxwell N, Kubota KA, Gerner-Smidt P, MLVA Harmonization Working Group (2013). Development and application of MLVA methods as a tool for inter-laboratory surveillance. *Euro Surveill.* 18(35): 20565.
23. Zając M, Wasyl D, Hoszowski A, Le Hello S, Szulowski K (2013). Genetic lineages of *Salmonella enterica* serovar Kentucky spreading in pet reptiles. *Vet Microbiol.* 166(3-4): 686-689.
24. Baucheron S, Le Hello S, Doublet B, Giraud E, Weill FX, Cloeckaert A (2013). *ramR* mutations affecting fluoroquinolone susceptibility in epidemic multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Kentucky ST198. *Front Microbiol.* 4: 213.
25. Le Hello S, Harrois D, Bouchrif B, Sontag L, Elhani D, Guibert V, Zerouali K, Weill FX (2013). Highly drug-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198-X1: a microbiological study. *Lancet Infect Dis.* 13(8): 672-679.
26. Lindstedt B, Torpdahl M, Vergnaud G, Le Hello S, Weill FX, Tietze E, Malorny B, Prendergast D, Ni Ghallchoir E, Lista R, Schouls L, Soderlund R, Borjesson S, Akerstrom S (2013). Use of multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) in eight European countries, 2012. *Euro Surveill.* 18(4): 20385.
27. David JM, Sanders P, Bemrah N, Granier S, Denis M, Weill FX, Guillemot D, Watier L (2013). Attribution of the French human Salmonellosis cases to the main food-sources according to the type of surveillance data. *Prev Vet Med.* 110(1): 12-27.
28. Harrois D, Breurec S, Seck A, Delauné A, Le Hello S, Pardos de la Gándara M, Sontag L, Perrier-Gros-Claude JD, Sire JM, Garin B, Weill FX (2013). Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing clinical *Salmonella enterica* isolates in Dakar, Senegal, from 1999 to 2009. *Clin Microbiol Infect.* 20(2): O109-116.
29. Tourdjman M, Le Hello S, Gossner C, Delmas G, Tubiana S, Fabre L, Kerleguer A, Tarantola A, Fruth A, Friesema I, Thorstensen Brandal L, Lawrence J, Fisher I, Dufour M, Weill FX, de Valk H (2013). Unusual increase in reported cases of paratyphoid A fever among travellers returning from Cambodia, January to September 2013. *Euro Surveill.* 18(39): 20594.
30. Le Hello S, Bekhit A, Granier SA, Barua H, Beutlich J, Zając M, Münch S, Sintchenko V, Bouchrif B, Fashae K, Pinsard JL, Sontag L, Fabre L, Garnier M, Guibert V, Howard P, Hendriksen RS, Christensen JP, Biswas PK, Cloeckaert A, Rabsch W, Wasyl D, Doublet B, Weill FX (2013). The global establishment of a highly-fluoroquinolone resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198 strain. *Front Microbiol.* 4: 395.
31. Nadon CA, Trees E, Ng LK, Møller Nielsen E, Reimer A, Maxwell N, Kubota KA, Gerner-Smidt P, MLVA Harmonization Working Group (2013). Development and application of MLVA methods as a tool for inter-laboratory surveillance. *Euro Surveill.* 18(35): 20565.
32. Sire JM, Garin B, Chartier L, Fall NK, Tall A, Seck A, Weill FX, Breurec S, Vray M (2013). Community-acquired infectious diarrhoea in children under 5 years of age in Dakar, Senegal. *Paediatr Int Child Health.* 33(3): 139-144.
33. Rahman MZ, Akter S, Azmuda N, Sultana M, Weill FX, Khan SI, Grimont PA, Birkeland NK (2013). Serological cross-reaction between O-antigens of *Shigella dysenteriae* type 4 and an environmental *Escherichia albertii* isolate. *Curr Microbiol.* 67(5): 590-595.

34. Sangal V, Holt KE, Yuan J, Brown DJ, Filliol-Toutain I, Weill FX, Kim DW, da Silveira WD, Pickard D, Thomson NR, Parkhill J, Yu J (2013). Global phylogeny of *Shigella sonnei* strains from limited single nucleotide polymorphisms (SNPs) and development of a rapid and cost-effective SNP-typing scheme for strain identification by high-resolution melting analysis. *J Clin Microbiol.* 51(1): 303-305.
35. Rosin P, Niskanen T, Palm D, Struelens M, Takkinen J, Shiga toxin-producing Escherichia coli Experts of European Union Food- and Waterborne Diseases and Zoonoses Network (2013). Laboratory preparedness for detection and monitoring of Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* O104:H4 in Europe and response to the 2011 outbreak. *Euro Surveill.* 18(25): 20508.
36. Grad YH, Godfrey P, Cerquiera GC, Mariani-Kurkdjian P, Gouali M, Bingen E, Shea TP, Haas BJ, Griggs A, Young S, Zeng Q, Lipsitch M, Waldor MK, Weill FX, Wortman JR, Hanage WP (2013). Comparative genomics of recent Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4: short-term evolution of an emerging pathogen. *MBio.* 4(1): e00452-12
37. Gouali M, Ruckly C, Carle I, Lejay-Collin M, Weill FX (2013). Evaluation of CHROMagar STEC and STEC O104 chromogenic agar media for detection of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* in stool specimens. *J Clin Microbiol.* 51(3): 894-900.
38. Rosin P, Niskanen T, Palm D, Struelens M, Takkinen J, Shiga toxin-producing Escherichia coli Experts of European Union Food- and Waterborne Diseases and Zoonoses Network (2013). Laboratory preparedness for detection and monitoring of Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* O104:H4 in Europe and response to the 2011 outbreak. *Euro Surveill.* 18(25): 20508.
39. Lemaître C, Mahjoub-Messai F, Dupont D, Caro V, Diancourt L, Bingen E, Bidet P, Bonacorsi S (2013). A conserved virulence plasmidic region contributes to the virulence of the multiresistant *Escherichia coli* meningitis strain S286 belonging to phylogenetic group C. *PLoS One.* 8(9): e74423.
40. Bingen E, Bidet P, D'humieres C, Sobral E, Mariani-Kurkdjian P, Cohen R (2013). In vitro interaction between cefepime and amoxicillin-clavulanate against extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 57(5): 2437-2439.
41. Birgy A, Mariani-Kurkdjian P, Bidet P, Doit C, Genel N, Courroux C, Arlet G, Bingen E (2013). Characterization of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* strains involved in maternal-fetal colonization: prevalence of *E. coli* ST131. *J Clin Microbiol.* 51(6): 1727-1732.
42. Barret AS, Charron M, Mariani-Kurkdjian P, Gouali M, Loukiadis E, Poinet-Leroux B, Godron A, Gault G, Faure M, Mailles A, group of investigators (2013). Shopper cards data and storage practices for the investigation of an outbreak of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* O157 infections. *Med Mal Infect.* 43(9): 368-373.
43. Madhi F, Biscardi S, Bingen E, Jaby O, Epaud R, Cohen R (2013). Combined relay therapy with oral cefixime and clavulanate for febrile urinary tract infection caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Pediatr Infect Dis J.* 32(1): 96-97.
44. Miko A, Delannoy S, Fach P, Strockbine NA, Lindstedt BA, Mariani-Kurkdjian P, Reetz J, Beutin L (2013). Genotypes and virulence characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104 strains from different origins and sources. *Int J Med Microbiol.* 303(8): 410-421.
45. Clermont O, Glodt J, Burdet C, Pognard D, Lefort A, Branger C, Denamur E, COLIBAFI Group Members (2013). Complexity of *Escherichia coli* bacteremia pathophysiology evidenced by comparison of isolates from blood and portal of entry within single patients. *Int J Med Microbiol.* 303(8): 529-532.
46. Jones G, Le Hello S, Jourdan-da Silva N, Vaillant V, de Valk H, Weill E, Le Strat Y (2014). The French human *Salmonella* surveillance system: evaluation of timeliness of laboratory reporting and factors associated with delays, 2007 to 2011. *Euro Surveill.* 19(1): 20664.

47. Zhou Z, McCann A, Weill FX, Blin C, Nair S, Wain J, Dougan G, Achtman M (2014). Transient Darwinian selection in *Salmonella enterica* serovar Paratyphi A during 450 years of global spread of enteric fever. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 111(33): 12199-12204.
48. Pedersen K, Sørensen G, Szabo I, Hächler H, Le Hello S (2014). Repeated isolation of *Salmonella enterica* Goverdhan, a very rare serovar, from Danish poultry surveillance samples. *Vet Microbiol*. 174(3-4): 596-599.
49. Issenhuth-Jeanjean S, Roggentin P, Mikoleit M, Guibourdenche M, de Pinna E, Nair S, Fields PI, Weill FX (2014). Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Res Microbiol*. 165(7): 526-530.
50. Ley B, Le Hello S, Lunguya O, Lejon V, Muyembe JJ, Weill FX, Jacobs J (2014). Invasive *Salmonella enterica* serotype Typhimurium infections, Democratic Republic of the Congo, 2007-2011. *Emerg Infect Dis*. 20(4): 701-704.
51. Gay N, Le Hello S, Weill FX, de Thoisy B, Berger F (2014). *Salmonella* serotypes in reptiles and humans, French Guiana. *Vet Microbiol*. 170(1-2): 167-171.
52. Fabre L, Le Hello S, Roux C, Issenhuth-Jeanjean S, Weill FX (2014). CRISPR is an optimal target for the design of specific PCR assays for *salmonella enterica* serotypes Typhi and Paratyphi A. *PLoS Negl Trop Dis*. 8(1): e2671.
53. Baucheron S, Monchaux I, Le Hello S, Weill FX, Cloeckaert A (2014). Lack of efflux mediated quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovars Typhi and Paratyphi A. *Front Microbiol*. 5: 12.
54. Compain F, Poisson A, Le Hello S, Branger C, Weill FX, Arlet G, Decré D (2014). Targeting relaxase genes for classification of the predominant plasmids in *Enterobacteriaceae*. *Int J Med Microbiol*. 304(3-4): 236-242.
55. Jones G, Le Hello S, Jourdan-da Silva N, Vaillant V, de Valk H, Weill FX, Le Strat Y (2014). The French human *Salmonella* surveillance system: evaluation of timeliness of laboratory reporting and factors associated with delays, 2007 to 2011. *Euro Surveill*. 19(1): 20664.
56. Jure MA, Duprilot M, Musa HE, Lopez C, de Castillo MC, Weill FX, Arlet G, Decre D (2014). Emergence of KPC-2-Producing *Salmonella* serotype Schwarzengrund in Argentina. *Antimicrob Agents Chemother*. 58 : 6335-6336.
57. Harrois D, Breurec S, Seck A, Delauné A, Le Hello S, Pardos de la Gándara M, Sontag L, Perrier-Gros-Claude JD, Sire JM, Garin B, Weill FX (2014). Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing clinical *Salmonella* isolates in Dakar, Senegal, from 1999 to 2009. *Clin Microbiol Infect*. 20: O109-116.
58. King LA, Loukiadis E, Mariani-Kurkdjian P, Haeghebaert S, Weill FX, Baliere C, Ganet S, Gouali M, Vaillant V, Pihier N, Callon H, Novo R, Gaillot O, Thevenot-Sergentet D, Bingen E, Chaud P, de Valk H (2014). Foodborne transmission of sorbitol-fermenting *Escherichia coli* O157 :[H7] via ground beef : an outbreak in northern France, 2011. *Clin Microbiol Infect* 20(12): O1136-1144.
59. Mariani-Kurkdjian P, Lemaître C, Bidet P, Perez D, Boggini L, Kwon T, Bonacorsi S (2014). Haemolytic-uraemic syndrome with bacteraemia caused by a new hybrid *Escherichia coli* pathotype. *New Microbes New Infect*. 2(4): 127-131.
60. Amara M, Bonacorsi S, Bedel J, Mira JP, Laurent V, Socha K, Bruneel F, Pangon B, Bédos JP, Grimaldi D (2014). Group A *Escherichia coli*-related purpura fulminans: an unusual manifestation due to an unusual strain? *J Clin Microbiol*. 52(12): 4404-4406.
61. Burdet C, Clermont, Bonacorsi S, Laouénan C, Bingen E, Aujard Y, Mentré F, Lefort A, Denamur E, COLIBAFI Group (2014). *Escherichia coli* bacteremia in children: age and portal of entry are the main predictors of severity. *Pediatr Infect Dis J*. 33(8): 872-879.

62. Surgers L, Bleibtreu A, Burdet C, Clermont O, Laouénan C, Lefort A, Mentré F, Carbonne B, Bingen E, Meynard JL, Denamur E, COLIBAFI Group (2014). *Escherichia coli* bacteraemia in pregnant women is life-threatening for foetuses. *Clin Microbiol Infect.* 20(12): O1035-1041.
63. Roubaud Baudron C, Panhard X, Clermont O, Mentré F, Fantin B, Denamur E, Lefort A, COLIBAFI Group (2014). *Escherichia coli* bacteraemia in adults: age-related differences in clinical and bacteriological characteristics, and outcome. *Epidemiol Infect.* 142(12): 2672-2683.
64. Lemaître C, Bidet P, Benoist JF, Schlemmer D, Sobral E, d'Humières C, Bonacorsi S (2014). The *ssbL* gene harbored by the ColV plasmid of an *Escherichia coli* neonatal meningitis strain is an auxiliary virulence factor boosting the production of siderophores through the shikimate pathway. *J Bacteriol.* 196(7): 1343-1349.
65. Bidet P, Plainvert C, Bonacorsi S (2014). *Escherichia coli* "O45:K1:H7-B2-ST95" harbor an O-antigen cross reacting with reference antigen O45 that should be designated O45S88. *Vet Microbiol.* 168(2-4): 459.
66. Gossner CM, de Jong B, Hoebe CJ, Coulombier D; European Food and Waterborne Diseases Study Group (2015). Event-based surveillance of food- and waterborne diseases in Europe: urgent inquiries (outbreak alerts) during 2008 to 2013. *Euro Surveill.* 20(25): 19-28.
67. Yue M, Han X, De Masi L, Zhu C, Ma X, Zhang J, Wu R, Schmieder R, Kaushik RS, Fraser GP, Zhao S, McDermott PF, Weill FX, Mainil JG, Arze C, Fricke WF, Edwards RA, Brisson D, Zhang NR, Rankin SC, Schifferli DM (2015). Allelic variation contributes to bacterial host specificity. *Nat Commun.* 6: 8754.
68. Zhu C, Yue M, Rankin S, Weill FX, Frey J, Schifferli DM (2015). One-Step identification of five prominent chicken *Salmonella* serovars and biotypes. *J Clin Microbiol.* 53(12): 3881-3883.
69. Ktari S, Le Hello S, Ksibi B, Courdavault L, Mnif B, Maalej S, Fabre L, Hammami A, Weill FX (2015). Carbapenemase-producing *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198, North Africa. *J Antimicrob Chemother.* 70(12): 3405-3407.
70. Van Cauteren D, De Valk H, Sommen C, King LA, Jourdan-Da Silva N, Weill FX, Le Hello S, Mégraud F, Vaillant V, Desenclos JC (2015). Community Incidence of Campylobacteriosis and Nontyphoidal Salmonellosis, France, 2008-2013. *Foodborne Pathog Dis.* 12(8): 664-669.
71. Le Hello S, Maillard F, Mallet HP, Daudens E, Levy M, Roy V, Branaa P, Bertrand S, Fabre L, Weill FX (2015). *Salmonella enterica* serotype Enteritidis in French Polynesia, South Pacific, 2008-2013. *Emerg Infect Dis.* 21(6): 1045-1048.
72. Sola C, Abadia E, Le Hello S, Weill FX (2015). High-Throughput CRISPR typing of Mycobacterium tuberculosis Complex and *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Methods Mol Biol.* 1311: 91-109.
73. Wong VK, Baker S, Pickard DJ, Parkhill J, Page AJ, Feasey NA, Kingsley RA, Thomson NR, Keane JA, Weill FX, Edwards DJ, Hawkey J, Harris SR, Mather AE, Cain AK, Hadfield J, Hart PJ, Thieu NT, Klemm EJ, Glinos DA, Breiman RF, Watson CH, Kariuki S, Gordon MA, Heyderman RS, Okoro C, Jacobs J, Lunguya O, Edmunds WJ, Msefula C, Chabalgoity JA, Kama M, Jenkins K, Dutta S, Marks F, Campos J, Thompson C, Obaro S, MacLennan CA, Dolecek C, Keddy KH, Smith AM, Parry CM, Karkey A, Mulholland EK, Campbell JI, Dongol S, Basnyat B, Dufour M, Bandaranayake D, Naseri TT, Singh SP, Hatta M, Newton P, Onsare RS, Isaia L, Dance D, Davong V, Thwaites G, Wijedoru L, Crump JA, De Pinna E, Nair S, Nilles EJ, Thanh DP, Turner P, Soeng S, Valcanis M, Powling J, Dimovski K, Hogg G, Farrar J, Holt KE, Dougan G (2015) Phylogeographical analysis of the dominant multidrug-resistant H58 clade of *Salmonella Typhi* identifies inter- and intracontinental transmission events. *Nat Genet.* 47(6): 632-639.
74. Baltazar M, Ngandjio A, Holt KE, Lepillet E, Pardos de la Gándara M, Collard JM, Bercion R, Nzouankeu A, Le Hello S, Dougan G, Fonkoua MC, Weill FX (2015). Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhi, Gulf of Guinea Region, Africa. *Emerg Infect Dis.* 21(4): 655-659.
75. Gray MD, Lacher DW, Leonard SR, Abbott J, Zhao S, Lampel KA, Prothery E, Gouali M, Weill FX, Maurelli AT (2015). Prevalence of Shiga toxin-producing *Shigella* species isolated from French travellers returning from the Caribbean: an emerging pathogen with international implications. *Clin Microbiol Infect.* 21(8): 765.

76. Connor TR, Barker CR, Baker KS, Weill FX, Talukder KA, Smith AM, Baker S, Gouali M, Pham Thanh D, Jahan Azmi I, Dias da Silveira W, Semmler T, Wieler LH, Jenkins C, Cravioto A, Faruque SM, Parkhill J, Wook Kim D, Keddy KH, Thomson NR (2015). Species-wide whole genome sequencing reveals historical global spread and recent local persistence in *Shigella flexneri*. *Elife* 4: e07335
77. Rossi O, Baker KS, Phalipon A, Weill FX, Citiulo F, Sansonetti P, Gerke C, Thomson NR (2015). Draft genomes of *Shigella* strains used by the STOPENTERICS consortium. *Gut Pathog.* 7: 14.
78. Baker KS, Dallman TJ, Ashton PM, Day M, Hughes G, Crook PD, Gilbert VL, Zittermann S, Allen VG, Howden BP, Tomita T, Valcanis M, Harris SR, Connor TR, Sintchenko V, Howard P, Brown JD, Petty NK, Gouali M, Thanh DP, Keddy KH, Smith AM, Talukder KA, Faruque SM, Parkhill J, Baker S, Weill FX, Jenkins C, Thomson NR (2015). Intercontinental dissemination of azithromycin-resistant shigellosis through sexual transmission: a cross-sectional study. *Lancet Infect Dis.* 15(8): 913-921.
79. Mazi W, Sangal V, Saeed A, Sandstrom G, Weill FX, Yu J (2015). Rapid Genotyping of *Shigella sonnei* by Use of Multiplex High-Resolution Melting. *J Clin Microbiol.* 53(7): 2389-2391.
80. Guillard T, Limelette A, Le Magrex-Debar E, Wynckel A, Gouali M, Mariani-Kurkdjian P, Guyot-Colosio C, de Champs C (2015). Fatal case of hemolytic-uremic syndrome in an adult due to a rare serogroup O91 enterohemorrhagic *Escherichia coli* associated with a *Clostridium difficile* infection. More than meets the eye. *Int J Infect Dis.* 37: 113-114.
81. Langendorf C*, Le Hello S*, Moumouni A, Gouali M, Mamaty AA, Grais RF, Weill FX*, Page AL* (2015). Enteric bacterial pathogens in children with diarrhea in Niger: diversity and antimicrobial resistance. *PLoS One.* 10(3): e0120275. *contribution équivalente
82. Balière C, Rincé A, Blanco J, Dahbi G, Harel J, Vogeleer P, Giard JC, Mariani-Kurkdjian P, Gourmelon M (2015). Prevalence and characterization of Shiga Toxin-producing and enteropathogenic *Escherichia coli* in shellfish-harvesting areas and their watersheds. *Front Microbiol.* 6: 1356.
83. Delannoy S, Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S, Liguori S, Ison SA, Fach P (2015). Draft genome sequences of human-pathogenic *Escherichia coli* O26:H11 strains carrying the stx2 gene only and circulating in France. *Genome Announc.* 3(4): e00852-15.
84. Bonanno L, Loukiadis E, Mariani-Kurkdjian P, Oswald E, Garnier L, Michel V, Auvray F (2015). Diversity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O26:H11 strains examined via stx subtypes and insertion sites of Stx and EspK bacteriophages. *Appl Environ Microbiol.* 81(11): 3712-3721.
85. Galia W, Mariani-Kurkdjian P, Loukiadis E, Blanquet-Diot S, Leriche F, Brugère H, Shima A, Oswald E, Cournoyer B, Thevenot-Sergentet D (2015). Genome sequence and annotation of a human infection isolate of *Escherichia coli* O26:H11 involved in a raw milk cheese outbreak. *Genome Announc.* 3(1): e01568-14.
86. Delannoy S, Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S, Liguori S, Fach P (2015). Characteristics of emerging human-pathogenic *Escherichia coli* O26:H11 strains isolated in France between 2010 and 2013 and carrying the stx2d gene only. *J Clin Microbiol.* 53(2): 486-492.
87. Gallois C, Hauw-Berlemont C, Richaud C, Bonacorsi S, Diehl JL, Mainardi JL (2015). Fatal necrotizing fasciitis due to necrotic toxin-producing *Escherichia coli* strain. *New Microbes New Infect.* 8: 109-112.
88. Lopes AA, Champion V, Bonacorsi S, Mitanchez D (2015). Livedo Reticularis: A presenting sign of *Escherichia Coli* sepsis in a newborn. *Fetal Pediatr Pathol.* 34(5): 282-286.
89. Hogan J, Mahjoub F, Larakeb AS, Vu Thien H, Hosany A, Bensman A, Grimprel E, Bingen E, Bonacorsi S, Uliński T (2015). *Escherichia coli* virulence patterns may help to predict vesicoureteral reflux in paediatric urinary tract infections. *Acta Paediatr.* 104(10): e460-5.
90. Basmaci R, Bonacorsi S, Bidet P, Biran V, Aujard Y, Bingen E, Béchet S, Cohen R, Levy C (2015). *Escherichia coli* meningitis features in 325 children from 2001 to 2013 in France. *Clin Infect Dis.* 61(5): 779-786.

91. Kuijpers L*, [Le Hello S*](#), [Fawal N](#), [Fabre L](#), Tourdjman M, Dufour M, Sar D, Kham C, Phe T, Vlieghe E, Bouchier C, Jacobs J, [Weill FX](#) (2016). Genomic analysis of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi A during an outbreak in Cambodia, 2013-2014. *Microb Genom.* 2(11): e000092. *contribution équivalente
92. Duchêne S, Holt E, [Weill FX](#), [Le Hello S](#), Hawkey J, Edwards DJ, Fourment M, Holmes EC. (2016). Genome-scale rates of evolutionary change in bacteria. *Microb Genom.* 2(11): e000094.
93. Dallman T, Inns T, Jombart T, Ashton P, Loman N, Chatt C, Messelhaeusser U, Rabsch W, Simon S, Nikisins S, Bernard H, [Le Hello S](#), Jourdan da-Silva N, Kornschöber C, Mossong J, Hawkey P, de Pinna E, Grant K, Cleary P (2016). Phylogenetic structure of European wide *Salmonella* Enteritidis outbreak correlates with national and international egg distribution network. *Microb Genom.* 2(8): e000070.
94. Wong VK, Baker S, Connor TR, Pickard D, Page AJ, Dave J, Murphy N, Holliman R, Sefton A, Millar M, Dyson ZA, Dougan G, Holt KE, [International Typhoid Consortium](#) (2016). An extended genotyping framework for *Salmonella enterica* serovar Typhi, the cause of human typhoid. *Nat Commun.* 7: 12827.
95. [International Typhoid Consortium](#), Wong VK, Holt KE, Okoro C, Baker S, Pickard DJ, Marks F, Page AJ, Olanipekun G, Munir H, Alter R, Fey PD, Feasey NA, [Weill FX](#), [Le Hello S](#), Hart PJ, Kariuki S, Breiman RF, Gordon MA, Heyderman RS, Jacobs J, Lunguya O, Msefula C, MacLennan CA, Keddy KH, Smith AM, Onsare RS, De Pinna E, Nair S, Amos B, Dougan G, Obaro S (2016). Molecular surveillance identifies multiple transmissions of typhoid in West Africa. *PLoS Negl Trop Dis.* 10(9): e0004781.
96. Baker KS, Dallman TJ, Behar A, [Weill FX](#), [Gouali M](#), Sobel J, Fookes M, Valinsky L, Gal-Mor O, Connor TR, Nissan I, Bertrand S, Parkhill J, Jenkins C, Cohen D, Thomson NR (2016). Travel- and community-based transmission of multidrug-resistant *Shigella sonnei* lineage among international Orthodox Jewish Communities. *Emerg Infect Dis.* 22(9): 1545-1553.
97. Connor TR, Owen SV, Langridge G, Connell S, Nair S, Reuter S, Dallman TJ, Corander J, Tabing KC, [Le Hello S](#), Fookes M, Doublet B, Zhou Z, Feltwell T, Ellington MJ, Herrera S, Gilmour M, Cloeckart A, Achtman M, Parkhill J, Wain J, De Pinna E, [Weill FX](#), Peters T, Thomson N (2016). What's in a name? Species-wide whole-genome sequencing resolves invasive and noninvasive lineages of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B. *MBio.* 7(4): e00527-16.
98. Jones G, Pihier N, Vanbockstael C, [Le Hello S](#), Cadel-Six S, Fournet N, Jourdan-da Silva N, (2016). Outbreak of *Salmonella Enteritidis* linked to the consumption of frozen beefburgers received from a food bank and originating from Poland: northern France, December 2014 to April 2015. *Euro Surveill.* 21(40): 30363
99. Feasey NA, Hadfield J, Keddy KH, Dallman TJ, Jacobs J, Deng X, Wigley P, Barquist Barquist L, Langridge GC, Feltwell T, Harris SR, Mather AE, Fookes M, Aslett M, Msefula C, Kariuki S, MacLennan CA, Onsare RS, [Weill FX](#), [Le Hello S](#), Smith AM, McClelland M, Desai P, Parry CM, Cheesbrough J, French N, Campos J, Chabalgoity JA, Betancor L, Hopkins KL, Nair S, Humphrey TJ, Lunguya O, Cogan TA, Tapia MD, Sow SO, Tennant SM, Bornstein K, Levine MM, Lacharme-Lora L, Everett DB, Kingsley RA, Parkhill J, Heyderman RS, Dougan G, Gordon MA, Thomson NR (2016). Distinct *Salmonella* Enteritidis lineages associated with enterocolitis in high-income settings and invasive disease in low-income settings. *Nat Genet.* 48(10): 1211-1217.
100. Leekitcharoenphon P, Raufu I, Nielsen MT, Rosenqvist Lund BS, Ameh JA, Ambali AG, Sørensen G, [Le Hello S](#), Aarestrup FM, Hendriksen RS (2016). Investigating *Salmonella* Eko from various sources in Nigeria by whole genome sequencing to identify the source of human infections. *PLoS One.* 11(5): e0156212.
101. Bale J, Meunier D, [Weill FX](#), dePinna E, Peters T, Nair S (2016). Characterisation of new *Salmonella* serovars by whole genome sequencing and traditional typing techniques. *J. Med. Microbiol.* 65(10): 1074-1078.

102. Njamkepo E, Fawal N, Tran-Dien A, Hawkey J, Strockbine N, Jenkins C, Talukder KA, Bercion R, Kuleshov K, Kolínská R, Russell JE, Kaftyreva L, Accou-Demartin M, Karas A, Vandenberg O, Mather AE, Mason CJ, Page AJ, Ramamurthy T, Bizet C, Gamian A, Carle I, Sow AG, Bouchier C, Wester AL, Lejay-Collin M, Fonkoua MC, Le Hello S, Blaser MJ, Jernberg C, Ruckly C, Mérens A, Page AL, Aslett M, Roggentin P, Fruth A, Denamur E, Venkatesan M, Bercovier H, Bodhidatta L, Chiou CS, Clermont D, Colonna B, Egorova S, Pazhani GP, Ezernitchi AV, Guigon G, Harris SR, Izumiya H, Korzeniowska-Kowal A, Lutyńska A, Gouali M, Grimont F, Langendorf C, Marejková M, Peterson LA, Perez-Perez G, Ngandjio A, Podkolzin A, Souche E, Makarova M, Shipulin GA, Ye C, Žemličková H, Herpay M, Grimont PA, Parkhill J, Sansonetti P, Holt KE, Brisse S, Thomson NR, Weill FX (2016). Global phylogeography and evolutionary history of *Shigella dysenteriae* type 1. *Nat. Microbiol.* 1: 16027.
103. Soysal N, Mariani-Kurkdjian P, Smail Y, Liguori S, Gouali M, Loukiadis E, Fach P, Bruyand M, Blanco J, Bidet P, Bonacorsi S (2016). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* hybrid pathotype O80:H2 as a new therapeutic challenge. *Emerg Infect Dis.* 22(9): 1604-1612.
104. Leekitcharoenphon P, Hendriksen RS, Le Hello S, Weill FX, Baggesen DL, Jun SR, Ussery DW, Lund O, Crook DW, Wilson DJ, Aarestrup FM (2016). Global genomic epidemiology of *Salmonella Typhimurium* DT104. *Appl Environ Microbiol.* 82(8): 2516-2526.
105. Makendi C, Page AJ, Wren BW, Le Thi Phuong T, Clare S, Hale C, Goulding D, Klemm EJ, Pickard D, Okoro C, Hunt M, Thompson CN, Phu Huong Lan N, Tran Do Hoang N, Thwaites GE, Le Hello S, Brisabois A, Weill FX, Baker S, Dougan G (2016). A phylogenetic and phenotypic analysis of *Salmonella enterica* serovar Weltevreden, an emerging agent of diarrheal disease in tropical regions. *PLoS Negl Trop Dis.* 10(2): e0004446.
106. Commereuc M, Weill FX, Loukiadis E, Gouali M, Gleizal A, Kormann R, Ridel C, Frémeaux-Bacchi V, Rondeau E, Hertig A (2016). Recurrent hemolytic and uremic syndrome induced by *Escherichia coli*. *Medicine (Baltimore).* 95(1): e2050.
107. Jost C, Bidet P, Carrère T, Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S (2016). Susceptibility of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* to azithromycin in France and analysis of resistance mechanisms. *J Antimicrob Chemother.* 71(5): 1183-1187.
108. Douëllou T, Delannoy S, Ganet S, Mariani-Kurkdjian P, Fach P, Loukiadis E, Montel M, Thevenot-Sergentet D (2016). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from dairy products - Genetic diversity and virulence gene profiles. *Int. J. Food Microbiol.* 232:52-62
109. Birgy A, Levy C, Bidet P, Thollot F, Derkx V, Béchet S, Mariani-Kurkdjian P, Cohen R, Bonacorsi S (2016). ESBL-producing *Escherichia coli* ST131 versus non-ST131: evolution and risk factors of carriage among French children in the community between 2010 and 2015. *J Antimicrob Chemother.* 71(10): 2949-2956.
110. Gossner* CM, Le Hello S*, de Jong B, Rolfhamre P, Faensen D, Weill FX, Giesecke J (2017). Around the world in 1475 *Salmonella* geo-serotypes. *Emerg Infect Dis.* 22(7): 1298-1302.
111. Fonteneau L, Jourdan Da Silva N, Fabre L, Ashton P, Torpdahl M, Bouchrif B, El Boulani A, Valkanou E, Mattheus W, Friesema I, Varela Martínez C, Herrera Leon S, Mossong J, Severi E, Grant K, Weill FX, Gossner CM, Bertrand S, Dallman T, Le Hello S (2017). *Salmonella* Chester multinational outbreak linked to travel exposures in Morocco, summer 2014 – 2015. *Euro Surveill.* 22(7): 30463.
112. Peters T, Bertrand S, Björkman JT, Brandal LT, Brown DJ, Erdösi T, Heck M, Ibrahim S, Johansson K, Kornschöber C, Kotila SM, Le Hello S, Lienemann T, Mattheus W, Nielsen EM, Ragimbeau C, Rumore J, Sabol A, Torpdahl M, Trees E, Tuohy A, de Pinna E (2017). Multi-laboratory validation study of multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) for *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, 2015. *Euro Surveill.* 22(9): 30477.
113. Vignaud ML, Cherchame E, Marault M, Chaing E, Le Hello S, Michel V, Jourdan-Da Silva N, Lailier R, Brisabois A, Cadel-Six S (2017). MLVA for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Dublin: Development of a method suitable for inter-laboratory surveillance and application in the context of a raw milk cheese outbreak in France in 2012. *Front Microbiol.* 8: 295.

114. Mohammed M, Le Hello S, Leekitcharoenphon P, Hendriksen R (2017). The invasome of *Salmonella* Dublin as revealed by whole genome sequencing. *BMC Infect Dis.* 17(1): 544.
115. Kuijpers LMF, Phe T, Veng CH, Lim K, Ieng S, Kham C, Fawal N, Fabre L, Le Hello S, Vlieghe E, Weill FX, Jacobs J, Peetermans WE (2017). The clinical and microbiological characteristics of enteric fever in Cambodia, 2008-2015. *PLoS Negl Trop Dis.* 11(9): e0005964.
116. Bruyand M, Mariani P, Gouali M, de Valk H, King LA, Le Hello S, Bonacorsi S, Loirat C (2017). Hemolytic uremic syndrome related to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection, an overview. *Med Mal Infect.* S0399-077X(16)30859-9.
117. Delannoy S, Mariani-Kurkdjian P, Webb HE, Bonacorsi S, Fach P (2017). The Mobilome; A major contributor to *Escherichia coli* stx2-positive O26:H11 strains intra-serotype diversity. *Front Microbiol.* 8: 1625.
118. Gaschignard J, Geslain G, Mallet C, Lorrot M, Blot N, Alison M, Bonacorsi S (2017). Spondylodiscitis in a healthy 12-year-old girl with Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) bacteraemia. *BMC Infect Dis.* 17(1): 380.
119. Birgy A, Bidet P, Levy C, Sobral E, Cohen R, Bonacorsi S (2017). CTX-M-27-producing *Escherichia coli* of sequence type 131 and clade C1-M27, France. *Emerg Infect Dis.* 23(5): 885.
120. Birgy A, Delecourt M, Geslain G, Desselas E, Caseris M, Magnan M, Mariani-Kurkdjian P, Bidet P, Bonacorsi S (2017). A combination of mecillinam and amoxicillin/clavulanate can restore susceptibility of high-level TEM-1-producing *Escherichia coli* to mecillinam. *J Antimicrob Chemother.* 72(7): 1911-1914.
121. Delannoy S, Beutin L, Mariani-Kurkdjian P, Fleiss A, Bonacorsi S, Fach P (2017). The *Escherichia coli* serogroup O1 and O2 lipopolysaccharides are encoded by multiple O-antigen gene clusters. *Front Cell Infect Microbiol.* 7: 30.
122. Robin F, Beyrouthy R, Bonacorsi S, Aissa N, Bret L, Brieu N, Cattoir V, Chapuis A, Chardon H, Degand N, Doucet-Populaire F, Dubois V, Fortineau N, Grillon A, Lanotte P, Leyssene D, Patry I, Podglajen I, Recule C, Ros A, Colomb-Cotinat M, Ponties V, Ploy MC, Bonnet R. (2017). Inventory of extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in France as assessed by a multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother.* 61(3): e01911-16.
123. El Sayed F, Sapriel G, Fawal N, Gruber A, Bauer T, Heym B, Dupont C, Garchon HJ, Gaillard JL, Rottman M, Le Hello S (2018). In-host adaptation of *Salmonella enterica* serotype Dublin during prosthetic hip joint infection. *Emerg Infect Dis.* 24(12): 2360-2363.
124. Cointe A, Birgy A, Mariani-Kurkdjian P, Liguori S, Courroux C, Blanco J, Delannoy S, Fach P, Loukiadis E, Bidet P, Bonacorsi S (2018). Emerging multidrug-resistant hybrid pathotype Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O80 and related strains of clonal complex 165, Europe. *Emerg Infect Dis.* 24(12): 2262-2269.
125. Ingelbeen B, Bruyand M, Mariani-Kurkdjian P, Le Hello S, Danis K, Sommen C, Bonacorsi S, de Valk H (2018). Emerging Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* serogroup O80 associated hemolytic and uremic syndrome in France, 2013-2016: Differences with other serogroups. *PLoS One.* 13(11): e0207492.
126. Rincé A, Balière C, Hervio-Heath D, Cozien J, Lozach S, Parnaudeau S, Le Guyader FS, Le Hello S, Giard JC, Sauvageot N, Benachour A, Strubbia S, Gourmelon M (2018). Occurrence of bacterial pathogens and human noroviruses in shellfish-harvesting areas and their catchments in France. *Front Microbiol.* 9: 2443.
127. Sévellec Y, Granier SA, Radomski N, Felten A, Le Hello S, Feurer C, Mistou MY, Cadel-Six S (2018). Complete genome sequence of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype Derby, associated with the pork sector in France. *Microbiol Resour Announc.* 7(12): e01027-18.
128. Joseph A, Rafat C, Zafrani L, Mariani-Kurkdjian P, Veyradier A, Hertig A, Rondeau E, Mariotte E, Azoulay E (2018). Early differentiation of Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome in critically ill adults with thrombotic microangiopathy syndromes. *Crit Care Med.* 46(9): e904-e911.

129. Guyomard-Rabenirina S, Muanza B, Bastian S, Malpote E, Jestin P, Guerin M, Talarmin A, Weill FX, Legrand A, Breurec S (2018). *Salmonella enterica* serovars Panama and Arechavaleta: Risk Factors for invasive non-typhoidal *Salmonella* disease in Guadeloupe, French West Indies. *Am J Trop Med Hyg.* 99(3): 584-589.
130. Breurec S, Rafai C, Onambele M, Frank T, Farra A, Legrand A, Weill FX (2018). Serotype distribution and antimicrobial resistance of *Shigella* species in Bangui, Central African Republic, from 2002 to 2013. *Am J Trop Med Hyg.* 99(2): 283-286.
131. Zhou Z, Lundstrøm I, Tran-Dien A, Duchêne S, Alikhan NF, Sergeant MJ, Langridge G, Fotakis AK, Nair S, Stengøien HK, Hamre SS, Casjens S, Christophersen A, Quince C, Thomson NR, Weill FX, Ho SYW, Gilbert MTP, Achtman M (2018). Pan-genome analysis of ancient and modern *Salmonella enterica* demonstrates genomic stability of the invasive Para C lineage for millennia. *Curr Biol.* 28(15): 2420-2428.e10.
132. Togarsimalemath SK, Si-Mohammed A, Puraswani M, Gupta A, Vabret A, Liguori S, Mariani-Kurkdjian P, Bagga A, Dragon-Durey MA (2018). Gastrointestinal pathogens in anti-FH antibody positive and negative Hemolytic Uremic Syndrome. *Pediatr Res.* 84(1): 118-124.
133. Sadikalay S, Reynaud Y, Guyomard-Rabenirina S, Falord M, Ducat C, Fabre L, Le Hello S, Talarmin A, Ferdinand S (2018). High genetic diversity of extended-spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* in feces of horses. *Vet Microbiol.* 219: 117-122.
134. Sévellec Y, Vignaud ML, Granier SA, Lailier R, Feurer C, Le Hello S, Mistou MY, Cadel-Six S (2018). Polyphyletic nature of *Salmonella enterica* serotype Derby and lineage-specific host-association revealed by genome-wide analysis. *Front Microbiol.* 9: 891.
135. Baker S, Thomson N, Weill FX, Holt KE (2018). Genomic insights into the emergence and spread of antimicrobial-resistant bacterial pathogens. *Science.* 360(6390): 733-738.
136. Baker KS, Dallman TJ, Field N, Childs T, Mitchell H, Day M, Weill FX, Lefèvre S, Tourdjman M, Hughes G, Jenkins C, Thomson N (2018). Genomic epidemiology of *Shigella* in the United Kingdom shows transmission of pathogen sublineages and determinants of antimicrobial resistance. *Sci Rep.* 8(1): 7389.
137. Bruyand M, Mariani-Kurkdjian P, Gouali M, de Valk H, King LA, Le Hello S, Bonacorsi S, Loirat C (2018). Hemolytic uremic syndrome due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. *Med Mal Infect.* 48(3): 167-174.
138. Baker KS, Dallman TJ, Field N, Childs T, Mitchell H, Day M, Weill FX, Lefèvre S, Tourdjman M, Hughes G, Jenkins C, Thomson N (2018). Horizontal antimicrobial resistance transfer drives epidemics of multiple *Shigella* species. *Nat Commun.* 9(1): 1462.
139. Birgy A, Madhi F, Hogan J, Doit C, Gaschignard J, Caseris M, Bidet P, Cohen R, Bonacorsi S (2018). CTX-M-55-, MCR-1-, and FosA-producing multidrug-resistant *Escherichia coli* infection in a child in France. *Antimicrob Agents Chemother.* 62(4): e00127-18.
140. Tran-Dien A, Le Hello S, Bouchier C, Weill FX (2018). Early transmissible ampicillin resistance in zoonotic *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in the late 1950s: a retrospective, whole-genome sequencing study. *Lancet Infect Dis.* 18(2): 207-214.
141. Jourdan-da Silva N, Fabre L, Robinson E, Fournet N, Nisavanh A, Bruyand M, Mailles A, Serre E, Ravel M, Guibert V, Issenhuth-Jeanjean S, Renaudat C, Tourdjman M, Septfons A, de Valk H, Le Hello S (2018). Ongoing nationwide outbreak of *Salmonella* Agona associated with internationally distributed infant milk products, France, December 2017. *Euro Surveill.* 23(2): 17-00852.
142. Geslain G, Birgy A, Adiba S, Magnan M, Courroux C, Levy C, Cohen R, Bidet P, Bonacorsi S (2019). Genome sequencing of strains of the most prevalent clonal group of O1:K1:H7 *Escherichia coli* that causes neonatal meningitis in France. *BMC Microbiol.* 19(1): 17.
143. Breurec S, Reynaud Y, Frank T, Farra A, Costilhes G, Weill FX, Le Hello S (2019). Serotype distribution and antimicrobial resistance of human *Salmonella enterica* in Bangui, Central African Republic, from 2004 to 2013. *PLoS Negl Trop Dis.* 13(12): e0007917.

144. Ville S, Ydee A, Garandeau C, Canet E, Tissot A, Cantarovich D, Frémeaux-Bacchi V, Mariani-Kurkdjian P, Provôt F, Fakhouri F (2019). Shiga toxin-producing *Escherichia coli*-associated hemolytic uremic syndrome in solid organ transplant recipients. *Kidney Int.* 96(6): 1423-1424.
145. Gardette M, Le Hello S, Mariani-Kurkdjian P, Fabre L, Gravey F, Garrivier A, Loukiadis E, Jubelin G (2019). Identification and prevalence of in vivo-induced genes in enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. *Virulence.* 10(1): 180-193.
146. Genuini M, Bidet P, Benoist JF, Schlemmer D, Lemaitre C, Birgy A, Bonacorsi S (2019). ShiF acts as an auxiliary factor of aerobactin secretion in meningitis *Escherichia coli* strain S88. *BMC Microbiol.* 19(1): 298.
147. Radomski N, Cadel-Six S, Cherchame E, Felten A, Barbet P, Palma F, Mallet L, Le Hello S, Weill FX, Guillier L, Mistou MY (2019). A Simple and robust statistical method to define genetic relatedness of samples related to outbreaks at the genomic scale - Application to retrospective *Salmonella* foodborne outbreak investigations. *Front Microbiol.* 10: 2413.
148. Chung The H, Boinett C, Pham Thanh D, Jenkins C, Weill FX, Howden BP, Valcanis M, De Lappe N, Cormican M, Wangchuk S, Bodhidatta L, Mason CJ, Nguyen TNT, Ha Thanh T, Voong VP, Duong VT, Nguyen PHL, Turner P, Wick R, Ceysens PJ, Thwaites G, Holt KE, Thomson NR, Rabaa MA, Baker S (2019). Dissecting the molecular evolution of fluoroquinolone-resistant *Shigella sonnei*. *Nat Commun.* 10(1): 4828.
149. Pouzol S, Tanmoy AM, Ahmed D, Khanam F, Brooks WA, Bhuyan GS, Fabre L, Bryant JE, Gustin MP, Vanhems P, Carman B, Weill FX, Qadri F, Saha S, Endtz H (2019). Clinical evaluation of a multiplex PCR for the detection of *Salmonella enterica* serovars Typhi and Paratyphi A from blood specimens in a high-endemic setting. *Am J Trop Med Hyg.* 101(3): 513-520.
150. Pulford CV, Perez-Sepulveda BM, Rodwell EV, Weill FX, Baker KS, Hinton JCD (2019). *Salmonella enterica* serovar Panama, an understudied serovar responsible for extraintestinal salmonellosis worldwide. *Infect Immun.* 87(9): e00273-19.
151. Nadimpalli ML, de Lauzanne A, Phe T, Borand L, Jacobs J, Fabre L, Naas T, Le Hello S, Stegger M (2019). *Escherichia coli* ST410 among humans and the environment in Southeast Asia. *Int J Antimicrob Agents.* 54(2): 228-232.
152. Criscuolo A, Issenhuth-Jeanjean S, Didelot X, Thorell K, Hale J, Parkhill J, Thomson NR, Weill FX, Falush D, Brisse S. (2019). The speciation and hybridization history of the genus *Salmonella*. *Microb Genom.* 5(8): e000284.
153. Guyomard-Rabenirina S, Weill FX, Le Hello S, Bastian S, Berger F, Ferdinand S, Legreneur P, Loraux C, Malpote E, Muanza B, Richard V, Talarmin A, Breurec S (2019). Reptiles in Guadeloupe (French West Indies) are a reservoir of major human *Salmonella enterica* serovars. *PLoS One.* 14(7): e0220145.
154. Pijnacker R, Dallman TJ, Tijsma ASL, Hawkins G, Larkin L, Kotila SM, Amore G, Amato E, Suzuki PM, Denayer S, Klamer S, Pászti J, McCormick J, Hartman H, Hughes GJ, Brandal LCT, Brown D, Mossong J, Jernberg C, Müller L, Palm D, Severi E, Gołębiowska J, Hunjak B, Owczarek S, Le Hello S, Garvey P, Mooijman K, Friesema IHM, van der Weijden C, van der Voort M, Rizzi V, Franz E, International Outbreak Investigation Team (2019). An international outbreak of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis linked to eggs from Poland: a microbiological and epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 19(7): 778-786.
155. Hawkey J, Le Hello S, Doublet B, Granier SA, Hendriksen RS, Fricke WF, Ceysens PJ, Gomart C, Billman-Jacobe H, Holt KE, Weill FX (2019). Global phylogenomics of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198. *Microb Genom.* 5(7): e000269.
156. Birgy A, Levy C, Nicolas-Chanoine MH, Cointe A, Hobson CA, Magnan M, Bechet S, Bidet P, Cohen R, Bonacorsi S (2019). Independent host factors and bacterial genetic determinants of the emergence and dominance of *Escherichia coli* sequence type 131 CTX-M-27 in a community pediatric cohort study. *Antimicrob Agents Chemother.* 63(7): e00382-19.

157. Aldrich C, Hartman H, Feasey N, Chattaway MA, Dekker D, Al-Emran HM, Larkin L, McCormick J, Sarpong N, Le Hello S, Adu-Sarkodie Y, Panzner U, Park SE, Im J, Marks F, May J, Dallman TJ, Eibach D (2019). Emergence of phylogenetically diverse and fluoroquinolone resistant *Salmonella* Enteritidis as a cause of invasive nontyphoidal *Salmonella* disease in Ghana. *PLoS Negl Trop Dis*. 13(6): e0007485.
158. Jones G, Lefèvre S, Donguy MP, Nisavanh A, Terpent G, Fougère E, Vaissière E, Guinard A, Mailles A, de Valk H, Fila M, Tanné C, Le Borgne C, Weill FX, Bonacorsi S, Jourdan-Da Silva N, Mariani-Kurkdjian P (2019). Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O26 paediatric haemolytic uraemic syndrome (HUS) cases associated with the consumption of soft raw cow's milk cheeses, France, March to May 2019. *Euro Surveill*. 24(22): 1900305.
159. Sévellec Y, Felten A, Radomski N, Granier SA, Le Hello S, Petrovska L, Mistou MY, Cadel-Six S (2019). Genetic diversity of *Salmonella* Derby from the poultry sector in Europe. *Pathogens*. 8(2): 46.
160. Jones G, Pardos de la Gándara M, Herrera-Leon L, Herrera-Leon S, Varela Martinez C, Hureaux-Roy R, Abdallah Y, Nisavanh A, Fabre L, Renaudat C, Mossong J, Mattheus W, Huard C, Le Borgne C, de Valk H, Weill FX, Jourdan-Da Silva N (2019). Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Poona in infants linked to persistent *Salmonella* contamination in an infant formula manufacturing facility, France, August 2018 to February 2019. *Euro Surveill*. 24(13): 1900161.
161. Caméléna F, Birgy A, Smail Y, Courroux C, Mariani-Kurkdjian P, Le Hello S, Bonacorsi S, Bidet P (2019). Rapid and simple universal *Escherichia coli* genotyping method based on multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis using single-tube multiplex PCR and standard gel electrophoresis. *Appl Environ Microbiol*. 85(6): e02812-18.
162. Cavaco LM, Hansen F, Mushtaq S, Hill RLR, Woodford N, Le Hello S, Hendriksen RS, Hammerum AM, Hasman H (2019). Evaluation of temocillin for phenotypic carbapenemase screening of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolates in relation to the presence of genes encoding ESBLs and carbapenemase production. *J Antimicrob Chemother*. 74(3): 639-644.
163. Frémeaux-Bacchi V, Sellier-Leclerc AL, Vieira-Martins P, Limou S, Kwon T, Lahoche A, Novo R, Llanas B, Nobili F, Roussey G, Cailliez M, Ulinski T, Deschênes G, Alberti C, Weill FX, Mariani P, Loirat C (2019). Complement gene variants and Shiga toxin-producing *Escherichia coli*-associated hemolytic uremic syndrome: retrospective genetic and clinical study. *Clin J Am Soc Nephrol*. 14(3): 364-377.
164. Bruyand M, Mariani-Kurkdjian P, Le Hello S, King LA, Van Cauteren D, Lefevre S, Gouali M, Jourdan-da Silva N, Mailles A, Donguy MP, Loukiadis E, Sergentet- Thevenot D, Loirat C, Bonacorsi S, Weill FX, de Valk H, Réseau Français Hospitalier de surveillance du SHU pédiatrique (2019). Paediatric haemolytic uraemic syndrome related to Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, an overview of 10 years of surveillance in France, 2007 to 2016. *Euro Surveill*. 24(8): 1800068.
165. Nadimpalli M, Fabre L, Yith V, Sem N, Gouali M, Delarocque-Astagneau E, Sreng N, Le Hello S, BIRDY study group (2019). CTX-M-55-type ESBL-producing *Salmonella enterica* are emerging among retail meats in Phnom Penh, Cambodia. *J Antimicrob Chemother*. 74(2): 342-348.
166. Nadimpalli M, Vuthy Y, de Lauzanne A, Fabre L, Criscuolo A, Gouali M, Huynh BT, Naas T, Phe T, Borand L, Jacobs J, Kerléguer A, Piola P, Guillemot D, Le Hello S, Delarocque-Astagneau E, BIRDY study group (2019). Meat and fish as sources of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*, Cambodia. *Emerg Infect Dis*. 25(1): 126-131.
167. Ung A, Baidjoe AY, Van Cauteren D, Fawal N, Fabre L, Guerrisi C, Danis K, Morand A, Donguy MP, Lucas E, Rossignol L, Lefèvre S, Vignaud ML, Cadel-Six S, Lailier R, Jourdan-Da Silva N, Le Hello S (2019). Disentangling a complex nationwide *Salmonella* Dublin outbreak associated with raw-milk cheese consumption, France, 2015 to 2016. *Euro Surveill*. 24(3): 1700703.
168. Geslain G, Birgy A, Adiba S, Magnan M, Courroux C, Levy C, Cohen R, Bidet P, Bonacorsi S. (2019). Genome sequencing of strains of the most prevalent clonal group of O1:K1:H7 *Escherichia coli* that causes neonatal meningitis in France. *BMC Microbiol*. 19(1): 17.

169. Cointe A, Birgy A, Pascault A, Louillet F, Dufougeray A, Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S. (2020). Be aware of Shiga-toxin 2f-producing *Escherichia coli*: case report and false-negative results with certain rapid molecular panels. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 98(4): 115177.
170. Ktari S, Ksibi B, Ghedira K, Fabre L, Bertrand S, Maalej S, Mnif B, Rhimi F, Le Hello S, Hammami A (2020). Genetic diversity of clinical *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in a university hospital of south Tunisia, 2000-2013. *Infect Genet Evol*. 85: 104436.
171. Payen M, Pardos de la Gándara M, Cointe A, Massiot A, Bidet P, Weill FX, Bonacorsi S (2020). Diagnostic challenge of gastrointestinal infection due to lactose-fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar 4,5:i:- *Diagn Microbiol Infect Dis*. 98(2): 115105.
172. Cohen R, Madhi F, Levy C, Bonacorsi S (2020). Treatment of urinary tract infections caused by ESBL-producing Enterobacteriaceae: Have all treatment options been considered? *Pediatr Infect Dis J*. 39(8): e216-e217
173. 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 (2020). Ockham's razor defeated: about two atypical cases of hemolytic uremic syndrome. *BMC Nephrol*. 21(1): 269.
174. 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 (2020). Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B variant Java in poultry from Europe and Latin America. *Emerg Infect Dis*. 26(6): 1164-1173.
175. Dortet L, Bonnin RA, Le Hello S, Fabre L, Bonnet R, Kostrzewa M, Filloux A, Larrouy-Maumus G (2020). Detection of colistin resistance in *Salmonella enterica* using MALDIxin test on the routine MALDI Biotyper Sirius mass spectrometer. *Front Microbiol*. 11: 1141.
176. Goeller C, Desmarest M, Garraffo A, Bonacorsi S, Gaschignard J (2020). Management of febrile urinary tract infection with or without bacteraemia in children: A French case-control retrospective study. *Front Pediatr*. 8: 237.
177. Sévellec Y, Granier SA, Le Hello S, Weill FX, Guillier L, Mistou MY, Cadel-Six S (2020). Source attribution study of sporadic *Salmonella* Derby cases in France. *Front Microbiol*. 11: 889.
178. 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 Gándara M, Weill FX, Jourdan-Da Silva N (2020). Outbreak of *Salmonella* Newport associated with internationally distributed raw goats' milk cheese, France, 2018. *Epidemiol Infect*. 148: e180.
179. Cointe A, Birgy A, Bridier-Nahmias A, Mariani-Kurkdjian P, Walewski V, Lévy C, Cohen R, Fach P, Delannoy S, Bidet P, Bonacorsi S (2020). *Escherichia coli* O80 hybrid pathotype strains producing Shiga toxin and ESBL: molecular characterization and potential therapeutic options. *J Antimicrob Chemother*. 75(3): 537-542.
180. Joseph A, Cointe A, Mariani Kurkdjian P, Rafat C, Hertig A (2020). Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: A narrative review. *Toxins (Basel)*. 12(2): 67.
181. 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 (2020). 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*. 75(1): 96-105
182. Zhou Z, Alikhan NF, Mohamed K, Fan Y, Agama Study Group, Achtman M (2020). The Enterobase user's guide, with case studies on *Salmonella* transmissions, *Yersinia pestis* phylogeny, and *Escherichia* core genomic diversity. *Genome Res*. 30(1): 138-152.

183. Achtman M, Zhou Z, Alikhan NF, Tyne W, Parkhill J, Cormican M, Chiou CS, Torpdahl M, Litrup E, Prendergast DM, Moore JE, Strain S, Kornschober C, Meinersmann R, Uesbeck A, Weill FX, Coffey A, Andrews-Polymeris H, Curtiss Rd R, Fanning S (2021). Genomic diversity of *Salmonella enterica* -The UoWUCC 10K genomes project. *Wellcome Open Res.* 5: 223.
184. 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 (2021). Stepwise evolution of *Salmonella* Typhimurium ST313 causing bloodstream infection in Africa. *Nat Microbiol.* 6: 327–338.
185. Osman M, Papon N, Weill FX (2021). Endocannabinoids attenuate the virulence of certain enteropathogenic bacteria. *Trends Microbiol.* 29(3): 185-187.
186. Mollo B, Hobson CA, Le Hello S, Azria E, Le Monnier A, Pilmis B, Mizrahi A (2021). Intrauterine infection caused by nontyphoidal *Salmonella*: a literature review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 34(23): 4000-4004.
187. Hawkey J, Paranagama K, Baker KS, Bengtsson RJ, Weill FX, Thomson NR, Baker S, Cerdeira L, Iqbal Z, Hunt M, Ingle DJ, Dallman TJ, Jenkins C, Williamson DA, Holt KE (2021). Global population structure and genotyping framework for genomic surveillance of the major dysentery pathogen, *Shigella sonnei*. *Nat Commun.* 12(1): 2684.
188. Nikiema MEM, Pardos de la Gándara M, Compaore KAM, Ky Ba A, Soro KD, Nikiema PA, Barro N, Sangare L, Weill FX (2021). Contamination of street food with multidrug- resistant *Salmonella*, in Ouagadougou, Burkina Faso. *PLoS One.*16(6): e0253312.
189. Fabre L, Njamkepo E, Weill FX (2021). Comment on Tanmoy *et al.* CRISPR-Cas diversity in clinical *Salmonella enterica* serovar Typhi isolates from South Asian countries. *Genes (Basel).* 12(8): 1142.
190. Cointe A, Bizot E, Delannoy S, Fach P, Bidet P, Birgy A, Weill FX, Lefèvre S, Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S (2021). Emergence of new ST301 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* clones harboring extra-intestinal virulence traits in Europe. *Toxins (Basel).* 13(10): 686.
191. Ksibi B, Ktari S, Othman H, Ghedira K, Maalej S, Mnif B, Abbassi MS, Fabre L, Rhimi F, Le Hello S, Hammami A (2021). Comparison of conventional molecular and whole-genome sequencing methods for subtyping *Salmonella enterica* serovar Enteritidis strains from Tunisia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 40(3): 597-606.
192. Travert B, Rafat C, Mariani P, Cointe A, Dossier A, Coppo P, Joseph A (2021). Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: Specificities of adult patients and implications for critical care management. *Toxins (Basel).* 13(5): 306.
193. Denamur E, Clermont O, Bonacorsi S, Gordon D (2021). The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol.* 19(1): 37-54.
194. Truong J, Cointe A, Le Roux E, Bidet P, Michel M, Boize J, Mariani-Kurkdjian P, Caseris M, Hobson CA, Desmarest M, Titomanlio L, Faye A, Bonacorsi S (2021). Clinical impact of a gastrointestinal PCR panel in children with infectious diarrhoea. *Arch Dis Child.* 107(6): 601-605.
195. Ando N, Sekizuka T, Yokoyama E, Aihara Y, Konishi N, Matsumoto Y, Ishida K, Nagasawa K, Jourdan-Da Silva N, Suzuki M, Kimura H, Le Hello S, Murakami K, Kuroda M, Hirai S, Fukaya S (2021). Whole genome analysis detects the emergence of a single *Salmonella enterica* serovar Chester clone in Japan's Kanto region. *Front Microbiol.* 12: 705679.
196. Bizot E, Cointe A, Béchet S, Sobral E, Cohen R, Mariani-Kurkdjian P, Levy C, Bonacorsi S (2021). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* carriage in 959 healthy French infants. *Arch Dis Child.* 106(12): 1239-1240.

197. Travert B, Dossier A, Jamme M, Cointe A, Delmas Y, Malot S, Wynckel A, Seguin A, Presne C, Hie M, Benhamou Y, Ribes D, Choukroun G, Grangé S, Hertig A, Le Gall EC, Galicier L, Daugas E, Bouadma L, Weill FX, Azoulay E, Fakhouri F, Veyradier A, Bonacorsi S, Hogan J, Frémeaux-Bacchi V, Rondeau E, Mariani-Kurkdjian P, Coppo P, Centre de Référence des Microangiopathies Thrombotiques (2021). Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome in adults, France, 2009-2017. *Emerg Infect Dis.* 27(7): 1876-1885.
198. Lignieres G, Birgy A, Jung C, Bonacorsi S, Levy C, Angoulvant F, Grimprel E, Dommergues MA, Gillet Y, Craiu I, Rybak A, De Pontual L, Dubos F, Cixous E, Gajdos V, Pinquier D, Andriantahina I, Soussan-Banini V, Georget E, Launay E, Vignaud O, Cohen R, Madhi F (2021). Relay oral therapy in febrile urinary tract infections caused by extended spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in children: A French multicenter study. *PLoS One.* 16(9): e0257217.
199. Bonacorsi S, Visseaux B, Bouzid D, Pareja J, Rao SN, Manissero D, Hansen G, Vila J (2021). Systematic review on the correlation of quantitative PCR cycle threshold values of gastrointestinal pathogens with patient clinical presentation and outcomes. *Front Med (Lausanne).* 2021 8: 711809.
200. 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 (2021). Clavulanate combinations with mecillinam, cefixime or cefpodoxime against ESBL-producing *Enterobacterales* frequently associated with *bla_{OXA-1}* in a paediatric population with febrile urinary tract infections. *J Antimicrob Chemother.* 76(11): 2839-2846.

4.3 COMMUNICATIONS NATIONALES CNR-ESS ET LA-RD

1. M. Gouali. Communication orale. « Gestion des crises sanitaires à *E. coli* en 2011 : exemple de l'épidémie à *E. coli* O104 : H4 », Journées départementales du département Infection et Epidémiologie de l'Institut Pasteur, 28 au 29 septembre 2012, Sainte Gemme Moronval.
2. F.X. Weill. Communication orale. « Les défis de l'accréditation », 6e séminaire des CNR, 28 novembre 2013, Paris, France.
3. P. Mariani-Kurkdjian, S. Liguori, A. Andrianarivelo, P. Bidet, C. Jost, S. Bonacorsi. Communication affichée. « Diagnostic des infections à *Escherichia coli* enterohémorragique (EHEC) : apport du nouveau test LIAISON® EHEC Toxins », 34^e RICAI, novembre 2014, Paris.
4. M. Desmarest, P. Mariani-Kurkdjian, G. Galli-Gibertini, J.C. Mercier, S. Bonacorsi, F. Angoulvant. Communication orale. « Infections urinaires à BLSE aux urgences pédiatriques en 2012 », Congrès de la Société Française de Pédiatrie, 2014, Lyon.
5. F.X. Weill. Communication orale. « CRISPR diversity in enteric bacterial pathogens », Journée CRISPR de l'Institut Pasteur, 20 octobre 2015, Paris.
6. S. Le Hello. Communication orale. « Bactériémies à *Salmonella* résistantes aux antibiotiques : la typhoïde vraiment ? », 35^{ème} RICAI, 1^{er} décembre 2015, Paris.
7. M. Gouali, M.-L. Quilici, S. Le Hello. Communication affichée. « Place de la ciprofloxacine et de l'azithromycine dans le traitement des fièvres typhoïde et paratyphoïdes, des dysenteries bacillaires et du choléra », 35^{ème} RICAI, 1^{er} décembre 2015, Paris.
8. S. Le Hello. Communication orale. « Du bon usage des kits entériques face à la diversité des souches *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella* », 37^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), 18 décembre 2017, Paris.
9. F. Camelena, A. Birgy, P. Mariani-Kurkdjian, S. Bonacorsi, P. Bidet. Communication affichée. « Nouvelle technique de typage rapide de *Escherichia coli* par MLVA », 37^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), 18 décembre 2017, Paris.
10. A. Cointe, A. Birgy, P. Mariani-Kurkdjian, S. Liguori, C. Courroux, S. Delannoy, P. Fach, J. Hogan, E. Loukiadis, P. Bidet, S. Bonacorsi. Communication affichée. « *Escherichia coli* pathogène émergent associant Shiga-toxine, virulence extra-intestinale et multirésistance », 37^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), 18 décembre 2017, Paris.
11. P. Mariani-Kurkdjian. Communication orale. « Nouveaux outils diagnostiques dans le SHU à STEC », Société Francophone de Néphrologie Pédiatrique. Novembre 2017, Rouen.
12. J. Truong., P. Bidet, A. Birgy, M.F. Roux-Hurtaud, P. Mariani-Kurkdjian, P. Fach, S. Delannoy, A. Cointe, G. Jalladaud, C. Courroux, S. Bonacorsi. Communication orale. « Caractérisation de souches de *Escherichia coli* non productrices de Shiga-toxine responsables d'infections extra-intestinales associées à un Syndrome Hémolytique et Urémique », Société Française de Microbiologie, 2018, Paris.
13. C. Hobson, S. Bonacorsi, D. Hocquet, A. Baruchel, M. Fadh, T. Storme, R. Tang, O. Tenaillon, A. Birgy. Communication affichée. « In vitro impact of anticancer chemotherapy on Ceftazidime-Avibactam resistance in KPC-producing Enterobacteriaceae », 38^{ème} RICAI, décembre 2018, Paris.
14. F.X. Weill. Communication orale. « L'interaction entre l'épidémiologie et le séquençage du génome de l'agent dans l'identification d'une source d'épidémie : l'exemple de *Salmonella* Poona », Les Rencontres de Santé publique France, 4-6 juin 2019, Paris.
15. F.X. Weill. Communication orale. « *Salmonella* et lait infantile : un concentré de données », 9^{ème} Séminaire des Centres Nationaux de Référence, 15 novembre 2019, Paris.

16. S. Lefèvre. Communication orale. « Bilan du CNR-ESS », Col. BVH, 21 juin 2019, Paris.
17. A. Cointe, A. Birgy, A. Bridier-Nahmias, P. Mariani-Kurkdjian, V. Walewski, C. Lévy, R. Cohen, P. Fach, S. Delannoy, P. Bidet, S. Bonacorsi. Communication affichée. « Caractérisation moléculaire de deux souches de *Escherichia coli* entérohémorragique O80 de pathotype hybride produisant une bêta-lactamase de spectre étendu et implication thérapeutique », Société Française de Microbiologie, 2019, Paris
18. S. Lefèvre. Communication orale. « *Shigella*, émergence de résistance aux antibiotiques : France, de 2005 à aujourd'hui », 39ème RICAI, 17 décembre 2019, Paris.
19. S. Lefèvre. Communication orale. « Émergence de différentes populations de *Shigella sonnei* hautement résistantes aux antibiotiques », Congrès Microbes de la Société Française de Microbiologie, 22-24 septembre 2021, Nantes.
20. A. Cointe. Communication orale. « *E. coli* O80 : caractéristiques d'un clone émergent dans le SHU STEC+ », 14^{ème} réunion du CNR MAT, Paris, 2021

4.4 COMMUNICATIONS INTERNATIONALES CNR-ESS ET LA-RD

1. E. Loukiadis, P. Mariani-Kurkdjian, S. Ganet, C. Balière, M. Neto, A. Gleizal, O. Gaillot, S. Spinali, F.X. Weill, E. Bingen, L. Beutin, D. Thevenot-Segentet. Communication affichée. « First isolation of sorbitol-fermenting enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in minced beef responsible for hemolytic and uremic syndrome in France in 2011 », VTEC 2012 », mai 2012, Amsterdam, Pays-Bas.
2. S. Le Hello. Communication orale. « Epidemiological and genetic features associated with the international spread of multi-drug resistant *Salmonella* Kentucky ST198 », Symposium international of *Salmonella* and Salmonellosis (I3S), 26 au 29 mai 2013, St Malo, France.
3. S. Le Hello. Communication orale. « One-year surveillance of human and non-human *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and its monophasic variant based on CRISPOL subtyping », Symposium international of *Salmonella* and Salmonellosis (I3S), 26 au 29 mai 2013, St Malo, France.
4. G. Costilhes & S. Le Hello. Communication orale. « Geographical and temporal dynamics of the new emerging iNTS serovar Typhimurium ST313 in sub-Saharan Africa », 1st Symposium LabEx-IBEID, septembre 2014, Institut Pasteur, Paris.
5. P. Mariani-Kurkdjian, N. Soysal N, Y. Smail, S. Liguori S, M. Gouali, P. Bidet, S. Bonacorsi. Communication orale. « Genetic and clinical characteristics of emerging human pathogenic *Escherichia coli* stx2 positive O80:H2 isolated in France between 2005 and 2014 », VTEC conference, 13-16 septembre 2015, Boston, Etats-Unis.
6. S. Delannoy, P. Mariani-Kurkdjian, S. Bonacorsi, S. Liguori, S.-A. Ison, P. Fach. Communication orale. « Genetic characteristics of emerging human-pathogenic *Escherichia coli* stx2- positive O26:H11 isolated in France between 2010 and 2013 », VTEC conference, 13-16 septembre 2015, Boston, Etats-Unis.
7. P. Mariani-Kurkdjian, S. Ganet, S. Delannoy, M. Gouali, S. Bonacorsi, P. Fach, E. Loukiadis. Communication orale. « Genetic and phenotypic characteristics of STEC strains isolated in human, food, and animal reservoir in France during the period 2011-2012 », VTEC conference, 13-16 septembre 2015, Boston, Etats-Unis.
8. M. Gouali, P. Mariani Kurkdjian, E. Le Magrex Debar, I. Carle, C. Ruckly, M. Lejay-Collin, L. King, S. Le Hello. Communication affichée. « Four cases of Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* O91 infections including 2 fatal cases of haemolytic-uremic syndrome », VTEC conference, 13-16 septembre 2015, Boston, Etats-Unis.
9. L. Bonanno, E. Loukiadis, P. Mariani-Kurkdjian, E. Oswald, M.A. Petit, V. Michel, F. Auvray. Communication affichée. « Diversity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O26:H11 and their stx-negative counterparts, characterization of Stx bacteriophages and impact on food risk assessment », VTEC conference, 13-16 septembre 2015, Boston, Etats-Unis.

10. P. Mariani-Kurkdjian, S. Liguori, A. Andrianarivelo, P. Bidet, S. Bonacorsi. Communication affichée. « Diagnosis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infections: contribution of the new test LIAISON® EHEC Toxins », VTEC conference, 13-16 septembre 2015, Boston, Etats-Unis.
11. C. Balière, Cl. Balière, C. Courroux, P. Mariani-Kurkdjian, D. Thevenot, P. Fach, S. Delannoy, J. Blanco, G. Dahbi, A. Rincé, M. Gourmelon. Communication affichée. « Evaluation of the presence of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* in shellfish and French coastal areas », VTEC conference, 13-16 septembre 2015, Boston, Etats-Unis.
12. P. Mariani-Kurkdjian. Communication orale. « Enterohaemorrhagic *E. coli* Hybrid Pathotype O80:H2 an emerging clone in France », 11th Annual Workshop of the National Reference Laboratories (NRLs) for *E. coli* in the EU, 10 et 11 novembre 2016, Rome, Italie.
13. Cointe, A. Birgy, S. Liguori, C. Courroux, S. Delannoy, P. Fach, E. Loukiadis, D. Sergentet, J. Blanco, L. Beutin, P. Bidet, S. Bonacorsi, P. Mariani-Kurkdjian. Communication orale. « Characterization of an emerging hybrid O80 Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) combining multiresistance and extra-intestinal virulence », International Symposium on Shiga Toxin producing *Escherichia coli* infections, 2018, Florence, Italie.
14. M. Bruyand, P. Mariani-Kurkdjian, S. Le Hello, LA. King., D. Van Cauteren, S. Lefevre, M Gouali, N. Jourdan-Da Silva, A. Mailles, MP. Donguy, E. Loukiadis, C. Loirat, S. Bonacorsi, F.X. Weill, H. de Valk. H. Communication orale. « Pediatric hemolytic and uremic syndrome related to Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, an overview of surveillance in France (2007-2016) », International Symposium on Shiga Toxin producing *Escherichia coli* infections”, 2018, Florence, Italie.
15. A. Cointe, A. Birgy, P. Mariani-Kurkdjian, S. Liguori, C. Courroux, S. Delannoy, P. Fach, E. Loukiadis, P. Bidet, S. Bonacorsi. Communication affichée. « Hybrid pathotype *Escherichia coli* combining Shiga toxin production, extra-intestinal virulence and multiresistance is not restricted to O80 serogroup », International Symposium on Shiga Toxin producing *Escherichia coli* infections, 2018, Florence, Italie.
16. S. Delannoy, P. Mariani-Kurkdjian, H. Webb, S. Bonacorsi, P. Fach. Communication affichée. « The mobilome is a major contributor to *Escherichia coli* stx2-positive O26:H11 strains intra-serotype diversity », International Symposium on Shiga Toxin producing *Escherichia coli* infections, 2018, Florence, Italie.
17. S. Lefèvre, S. Feldman, I. Carle, M. Lejay-Collin, C. Ruckly, M. Macé, F.X. Weill Communication affichée. « Antimicrobial Resistance in *Shigella* spp.: trends and genetic determinants », International Conference « Combating resistance: microbes and vectors » 2018. Institut Pasteur International Network Symposium, 15-16 novembre 2018, Paris.
18. Moussiegt, A. Birgy, A. Cointe, X. Duval, P. Bidet, S. Bonacorsi. Communication orale. « *Escherichia coli* community-acquired meningitis in adults in France: case series of 29 patients », 31st European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (ECCMID), 9-12 juillet 2021, Vienne, Autriche.
19. E. Bizot, A. Cointe, S. Béchet, E. Sobral, R. Cohen, P. Mariani-Kurkdjian, C. Levy, S. Bonacorsi. Communication affichée. « Enteropathogenic and Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* carriage in 959 healthy French infants », the European Society for Paediatric Infectious Diseases meeting, 24-29 mai 2021, Genève, Suisse.

4.5 CONFERENCES SUR INVITATION CNR-ESS ET LA-RD

1. F.X. Weill. « Les *E. coli* entéro-hémorragiques, des bactéries d'actualité en 2011 », Association des Anciens Scientifiques de l'Institut Pasteur, 22 mars 2012, Paris, Café des Sciences, Institut Pasteur de Guadeloupe, 12 avril 2012, Pointe-à-Pitre, Amicale des anciens Pastoriens, Institut Pasteur, 22 mai 2012, Paris, Staff du service de Microbiologie, Faculté de Médecine Necker, 9 mai 2012, Paris.
2. F.X. Weill. « Les *E. coli* entéro-hémorragiques : aspects épidémiologiques et microbiologiques », 4ème Rencontre en Microbiologie Clinique, 27 mars 2012, Paris, France.

3. F.X. Weill. « The odyssey of *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198 (1960-2011) », Inserm U722 Faculté de Médecine Bichat, 12 juin 2012, Paris, France.
4. S. Le Hello. « Epidémiologie des salmonelloses humaines : focus sur les sérotypes associés à la filière avicole », Direction générale de l'alimentation (DGAI), 19 septembre 2012, Paris, France.
5. F.X. Weill. « 2011: the year of Shiga toxin-producing *E. coli* ». Conférence du Conseil Scientifique, Institut Pasteur, 6 décembre 2012, Paris, France.
6. F.X. Weill. « *E. coli* entéro-hémorragiques : des bactéries à la une », 46^{ème} Journées de Biologie Praticienne, 7 décembre 2012, Paris, France.
7. P. Mariani-Kurkdjian. « Diagnostic biologique des infections à *E. coli* responsables de SHU », Congrès Les événements en microbiologie clinique en 2012, 27 Janvier 2012, Paris, France.
8. P. Mariani-Kurkdjian. « *E. coli* O104:H4, un pathotype hybride », Congrès GPIP « *E. coli* dans tous ses états », 25 Mai 2012, Paris, France.
9. F.X. Weill. « *Escherichia coli* : le concombre n'était pas coupable ! » Journées de Biologie Clinique Necker Pasteur, 29 janvier 2013, Paris, France.
10. S. Le Hello. « The Odyssey of multi-drug resistant *Salmonella* Kentucky ST198 strain », 7^{ème} EURL-AR Workshop, 4 et 5 avril 2013, Copenhague, Danemark.
11. F.X. Weill. « *E. coli* enter-hémorragiques : des bactéries à la une des medias », Académie Nationale de Médecine, 23 avril 2013, Paris, France.
12. F.X. Weill. « Which molecular typing methods for *Salmonella* in the near future? », Statens Serum Institut, 14 mai 2013, Copenhague, Danemark.
13. F.X. Weill. « Antibiotic resistance in *Salmonella*. Where are we? and where are we going? », CHU d'Odense, 15 mai 2013, Odense, Danemark.
14. F.X. Weill. « Which molecular typing methods for *Salmonella* in the near future? », International conference Molecular epidemiology of infectious diseases, 5-7 juin 2013, St. Petersburg, Russie.
15. F.X. Weill. « *Salmonella* Kentucky ST198-X1 une « super bug » émergente des pays émergents », Colloque Maladies et risques infectieux (ré)-émergents, Direction Générale de la Santé, 22 octobre 2013, Paris, France.
16. F.X. Weill. « CRISPR markers for *Salmonella* epidemiology » et présidence de session, International Meeting on Microbial Epidemiological Markers (IMMEM-10), 2-5 octobre 2013, Paris, France.
17. F.X. Weill. « Épidémie européenne d'infection à *E. coli* O104 », Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), 22 novembre 2013, Paris, France.
18. P. Mariani-Kurkdjian. « De l'EPEC au triple hybride », Congrès de la Société Française de Microbiologie, février 2013.
19. S. Le Hello. « Epidémie à *Salmonella* Kentucky ST198, dans l'œil du génome », 10^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie, 1^{er} avril 2014, Paris.
20. S. Le Hello. « L'odyssée de *Salmonella* Kentucky ST198, de 1960 à nos jours », Séminaire de l'Institut de génétique et microbiologie (IGM), Faculté des sciences d'Orsay-Paris-Sud, 3 juin 2014, Orsay.
21. M. Gouali. « Infections émergentes et réémergentes : Exemple de l'épidémie à *E. coli* O104 :H4 », Journée de la Société Vétérinaire Pratique de France (SVPF) du 7 octobre 2014.
22. S. Le Hello. « Synthèse des données de surveillance du CNR-ESS », 18^{ème} réunion du réseau *Salmonella*, 2 décembre 2014, Maisons-Alfort.
23. S. Le Hello. « Surveillance des salmonelloses humaines en France », Journées « Salmonelles en filière porcine », 21 janvier 2016, Ploufragan.

24. S. Le Hello. « Un exemple de coopération réussie entre LNR et CNR autour de *Salmonella* », Séminaire commun LNR-CNR, 31 mars 2016, ANSES Maisons-Alfort.
25. F.X. Weill. « Evolutionary history of the Shiga's bacillus (*Shigella dysenteriae* type 1) », Université de Santiago, 18 avril 2016, Santiago du Chili, Chili.
26. F.X. Weill. « Whole-genome analysis of *Shigella dysenteriae* type 1, the epidemic and multidrug resistant dysentery bacillus », 6ème Asia-Pacific Regional Meeting of the Institut Pasteur International Network. 18-20 mai 2016, Shanghai, Chine.
27. S. Le Hello. « Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives à *Salmonella* en France : le rôle du CNR dans la détection et l'investigation », ARIA Centre, 21 avril 2016, Orléans, France.
28. F.X. Weill, « What about *Salmonella* serotyping in 2020? », *Salmonella* Colloquium, Robert Koch Institute, 18 octobre 2016, Wernigerode, Allemagne.
29. F.X. Weill. « Evolutionary history of the Shiga's bacillus (*Shigella dysenteriae* type 1) », congrès « Emerging Pathogens at the Human-Animal-Environment Interface », du 10 au 13 octobre 2016, Doha, Qatar.
30. S. Bonacorsi. « Perspectives du diagnostic syndromique : le point de vue d'un biologiste et d'un clinicien », Symposium bioMérieux, décembre 2016, Paris, France.
31. F.X. Weill « Genomic insights into the Grigoriev-Shiga's bacillus », International conference: Molecular bases of epidemiology, diagnostics and treatment of infectious diseases, 4-6 décembre 2018, St Petersburg, Russie.
32. F.X. Weill « Genomic insights into the Shiga's bacillus », CIET/Institut Pasteur Joint Symposium: Current Challenges on Infectious Diseases in Central America, 20-22 février 2019, San Jose, Costa Rica.
33. S. Lefèvre. « Systèmes de PCR multiplex et approche syndromique « *Salmonella*, *Shigella*, entre sous et sur détection », Congrès Microbes de la Société Française de Microbiologie, 1 octobre 2019.
34. F.X. Weill, « Genomic insights into *Shigella dysenteriae* », Department of Veterinary Medicine, 20 décembre 2019, University of Copenhagen, Danemark.
35. F.X. Weill, « Global spread of MDR *S. Kentucky* ST198 », Congrès (online) Molecular Diagnostics 2021, 10 novembre 2021, Moscou, Russie.

Sélection de cinq publications majeures



Highly drug-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198-X1: a microbiological study

Simon Le Hello, Dorothée Harrois, Brahim Bouchrif, Lucile Sontag, Dalelé Elhani, Véronique Guibert, Khalid Zerouali, François-Xavier Weill

Lancet Infect Dis 2013;
13: 672–79

Published Online
May 28, 2013
[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70124-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70124-5)

See Comment page 641

Institut Pasteur, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*, WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Paris, France (S Le Hello PharmD, D Harrois PharmD, L Sontag BSc, D Elhani PhD, V Guibert, F-X Weill MD); Institut Pasteur du Maroc, Sécurité Alimentaire et Environnement, Casablanca, Morocco (B Bouchrif PhD); and Laboratoire de Microbiologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Morocco (K Zerouali MD)

Correspondence to: Dr François-Xavier Weill, Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Institut Pasteur, 28 rue du docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France francois-xavier.weill@pasteur.fr

Summary

Background *Salmonella enterica* is a major global food-borne pathogen, causing life-threatening infections. Ciprofloxacin and extended-spectrum cephalosporins (ESCs) are the drugs of choice for severe infections. We previously reported a ciprofloxacin-resistant *S enterica* serotype Kentucky (*S* Kentucky) ST198-X1 strain that emerged in Egypt and spread throughout Africa and the Middle East from 2002 to 2008. We aimed to monitor recent trends in the location of transmission and antimicrobial resistance of this strain.

Methods We analysed isolates of *S* Kentucky collected by the French national surveillance system for salmonellosis in France from Jan 1, 2000, to Dec 31, 2011, and at two sites in Casablanca, Morocco, between Jan 1, 2003, and Dec 31, 2011. We analysed patterns of travel of patients infected with a ciprofloxacin-resistant strain of *S* Kentucky. We identified isolates showing resistance to ESCs or decreased susceptibility to carbapenems, characterised isolates by *Xba*I-pulsed field gel electrophoresis and multilocus sequence typing, and assessed mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial drugs.

Findings 954 (1%) of 128 836 serotyped *Salmonella* spp isolates in France were identified as *S* Kentucky, as were 30 (13%) of 226 *Salmonella* spp isolates from Morocco. During 2000–08, 200 (40%) of 497 subculturable isolates of *S* Kentucky obtained in France were resistant to ciprofloxacin, compared with 376 (83%) of 455 isolates in 2009–11, suggesting a recent increase in ciprofloxacin resistance in France. Travel histories suggested *S* Kentucky infections originated predominantly in east Africa, north Africa, west Africa, and the Middle East, but also arose in India. We report several occurrences of acquisition of extended-spectrum β -lactamase (CTX-M-1, CTX-M-15), plasmid-encoded cephalosporinase (CMY-2), or carbapenemase (OXA-48, VIM-2) genes by ciprofloxacin-resistant isolates of *S* Kentucky ST198-X1 from the Mediterranean area since 2009. Many of these highly drug-resistant isolates were also resistant to most aminoglycosides, to co-trimoxazole (trimethoprim-sulfamethoxazole), and to azithromycin.

Interpretation The potential risk to public health posed by ciprofloxacin-resistant *S* Kentucky ST198-X1 warrants its inclusion in national programmes for the control of *S enterica* in food-producing animals, in particular in poultry.

Funding Institut Pasteur, Institut de Veille Sanitaire, Fondation pour la Recherche Médicale, French Government Investissement d'Avenir programme.

Introduction

Antimicrobial drug-resistant bacteria present a serious challenge for the clinical care of patients and for public health in the 21st century.¹ Gram-negative superbugs, such as those resistant to extended-spectrum cephalosporins (ESCs) because of their ability to produce either extended-spectrum β -lactamases or cephamycinases (AmpC), seem to have now eclipsed Gram-positive superbugs (ie, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus* spp). Furthermore, the recent emergence of Enterobacteriaceae resistant to all β -lactam antibiotics, including ESCs and carbapenems, is of particular concern because carbapenems are in many cases the last option available for treatment of serious infection with ESC-resistant Gram-negative bacteria. Indeed, the development pipeline for new antimicrobial drugs with bactericidal activity against Gram-negative bacteria has now run dry.^{2,3}

In a 2004 report entitled *Bad Bugs, No Drugs*, the Infectious Diseases Society of America imagined a catastrophic scenario with an explosive epidemic of 220 000 cases and 1730 deaths caused by a multidrug-resistant

non-typhoidal strain of *Salmonella* spp, which was resistant, in particular, to ESCs and fluoroquinolones. This choice was based on the following observations: first, *Salmonella enterica* is a prevalent zoonotic agent causing an estimated 1.7 million infections per year and resulted in 2800 deaths in high-income regions of North America in 2006;⁴ second, *S enterica* can cause major food-borne outbreaks, such as one in the USA in 1994 associated with manufactured ice cream contaminated with *S enterica* serotype Enteritidis, which caused sickness in an estimated 224 000 people;⁵ third, fluoroquinolones, including ciprofloxacin, and ESCs are the drugs of choice for treatment of severe *S enterica* infections and for people at risk of such infections (infants, the elderly, and immunocompromised patients); and fourth, infections with drug-resistant *Salmonella* spp are associated with increased morbidity and mortality.⁶

We previously reported the international emergence of a multidrug-resistant *S enterica* serotype Kentucky (*S* Kentucky) strain, identified as being multilocus sequence type (MLST) ST198 and as belonging to *Xba*I-pulsed field gel electrophoresis (PFGE) cluster X1.⁷ *S* Kentucky ST198-X1 isolates are resistant to several antimicrobial

Global phylogeography and evolutionary history of *Shigella dysenteriae* type 1

François-Xavier Weill *et al.**

Together with plague, smallpox and typhus, epidemics of dysentery have been a major scourge of human populations for centuries¹. A previous genomic study concluded that *Shigella dysenteriae* type 1 (Sd1), the epidemic dysentery bacillus, emerged and spread worldwide after the First World War, with no clear pattern of transmission². This is not consistent with the massive cyclic dysentery epidemics reported in Europe during the eighteenth and nineteenth centuries^{3,4} and the first isolation of Sd1 in Japan in 1897⁵. Here, we report a whole-genome analysis of 331 Sd1 isolates from around the world, collected between 1915 and 2011, providing us with unprecedented insight into the historical spread of this pathogen. We show here that Sd1 has existed since at least the eighteenth century and that it swept the globe at the end of the nineteenth century, diversifying into distinct lineages associated with the First World War, Second World War and various conflicts or natural disasters across Africa, Asia and Central America. We also provide a unique historical perspective on the evolution of antibiotic resistance over a 100-year period, beginning decades before the antibiotic era, and identify a prevalent multiple antibiotic-resistant lineage in South Asia that was transmitted in several waves to Africa, where it caused severe outbreaks of disease.

January 2016 marks one hundred years since the invasion force from Britain, Australia, New Zealand and France withdrew from the Dardanelles, in the then Ottoman Empire, only eight months after landing. Most of the more than 120,000 casualties evacuated from the Gallipoli Peninsula were suffering from epidemic bacillary dysentery⁶, caused by *Shigella dysenteriae* type 1^{7,8} (Sd1), a bacterium producing the powerful Shiga toxin. This human-adapted clone of *Escherichia coli*⁹ was isolated for the first time by Kiyoshi Shiga during a dysentery outbreak in Japan, during which 90,000 cases and 20,000 deaths occurred in the last six months of 1897 alone⁵. In the second half of the twentieth century, large outbreaks of disease due to Sd1 were still being reported in Central America, with estimates of more than 500,000 cases and 20,000 deaths for the 1969–1973 epidemic^{10,11}, in Africa, where there were an estimated 100,000 cases and 5,000–10,000 deaths in the 1979 epidemic¹², and in Asia^{13,14}.

Very little is known about the origins, evolution and spread of this important human pathogen, including, in particular, the strains involved in the major outbreaks and the genetic relationships between them. We carried out a whole-genome sequence analysis on a set of Sd1 isolates selected from more than 35 international strain collections, representing the widest possible temporal and geographic distribution of available isolates, to obtain a phylogenetic framework that was robust over time and space and to infer transmission dynamics. This unique collection included 325 isolates from 66 countries spanning four continents, collected between 1915 and 2011. Sixty-seven historical isolates collected between

1915 and 1960, including 14 isolates obtained during the First World War^{15,16}, were included in the collection, together with several isolates from each major outbreak reported since the 1960s. Short-read sequences from six Sd1 published genomes² were also included, with *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. sonnei* and *E. coli* genomes used as outgroups.

Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) were detected by mapping short-read sequences against Sd1 reference genomes: Sd197 (ref. 17), which was isolated during an outbreak in China in the 1950s, and Sd1617 (ref. 18), which was isolated in Guatemala during the 1968–1969 epidemic. Maximum likelihood (ML) phylogenetic analysis was performed on 14,677 (mapping against Sd197) and 15,752 (mapping against Sd1617) chromosomal SNPs, which were randomly distributed over the non-repetitive non-recombinant core genome (85.6% of the Sd197 chromosome, Supplementary Discussion Section ‘SNP variation in *S. dysenteriae* type 1’ and Supplementary Fig. 12). Four genetic lineages (Fig. 1a and Supplementary Discussion Section ‘SNP variation in *S. dysenteriae* type 1’ and Supplementary Figs 9–11) were identified. Lineage I contained only M115, which was isolated from a case in England in 1926. Lineage II contained mostly isolates collected in Europe between 1915 and 1958. Lineage III contained isolates from around the world and could be split into four sublineages with strong geographical affinities: IIIa in eastern and southeastern Asia (with isolates collected between 1927 and 1971), IIIb in Central America (1955–1992), IIIc in West Africa (1954–2006) and IIId in southern Asia and eastern Africa (1956–1977) and then in West Africa (1979–1998). Finally, lineage IV contained most of the Sd1 isolates obtained from the Indian subcontinent and Africa in the last few decades.

Ten of the 14 isolates (71%) amassed by Captain E.G.D. Murray during the First World War belonged to the European lineage, lineage II, and most were isolated at the second Western General Hospital, Manchester, which received many of the soldiers evacuated during the Gallipoli campaign (Supplementary Fig. 1). The other four isolates belonged to three of the four sublineages of the global lineage, lineage III. None of the First World War isolates belonged to sublineage IIIc, which gave rise to the modern lineage, lineage IV.

The two candidate vaccine strains developed so far are derived from lineage III parental isolates: IIIb for parental strain Sd1617 of vaccine strain WRSd1 (ref. 19) and IIId for parental strain 7–87 of vaccine strain SC-599 (ref. 20).

ML phylogenetic analysis revealed a strong correlation between root-to-tip branch lengths and the known years of isolation for the sequenced Sd1 isolates, indicating a clock-like evolution (Supplementary Fig. 2). We therefore used a Bayesian phylogenetic approach to provide estimates of the nucleotide substitution rates and divergence times of the different lineages for a spatially and temporally representative subset of 125 isolates (Fig. 2). We estimated the genome-wide substitution rate at 8.7×10^{-7} substitutions site⁻¹ year⁻¹

*A full list of authors and their affiliations appears at the end of the paper.



Early transmissible ampicillin resistance in zoonotic *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in the late 1950s: a retrospective, whole-genome sequencing study

Alicia Tran-Dien, Simon Le Hello, Christiane Bouchier, François-Xavier Weill

Summary

Background Ampicillin, the first semi-synthetic penicillin active against Enterobacteriaceae, was released onto the market in 1961. The first outbreaks of disease caused by ampicillin-resistant strains of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium were identified in the UK in 1962 and 1964. We aimed to date the emergence of this resistance in historical isolates of *S enterica* serotype Typhimurium.

Methods In this retrospective, whole-genome sequencing study, we analysed 288 *S enterica* serotype Typhimurium isolates collected between 1911 and 1969 from 31 countries on four continents and from various sources including human beings, animals, feed, and food. All isolates were tested for antimicrobial drug susceptibility with the disc diffusion method, and isolates shown to be resistant to ampicillin underwent resistance-transfer experiments. To provide insights into population structure and mechanisms of ampicillin resistance, we did whole-genome sequencing on a subset of 225 isolates, selected to maximise source, spatiotemporal, and genetic diversity.

Findings 11 (4%) of 288 isolates were resistant to ampicillin because of acquisition of various β lactamase genes, including *bla*_{TEM-1} carried by various plasmids, including the virulence plasmid of *S enterica* serotype Typhimurium. These 11 isolates were from three phylogenomic groups. One isolate producing TEM-1 β lactamase was isolated in France in 1959 and two isolates producing TEM-1 β lactamase were isolated in Tunisia in 1960, before ampicillin went on sale. The vectors for ampicillin resistance were different from those reported in the strains responsible for the outbreaks in the UK in the 1960s.

Interpretation The association between antibiotic use and selection of resistance determinants is not as direct as often presumed. Our results suggest that the non-clinical use of narrow-spectrum penicillins (eg, benzylpenicillin) might have favoured the diffusion of plasmids carrying the *bla*_{TEM-1} gene in *S enterica* serotype Typhimurium in the late 1950s.

Funding Institut Pasteur, Santé publique France, the French Government's Investissement d'Avenir programme, the Fondation Le Roch-Les Mousquetaires.

Introduction

In May, 2015, the 68th World Health Assembly endorsed a global action plan to tackle antimicrobial resistance,¹ a global public health issue for the 21st century. The discovery and commercialisation of so-called sulfa drugs (eg, sulfonamidochrysoidine and sulfanilamide) 80 years ago opened up a new era in the fight against bacterial infections.² These synthetic bacteriostatic antibiotics were hailed as magic bullets or wonder drugs, but were rapidly eclipsed by penicillin, a natural bactericidal substance from *Penicillium rubrum* that had been discovered earlier (1928) but had not gone into mass production until World War 2.² In his landmark paper, Alexander Fleming noted that, unlike Gram-positive bacteria, the bacteria of the “coli-typhoid” group were not sensitive to penicillin.³ The first penicillin drug to be active against Enterobacteriaceae was ampicillin, a broad-spectrum semi-synthetic derivative of 6-aminopenicillanic acid that was commercialised by Beecham Research Laboratories under the name Penbritin in 1961.^{4,5}

The first report to describe β lactamases encoded by R factors (plasmids) in Enterobacteriaceae strains with

transmissible ampicillin resistance was published in 1965.⁶ In this report, two of the three Enterobacteriaceae strains studied were found to produce the TEM penicillinase. One of these strains, an *Escherichia coli* isolate obtained from a patient in Greece in 1963 (the strain and its β lactamase were named TEM after the patient's name, Temoneria),⁷ was subsequently shown to carry the *bla*_{TEM-1A} gene on an IncX2 plasmid about 40 kbp in size⁸ (table 1). The second of these strains, a *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B isolate obtained in the UK in 1963, was also subsequently shown to carry the *bla*_{TEM-1A} gene on an IncF plasmid that was roughly 100 kbp in size¹⁰ (table 1). A third strain, *S enterica* serotype Typhimurium phage-type 1a (later reclassified as definitive phage-type [DT] 2) isolated in Brighton, UK, in 1962 produced a β lactamase with a substrate profile that was different from that of TEM (table 1). This strain was isolated during the first reported outbreak caused by an ampicillin-resistant strain of *S enterica* serotype Typhimurium. The outbreak occurred in the UK in the second half of 1962, at a time when several *S enterica* serotype Typhimurium DT2 isolates resistant to

Lancet Infect Dis 2018; 18: 207–14

Published Online
November 29, 2017
[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30705-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30705-3)

See [Comment](#) page 132

Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* (A Tran-Dien MSc, S Le Hello PharmD, F-X Weill MD) and Plate-forme Génomique (PF1) (C Bouchier PhD), Institut Pasteur, Paris, France

Correspondence to:
Dr François-Xavier Weill, Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Institut Pasteur, Paris 75724, France
francois-xavier.weill@pasteur.fr

REVIEW

Genomic insights into the emergence and spread of antimicrobial-resistant bacterial pathogens

Stephen Baker,^{1,2,3*} Nicholas Thomson,^{4,5} François-Xavier Weill,⁶ Kathryn E. Holt^{5,7}

Whole-genome sequencing (WGS) has been vital for revealing the rapid temporal and spatial evolution of antimicrobial resistance (AMR) in bacterial pathogens. Some antimicrobial-resistant pathogens have outpaced us, with untreatable infections appearing in hospitals and the community. However, WGS has additionally provided us with enough knowledge to initiate countermeasures. Although we cannot stop bacterial adaptation, the predictability of many evolutionary processes in AMR bacteria offers us an opportunity to channel them using new control strategies. Furthermore, by using WGS for coordinating surveillance and to create a more fundamental understanding of the outcome of antimicrobial treatment and AMR mechanisms, we can use current and future antimicrobials more effectively and aim to extend their longevity.

When antimicrobial drugs were introduced into clinical usage in the mid-20th century, they had an astonishing impact on human health. Infectious bacteria that had threatened our survival were now at the mercy of a chemical arsenal. Previously fatal infections, from whooping cough and scarlet fever to tuberculosis and syphilis, were no longer considered a threat. Antimicrobials substantially reduced the risks associated with child birth, injuries, and invasive medical procedures. What has followed in the subsequent 70 years or so has been an uncontrolled microbiological experiment conducted on an unprecedented scale. Initially we identified a plethora of new antimicrobial classes targeting different essential bacterial functions, but we deployed them haphazardly in ever-increasing quantities. Now antimicrobial resistance (AMR) poses a genuine threat to human health, with the potential to return us to a situation where common infections are as untreatable as they were in the pre-antimicrobial era (1).

Humans did not create AMR; we simply promoted it by applying evolutionary pressure. Almost all antimicrobials have chemical similarities with compounds that can be found naturally; AMR genes have been found deep in the permafrost (2) and arose long before humankind's ability to synthesize antibacterial chemicals and use them en masse. Therefore, AMR in bacterial populations is a largely predictable phenomenon; the more commonly a specific antimicrobial compound is used,

the more likely it is that resistance will emerge and be maintained in an exposed microbial population. The specific dynamics of the processes associated with AMR are, however, less predictable. The rapidity with which diverse AMR phenotypes have emerged and become established within human, animal, and wider environmental populations of microbes has been astonishing and most likely accelerated by concurrent advances in human development, mobilization, and population growth.

“The first reports of penicillin-resistant infections occurred early in the 1940s, but a penicillinase was described even before the continued clinical usage of the prototype antibiotic.”

The evolutionary dynamics of antimicrobial resistance

How resistance is maintained and distributed within bacterial populations is a function of the organism's lifestyle (i.e., transmission mode, colonization, and pathogenicity) and the genetic basis for resistance, which can be either intrinsic (i.e., the organism naturally lacks the specific pathway targeted by the drug), mutation associated (i.e., induced changes are passed vertically to descendants), or acquired via horizontal gene transfer (HGT) between organisms (with acquired genes then being passed vertically to progeny). The first reports of penicillin-resistant infections occurred early in the 1940s, but a penicillinase was described even before the continued clinical usage of the prototype antibiotic (3). Since then, there

have been numerous examples of the rapid emergence of bacteria exhibiting resistance to a specific antimicrobial class soon after its introduction (4). However, in the past decade, through the advent of high-throughput whole-genome sequencing (WGS), we have been able to make substantive advances in understanding the dynamics of AMR evolution and spread in bacterial populations.

WGS has become the key technology for understanding pathogen evolution, population dynamics, and genomic epidemiology, as it provides a far greater degree of reproducibility, standardization, and resolution than previous genotyping methods (5). By capturing both the neutral evolution of the population—for tracking transmission and diversification of the organism—and the genetic determinants of AMR, WGS can reveal detailed temporal and spatial dynamics of AMR evolution and simultaneously infer the impact of AMR selection on pathogen populations. Much of the pioneering WGS-based AMR work was focused on the opportunistic Gram-positive human pathogen *Staphylococcus aureus*, particularly with respect to the emergence of methicillin resistance (MRSA) in health care facilities in Europe (6). MRSA is still among the best examples of how AMR variants can rapidly emerge, be efficiently maintained, and spread at different spatiotemporal scales, ranging from individual hospital wards to health care networks, and internationally within human populations (Fig. 1). MRSA was first observed in 1960, within a year of the introduction of second-generation β -lactams, such as methicillin, into clinical practice. However, phylogenetic reconstruction showed that MRSA actually emerged in the 1940s via HGT of the staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) element, as a consequence of the initial mass usage of penicillin (7). WGS data shows that MRSA has arisen on numerous occasions independently in different subpopulations on different continents (e.g., USA300, ST22 in Europe, and ST93 in Australia) through parallel HGT events and spread throughout health care systems (6). The history of health care-associated MRSA in the later part of the 20th century was punctuated by frequent epidemics associated with highly successful clones, such as EMRSA-15 (ST22), which was first described in the United Kingdom in the 1990s and then spread throughout Europe, and then intercontinentally (Fig. 1) (8). Notably, a fluoroquinolone-resistant EMRSA-15 variant arose in the United Kingdom soon after clinical trials with ciprofloxacin in the 1980s, with point mutations in the DNA gyrase and topoisomerase IV genes. This critical event was the apparent trigger for the subsequent pandemic spread of a fluoroquinolone-resistant MRSA variant (Fig. 1) (8).

The global dissemination of antimicrobial-resistant clones

MRSA epitomizes a now all-too-familiar evolutionary route by which successful AMR clones

¹Oxford University Clinical Research Unit, Ho Chi Minh City, Vietnam. ²Centre for Tropical Medicine and Global Health, Oxford University, Oxford, UK. ³The Department of Medicine, University of Cambridge, Cambridge, UK. ⁴The Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, UK. ⁵The London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, UK. ⁶Institut Pasteur, Paris, France. ⁷Department of Biochemistry and Molecular Biology, Bio21 Molecular Science and Biotechnology Institute, University of Melbourne, Parkville, Victoria, Australia.

*Corresponding author. Email: sbaker@oucr.uo.edu



The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*

Erick Denamur^{1,2,3,✉}, Olivier Clermont^{1,2}, Stéphane Bonacorsi^{1,4,5} and David Gordon⁶

Abstract | *Escherichia coli* is a commensal of the vertebrate gut that is increasingly involved in various intestinal and extra-intestinal infections as an opportunistic pathogen. Numerous pathotypes that represent groups of strains with specific pathogenic characteristics have been described based on heterogeneous and complex criteria. The democratization of whole-genome sequencing has led to an accumulation of genomic data that render possible a population phylogenomic approach to the emergence of virulence. Few lineages are responsible for the pathologies compared with the diversity of commensal strains. These lineages emerged multiple times during *E. coli* evolution, mainly by acquiring virulence genes located on mobile elements, but in a specific chromosomal phylogenetic background. This repeated emergence of stable and cosmopolitan lineages argues for an optimization of strain fitness through epistatic interactions between the virulence determinants and the remaining genome.

Pathotypes (also known as pathovars)

Groups of organisms that have the same pathogenicity on a specified host.

¹Université de Paris, IAME, UMR1137, INSERM, Paris, France.

²Université Sorbonne Paris Nord, IAME, Paris, France.

³AP-HP, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Bichat, Paris, France.

⁴AP-HP, Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France.

⁵Centre National de Référence *Escherichia coli*, Hôpital Robert Debré, Paris, France.

⁶Ecology and Evolution, Research School of Biology, The Australian National University, Acton, ACT, Australia.

✉e-mail: erick.denamur@inserm.fr

<https://doi.org/10.1038/s41579-020-0416-x>

Escherichia coli is a commensal member of the vertebrate gut microbiota¹ as well as an opportunistic pathogen^{2,3} of mammals and birds. *E. coli* is the predominant aerobic bacterium of the gut microbiota, although it is outnumbered by anaerobic bacteria 100:1–10,000:1. In humans, its prevalence is more than 90% with a concentration per gram of faeces from 10⁷ to 10⁹ colony-forming units¹. *E. coli* strains can cause both extra-intestinal pathologies (urinary tract infections (UTIs), diverse intra-abdominal, pulmonary, skin and soft tissue infections, newborn meningitis (NBM) and bacteraemia) and intestinal pathologies (various forms of diarrhoea, including haemolytic and uraemic syndrome (HUS)). These infections can be very common (UTIs)⁴, associated with high morbidity (renal failure in HUS in children⁵, neurologic sequelae in NBM⁶) and high mortality (~15% in bacteraemia^{7,8}). The incidence of extra-intestinal infections is increasing in humans⁹, and we regularly experience major HUS epidemics, such as the 2011 epidemic in Europe¹⁰. Furthermore, antibiotic resistance in *E. coli* is rising¹¹ and it now ranks third in the list of the 12 antibiotic-resistant ‘priority pathogens’ described by the WHO.

E. coli pathogenic strains are usually classified into pathotypes (also known as pathovars)^{2,3}, and they are identified using acronyms. These pathotypes have been proposed over time as specific discoveries have been made and are not unified in a meaningful way. The definition of these pathotypes can be based on various criteria, such as the target organ (for example, urinary tract and uropathogenic *E. coli* (UPEC)); the infected host (for example, bird and avian pathogenic *E. coli* (APEC)); the

association with an organ and host (for example, cerebrospinal fluid in newborns and newborn meningitis *E. coli* (NMEC)); the association with the targeted organs, the presence of specific genes or the virulence in an animal model (for example, extra-intestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC)); the pathology caused by the strains (for example, diarrhoea and intestinal pathogenic *E. coli* (InPEC)); the presence of a specific gene or genes, alone or in combination (for example, Shiga-toxin encoding *stx* gene and Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC), intimin-encoding *eae* with or without pili-encoding *bfp* gene(s) and typical or atypical enteropathogenic *E. coli* (tEPEC or aEPEC, respectively)); or a specific ex vivo phenotype (for example, adhesion and invasion of epithelial cells and adherent-invasive *E. coli* (AIEC)). A detailed list of the most commonly used pathotypes with their main characteristics is presented in TABLE 1. Extensive knowledge of the molecular and cellular mechanisms of *E. coli* pathogenicity has accumulated over the years^{2,3}.

During recent years, complex hybrid pathotypes have emerged, either within the InPEC pathotypes (for example, enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) and enteroaggregative *E. coli* (EAEC)) or between InPEC and ExPEC pathotypes (for example, EHEC and ExPEC) (TABLE 1), rendering the pathotype classification difficult to follow. The description of cryptic *Escherichia* clades¹² and the difficulty to identify other *Escherichia* species resulted in additional confusion. Concomitantly, the democratization of whole-genome sequencing (WGS) has led to the accumulation of genomic data that may enable phylogenomic approaches to classify pathogenic *E. coli* strains. In this context, an overview of the emergence

5 DESCRIPTION DES PROCESSUS QUALITE ET GARANTIES MISES EN ŒUVRE

5.1 CONTEXTE GENERAL

Le contexte général du processus de qualité et les garanties mises en œuvre communes à tous les Centres Nationaux de Référence à l'Institut Pasteur sont décrits dans l'**Annexe C**.

5.2 LA DEMARCHE QUALITE

5.2.1 CNR-ESS

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. ». Depuis la **nouvelle organisation du CNR-ESS et du LA-RD** proposée pour le mandat 2017-2022, 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 dans un cadre de détection et de surveillance des épidémies**. Le CNR-ESS n'utilisant plus cette technique de PCR dans le cadre du diagnostic a donc entrepris une **demande de retrait d'accréditation** présentée à l'audit COFRAC d'octobre 2020 (Evaluation du Renouvellement n° SH-20-0153). **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 cette ligne de portée (pour la période 01/02/2021 à 31/10/2025).**

Toutes les analyses réalisées par le CNR-ESS étant maintenant strictement effectuées par l'analyse du génome bactérien, et ce dans un but de typage épidémiologique, aucune technique ne fait plus l'objet d'une demande d'accréditation par le COFRAC.

ENGAGEMENT DU CNR-ESS DANS UNE DEMARCHE QUALITE :

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 respect de la confidentialité des résultats de typage épidémiologique (convention de preuve signée avec chacun de nos laboratoires correspondants), de gestion et traçabilité du matériel, des réactifs et des consommables, et de gestion des souches bactériennes.

Par exemple, si lors de la réception des souches une **non-conformité** d'ordre pré-analytique est observée, cette dernière est systématiquement enregistrée dans notre système informatique de gestion des souches et est notifiée au laboratoire concerné.

ÉVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE :

Chaque année le CNR-ESS participe aux **contrôles de qualité externe européens proposés par l'ECDC** via le Statens Serum Institut (Copenhague, Danemark), pour *Salmonella* et pour STEC (sérotypage *in silico* O et H, détermination des gènes de résistance aux antibiotiques et/ou de virulence et analyse de clusters génomiques).

RECONNAISSANCE DU LABORATOIRE PAR DES INSTANCES NATIONALES ET INTERNATIONALES :

L'Unité BPE a été désignée, du 3 décembre 2018 au 3 décembre 2022, 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.

5.2.2 LA-RD

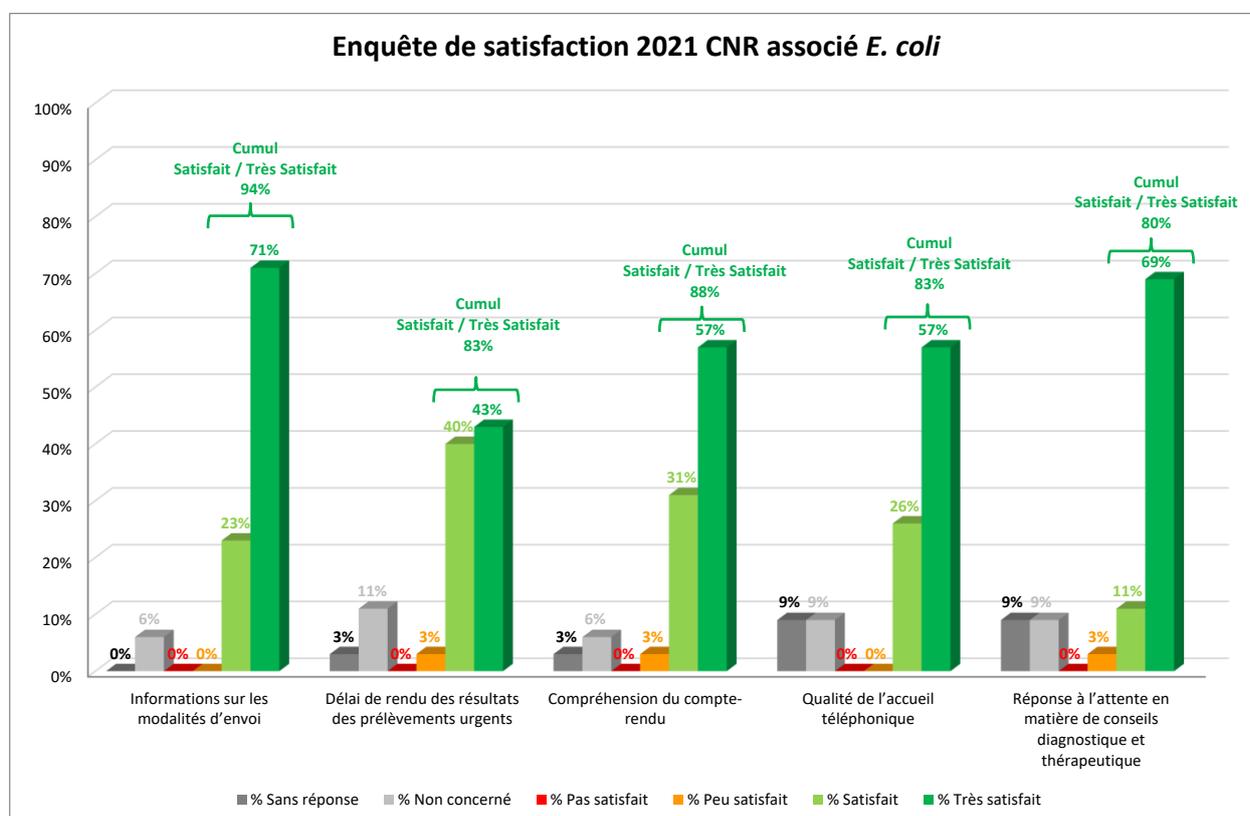
Le LA-RD est engagé dans une démarche qualité pour ses activités spécifiques qui sont réalisées au sein du service de Microbiologie de l'hôpital Robert-Debré.

De plus, en raison de l'obligation faite aux laboratoires de biologie médicale de respecter la norme ISO15189, le service de Microbiologie ainsi que le Pôle de Biologie de l'hôpital Robert-Debré sont entrés dans la démarche d'accréditation en 2013. L'accréditation selon la norme ISO15189 a été obtenue en Juin 2014 (Accréditation COFRAC N°8-3318). Des procédures spécifiques à l'activité du laboratoire associé ont été rédigées : procédures générales, procédures pré-analytiques, analytiques et post-analytiques.

Le LA-RD participe au contrôle de qualité international sur les EHEC comme le CNR-ESS (voir supra).

Dans le cadre d'un objectif d'amélioration continue, le LA-RD a réalisé une enquête de satisfaction envoyée à 275 de ses prescripteurs afin de connaître leur degré de satisfaction vis-à-vis du LA-RD. A ce jour, nous avons reçu 35 réponses dont les résultats sont synthétisés en **Figure 49**. Globalement, le LA-RD a obtenu 80% à 94% de satisfait ou très satisfait.

Figure 49: Principaux résultats de l'enquête de satisfaction du LA-RD menée auprès de ses principaux prescripteurs 2021



6 DESCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE

6.1 INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE

L'infrastructure informatique commune à tous les Centres Nationaux de Référence à l'Institut Pasteur est décrite dans l'**Annexe B.3**.

6.1.1 L'infrastructure informatique au CNR-ESS

Lagon est l'application utilisée par le CNR-ESS en routine pour la gestion des échantillons envoyés par les laboratoires de biologie médicale.

En 2021, le CNR-ESS a arrêté l'utilisation de la plateforme **Voozano** pour la déclaration en ligne des cas de shigellose et de salmonellose sans envoi de souches (voir paragraphe **3.1.3.1.2** Définition de l'échantillon de souches isolées la **Figure 7**).

Le CNR-ESS utilise le système **R** en routine pour la détection de cas groupés et de façon hebdomadaire pour produire les rapports épidémiologiques envoyés à Santé publique France.

Depuis 2020, la solution **BlueFiles** est utilisée de façon systématique entre le CNR-ESS et Santé publique France et de façon ponctuelle avec certains laboratoires de biologie médicale, pour l'échange de données critiques. Néanmoins, à ce jour la solution BlueFiles ne nous permet pas de dématérialiser l'envoi systématique de comptes rendus d'analyses aux laboratoires.

Enfin, le CNR-ESS actualise régulièrement son **site Internet** :

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

7 PROPOSITION DE PROGRAMME DE TRAVAIL QUINQUENNAL POUR LA PERIODE 2023-2027

Le programme de travail pour les années 2023-2027 est orienté vers la mise en conformité totale au cahier des charges spécifiques du CNR.

7.1 POUR LES SHIGELLES ET SALMONELLES

7.1.1 Expertise

- **en contribuant au développement des méthodes de typage, en particulier moléculaire et génomique ;**
- **en identifiant et typant les souches;**
- **en suivant l'évolution de la résistance des shigelles et salmonelles aux antibiotiques et en étudiant les mécanismes de résistance, en collaboration avec le CNR Résistances aux antibiotiques.**

Le CNR-ESS va poursuivre l'utilisation de la génomique en temps réel pour la surveillance microbiologique et l'investigation des infections à salmonelles et shigelles. Toutes les souches adressées au CNR-ESS, que ce soit dans le cadre de la surveillance ou dans le cadre d'investigations, seront identifiées et typées par analyse génomique (analyse cgMLST complétée si nécessaire par une analyse basée sur les SNP). Afin de conserver le lien avec la classification traditionnelle phénotypique, le sérotype de chaque souche sera inféré des données génomiques. Notre capacité annuelle sera de 10-12000 souches pour le séquençage haut débit et l'analyse génomique. A titre exceptionnel et dans le cadre d'investigation de certaines épidémies causées par des sérotypes peu fréquents sur des populations fragiles (par exemple les nourrissons), le sérotypage classique pourra être réalisé en urgence afin de permettre aux épidémiologistes d'identifier et d'interroger les cas le plus rapidement possible. Ce sérotypage d'orientation se fera à la demande de Santé publique France mais seul le résultat par analyse génomique sera pris en compte pour l'identification et le typage de la souche.

Nous allons poursuivre l'analyse de la sensibilité aux antibiotiques à l'aide de méthodes standardisées suivant les recommandations du CA-SFM/EUCAST pour toutes les souches de *Shigella*, de *S. enterica* sérotypes Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B et Paratyphi C et pour une sélection des autres sérotypes de *Salmonella* (sélection adéquate des principaux sérotypes, des sérotypes émergents, des sérotypes avec un haut niveau de résistance aux antibiotiques, ...). La capacité d'analyse sera de 2500 souches annuelles. Nous continuerons à utiliser l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé et/ou la détermination des CMI par la technique des E-tests ou par microdilution en milieu liquide (Sensititre, Trek Diagnostics Systems). Pour la méthodologie Sensititre, nous continuerons à utiliser les plaques EUVSEC2 et EUVSEC3 comprenant une sélection d'antibiotiques définis en lien avec les besoins de l'ECDC et de l'EFSA. La recherche de la résistance à l'azithromycine sera effectuée pour toutes les souches de *Salmonella* et *Shigella*. La détermination des CMI vis-à-vis de l'acide nalidixique, de la ciprofloxacine et de l'azithromycine sera systématique pour les souches de *S. enterica* sérotypes Typhi et Paratyphi A. L'étude des mécanismes des résistances émergentes sera poursuivie et des collaborations seront développées avec le CNR Résistance aux antibiotiques.

Toutes les souches seront conservées indéfiniment en tube gélosé dans une pièce climatisée dédiée à la collection. Les souches fragiles (par exemple *S. dysenteriae* de type 1) ou précieuses (souches de référence des nouveaux sérotypes, séquençotypes (MLST), ou possédant des résistances particulières aux antibiotiques) seront conservées à -80°C dans l'Unité BPE. La mise à disposition des souches se fera après accord des responsables du CNR dans le cadre d'un MTA (Material Transfer Agreement).

7.1.2 Conseil

- **pas d'exigences particulières par rapport au cahier des charges général.**

Le CNR-ESS continuera de diffuser ses données ou son expertise par des rapports, cours, ateliers (tels ceux de Santé publique France ou de l'OMS), conférences, bulletins du contrôle national de qualité, publications scientifiques nationales et internationale.

Les rapports d'activité du CNR-ESS seront consultables (fichiers pdf) sur son site Web : <http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-nationaux-referance/les-cnr/escherichia-coli-shigella-salmonella/rapports-d-activite>

Le CNR-ESS continuera de dispenser des conseils à la fois pratiques (milieu de transport, feuille d'information...), diagnostiques (importance des gènes de pathogénicité ou du sérotype détecté...), thérapeutiques et/ou épidémiologiques de façon quasi quotidienne par téléphone ou courrier électronique (colishig@pasteur.fr ou salmonella@pasteur.fr).

Le CNR-ESS continuera de recevoir et former des stagiaires de courte ou de longue durée (BTS, IUT, L3, Master 1, Master 2, doctorants, chercheurs du réseau des Instituts Pasteur, ...).

Pour toutes les souches reçues au CNR-ESS, un résultat de typage épidémiologique sera systématiquement adressé au laboratoire expéditeur afin de maintenir le réseau de laboratoires du CNR-ESS.

7.1.3 Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique

- **en suivant les tendances évolutives spatio-temporelles des différentes espèces de shigelles et sérotypes de salmonelles, en s'appuyant sur un réseau de laboratoires de biologie médicale sur tout le territoire ;**

Le réseau du CNR-ESS initié en 1947 par le Pr Léon Le Minor est l'un des plus anciens dans le paysage microbiologique national. Il dispose d'une bonne exhaustivité : une enquête CNR-Afssaps lors du Contrôle National de Qualité avait révélé que le CNR avait connaissance de 66% des isollements de *Salmonella* et 54% des isollements de *Shigella* en 2008. En 2019, près de 1000 laboratoires ont envoyé des souches au CNR-ESS. Toutes les souches adressées au CNR-ESS seront identifiées et typées par analyse génomique (analyse cgMLST complétée si nécessaire par une analyse basée sur les SNP) et le sérotype de chaque souche sera déduit des données génomiques de façon à pouvoir suivre les tendances spatio-temporelles des différents sérotypes de shigelles et salmonelles.

- **en détectant précocement les épisodes épidémiques, par la caractérisation des souches par la méthode de typage la plus adaptée, en particulier génomique, et par le développement de seuils d'alerte ;**

Le CNR-ESS continuera à typer dès réception les souches de *Salmonella* et *Shigella* par WGS. Ses capacités lui permettront de typer environ 10-12000 souches annuelles. Pour les *Salmonella*, le CNR-ESS continuera à utiliser en routine hebdomadaire le programme de détection des dépassements de seuils à l'aide de trois algorithmes différents. La variable « sérotype » est désormais inférée de l'analyse génomique et non plus issue d'un sérotypage classique. Une analyse hebdomadaire des différentes populations bactériennes sous surveillance sera faite à partir des données de cgMLST (niveau HC5).

- **en signalant à l'agence nationale de santé publique les foyers de cas groupés et les suspicions de TIAC notifiés au CNR ;**

Le CNR-ESS va poursuivre son envoi hebdomadaire à Santé publique France du relevé électronique des souches notifiées comme faisant partie de cas groupés par les laboratoires de son réseau ainsi que les souches des maladies infectieuses à déclaration obligatoire (*S. enterica* sérotypes Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B ST86 et Paratyphi C). Les relevés comprendront comme renseignements : le numéro de la souche, le sérotype (déduit), les données cgMLST (HC2-HC50), le séquençotype, le type CRISPOL, le code anonymat du patient ou de la patiente, le type de prélèvement, le nom et le code postal du laboratoire expéditeur, le nombre de cas, la notion de voyage ou d'un aliment à l'origine de l'épisode et si les cas groupés sont familiaux, hospitaliers, scolaires ou sont survenus dans des crèches ou des colonies de vacances. Le CNR-ESS communiquera par téléphone à Santé publique France toutes informations de TIAC remontées par son réseau de laboratoires.

- **en participant à l'investigation des épisodes épidémiques et en réalisant la comparaison des souches isolées chez les malades et dans d'autres sources notamment alimentaires avec des méthodes discriminantes, en particulier génomiques ;**

Le CNR-ESS va poursuivre son expertise microbiologique lors d'investigations d'épidémies en collaboration avec Santé publique France (pour le choix des souches épidémiques ou non épidémiques) et l'ANSES-Maisons Alfort (pour analyser en parallèle les souches représentatives d'origine alimentaire). Il réalisera un séquençage génomique en temps réel sur les souches isolées au cours de l'épidémie et fera une analyse génomique de façon à déterminer si les souches étudiées (cliniques, alimentaires ou autres) sont reliées génétiquement.

- **en développant la capacité, lors de la survenue d'une épidémie, de réaliser rapidement un typage le plus discriminant possible (adapté en fonction du sérotype en cause) des souches concernées afin de rapidement différencier les cas épidémiques et non épidémiques.**

Le CNR-ESS va réaliser en première intention un séquençage génomique sur toutes les souches reçues. Exceptionnellement, dans le cadre d'investigation de certaines épidémies causées par des sérotypes peu fréquents sur des populations fragiles (par exemple les nourrissons), un sérotypage classique pourra être réalisé à la demande de Santé publique France afin de permettre aux épidémiologistes d'identifier et d'interroger les cas le plus rapidement possible. En effet, le sérotypage classique produit un résultat en 2-3 jours alors que le séquençage requiert au moins 10 jours de la réception des échantillons à la validation de l'analyse génomique. Ce sérotypage classique sera considéré comme une analyse d'orientation avant un résultat définitif par analyse génomique.

- **en collaborant avec les organismes compétents dans le domaine des salmonelles chez l'animal, dans les aliments et l'environnement, en particulier les LNR *Salmonella* spp et Salmonelloses aviaires ;**

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*.

- **en collaborant avec les réseaux de surveillance internationaux et en particulier européens notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonoses 2003/99/CE.**

Le CNR-ESS va poursuivre sa collaboration avec les réseaux de surveillance internationaux, notamment en répondant aux collectes annuelles de données de ces structures (ECDC-FWD, Commission Européenne, OIE, EFSA, OMS).

7.1.4 Contribution à l'alerte

- **en signalant à l'agence nationale de santé publique tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, survenue de cas groupés, modification des profils de résistance, apparition de souches inhabituelles, modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles), etc.**

Le CNR-ESS va poursuivre sa collaboration quotidienne avec Santé publique France en signalant et en participant à l'investigation de tout événement inhabituel.

7.2 POUR LES *ESCHERICHIA COLI* ENTEROHEMORRAGIQUES (EHEC)

Dans le cadre du nouveau plan quinquennal et dans le but d'une plus grande efficacité et de clarification vis-à-vis des membres du réseau, le LA-RD poursuivra la centralisation de l'ensemble des prélèvements de selles et des souches pour le diagnostic et la caractérisation des infections à EHEC et ExPEC.

7.2.1 Expertise

7.2.1.1 Techniques de diagnostic et de caractérisation

Le LA-RD réalisera directement sur les selles

- la recherche par PCR des gènes de virulence dans les selles par PCR en temps réel
- la recherche et l'isolement des souches de EHEC sur toutes les selles PCR positive

Le LA-RD réalisera sur les souches isolées au LA-RD et sur les souches reçues :

- une identification du genre *Escherichia coli* par spectrométrie de masse MALDI-TOF et dans le cas échéant par PCR du gène *uidA* et/ou le séquençage du gène *rpoB*
- la recherche par PCR des gènes de virulence : *stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*
- le sérogroupage par PCR multiplex permettant de détecter les sérogroupes les plus fréquemment retrouvés dans les pathologies liées aux EHEC : O157, O26, O111, O55, O91, O103, O145, O104. La PCR peut-être réajustée en fonction des données épidémiologiques. Ainsi, devant l'augmentation de sa prévalence, le sérotype *E. coli* O80 a été ajouté à la liste des huit sérogroupes détectés en 2013.

En cas de négativité, une seconde PCR sérogroupage en cours de développement permettra de détecter d'autres sérogroupes (O117, O128, O174, O146, O148, O106) qui ont été choisis en fonction des dernières données épidémiologiques de 2015.

- en cas d'alerte, un génotypage de première intention des souches pourra être réalisé par PCR-MLVA (voir ci-dessous recherche appliquée)

Toutes les souches de EHEC seront systématiquement adressées au CNR-ESS pour la caractérisation génétique fine des souches par WGS permettant de déterminer : le cluster cgMLST, les variants *stx*, *eae*, le sérotype, le sequence type, et la recherche d'autres gènes d'intérêt.

L'ensemble des données cliniques, microbiologiques et génomiques seront recueillies dans un fichier unique CNR-ESS-LA.

7.2.1.2 Constitution et stockage des collections

Dorénavant, les collections de EHEC seront sécurisées avec une double conservation des souches à la fois au LA-RD et au CNR-ESS. Les mêmes conditions de stockage et de mise à disposition décrites au paragraphe « Collection de souches » seront appliquées.

7.2.1.3 Travaux d'évaluation de techniques envisagés

Le LA-RD continuera à évaluer les nouveaux kits de diagnostic d'infections à EHEC en particulier les systèmes de PCR multiplex automatisés qui se généralisent dans les plateformes de biologie médicale privées. A ce titre une évaluation est en cours avec le système BD-MAX de Beckton-Dickinson.

7.2.1.4 Travaux de recherche appliqués en lien avec les missions du CNR

MISE AU POINT D'UNE PCR-MLVA

Récemment, l'analyse de séquences répétées en tandem variables (VNTR, « variable-number tandem-repeat »), présentes sur le génome des procaryotes comme sur celui des eucaryotes, a ouvert la voie à un outil de typage prometteur : la méthode MLVA (Multilocus variable-number tandem-repeat analysis). Cette méthode consiste à amplifier plusieurs loci porteurs de VNTR et de différencier les souches par la taille des produits de PCR. Dans cette méthode, les amorces de chaque locus sont marquées par un fluorophore spécifique et les produits de PCR sont séparés sur un capillaire de séquençage, ce qui limite l'utilisation du MLVA aux laboratoires équipés de ce type de matériel. L'intérêt du MLVA est que certains VNTR présentent un polymorphisme même entre souche phylogénétiquement très proches. Nous avons donc adapté cette technique pour en faire un outil simple et rapide capable de discriminer au sein des sérotypes et groupes clonaux des ExPEC et STEC. Ce MLVA simplifié se présente sous la forme d'une simple PCR multiplex avec migration en gel d'agarose, sur une cuve d'électrophorèse standard. Les VNTR ont été choisis afin de cibler d'une part ceux qui présentaient un polymorphisme entre les souches d'ExPEC, en particulier au sein du groupe B2-1, et d'autre part ceux qui permettaient de discriminer au sein des serogroupes les plus fréquemment associés au SHU (O157 et O26). Ce travail s'est basé sur les VNTR connus par la littérature et sur d'autres polymorphismes ciblant plus spécifiquement les ExPEC, grâce aux outils du site de l'équipe « Genomes and PolyMorphismS » de l'université Paris Sud (<http://minisatellites.u-psud.fr>). La difficulté du travail a consisté dans l'adaptation des tailles des amplifiats afin que les VNTR faits de courtes répétitions soient suffisamment différenciables sur gel d'agarose (amplifiats courts) et que les différents VNTR ne se superposent pas. Les premiers essais de typage par cette technique sont encourageant, tant pour les souches du groupe B2-1 que pour les clones de STEC

DEVELOPPEMENT D'UNE PCR DE SEROGROUPAGE DE DEUXIEME INTENTION

Elle sera adaptée aux données épidémiologiques récentes (O117, O128, O174, O146, O148, O106)

7.2.2 Conseil, formation, information

PROJETS DE FORMATION

Le LA-RD continuera le travail d'information des laboratoires et de formation de stagiaires déjà entrepris au cours de la mandature précédente en particulier un étudiant en master M2 sera accueilli avec un projet consacré à l'émergence du clone hybride (EHEC-ExPEC) O80 : H2.

DIFFUSION DE RECOMMANDATION ET D'INFORMATIONS AUX PROFESSIONNELS

- Publication à venir dans la Revue Française des Laboratoires sur le diagnostic des EHEC
- Publication à venir dans l'Encyclopédie médico-Chirurgicale : chapitre « Infections à EHEC »
- Création d'un site Internet dédié au LA-RD abrité par le CHU Robert Debré
- Formation « Bioforma » aux biologistes privés

COLLABORATION A DES EXPERTISES

En 2016, le LA-RD a été sollicité par l'ANSES pour être expert en réponse à la saisine « **Détection des STEC considérées comme hautement pathogène en filière viande hachée bovine** » (2016-SA-0126) adressée par la DGAI et la DGS.

7.2.3 Contribution à la surveillance en lien avec l'agence nationale de santé publique

ANIMATION DE RESEAU DE PARTENAIRES

Le LA-RD continuera à collaborer avec le réseau de néphrologues pédiatres dans le cadre du SHU de l'enfant et également avec le réseau des néphrologues adultes dans le cadre des MAT.

SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Le LA-RD continuera de façon systématique à surveiller la résistance aux antibiotiques en particulier la résistance à l'azithromycine.

DETECTION ET INVESTIGATION DE CAS GROUPES

La caractérisation en temps réel des souches isolées de EHEC permettra la détection rapide des cas épidémiques. Le typage d'une part par PCR-MLVA et d'autre part par WGS permettra d'investiguer les cas groupés détectés.

RESEAUX DE SURVEILLANCE INTERNATIONAUX

Le CNR-ESS-LA en collaboration avec Santé publique France contribuera à la surveillance internationale et en particulier européenne notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonoses 2003/99/CE.

PROJETS D'ENQUETE /ETUDES CONCOURANT A LA SURVEILLANCE

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 (échanges de souches, etc.), et notamment le LNR de VetAgroSup et l'Anses Maisons Alfort.

En collaboration avec SpF, les cas de SHU à *E.coli* O80 seront plus particulièrement investigués par un questionnaire exhaustif permettant la recherche d'une source de contamination alimentaire ou environnementale.

7.2.4 Contribution à l'alerte

Modalités d'interface avec SpF :

- Les résultats seront transmis en temps réel par téléphone et/ou par messagerie sécurisée à SpF.
- Tout événement inhabituel (augmentation du nombre de cas, modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles) ; survenue de cas groupés, apparition de souches inhabituelles, etc.) sera également transmis par les mêmes voies.

7.3 POUR LES *ESCHERICHIA COLI* EXTRA-INTESTINAUX (MENINGITES NEONATALES, AUTRES...)

7.3.1 Expertise

TECHNIQUES DE DETECTION ET D'IDENTIFICATION

Les souches ExPEC seront caractérisées par leur appartenance à un groupe phylogénétique, par leur empreinte de virulence et par sérogroupage par PCR :

- le groupe phylogénétique sera déterminé par une PCR multiplex permettant de distinguer les 4 groupes majeurs (A, B1, B2, D) et les groupes mineurs C et F.
- les empreintes de virulence comporteront la recherche par une double PCR multiplex des 10 gènes de virulence suivants :
- les sérogroupes les plus fréquents (O83, O45, O18, O16, O7, O1, O6, O4, O2) sont recherchés par une PCR multiplex mise au point dans le laboratoire.

TRAVAUX D'ÉVALUATION DE TECHNIQUES

Le LA-RD sera amené à expertiser des kits de PCR multiplexes appliqués au diagnostic des méningo-encéphalites et intégrant la cible *E.coli* qui sont disponibles depuis peu sur le marché.

TRAVAUX DE RECHERCHE APPLIQUÉE ENVISAGÉS

- Évaluation de la nouvelle technique PCR-MLVA permettant un génotypage de première intention en cas de cas groupés (voir supra)
- Investigations complémentaires réalisées sur les souches de septicémies associées à des SHU like et *stx* négatives

7.3.2 Conseil, formation, information

PROJET DE FORMATION

Le LA-RD continuera le travail d'information des laboratoires et de formation de stagiaires déjà entrepris au cours de la mandature précédente en particulier un étudiant en master M2 sera accueilli avec un projet consacré à l'émergence du clone hybride (EHEC-ExPEC) O80:H2

DIFFUSION DE RECOMMANDATION ET INFORMATION

- Création d'un site Internet dédié au LA-RD abrité par le CHU Robert Debré
- Expertise auprès de l'HAS ; « Prise en charge des infections bactériennes néonatales précoces » en cours

7.3.3 Contribution à la surveillance en lien avec l'agence nationale de santé publique

RESEAU DE PARTENAIRES

- Le LA-RD continuera de contribuer à l'Observatoire national des méningites bactériennes de l'enfant du Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique (GPIP) de la Société Française de Pédiatrie (SFP) et de l'association clinique et thérapeutique infantile du Val de Marne (ACTIV). Cet observatoire comprend un réseau 259 services de pédiatrie et 168 services de bactériologie répartis dans toutes la France

- Poursuite et développement du réseau de surveillance des infections materno-fœtales à *E.coli* au sein de l'APHP

SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Le LA-RD continuera de façon systématique à surveiller la résistance aux antibiotiques en particulier l'émergence de souches productrices de BLSE.

DETECTION ET INVESTIGATION DE CAS GROUPEES

La caractérisation en temps réel des souches d'ExPEC permettra la détection rapide des cas épidémiques. Le typage d'une part par PCR-MLVA et éventuellement par WGS permettra d'investiguer les cas groupés détectés.

RESEAUX DE SURVEILLANCE INTERNATIONAUX

Le LA-RD continuera de collaborer et d'échanger avec les CNR *E. coli* européens.

PROJET D'ENQUETE ET ETUDES

Le LA-RD poursuivra sa collaboration avec le groupe ACTIV sur la surveillance du portage de *E. coli* BLSE chez les nourrissons en ville (*Birgy et al, J Antimicrob Chemother, 2016*).

7.3.4 Contribution à l'alerte

Tout événement inhabituel (augmentation du nombre de cas, cas groupés, formes cliniques ou souches inhabituelles, émergence de clones responsables d'infections intestinales présentant des gènes de virulence extra-intestinale, etc.) sera signalé à SpF.

ANNEXES

A. Courrier officiel d'acte de candidature

A.1. Candidature de François-Xavier WEILL



Unité des
Bactéries pathogènes entériques

Pr François-Xavier Weill

Paris, le 20 mai 2022

Pr Geneviève Chêne
Directrice Générale
Santé Publique France

Madame la Directrice Générale,

Par ce courrier et en accord avec le Pr Stewart COLE, Directeur Général de l'Institut Pasteur, j'ai l'honneur de faire acte de candidature pour devenir responsable scientifique du **Centre National de Référence (CNR) des *Escherichia coli*, shigelles et salmonelles** dans le cadre du prochain mandat (2023-2027) des CNR. Nous proposons que le CNR coordonnateur (CNR-ESS) soit hébergé par l'Unité des Bactéries pathogènes entériques de l'Institut Pasteur dont j'assume la responsabilité. L'activité du CNR-ESS couvrirait l'ensemble des thématiques salmonelles et shigelles conformément au cahier des charges. Le CNR-ESS se chargera également du séquençage et des analyses génomiques des pathovars entériques de *E. coli*. Pour le reste de la thématique *Escherichia coli* telle que définie par le cahier des charges, nous proposons un laboratoire associé au CNR (LA-CNR). Ce LA-CNR *E. coli* serait hébergé par le service de Microbiologie de l'Hôpital Robert Debré, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, sous la responsabilité du Pr Stéphane BONACORSI.

Conformément aux exigences de l'appel à candidature, je m'engage à exercer les fonctions de responsable scientifique du CNR-ESS pour la durée totale du mandat tant que les moyens financiers et en personnel seront en adéquation avec le cahier des charges spécifiques du CNR.

Je vous prie d'agréer Madame la Directrice Générale, l'expression de mes respectueuses salutations.

Dr François-Xavier Weill, MD. PhD
Professeur à l'Institut Pasteur
Responsable de l'Unité des Bactéries pathogènes entériques

A.2. Candidature de Stéphane BONACORSI



HÔPITAL ROBERT-DEBRÉ

48, boulevard Sérurier
75935 PARIS Cedex 19
Tél. : 01 40 03 20 00
Télécopie : 01 40 03 20 20

 CNR associé *Escherichia coli*
Hôpital universitaire Robert-Debré

CNR ASSOCIE *Escherichia coli*

Site internet : <http://cnr-escherichiocoli-robertdebre.aphp.fr/>

Mail : e.coli@aphp.fr

Responsable *E. coli* infections materno-fœtales et méningites :

S. BONACORSI
Tél : 01 40 03 57 92
stephane.bonacorsi@aphp.fr

Responsable *E. coli* producteur de Shigatoxines :

P. MARIANI-KURKDJIAN
Tél : 01 40 03 23 41
patricia.mariani@aphp.fr

Cadre :
S. GRENIER
Tél : 01 40 03 23 35

Secrétaire Médicale :
L. ABDENNEBI
Tél : 01 40 03 23 40

Renseignements :
Tél : 01 40 03 20 00 poste 4 33 74

Télécopie :
01 40 03 24 50

de l'étranger, composer le :
33 1 et les 8 derniers chiffres



Infection • Antimicrobiols • Modelling • Evolution



Pr Geneviève Chêne
Directrice Générale
Santé Publique France
12, rue du Val d'Osne
94415 Saint-Maurice Cedex

Paris, le mercredi 25 mai 2022

Objet : candidature mandature 2023-2027

Madame la Directrice Générale,

J'ai l'honneur de faire acte de candidature pour devenir responsable scientifique du laboratoire associé au Centre National de Référence (CNR) des *Escherichia coli*, Shigelles, Salmonelles en accord avec le Dr François Xavier WEILL (Institut Pasteur), responsable scientifique du CNR, et ce dans le cadre du prochain mandat (2023-2027) des CNR.

En accord avec la direction de l'hôpital, nous proposons que le laboratoire associé soit hébergé dans mon service (Service de Microbiologie) à l'hôpital Robert-Debré (Assistance Publique - Hôpitaux de Paris).

L'activité du laboratoire associé couvrirait les thématiques *Escherichia coli* conformément au cahier des charges dans les mêmes conditions que celles du mandat 2017-2021. Conformément aux exigences de l'appel à candidature, je m'engage à exercer les fonctions de responsable scientifique du laboratoire associé jusqu'à la fin du mandat.

Nous tenons à attirer votre attention sur le fait que le CNR-LA est de plus en plus sollicité pour des épisodes d'alertes sanitaires qui mettent sous tension l'équipe. Or il a été observé une baisse de la dotation du CNR-LA de près de 50% sur ces 2 dernières années sans que son responsable en ait eu la moindre explication. La direction de l'hôpital Robert-Debré a durant cette période financé en fond propre le 2^{ème} technicien du CNR-LA à titre exceptionnel mais ne pourra en aucun cas reconduire ce financement si la dotation n'est pas à la hauteur de celle qui a été demandée. Nous espérons que cette demande légitime soit entendue et que l'information sur la dotation versée annuellement au CNR-LA soit transmise à son responsable.

Je vous prie d'agréer, Madame la Directrice Générale, l'expression de mes respectueuses salutations.

Pr BONACORSI Stéphane
Chef du Service de Microbiologie

Hôpital ROBERT-DEBRÉ

Structure de Microbiologie

Responsable de structure

Professeur S. BONACORSI

48 Boulevard Sérurier

75935 Paris Cedex 19

Tél : 01 40 03 23 40

Fax : 01 40 03 24 50

B. Déclarations publiques d'intérêt

B.1. Déclaration de François-Xavier WEILL

Déclaration Publique d'Intérêts

Le 23/05/2022 11:20:04

Je soussigné(e) **WEILL FRANÇOIS-XAVIER**

Reconnais avoir pris connaissance de l'obligation de déclarer tout lien d'intérêts, direct ou par personne interposée, que j'ai ou ai eu au cours des cinq dernières années, avec les entreprises, établissements ou organismes dont les activités, les techniques et les produits entrent dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes au sein duquel/desquels j'exerce mes fonctions ou ma mission, ou de l'instance/des instances collégiale(s), commission(s), conseil(s), groupe(s) de travail dont je suis membre ou auprès duquel/desquels je suis invité(e) à apporter mon expertise, ainsi qu'avec les sociétés ou organismes de conseil intervenant dans les mêmes secteurs.

Il m'appartient, à réception soit de l'ordre du jour de chaque réunion pour laquelle je suis sollicité(e), soit de l'expertise que l'organisme souhaite me confier, de vérifier si l'ensemble de mes liens d'intérêts sont compatibles avec ma présence lors de tout ou partie de cette réunion ou avec ma participation à cette expertise. En cas d'incompatibilité, il m'appartient d'en avertir l'interlocuteur désigné au sein de l'institution et, le cas échéant, le président de séance avant sa tenue. En cas de conflits d'intérêts, ma présence est susceptible d'entacher d'irrégularité les décisions, recommandations, références ou avis subséquents et d'entraîner leur annulation.

J'indique mon numéro RPPS (répertoire partagé des professionnels de santé), si je suis un professionnel de santé :

Je m'engage à actualiser ma DPI à chaque modification de mes liens d'intérêts. En l'absence de modification, je suis tenu(e) de vérifier ma DPI au minimum annuellement.

Article L. 1454-2 du code de la santé publique : « Est puni de 30 000 euros d'amende le fait pour les personnes mentionnées au I et II de l'article L. 1451-1 et à l'article L. 1452-3 d'omettre, sciemment, dans les conditions fixées par ce même article, d'établir ou de modifier une déclaration d'intérêts afin d'actualiser les données qui y figurent ou de fournir une information mensongère qui porte atteinte à la sincérité de la déclaration. »

1. Activité(s) principale(s), rémunérée(s) ou non, exercée(s) actuellement et au cours des 5 dernières années, à temps plein ou à temps partiel

Activité(s) salariée(s)

INSTITUT PASTEUR

Adresse : 28 rue du Dr Roux, 75724 Paris 75015 PARIS 15 FRANCE

Fonction : Chef d'Unité

Période : 05/01/2003 à aujourd'hui

2. Activité(s) exercée(s) à titre secondaire

2.1. Participation à une instance décisionnelle d'un organisme public ou privé dont l'activité, les techniques ou les produits entrent dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

INSTITUT PASTEUR DE LA GUYANE ET INSTITUT PASTEUR DE LA GUADELOUPE

Fonction occupée : membre du Conseil Scientifique

Rémunération : aucune

Période : 01/2015 à aujourd'hui

OMS

Fonction occupée : Directeur d'un Centre Collaborateur

Rémunération : aucune

Période : 01/12/2018 à aujourd'hui

ASSOCIATION POUR LES JOURNÉES DE BIOLOGIE CLINIQUE NECKER PASTEUR

Fonction occupée : Trésorier 2005-2014
membre du comité d'organisation à partir de 2016

Rémunération : aucune

Période : 01/2005 - 01/2020

SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE

Fonction occupée : Membre du Conseil Scientifique

Rémunération : aucune

Période : 11/2016 - 12/2021

INSTITUT PASTEUR DE ST PETERSBOURG, RUSSIE

Fonction occupée : membre du Conseil Scientifique

Rémunération : aucune

Période : 01/2009 - 31/12/2018

2.2. Activité(s) de consultant, de conseil ou d'expertise exercée(s) auprès d'un organisme public ou privé entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.3. Participation(s) à des travaux scientifiques et études pour des organismes publics ou privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

2.3.1 Participation à des essais et études

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.3.2 Autres travaux scientifiques

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.4. Rédaction d'article(s) et intervention(s) dans des congrès, conférences, colloques, réunions publiques diverses ou formations organisés ou soutenus financièrement par des entreprises ou organismes privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

2.4.1 Rédaction d'article(s)

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.4.2 Intervention(s)

GILEAD SCIENCES

Lieu et intitulé de la réunion : Nice, Forum hépatite C

Sujet de l'intervention, nom du produit visé : Le choléra, l'Afrique et l'Homme, aucun lien avec produit

Prise en charge des frais : Oui

Rémunération : Au déclarant

Montant perçu (Déclarant) : Total 1 200 euros

Période : 09/03/2018 - 09/03/2018

2.5. Invention ou détention d'un brevet ou d'un produit, procédé ou toute autre forme de propriété intellectuelle non brevetée en relation avec le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

TYPAGE: MOLECULAR TYPING AND SUBTYPING OF SALMONELLA BY IDENTIFICATION OF THE VARIABLE NUCLEOTIDE SEQUENCES OF THE CRISPR LOCI

Structure : Institut Pasteur

Intéressement : Non

Rémunération : aucune

Période : 12/2007 à aujourd'hui

3. Direction d'activités qui ont bénéficié d'un financement par un organisme à but lucratif dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiales, objet(s) de la déclaration

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

4. Participations financières directes, sous forme d'actions ou d'obligations détenues et gérées directement ou de capitaux propres dans le capital d'une société dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiales, objet(s) de la déclaration

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

5. Proches parents ayant des activités ou des intérêts financiers dans toute structure dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

6. Fonctions et mandats électifs exercés actuellement

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

7. Autre lien, dont vous avez connaissance, qui est de nature à faire naître des situations de conflits d'intérêts

VERSEMENT NON CIBLÉ SUR LE BUDGET RECHERCHE DE L'UNITÉ DES BACTÉRIES PATHOGÈNES ENTÉRIQUES EN PROVENANCE DE LA SOCIÉTÉ UNITED PHARMACEUTICALS

Montant perçu : Total 3 000 euros

Période : 01/2017 - 12/2017

FINANCEMENT DE TRAVAUX DE RECHERCHE DE L'UNITÉ DES BACTÉRIES PATHOGÈNES ENTÉRIQUES PAR LA FONDATION LE ROCH-LES MOUSQUETAIRES: MISE AU POINT D'OUTILS DE GÉNOMIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE ET SUIVI DES BACTÉRIES RÉSISTANTES AUX ANTIBIOTIQUES

Commentaire : Versement sur le budget recherche de l'Unité des bactéries pathogènes entériques. Recrutement d'étudiants en thèse, de post-doctorants ou d'ingénieurs et financement de logiciels et de séquences Illumina.

Montant perçu : Annuel 90 000 euros

Période : 01/2014 à aujourd'hui

B.2. Déclaration de Stéphane BONACORSI

Déclaration Publique d'Intérêts

Le 14/05/2021 18:57:49

Je soussigné(e) **BONACORSI STEPHANE**

Reconnais avoir pris connaissance de l'obligation de déclarer tout lien d'intérêts, direct ou par personne interposée, que j'ai ou ai eu au cours des cinq dernières années, avec les entreprises, établissements ou organismes dont les activités, les techniques et les produits entrent dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes au sein duquel/desquels j'exerce mes fonctions ou ma mission, ou de l'instance/des instances collégiale(s), commission(s), conseil(s), groupe(s) de travail dont je suis membre ou auprès duquel/desquels je suis invité(e) à apporter mon expertise, ainsi qu'avec les sociétés ou organismes de conseil intervenant dans les mêmes secteurs.

Il m'appartient, à réception soit de l'ordre du jour de chaque réunion pour laquelle je suis sollicité(e), soit de l'expertise que l'organisme souhaite me confier, de vérifier si l'ensemble de mes liens d'intérêts sont compatibles avec ma présence lors de tout ou partie de cette réunion ou avec ma participation à cette expertise. En cas d'incompatibilité, il m'appartient d'en avertir l'interlocuteur désigné au sein de l'institution et, le cas échéant, le président de séance avant sa tenue. En cas de conflits d'intérêts, ma présence est susceptible d'entacher d'irrégularité les décisions, recommandations, références ou avis subséquents et d'entraîner leur annulation.

J'indique mon numéro RPPS (répertoire partagé des professionnels de santé), si je suis un professionnel de santé :

Je m'engage à actualiser ma DPI à chaque modification de mes liens d'intérêts. En l'absence de modification, je suis tenu(e) de vérifier ma DPI au minimum annuellement.

Article L. 1454-2 du code de la santé publique : « Est puni de 30 000 euros d'amende le fait pour les personnes mentionnées au I et II de l'article L. 1451-1 et à l'article L. 1452-3 d'omettre, sciemment, dans les conditions fixées par ce même article, d'établir ou de modifier une déclaration d'intérêts afin d'actualiser les données qui y figurent ou de fournir une information mensongère qui porte atteinte à la sincérité de la déclaration. »

Liste des missions/fonctions

Institution :

Santé Publique France (SPF)

Instance:

RESPONSABLES CNR MANDAT 2017-2022

Mandat :

Autre - Non renseignée

1. Activité(s) principale(s), rémunérée(s) ou non, exercée(s) actuellement et au cours des 5 dernières années, à temps plein ou à temps partiel

Activité(s) salariée(s)

APHP

Adresse : Hopital Robert Debré 75019 PARIS 19 FRANCE

Fonction : PUPH

Période : 09/2013 à aujourd'hui

APHP

Adresse : Hopital Robert Debré 75019 PARIS 19 FRANCE

Fonction : MCUPH

Période : 09/2000 à aujourd'hui

2. Activité(s) exercée(s) à titre secondaire

2.1. Participation à une instance décisionnelle d'un organisme public ou privé dont l'activité, les techniques ou les produits entrent dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.2. Activité(s) de consultant, de conseil ou d'expertise exercée(s) auprès d'un organisme public ou privé entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

HAS

Fonction occupée : Expert

Sujet : Prise en charge du risque d'infection néonatale bactérienne précoce (34 SA)

Rémunération : aucune

Période : 01/2016 - 03/2017

HAUT CONSEIL DE SANTÉ PUBLIQUE

Fonction occupée : Expert

Sujet : Infections invasives à *Kingella kingae*.
Gestion d'épisodes de cas groupés en collectivités d'enfants

Rémunération : aucune

Période : 04/2018 - 09/2018

2.3. Participation(s) à des travaux scientifiques et études pour des organismes publics ou privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

2.3.1 Participation à des essais et études

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.3.2 Autres travaux scientifiques

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.4. Rédaction d'article(s) et intervention(s) dans des congrès, conférences, colloques, réunions publiques diverses ou formations organisés ou soutenus financièrement par des entreprises ou organismes privés entrant dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

2.4.1 Rédaction d'article(s)

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.4.2 Intervention(s)

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

2.5. Invention ou détention d'un brevet ou d'un produit, procédé ou toute autre forme de propriété intellectuelle non brevetée en relation avec le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

METHOD FOR DETECTING MICROORGANISMS OF KINGELLA GENUS

Structure : APHP

Intéressement : Non

Rémunération : aucune

Période : 05/2014 - 01/2018

3. Direction d'activités qui ont bénéficié d'un financement par un organisme à but lucratif dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiales, objet(s) de la déclaration

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

4. Participations financières directes, sous forme d'actions ou d'obligations détenues et gérées directement ou de capitaux propres dans le capital d'une société dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiales, objet(s) de la déclaration

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

5. Proches parents ayant des activités ou des intérêts financiers dans toute structure dont l'objet social entre dans le champ de compétence, en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, de l'organisme/des organismes ou de l'instance/des instances collégiale(s), objet(s) de la déclaration

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

6. Fonctions et mandats électifs exercés actuellement

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

7. Autre lien, dont vous avez connaissance, qui est de nature à faire naître des situations de conflits d'intérêts

X Je n'ai pas de lien d'intérêts à déclarer dans cette rubrique

B.3. Guide pratique de prévention des conflits d'intérêts dans les activités des Centres nationaux de référence et de la Cellule d'intervention biologique d'urgence localisés au sein de l'Institut Pasteur

Prévenir et gérer les conflits d'intérêts au sein des Centres nationaux de référence et de la Cellule d'intervention biologique d'urgence de l'Institut Pasteur

GUIDE PRATIQUE

Institut Pasteur

Direction juridique
Direction médicale

Direction des ressources humaines
Direction des applications de la recherche et des relations industrielles

GUIDE PRATIQUE DE PREVENTION DES CONFLITS D'INTÉRÊTS DANS LES ACTIVITÉS DES CENTRES NATIONAUX DE RÉFÉRENCE ET DE LA CELLULE D'INTERVENTION BIOLOGIQUE D'URGENCE LOCALISÉS AU SEIN DE L'INSTITUT PASTEUR

Sommaire

I. Contexte	
II. La prévention des conflits d'intérêts au sein de l'Institut Pasteur	VI. Annexe 1 – Synthèse : le Guide pratique en un coup d'oeil
III. Engagement des personnels des CNR et de la CIBU	VII. Annexe 2 – Activités des CNR et liens d'intérêts avec les industriels
IV. La prévention des conflits d'intérêts avec les acteurs industriels	VIII. Annexe 3 – Glossaire
V. Modalités pratiques permettant la mise en œuvre des principes et procédures énoncés	IX. Annexe 4 – Références

I/ Contexte

L'Institut Pasteur est une fondation à but non lucratif dont la mission est de contribuer à la prévention et au traitement des maladies en priorité infectieuses, par la recherche, l'innovation, l'enseignement, et des actions de santé publique.

Au titre de sa mission de santé publique, l'Institut Pasteur abrite 14 centres nationaux de référence (CNR), 7 centres collaborateurs de l'Organisation mondiale de la santé, 1 centre collaborateur de l'Organisation mondiale de la santé animale, ainsi que la Cellule d'intervention biologique d'urgence (CIBU).

Les Centres nationaux de référence pour la lutte contre les maladies transmissibles sont des laboratoires localisés au sein d'établissements publics ou privés de santé, d'enseignement ou de recherche. Les CNR appuient Santé publique France dans le cadre de ses missions de surveillance des maladies infectieuses. Ils sont nommés pour une durée de 5 ans par le ministre chargé de la Santé sur proposition de Santé publique France.

La Cellule d'intervention biologique d'urgence a été créée fin 2002 sous l'impulsion du Directeur général de la santé et du Directeur général de l'Institut Pasteur, afin de répondre aux « urgences biologiques spécialisées ». Ces urgences peuvent être des épidémies ainsi que des accidents liés à des agents biologiques ou une utilisation potentielle d'armes d'origine biologique, toutes mettant rapidement en péril la santé publique.

Le statut de l'Institut Pasteur et l'importance des enjeux tant humains que financiers qui s'attachent à ces activités, impliquent que des principes de prévention et de gestion des conflits d'intérêts soient définis et mis en place. A cet effet, l'Institut Pasteur est doté d'une Charte de prévention et de gestion des conflits d'intérêts dont la dernière version a été approuvée par son Conseil d'administration en mars 2018. L'Institut s'est également doté d'un Comité de déontologie et de conformité.

En raison de la nature de leurs missions, les CNR sont soumis aux exigences du code de la santé publique relatives à l'expertise sanitaire. Ils « *doivent présenter des garanties en matière de prévention des conflits d'intérêts* ». A ce titre, les responsables de laboratoire ont l'obligation de compléter et tenir à jour une déclaration publique d'intérêts - disponible sur le [site gouvernemental](#) dédié.

Par ailleurs, certaines activités exercées par les CNR et la CIBU nécessitent l'accréditation aux normes qualité applicables (norme NF EN ISO 15189 et norme NF EN ISO 17025). La norme NF EN ISO 17025 prévoit dès à présent des dispositions spécifiques concernant l'impartialité et la norme NF EN ISO 15189 est en cours de révision en ce sens.

Version A_Juin 2022

Afin de répondre aux enjeux spécifiques d'impartialité, d'indépendance et de transparence des CNR et dans la CIBU, la Direction générale souhaite rappeler et expliciter les mesures adaptées à la prévention et à la gestion des conflits d'intérêts au sein de ces laboratoires d'expertise.

Le présent guide, publié sur le site internet de l'Institut Pasteur, a pour objet de proposer des mesures concrètes et adaptées de prévention des conflits d'intérêts dans les CNR - localisés au sein de l'Institut Pasteur et de la CIBU afin de garantir l'indépendance et l'impartialité des activités des CNR et de la CIBU.

Ce guide contient des mesures relatives aux activités du CNR et de la CIBU ainsi qu'aux activités menées par les structures auxquelles sont affiliées les CNR et la CIBU. En effet, toute activité menée par la structure à laquelle ils sont affiliés peut avoir un impact sur l'impartialité et l'indépendance du CNR et de la CIBU.

Le guide s'articule autour de différents volets :

- Un rappel des procédures existantes à l'Institut Pasteur ;
- Un engagement des personnels des CNR et de la CIBU en matière de conflit d'intérêts et d'impartialité ;
- Une procédure spécifique applicable aux relations des CNR, de la CIBU et des unités affiliées avec des acteurs industriels ;
- Les mesures mises en place par la Direction de l'Institut Pasteur pour accompagner les équipes des CNR, de la CIBU et les structures auxquelles ils sont affiliés à mettre en place ces mesures notamment par la création d'un groupe de référents internes à qui pourront s'adresser les équipes et tout service administratif.

II/ La prévention et la gestion des conflits d'intérêts par l'Institut Pasteur

Rappel du cadre applicable à l'ensemble des personnels de l'Institut Pasteur

En mars 2018, une Charte interne de prévention et de gestion des conflits d'intérêts modifiée, a été adoptée par l'Institut Pasteur. Cette Charte repose sur un principe de responsabilité des personnels et impose des obligations de révélation et de traitement des conflits d'intérêts. Elle est intégrée au Règlement intérieur de l'Institut Pasteur et concerne toute personne intervenant - au sein de ou pour le compte de l'Institut Pasteur -, à quelque titre que ce soit, pour exercer de manière - temporaire ou permanente -, une activité - salariée ou non -.

Cette Charte s'impose donc pleinement aux personnels des CNR et de la CIBU.

La complétion d'une déclaration de liens d'intérêts (DLI) interne à l'Institut Pasteur est obligatoire pour certaines catégories de personnes, parmi lesquelles les responsables des CNR et de la CIBU.

Dans le même temps, un Comité de déontologie et de conformité a été créé afin de donner des avis au Président du Conseil d'administration et au Directeur général en matière de prévention et de gestion des conflits d'intérêts. Ce Comité est compétent pour traiter de questions relatives à :

- la gestion des liens et prévention de conflits d'intérêts dans le cadre de la Charte ;
- la conformité des actions de l'Institut Pasteur aux lois, règlements, codes de conduite qu'il a souscrits, notamment dans le domaine des mesures anti-corruption ou du dispositif de recueil de signalement des lanceurs d'alerte.

III/ Engagement des personnels des CNR et de la CIBU

1. Engagement général d'impartialité

Le personnel d'un CNR/CIBU s'engage, dès son entrée en fonction et tant qu'il reste à cette fonction, à :

- Agir avec une intégrité rigoureuse dans un esprit d'équité et de responsabilité vis-à-vis de toutes les parties concernées par les activités du CNR ou de la CIBU ;
- Avoir une attitude impartiale, caractérisée par l'absence de tout préjugé, parti pris, conflit d'intérêts ;
- Appliquer ou faire appliquer les règlements et normes en vigueur, ainsi que les documents (procédures, modes opératoires, formulaires...) applicables aux activités du CNR ou de la CIBU dont il a la charge ;
- Dénoncer toute pression de quelle que nature qu'elle soit, exercée par une partie – interne ou externe- sur l'ensemble de l'activité du CNR ;
- Le CNR, la CIBU et leur personnel étant indépendants sur le plan technique, faire en sorte que seul cet aspect soit pris en compte dans les résultats émis ;
- S'abstenir de procéder aux activités du CNR ou de la CIBU en cas d'influence quelconque, de situation de conflit d'intérêts pouvant impacter son impartialité de façon réelle ou potentielle. En cas de situation exceptionnelle tel qu'un diagnostic en urgence, procéder à l'activité et informer en parallèle son responsable hiérarchique de la situation de conflit d'intérêts ;
- Alerter immédiatement le responsable du CNR – ou de la CIBU – et, le cas échéant, la Direction médicale, par écrit, de toute situation sensible au regard des principes posés par le Guide ;
- Informer immédiatement le Responsable du CNR ou le Responsable de la CIBU ou, si celle-ci est concerné – la Direction médicale -, de tout élément ne lui permettant pas de répondre aux obligations citées ci-dessus.

Il est rappelé aux responsables des CNR leur obligation personnelle de complétion et de mise à jour régulière des [déclarations publiques d'intérêts](#).

2. Le responsable du CNR et le Responsable de la CIBU communiquent à chaque personnel de son CNR et de l'unité affiliée le présent guide pratique.
3. Il est recommandé au personnel des CNR ainsi qu'au personnel de la CIBU de faire connaître leurs liens d'intérêts lors de toute intervention ou communication réalisée en leur qualité de personnel de CNR afin de garantir une haute exigence en matière de transparence.
4. Le personnel des CNR et de la CIBU n'exploite pas dans le cadre d'activités secondaires avec des tiers les informations, données ou échantillons reçus à l'occasion des missions principales du CNR ou de la CIBU sauf à démontrer l'existence d'un encadrement contractuel conforme au présent guide.

IV/ La prévention des conflits d'intérêts avec les acteurs industriels

Si les relations avec des industriels ne sont pas les seules situations sources potentielles de conflits d'intérêts, elles restent celles le plus fréquemment porteuses de lien d'intérêt que l'on peut qualifier de « majeur ».

Afin de garantir la transparence des activités associées aux CNR qui peuvent être en lien avec les industriels, les mesures de prévention mises en place par l'Institut Pasteur sont détaillées ci-dessous.

A titre liminaire, rappelons que les relations avec les industriels peuvent être de plusieurs ordres :

- Fourniture simple de matériel biologique non humain ou de données agrégées anonymisées ;
- Fourniture simple de matériel biologique humain et/ou de données de santé ;
- Collaboration de recherche ;
- Licence de brevet, de matériel biologique ou de savoir-faire ;
- Prestation de services de recherche ;
- Prestation intellectuelle et conseils (formation, intervention dans des congrès) ;
- Consultance ;
- Concours scientifique.

Par ailleurs, il est précisé que ces mesures concernent les projets menés avec des partenaires industriels et portés par :

- Un CNR ou la CIBU et un ou plusieurs des personnels du CNR et de la CIBU ;
- Une structure hébergeant un CNR et la CIBU quand ce projet implique un personnel de la structure ne participant pas directement aux activités de santé publique du CNR ou de la CIBU.

1 - Principes généraux

- Toute implication d'un personnel de CNR/CIBU ou structure hébergeant un CNR ou la CIBU avec un industriel dans le cadre de son activité salariée à l'Institut Pasteur doit être encadrée par un contrat mis en place par la Direction des applications de la recherche et des relations industrielles.
- Les clauses des contrats seront adaptées au contexte et il pourra notamment être décidé :
 - Publication des résultats : une possibilité pour le CNR/CIBU/structure de publier les résultats qu'ils soient positifs ou négatifs ;
 - Communication : l'interdiction d'utiliser les résultats fournis par le CNR/CIBU à des fins promotionnelles ou commerciales en particulier en cas de prestation.
 - Confidentialité : en cas de projet relevant des activités d'un CNR ou de la CIBU, transmission autorisée des informations/résultats aux autorités de tutelle (Santé publique France, Ministère des solidarités et de la santé).
 - Propriété : étant rappelé que les souches reçues par un CNR sont la propriété de l'Etat (article L.1413-3 du code de la santé publique), les clauses de propriété seront adaptées en conséquence. Par principe, la pleine propriété des résultats par l'Institut Pasteur accompagnée d'un droit d'usage accordé au partenaire industriel est la règle.
- Le contrat devra garantir l'impartialité et l'indépendance des personnels de l'Institut Pasteur dans la réalisation du projet.
Pour les projets récurrents de type prestation, des conditions générales sont rédigées et disponibles sur le site de l'Institut Pasteur afin de garantir une égalité de traitement des acteurs et la transparence des activités réalisées.
- Aucune rémunération personnelle à l'attention d'un responsable ou responsable adjoint ou d'un des personnels d'un CNR ou de la CIBU n'est possible dans le cadre d'un contrat signé entre l'Institut Pasteur et un acteur industriel – y inclus les activités de conseil.
- Une liste des projets en cours directement ou indirectement liés à un CNR devra être disponible sur demande de Santé publique France.

2 – Pré-requis à la mise en place d'un projet impliquant directement ou indirectement un CNR ou la CIBU

Afin d'identifier l'encadrement le plus adapté ainsi que les exigences auxquelles devra se soumettre le partenaire industriel, le porteur de projet doit déterminer, en lien avec la DARRI, le cadre dans lequel s'inscrit le projet : missions du CNR ou de la CIBU ou en dehors des missions fixées au CNR et à la CIBU. Pour ce faire une typologie est proposée en Annexe 2.

- En cas de projet s'inscrivant dans le cadre des activités d'un CNR/CIBU, le porteur de projet, en lien avec la DARRI, doit :
 - i. Identifier l'objectif de santé publique du projet et son intérêt au regard des activités des CNR/CIBU
 - ii. Evaluer un budget conforme aux besoins du projet
 - iii. Confirmer avec le partenaire son accord avec les conditions de réalisation du projet. Il est rappelé que l'indépendance et l'impartialité d'un CNR dans ses activités devant être garanties, aucune négociation n'est donc possible sur les termes du contrat proposé par l'Institut Pasteur.
- Dans le cadre d'un projet ne relevant pas des activités d'un CNR/CIBU, qu'il nécessite ou non la réutilisation de ressources du CNR ou de la CIBU tels que les échantillons et leurs dérivés ou données, le porteur de projet, la DARRI ou tout autre service administratif impliqué dans le montage du projet pourra, en tant que de besoin, saisir le groupe de référents internes mis en place (et détaillé en page suivante) pour analyser le projet pouvant être une source de conflit d'intérêts potentiel pour le CNR/CIBU ou remettre en cause son impartialité.

Des critères d'appréciation de ce risque sont proposés en Annexe 2.

V/ Modalités pratiques permettant la mise en œuvre des principes et procédures énoncés

1. L'Institut Pasteur met en place une sensibilisation aux conflits d'intérêts à l'attention de l'ensemble des personnels des CNR/CIBU (responsables, responsables adjoints, ingénieurs, techniciens, assistants) en rappelant les dispositions légales existantes et l'obligation de mise à jour régulière des déclarations publiques d'intérêts.
2. La Direction de l'Institut Pasteur se réserve la possibilité de rappeler aux responsables des CNR/CIBU l'obligation de mise à jour régulière des déclarations publiques d'intérêts.
3. A des fins de transparence, le présent guide est publié sur le site internet de l'Institut Pasteur.
4. Un groupe de référents internes de prévention des conflits d'intérêts au sein des CNR est mis en place

1. *Groupe de référents internes à l'Institut Pasteur*

Il est rappelé que tout personnel de l'Institut Pasteur, y compris les personnels des CNR et de la CIBU est soumis à un principe de responsabilité individuelle tel que consacré par la Charte de prévention et de gestion des conflits d'intérêts en vigueur à l'Institut Pasteur.

L'ensemble des personnels des CNR et de la CIBU ainsi que les services administratifs en charge de projets impliquant directement ou indirectement un CNR ou la CIBU peuvent s'adresser à un groupe de référents internes chargé de les informer et de les accompagner dans la prévention des situations de conflits d'intérêts potentiels.

Le groupe de référents interne est un groupe d'appui consultatif qui émet de simples recommandations. Il n'a pas vocation à remplacer le Comité de déontologie et de conformité en place à l'Institut Pasteur et compétent sur les sujets de conflits d'intérêts.

En cas de difficulté, le groupe de référents peut proposer au Directeur général de l'Institut Pasteur de saisir le Comité de déontologie et de conformité conformément aux règles de fonctionnement de ce dernier.

2. *Composition du groupe de référents internes*

Le groupe de référents est composé de :

- Un représentant de la Direction juridique (DJ) ;
 - Un représentant de la Direction médicale (DM) ;
 - Un représentant de la Direction des applications de la recherche et des relations industrielles (DARRI) ;
 - Un représentant de la Direction des ressources humaines (DRH).
5. En cas d'anomalie fréquente relative à la gestion des conflits d'intérêts constatée au sein d'un ou de plusieurs CNR ou de la CIBU, l'Institut Pasteur mettra en œuvre des mesures correctives adéquates qui le cas échéant, viendront compléter le présent guide.

Annexe 1 – Synthèse : le Guide pratique en un coup d'œil

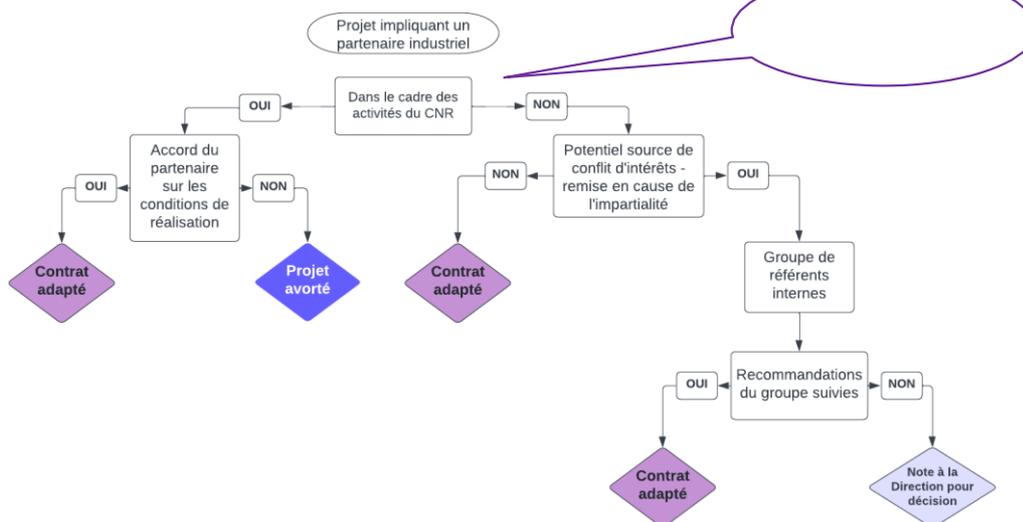
1 – GUIDE PRATIQUE, LES PRINCIPES CLES

- **Sensibilisation** des équipes de CNR et de la CIBU aux conflits d'intérêts
- Mise en place d'un **groupe de référents** pour accompagner les CNR et la CIBU
- **Encadrement** des projets menés avec des industriels
- Engagement **d'impartialité** des personnels
- **Transparence** des liens recommandée

2 – PRINCIPAUX CRITERES A PRENDRE EN COMPTE DANS L'APPRECIATION DES PROJETS LIES DIRECTEMENT OU INDIRECTEMENT A UN CNR/CIBU



3 – PROJET IMPLIQUANT UN ACTEUR À BUT LUCRATIF



Annexe 2 – Activités des CNR/CIBU et liens d'intérêts avec les industriels

	Entrant dans le champ des missions des CNR/CIBU	Hors champ des missions des CNR/CIBU
Activités	<ul style="list-style-type: none"> - Fourniture de réactifs de référence (ADN, souches, anticorps, etc.) - Contrôle ou évaluation de certains produits sur demande d'un acteur privé ou d'une autorité publique - Fourniture de données de surveillance non agrégées ou agrégées¹ selon l'objectif poursuivi de l'acteur privé - Collaboration de recherche s'appuyant sur les ressources des CNR/CIBU (données, échantillons) - Toute analyse réalisée sur demande d'une autorité administrative au bénéfice d'un acteur privé 	<ul style="list-style-type: none"> - Collaboration de recherche - Conseil et expertise scientifique ou technique - Collaboration de recherche (mise au point de test diagnostic, développement de vaccin) - Licence de brevets, savoir-faire - Test de molécules ou produits en cours de développement non commercialisés et fournis par un acteur tiers - Prestations spécifiques (analyses d'échantillons dans le cadre d'un essai clinique)

Cette annexe est susceptible de mise à jour.

¹ Les données de surveillance agrégées sont publiées dans le cadre des rapports annuels des CNR rendus et par la suite par Santé publique France sur internet. Néanmoins, il peut exister un délai entre la génération des données et leurs publications ainsi qu'un décalage entre la publication des données et les demandes d'acteurs privés. Par ailleurs, certains acteurs ont besoin d'analyses de données avec d'autres critères que ceux initialement utilisés par le CNR.

Annexe 3 – Glossaire

Conflit d'intérêt : un conflit d'intérêt naît d'une situation dans laquelle une personne intervenant pour le compte du CNR, a, à titre personnel et/ou professionnel, des intérêts qui influent, pourraient influencer ou paraître influencer la manière dont elle s'acquitte de ses fonctions, de ses missions et des responsabilités qui lui ont été confiées et cela au détriment de ses obligations d'impartialité et d'objectivité

Impartialité : Agir avec objectivité sans conflit d'intérêt

Lien d'intérêt majeur (notion issue des travaux de la Haute Autorité de Santé) : n'implique pas par lui-même l'existence d'un conflit d'intérêts. Mais le risque de conflit est élevé lorsque ce lien d'intérêts majeur s'applique à l'activité exercée au sein du CNR/CIBU. Il crée ainsi une présomption de conflit. Le lien d'intérêts majeur doit donc susciter une vigilance particulière quant aux questions que la personne concernée pourrait traiter dans le cadre de ses activités de CNR/CIBU.

L'intensité d'un lien d'intérêt peut être apprécié en fonction de :

- de la fréquence des relations ayant construit ce lien d'intérêt : relations occasionnelles, régulières, fréquentes ;
- du montant des avantages financiers ou matériels reçus au titre de ce lien ou du niveau de ces avantages lorsqu'ils ne sont pas monétaires ;
- de l'ancienneté des liens (ou de leur caractère futur lorsqu'ils sont connus au moment de la déclaration) et de leur permanence.

La Charte : Charte de prévention et de gestion des conflits d'intérêts adoptée par le Conseil d'administration de l'Institut Pasteur

Annexe 4 – Références

■ Références internes à l'Institut Pasteur

[Charte de prévention et de gestion des conflits d'intérêts – mars 2018 \(dernière annexe du règlement intérieur\)](#)

[Comité de déontologie et conformité de l'Institut Pasteur](#)

[Note d'organisation n°114 et annexes](#) : Accompagnement et encadrement des activités accessoires des Pasteuriens et OREX

■ Autres références

Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé – ANSM : [politique de déontologie et de transparence](#) (charte de déontologie, recommandations, diagramme d'aide à l'analyse des liens d'intérêts)

Haute Autorité de Santé – HAS : [prévention et gestion des conflits d'intérêts \(Guide des déclarations d'intérêts et de gestion des conflits d'intérêts\)](#)

C. Structures communes à tous les CNR à l'Institut Pasteur

Le CNR-ESS compte sur les structures suivantes, partagées avec les autres Centres Nationaux de Référence sites à l'Institut Pasteur.

INTRODUCTION

L'Institut Pasteur est impliqué depuis près de 50 ans dans l'étude des micro-organismes, des maladies infectieuses qu'ils provoquent, et contribue à la surveillance d'agents pathogènes au service de la santé publique, avec ses premiers laboratoires désignés Centre Nationaux de Référence (CNR) en 1974. A partir de 2010, l'Institut Pasteur a fédéré les 15 CNR et 4 laboratoires associés placés sous sa responsabilité, ainsi que la Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU) en une structure fonctionnelle dénommée Laboratoire de Référence et d'Expertise MultiSite (LREMS). Cette organisation a permis d'optimiser l'organisation des CNR dans la perspective de répondre aux exigences de la norme NF EN ISO 15189 (loi 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale).

Le Pr Stewart Cole, nommé Directeur général en janvier 2018 par le Conseil d'Administration de l'Institut Pasteur, est responsable de la politique générale de l'Institut Pasteur, de son bon fonctionnement et assure la représentation de l'Institut à l'extérieur. Il encadre un comité de Direction composé de 16 membres directeurs/trices, dont deux Directeurs généraux adjoints qui sont François Romaneix, responsable de la Direction administrative et financière, et Christophe d'Enfert, responsable de la Direction scientifique. Outre les Directions qui lui sont rattachées, à l'instar de la Direction médicale, la Direction scientifique encadre et anime 13 départements scientifiques, qui pour chacun d'entre eux héberge entre 6 et 20 unités de recherche. Tout CNR placé sous la responsabilité de l'Institut Pasteur est rattaché à une unité de recherche dont les travaux, en lien avec le ou les agents infectieux dont la surveillance nationale lui est confiée, lui donne accès à des infrastructures et techniques de pointe, et lui permet d'enrichir constamment son niveau de compétences et d'expertises.

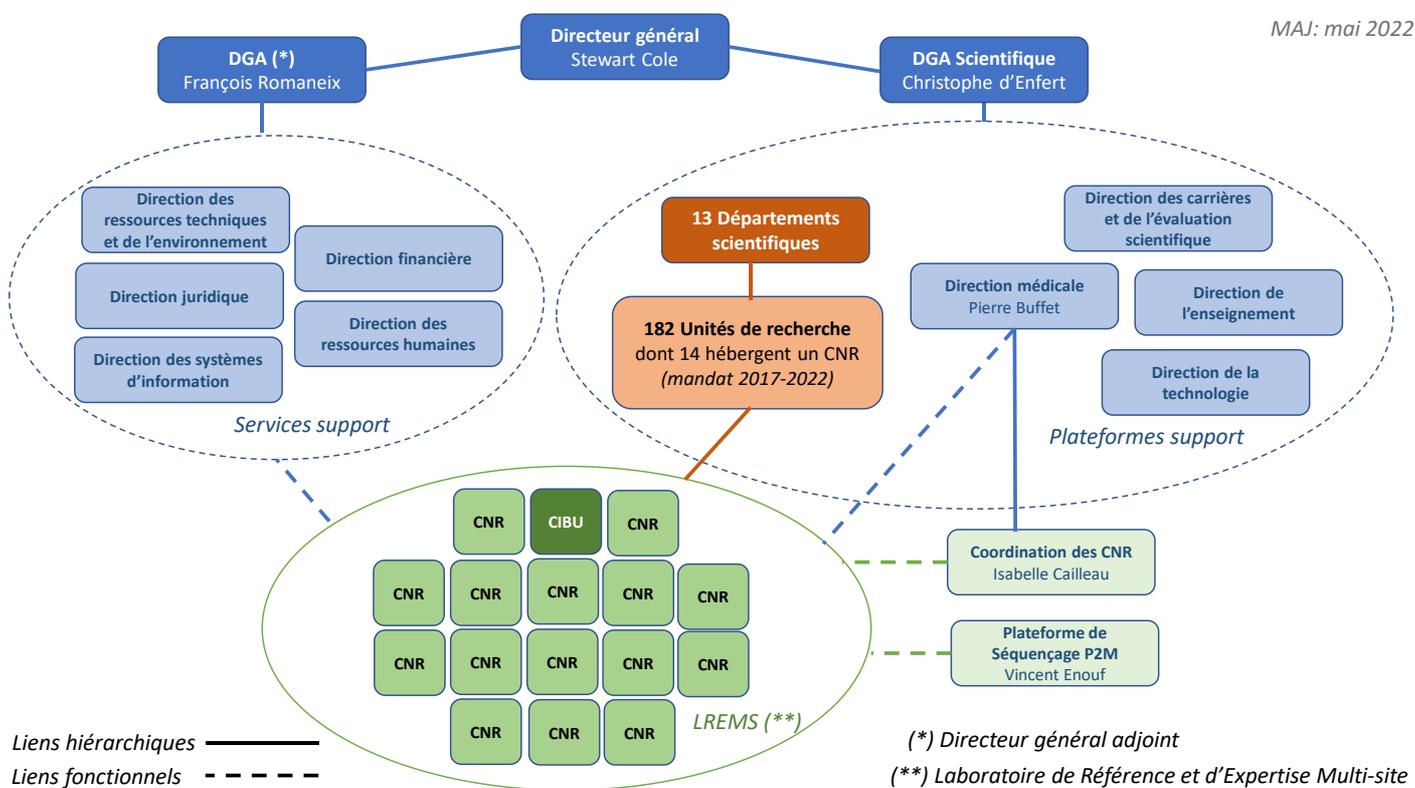


Figure 1 : Schéma simplifié décrivant la place et l'organisation des CNR à l'Institut Pasteur

La Direction médicale, qui dépend de la Direction scientifique, est responsable de l'ensemble des activités liées à la santé publique et au développement de la recherche clinique à l'Institut Pasteur. Depuis janvier 2022, le Pr Pierre Buffet a été nommé à la tête de la Direction Médicale au sein de laquelle opère le service de Coordination des Centres de Référence (CCR). La CCR, représentée par Isabelle Cailleau, est l'interlocuteur privilégié de Santé publique France pour toutes les démarches administratives et financières. La Coordination des Centres de Référence soutient les CNR dans une dynamique transversale, assurant les missions décrites ci-dessous.

- Contribuer à ce que les CNR disposent des ressources (financières, humaines, matérielles, ...) nécessaires pour répondre à leurs missions, en assurant la coordination avec les Directions, plateformes et services support internes;
- Coordonner les actions transversales du LREMS ayant pour objectif d'apporter des améliorations fonctionnelles et organisationnelles;
- Gérer les relations avec les autorités de santé (SpF, DGS, ANSM, ARS, OMS...) et coordonne la réponse à l'appel à candidature quinquennal lancé par Santé publique France (SpF);
- Construire en lien étroit avec le service de gestion et les responsables de CNR les demandes budgétaires annuelles et exécute les comptes rendus financiers;
- Assurer la veille juridique et la conformité réglementaire

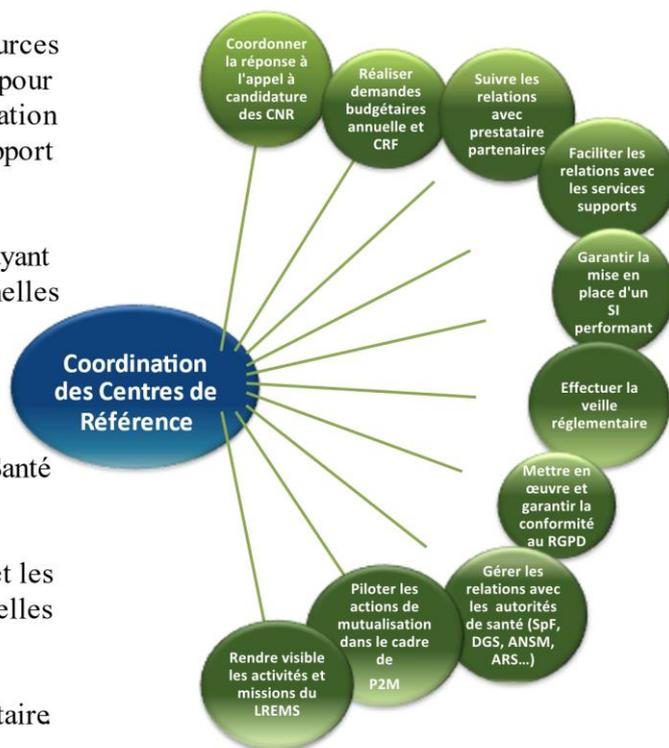


Figure issue du Manuel Qualité du Laboratoire de Référence et d'Expertise Multisite, version G

Figure 2: Les missions principales de la Coordination des Centres de Référence

La réponse de l'Institut Pasteur à l'appel à candidatures pour le mandat 2023-2027 comprend une partie commune à l'ensemble des projets de CNR, décrivant l'organisation générale et les moyens supports mis à disposition des unités hébergeant un CNR, de manière à permettre à chaque CNR de répondre à ses missions dans les meilleures conditions. Ces éléments communs, sont décrits ci-dessous, et répondent aux exigences du dossier de candidature.

UNITES ET PLATEFORMES PARTENAIRES DES CNR

En plus du soutien et de l'encadrement par la Direction de l'Institut Pasteur, par les unités de recherche et la CCR (cf Figure 1), les CNR bénéficient de l'accompagnement, des compétences et de la collaboration d'unités de recherche et plateformes décrites dans ce chapitre.

La Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU)

La CIBU, dirigée par Jean-Claude Manuguerra, a pour mission principale mission la réponse aux « urgences biologiques spécialisées » qui se définissent comme les urgences liées à des épidémies, des accidents ou des attentats utilisant des armes biologiques, pouvant mettre en danger la santé publique et nécessitant des compétences et/ou des moyens spécialisés en virologie et bactériologie.

La CIBU a deux modes d'intervention :

1/ un mode direct dans lequel elle agit comme un laboratoire autonome et réalise, à l'instar des Centres Nationaux de Référence (CNR) hébergés à l'Institut Pasteur, des examens de biologie médicale pour lesquels elle est accréditée selon la norme NF EN ISO 15189 ;

2/ un mode indirect dans lequel la CIBU devient une entité d'appui technique et scientifique, permettant à l'ensemble des CNR et des CCOMS, qu'ils soient situés à l'Institut Pasteur ou ailleurs, de répondre efficacement aux « urgences biologiques spécialisées ». Les actions mises en œuvre par la CIBU ont pour objectif la rapidité et l'efficacité des réponses aux situations d'urgences. Elle est incluse dans le Laboratoire de Référence et d'Expertise Multi-Site (LREMS), et est liée opérationnellement à la plateforme P2M, ce qui permet :

- l'accès à des technologies complémentaires (comme les séquençages MinION et Sanger, qui peuvent être adaptées pour des demandes en urgence, y compris hors heures ouvrées) ;
- la prise en charge initiale de pathogènes non identifiés, dès leur réception, avant orientation vers le CNR adapté (s'il existe). cf. schéma d'organisation ci-dessous ;
- la prise en charge de pathogènes relevant d'une classification « MOT » (micro-organismes et toxines hautement pathogènes). cf. éléments ci-dessous.

La CIBU fonctionne avec un Système d'Astreintes Microbiologiques (SAM) destiné à être opérationnel 7 jours sur 7 et 24 heures sur 24. Le SAM fonctionne en binôme avec un cadre et un technicien, et cette organisation s'appuie sur le personnel de la CIBU, ainsi que certains personnels habilités travaillant dans d'autres entités de l'Institut Pasteur.

Par ailleurs, en cas d'épidémie, la CIBU se déploie pour apporter une aide en ressources matérielles et humaines aux CNR, comme cela a été le cas sur la période 2020-2022 au cours de la crise liée à la pandémie de COVID-19 : mise à disposition de personnel technique compétent auprès du CNR des Virus des Infections Respiratoires (VIR) à Paris ainsi qu'auprès du CNR laboratoire associé VIR à l'Institut Pasteur de la Guyane.

Sa capacité de mobilisation à l'étranger et son savoir-faire (par exemple lors de l'épidémie d'Ebola en Afrique de l'Ouest entre 2014 et 2016) sont des atouts supplémentaires pour avoir accès à des informations précieuses en cas de crises sanitaires susceptibles d'impacter fortement la santé publique sur le territoire national.

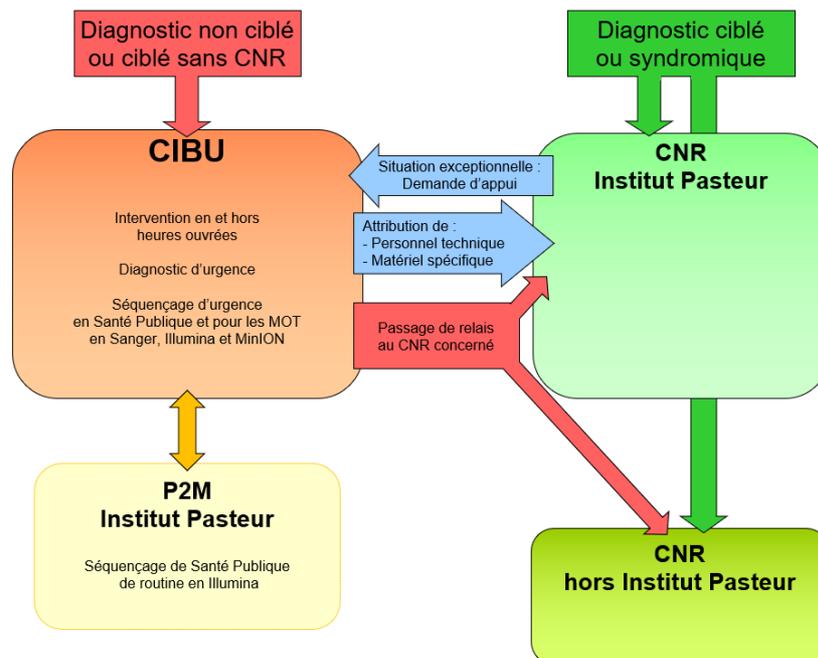


Figure 3: Schéma décrivant le fonctionnement de la CIBU

La Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M), une offre de séquençage à haut débit

Créée en 2015, la Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M) est dédiée à l'ensemble des CNR, intra et extra-pasteuriens, ainsi qu'aux laboratoires de référence dans Pasteur Network. Dans un esprit de mutualisation technologique, P2M prend en charge toutes les demandes des CNR et opère en routine du séquençage à haut débit multi-pathogènes (NGS par la technologie Illumina).

De 2015 à 2020, la plateforme P2M s'est adaptée aux demandes croissantes de séquençage des CNR, avec une augmentation annuelle d'environ 3%. En 2021, devenue plateforme nationale de séquençage du dispositif EMERGEN, elle a multiplié par trois sa capacité de séquençage en l'espace de quelques semaines, tout en maintenant son offre de séquençage pour les autres CNR. En 2021, P2M a séquençé 37 503 variants de SARS-CoV-2 pour le CNR Virus des Infections Respiratoires.

Placée sous la responsabilité de Vincent Enouf, P2M est localisée depuis 2018 dans le bâtiment Simone Veil qui héberge le pôle d'expertise *Omicron* qui allie une double compétence : séquençage et bio-informatique. Cette structure rapproche différents domaines d'expertise au service de la santé telle que la biologie, l'informatique, les mathématiques, les statistiques, la physique et les sciences sociales et positionne l'Institut Pasteur comme un acteur de niveau mondial capable de générer des données massives en santé et surtout de les analyser et d'en extraire les connaissances nécessaires à une meilleure compréhension du vivant et à l'amélioration de la santé.

Le regroupement de ces structures a permis de mutualiser les locaux et de favoriser les échanges afin d'optimiser les processus de production de séquences. L'Institut Pasteur fait également appel au savoir-faire de la société IntegraGen dans le domaine de l'organisation du séquençage NGS. Celle-ci apporte une organisation rigoureuse et adaptée qui permet de limiter les coûts, tout en assurant la rapidité et la régularité de production des séquences. Cette méthode, devenue une référence en termes de surveillance épidémiologique a fait la preuve de son efficacité tant au niveau du processus haut débit de séquençage qu'en termes de qualité des séquences produites.

L'équipe, composée de 3 techniciennes supérieures à temps plein, salariées de l'Institut Pasteur, est complétée par du personnel de la société IntegraGen (un chef de production, 3 techniciennes, et si nécessaire, un technicien en cas d'absence ou d'urgence). Des bio-informaticiens missionnés par le Hub Bioinformatique et Biostatistique de l'Institut Pasteur réalisent les tests de qualification en sortie de séquenceur et apportent également leur aide, si besoin, aux laboratoires, pour la mise en place de « pipelines » d'analyse des séquences. Depuis 2021, cinq bio-informaticiens (4,1 Equivalents Temps Plein) apportent leurs compétences aux CNR.

Le séquençage est réalisé avec la technologie Illumina. Les banques d'ADN sont préparées avec le kit Nextera XT (Illumina) et engagées sur le séquenceur NextSeq 500 (et NextSeq 2000 à venir). 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 permettent d'homogénéiser et de normaliser les ADN avant d'entrer dans le pipeline de production. Le protocole de fabrication de librairies est unique quel que soit le pathogène concerné (bactéries, virus, champignons ou parasites). Ce choix permet d'optimiser les délais et, ainsi, d'intégrer cette technologie dans le panel des outils de surveillance microbiologique. Les librairies sont préparées tout au long de la semaine, et depuis février 2021, deux runs de séquençage sont lancés chaque jour. Les nouveaux séquenceurs apportent plus de flexibilité et diminuent les coûts. Plusieurs équipements sont en « libre-service », par exemple un extracteur automatique d'acides nucléiques (qui permet de réaliser l'extraction de grandes séries d'échantillons dans le cadre d'épidémie par exemple), ou le MALDI-TOF.

Au sein de l'Institut Pasteur, P2M est utilisée par le Centre collaborateur de l'OMS (CCOMS) pour la Recherche sur l'Epidémiologie et la macro-évolution des poliovirus et des entérovirus non-polio et par 12 CNR: Bactéries anaérobies et botulisme, Coqueluche et autres bordetelloses, Corynébactéries du complexe *diphtheriae*, Entérovirus et Vaccins viraux, *Escherichia coli-Shigella-Salmonella*, Hantavirus, Leptospirose, *Listeria*, Méningocoques et *Haemophilus influenzae*, Mycoses invasives et antifongiques, Rage, Peste et autres yersiniose, Vibrions et choléra, et Virus des Infections Respiratoires (dont la grippe).

La demande externe à l'institut Pasteur a évolué au cours du mandat 2017-2022, et P2M répond aujourd'hui aux demandes de séquençages de 6 CNR en France qui sont les CNR :

- Résistance aux antibiotiques (hôpital Bicêtre, AP-HP)
- Laboratoire associé / Résistance aux antibiotiques (hôpital de Besançon)
- Pseudomonas (hôpital de Besançon)
- Mycobactéries et de la résistance des Mycobactéries aux antituberculeux (hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP)
- Stretocoques (hôpital Cochin, AP-HP)
- Echinococcoses (hôpital de Besançon)

P2M répond également à la demande le séquençage de certains laboratoires de référence des unités de :

- Virologie Immunologie Porcines (ANSES, Ploufragan)
- Viral Diseases (Sciensano, Belgique)
- Human Bacterial Diseases (Sciensano, Belgique)

Le HUB de Bioinformatique et Biostatistique

Le HUB de bioinformatique et biostatistique a pour mission d'apporter un support en biologie computationnelle aux Unités de recherche et plateformes de l'Institut Pasteur. Au même titre que pour les unités de recherche, Le Hub, qui rassemble une cinquantaine d'experts en biostatistique et bioinformatique, met à disposition des CNR son expertise dans les domaines suivants :

- Développement de programmes, visualisation de données, calcul scientifique ;

- Analyse de séquençage d'ADN, détection de variants, GWAS, génomique comparative ;
- Taxonomie, Phylogénétique, Phylogénomique, Génotypage ;
- Epigénomique, Transcriptomique, Régulation, Single-cell Quantitatif ;
- Design experimental, Inférence & modélisation, Intelligence Artificielle ;
- Réseaux biologiques, Analyse de données Multi-omiques, Analyse fonctionnelle de données omiques ;
- Développement Web, UX design, Bases de données, Intégration de pipelines et d'outils ;
- Modélisation mathématique ;
- Métagénomique ;
- Stringologie.

Le Hub Bioinformatique et Biostatistique a fait la preuve de sa mobilisation dans le cadre d'urgences sanitaires, comme ça a été le cas quand s'est déclarée la pandémie de Covid-19. Dès fin mars 2020, il a participé à la curation des données du GISAID (Global Initiative on Sharing All Influenza Data), à la demande de ce dernier. Concrètement, l'équipe du Hub a traité près d'un tiers des génomes de SARS-CoV-2 soumis au GISAID, entre mars et août 2020 (de quelques dizaines à plusieurs centaines par jour) afin de valider la qualité et la fiabilité des séquences et leurs métadonnées. Il s'agit d'une part d'uniformiser les métadonnées afin de faciliter la recherche dans la base de données, et d'autre part de vérifier la cohérence des assemblages. Ces données sont entre autres utilisées par [Nextstrain](#), un projet open source visant à proposer un instantané de l'évolution de populations de pathogènes via une interface moderne et réactive. Devant le nombre croissant de séquences déposées au GISAID (plus de 10 millions actuellement), le Hub a proposé la mise en place de protocoles de vérification automatique des dépôts et a participé à son déploiement dans les systèmes du GISAID.

Le Hub qui apporte toutes ses compétences en design expérimental, en traitement, analyse et modélisation de données, ou encore en développement de logiciels, pipelines et applications Web reste tout particulièrement mobilisé sur les projets de santé publique.

A ce titre, le Hub s'est particulièrement investi sur le traitement des données de séquençage produites par le CNR VIR durant la crise COVID19. Dix ingénieurs du Hub ont été mobilisés pour analyser les données, vérifier la qualité des séquençages, identifier les mutations, isoler les variants d'intérêt, remonter les informations au CNR, et déposer les séquences dans des banques de données publiques. Les ingénieurs du Hub ont apporté toutes leurs expertises afin de mettre en place des procédures automatisées d'identification des nouveaux variants. Le Hub, en tant que plateforme membre de l'Institut Français de Bioinformatique (IFB), a également été invité à participer à la mise en place de la structure nationale de réponse au COVID19, dans le cadre du consortium EMERGEN. Par ce biais, et afin d'assurer un service continu au CNR, le Hub a recruté deux ingénieurs totalement dédiés à l'analyse des données génomiques. Outre les procédures de traitement des données COVID19, ces ingénieurs ont également mis en place de nouveaux protocoles d'analyse des données de grippe et du Virus respiratoire Syncitial. Ils ont bénéficié de l'environnement du Hub et des multiples expertises disponibles pour fournir au CNR un soutien sur l'ensemble des tâches impliquant des données génomiques.

La spectrométrie de masse

Si un gros effort a été fait depuis 2015 autour des technologies de séquençage, les CNR ont aussi développé leur expertise en spectrométrie de masse, avec pour objectif d'offrir à la communauté scientifique une base de données créée à partir des souches reçues dans les CNR pour compléter les bases de données commerciales proposées par les fabricants.

La spectrométrie de masse MALDI-TOF est devenue une méthode puissante pour l'identification des pathogènes bactériens ou fongiques, mais reste dépendante des bases de données de spectres de référence utilisés pour l'identification. Les CNR de l'Institut Pasteur ont accès à cette technologie via la Collection de l'Institut Pasteur, un composant du Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur (CRBIP). L'acquisition récente d'un appareil de nouvelle génération (SIRIUS) étend le champ des applications possibles (analyses des lipides, comme par exemple pour la résistance à la colistine). Les CNR contribuent au développement des bases de données, soit en créant des bases de données à façon plus précises que la base commerciale (clients) de Bruker, soit en collaborant via les unités de recherche avec Bruker pour la mise à jour de la base distribuée aux clients. Les CNR contribuent ainsi à l'amélioration de l'identification des pathogènes, ce qui s'inscrit pleinement dans leur rôle de référence.

La Plateforme d'Innovation et de Développement de Tests Diagnostiques (PFDiag)

La Plateforme d'Innovation et Développement de Tests Diagnostiques (PFDiag), dirigée par Thierry Rose, a été créée en mai 2021, avec pour mission d'accompagner l'innovation et le développement de tests biologiques issus ou demandés par les équipes de l'Institut Pasteur, de son réseau international, ou d'autres institutions et organisations gouvernementales ou non gouvernementales dans le cadre de collaborations ou de services. Cette plateforme est ouverte à l'ensemble des CNR ainsi qu'aux laboratoires de référence du Pasteur Network. La plateforme propose le développement d'immuno-tests antigéniques ou sérologiques sur n'importe quel fluide, frottis ou lysat biologique dans une perspective de diagnostic de santé humaine, animale ou d'analyse environnementale. Deux types de tests sont développés, soit en plaques à puits multiples pour le très haut débit (2300 tests/heure par lecteur, 20 000/jour), soit sur bandelettes ou puces à usage unique au point du soin sur le terrain d'opération.

Cette PFDiag est localisée à proximité des plateformes de production et purification de protéines recombinantes (PFP3R), d'ingénierie d'anticorps (PFIA) et biophysique des interactions moléculaires (PFBMI) avec lesquelles elle travaille en continuité pour la production des protéines cibles (PFP3R), la sélection des anticorps spécifiques utilisés dans les immuno-tests (PFIA) et leurs spécifications et qualités (PFBMI).

La PFDiag a soutenu le CNR des Virus des Infections Respiratoires (dont la grippe) dans le cadre de la surveillance trimestrielle de la séroprévalence contre le SARS-CoV-2 en métropole et les outre-mer à la demande de SpF. Cette surveillance se poursuit en 2022 avec une titration des IgG spécifiques de la Spicule et de la Nucléoprotéine du SARS-CoV-2 par LuLISA (luciférase-linked immunosorbent assay). C'est une méthode de type ELISA utilisant un VHH ou nanobody (fragment variable de la chaîne lourde d'IgG d'alpaga) comme sonde spécifique du domaine Fc des IgG humaines, couplée à une luciférase (enzyme rapporteur bioluminescent). Cent fois plus sensible que l'ELISA, avec une dynamique sur 5 ordres de grandeur au lieu de 2 en absorbance et 4 en fluorescence, les LuLISA permettent des lectures plus rapides, et une production optimisée des réactifs à très bas coût. Cette technique a été utilisée avec succès dans le cadre de l'Etude SeroPrev-Cov-19 conduite à l'initiative de Santé publique France. Ces tests ont été étendus à la détection des IgA, IgM, IgE, IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4 pour la sérologie, spicules et nucléoprotéines des SARS-CoV pour les antigènes. La PFDiag dispose aujourd'hui d'une banque de séquences de 22000 VHH dont 4500 pour des cibles spécifiques, qui pourraient être mises à profit pour le diagnostic ou des études de séroprévalence pour d'autres pathogènes.

Le Centre de Ressources et Recherches Technologiques (C2RT)

Le Centre de Ressources et Recherches Technologiques (C2RT), dirigé par Michael Nilges et Anna Kheres, rassemble les Unités de Technologie et de Service (UTechS) et Plateformes technologiques de l'Institut Pasteur. Il a pour mission d'accompagner les équipes de recherche et les départements scientifiques dans l'atteinte de leurs objectifs scientifiques en répondant à leurs besoins technologiques présents et futurs et s'appuie sur 4 unités de technologie et de service et 15 plates-formes couvrant un grand nombre de domaines technologiques.

Les CNR selon leurs besoins peuvent faire appel aux technologies déployées par les plateformes du C2RT, dont l'offre est détaillée sur le site Internet de l'Institut Pasteur, à l'adresse suivante :

<https://research.pasteur.fr/fr/center/c2rt/>

L'unité de Modélisation Mathématique des Maladies Infectieuses

L'unité Modélisation mathématique des maladies infectieuses, dirigée par Simon Cauchemez depuis 2013, a pour principal objectif de développer des méthodes statistiques et mathématiques de pointe pour analyser et comprendre la façon dont les agents pathogènes se propagent dans les populations humaines, et évaluer l'impact des actions de santé ou des interventions dans le domaine de la santé publique sur le comportement et la santé des populations. L'approche pluridisciplinaire de cette unité consiste à examiner les maladies infectieuses sous de multiples angles (statistiques, modélisation, épidémiologie, surveillance, santé publique, élaboration de politiques, microbiologie), à de multiples échelles et à de multiples flux de données. Les modèles obtenus à partir de ces analyses permettent des projections sur le niveau de propagation de ces agents pathogènes, et d'émettre des hypothèses sur l'évolution d'une épidémie dans un contexte défini et une population donnée. Ces analyses constituent des outils éclairants pour l'élaboration des politiques et l'optimisation des stratégies de contrôle des épidémies.

Mise à disposition des collections

Les souches sont mises en collections selon les procédures adaptées à chaque microorganisme et gérées par le CNR qui en a l'expertise. Les CNR peuvent en outre s'appuyer sur le Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur (CRBIP) pour la conservation et la distribution de souches de référence, ou pour l'obtention de souches d'autres origines à des fins d'études comparatives.

L'accès aux souches, aux prélèvements biologiques et données associées, collectés dans le cadre de l'activité des CNR, est conditionné par la mise en place de documents contractuels spécifiques. Ainsi, est exigée pour le transfert du matériel biologique et des données associées, la mise en place *a minima* d'un accord de transfert de matériel biologique (Material Transfer Agreement -MTA) ou d'un accord de collaboration selon la nature des interactions entre les deux parties.

A l'issue du mandat du CNR, si celui-ci n'est pas renouvelé, l'Institut Pasteur remettra au nouveau CNR identifié, l'intégralité des échantillons collectés au cours du mandat conformément au Décret n°2016-806 du 16 juin 2016.

Les CNR entendent également respecter les dispositions de l'article L.1413-8, 3° du code de la santé publique qui institue une Collection nationale de ressources biologiques d'intérêt pour la santé publique dont les textes d'application sont attendus.

La Direction des Ressources Techniques et de l'Environnement (DRTE)

Le DRTE, certifiée ISO 9001, met à la disposition du LREMS les ressources de son périmètre dont le service Qualité, Déchets, Stérilisation et Entretien et Développement Durable) pour répondre aux exigences de l'ISO 15189 et pour assurer le bon fonctionnement du LREMS. La DRTE apporte son soutien aux CNR à travers les différents services qui la compose :

Le **Service Qualité** a la responsabilité d'organiser et d'accompagner les entités de l'Institut Pasteur dans leur démarche qualité et de coordonner les audits qualité internes. Il participe également à la mise en place d'outils et d'actions d'amélioration et propose des sessions de formation à la qualité. Il gère également la métrologie pour les entités sous démarche qualité de l'Institut Pasteur. Les prestations de la cellule métrologie sont disponibles sur leur page intranet. Le laboratoire de métrologie propose aux entités de l'Institut des prestations internes qui suivent une démarche conforme aux exigences de la norme ISO 17025.

Le **Service Déchets Stérilisation Entretien** gère les déchets dangereux (chimiques et infectieux) et valorisables (papier, carton, déchet d'équipement électrique et électronique...), ainsi que les prestations de nettoyage des locaux et de dératisation/désinsectisation.

Le **Service Prévention des Risques** assure l'évaluation et la prévention des risques du personnel de l'Institut Pasteur et des sociétés extérieures présentes sur le campus. Il organise et/ou réalise les formations réglementaires et celles nécessaires aux processus d'autorisations et d'habilitations. Ce service veille également à l'application de la réglementation (contrôles réglementaires des locaux, des équipements, MOT...). En collaboration avec le Département de Santé au travail, il gère les accidents du travail et autres incidents qui peuvent survenir sur l'ensemble du campus.

Le **Services Logistique et Sûreté** gère la sûreté, la réception et l'expédition du courrier, des colis (en particulier les réactifs et les produits biologiques) et des équipements du campus et assure les livraisons internes dans les entités en veillant à l'application de la réglementation pour le transport de matières dangereuses.

Le **Service Immobilier et Technique**, et en particulier le pôle équipement, est chargé de la maintenance des équipements scientifiques et du suivi métrologique de certains d'entre eux (autoclaves, pipettes, sondes Océasoft, ...). Ce pôle réalise également l'installation, la maintenance et la supervision des alarmes centralisées de matériels.

Le **Service de Préparation** apporte aux laboratoires un support essentiel à la réussite du travail des équipes scientifiques (stérilisation de la verrerie, fabrication des milieux, tampons, solutions...). En vue d'un travail en cohérence avec les démarches qualité des laboratoires de référence et d'expertise.

La Direction des Ressources humaines (DRH)

Le DRH coordonne les fonctions de recrutement et de gestion des carrières, de formation et de développement social, de gestion administrative du personnel, de relations sociales, et de santé au travail. Elle est impliquée à plusieurs niveaux :

Le **Pôle de recrutement** organise le recrutement et l'intégration du personnel au sein de l'institution. L'intégration au sein des CNR est sous la responsabilité des responsables de CNR. Chaque CNR s'assure de l'habilitation du personnel, et du maintien des compétences par des pratiques internes.

Le **Pôle formation** recueille les besoins en formations formulés lors des entretiens annuels d'évaluation par les responsables des CNR mais également par le personnel, et le met en application.

Le **Département de Santé et Prévention au Travail** gère le suivi médical de l'ensemble du personnel, en assurant les visites médicales annuelles ainsi qu'une permanence sur le campus de l'Institut Pasteur. Il intervient également dans la prévention du personnel dans la pratique de ses activités (sensibilisation, vaccinations nécessaires, conseils) et assure la gestion des accidents du travail (y compris l'exposition accidentelle aux agents pathogènes), et autres incidents pouvant survenir sur le campus.

La Direction Financière (DF)

La DF est en charge de la politique financière et sa mise en œuvre, de la préparation du budget et son exécution, de la comptabilité, de la paie, de l'établissement du bilan et des comptes annuels et de la gestion du patrimoine de l'Institut Pasteur. Deux services de la DF sont en interaction avec les CNR :

Le **Département achat** assure l'interface entre les fournisseurs et l'Institut Pasteur dans la négociation des prix, le choix des produits en collaboration avec les CNR ainsi que le suivi des non-conformités des produits. Il accompagne les CNR dans le processus Achat en pilotant les consultations et les appels d'offres, et en mesurant la performance des fournisseurs et des prestataires. Le cas échéant, il règle également les litiges avec ces derniers.

Le **Service de gestion** aide à l'établissement et au suivi des budgets des CNR, et donne à leurs responsables la visibilité nécessaire, les données et indicateurs qui les concernent pour les guider dans la gestion des dépenses selon les termes de la convention qui lie l'Institut Pasteur à SpF.

La Direction Juridique (DJ)

La DJ accompagne sur le plan juridique les activités des CNR sur divers volets qui relèvent :

De la mise en conformité : conseil sur des réglementations existantes ou nouvelles et veille réglementaire. En tant que de besoin, des groupes de travail internes mais également en lien avec Santé publique France sont mis en place (RGPD, DMDIV). Une politique spécifique à la prévention et la gestion des conflits d'intérêts au sein des CNR est en cours d'implémentation ;

Des nécessités contractuelles : rédaction et négociation des contrats associés aux activités des CNR ou à la mise à disposition d'échantillons et/ou données recueillis dans le cadre des activités du CNR (accord de consortium, contrat de collaboration, contrat de transfert de matériel, contrat de transfert des données).

La Direction des Systèmes d'Informations (DSI)

La DSI offre aux CNR un support autour de trois axes principaux, étant en charge :

D'accompagner les CNR dans le choix ou le développement de solutions informatiques adaptées, et d'encadrer la conduite et le pilotage de projets depuis leur lancement jusqu'au passage en exploitation/maintenance, en suivant les standards de la méthodologie la plus adaptée au contexte ;

De garantir l'application des standards techniques et la mise en œuvre des recommandations juridiques/techniques et de sécurité des systèmes d'information suivant l'état de l'art ;

De maintenir les systèmes d'informations utilisés par les CNR, de garantir leur sécurité, de gérer les problèmes de réseaux ou de serveurs et d'apporter à ce titre une aide aux utilisateurs lors de problèmes liés aux outils informatiques.

Contexte général

Les CNR placés sous la responsabilité de l'Institut Pasteur ont, depuis 1996, entrepris une démarche qualité s'appuyant sur le GBEA. Cette démarche s'est étendue ensuite à la CIBU.

À la suite de l'ordonnance du 13 janvier 2010, ratifiée par la loi 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale, l'Institut Pasteur s'est engagé depuis 2013 dans une accréditation selon la norme NF EN ISO 15189.

Le Service Qualité et la Coordination des Centres de Référence de l'Institut Pasteur pilotent cette accréditation de manière transversale, en ayant mis en place une organisation partagée entre l'équipe de pilotage et les 14 CNR placés sous la responsabilité de l'Institut Pasteur pour le mandat 2017-2022. Organisés en multisite (Paris et Lyon), ils constituent avec la Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU), le Laboratoire de Référence et d'Expertise Multisite (LREMS). Des documents transversaux (manuel qualité et organigramme du Laboratoire de Référence et d'Expertise Multi Site (LREMS)...) et des procédures générales sont applicables à l'ensemble du LREMS pour que les CNR aient un fonctionnement commun.

Etant donné les conditions particulières liées aux missions et au fonctionnement des CNR, la Direction Générale de la Santé a accordé, sous certaines conditions, une dérogation aux CNR sur les points suivants :

- La capacité pour les responsables et adjoints de CNR non médecins ou pharmaciens biologistes d'exercer des fonctions relevant de la biologie médicale
- Les conditions pré-analytiques, les CNR n'effectuant pas de prélèvement(s) sur site.
- La signature d'une convention de « sous-traitance » avec les laboratoires correspondants, dont les CNR sont dispensés.

Actions spécifiques dans chaque CNR

Chaque CNR a un correspondant qualité qui anime la démarche qualité et est le relais privilégié de l'ingénieur qualité du Service Qualité.

Chaque CNR gère localement :

- La gestion des compétences du personnel : à l'aide de parcours d'intégration, parcours d'habilitation et le maintien d'habilitation de l'ensemble du personnel du CNR.
- La gestion documentaire locale : chaque CNR rédige ses procédures et ses modes opératoires spécifiques utiles à son activité, en s'assurant du suivi des règles de gestion documentaire normative et interne institutionnelle. Les enregistrements, preuves de la bonne réalisation de ses activités, sont tracés et conservés selon des règles de gestion des enregistrements.
- La gestion des équipements : un inventaire ainsi qu'un planning d'intervention permettent au CNR de formaliser ses besoins en métrologie et d'apporter la preuve de la fiabilité de ses équipements.
- La gestion des réactifs et des consommables : une gestion des réactifs et des consommables est organisée à l'aide de fiche de suivi ainsi que d'inventaires réguliers pour que le CNR puisse répondre à l'ensemble de ses missions à tout moment en évitant les ruptures de stocks et l'utilisation de réactifs périmés.
- La gestion des non-conformités, réclamations, actions d'amélioration : Le CNR effectue un suivi régulier de ses actions.
- A l'aide d'enquête de satisfaction et d'autres outils, les CNR sont à l'écoute de leurs interlocuteurs pour améliorer en continue le service rendu.

Etat d'avancement du projet d'accréditation du LREMS

Le LREMS est accrédité selon les exigences de la norme NF EN ISO 15189, sous la section Humaine du COFRAC au numéro 8-2588.

*OCTOBRE 2013 :

Audit COFRAC, avec accréditation obtenue en mars 2014 pour les CNR :

- CNR de la Leptospirose
- CNR de la Rage
- CNR des Virus Influenzae
- CNR de la Coqueluche et autres Bordetelloses
- CNR des Corynébactéries du complexe *Diphtheriae*
- Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence

**JANVIER 2015

Audit de suivi et d'extension COFRAC avec accréditation obtenue en avril 2015 :

- Pour le CNR des Hantavirus
- et maintien de l'accréditation pour les CNR audités en octobre 2013

JUIN 2015

Audit de renouvellement et d'extension COFRAC avec accréditation obtenue en octobre 2015, maintien de l'accréditation pour les CNR cités précédemment et extension obtenue pour les CNR suivants :

- CNR des *Listeria* (*retrait du périmètre d'accréditation en 2021*)
- CNR des Mycoses Invasives et Antifongiques
- CNR de la Peste et autres Yersiniose
- CNR des Anaérobies
- CNR des Fièvres Hémorragiques Virales
- CNR des Méningocoques
- *****2018** : Extension demandée pour
- CNR des Vibrions et du Cholera
- CNR *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella* (*retrait du périmètre d'accréditation en 2019*)

Depuis 2018, le LREMS fait évoluer sa liste des techniques accréditées par le biais d'ajouts, d'extension ou encore de retraits de techniques.

Une demande d'extension a été déposée en octobre 2021 pour répondre à l'arrêté du 1er juin 2021 demandant à ce que chaque laboratoire soit accrédité sur l'ensemble des lignes de portées (à ce jour pas de nouvelles du COFRAC sur la réalisation de cette évaluation d'extension).

L'attestation d'accréditation, les sites ainsi que la liste des CNR de l'Institut Pasteur accrédités est disponible et à jour sur le site du COFRAC à l'adresse suivante :

<https://www.cofrac.fr/annexes/sect8/8-2588.pdf>

Dynamique de la démarche d'accréditation

L'accréditation du LREMS suit un planning communiqué chaque début d'année par l'équipe projet LREMS réparti comme suit :

Etapes clés LREMS	Périodes de réalisation
Revue qualité (revue de direction interne à chaque CNR)	1 ^{er} trimestre de l'année
Revue de direction LREMS et ajustement de la demande d'extension	2 ^{ème} trimestre de l'année
Audits internes qualité et technique	4 ^{ème} trimestre de l'année
Finalisation des dossiers de validation de méthode pour les extensions et les ajouts	Tout au long de l'année
Evaluation par le COFRAC	Tous les 20 mois, coordonnée par le service Qualité (échantillonnage par le COFRAC)

La prochaine évaluation par le COFRAC est planifiée la dernière semaine de juin, ainsi que la première semaine de juillet 2022.

Déclaration des collections d'échantillons humains

En application de la [Loi n°2004-800 du 6 août 2004](#) relative à la bioéthique et du [Décret n° 2007-1220 du 10 août 2007](#) relatif au prélèvement, à la conservation et à la préparation à des fins scientifiques d'éléments du corps humains (notamment des articles L. 1243.3 et L. 1243.4 du code de la santé publique) tous les CNR concernés de l'Institut Pasteur mettent à jour annuellement leur déclaration de collections d'échantillons biologiques humains.

Déclaration des Micro-Organismes et Toxines (MOT)

Certains CNR et la CIBU détenant et manipulant des micro-organismes et toxines listés à l'article L5139-1 du Code de la santé publique sont soumis aux exigences du décret n° 2010-736 du 30 juin 2010 relatif aux micro-organismes et toxines. Le Service Prévention des risques (SPR) apporte son soutien aux CNR concernés et à la CIBU pour la constitution des dossiers techniques de demande d'autorisation de détention et de mise en œuvre des MOT auprès des autorités (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM)). Le SPR accompagne également ces mêmes entités pour la mise en place des exigences en sécurité et sûreté biologiques et lors de la préparation et du suivi des inspections de l'ANSM.

Utilisation d'organismes génétiquement modifiés (OGM)

Certains CNR et la CIBU détiennent et manipulent des OGM. A ce titre, ils sont soumis au décret n°2011-1177 du 23 septembre 2011 relatif à l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés. Le Service Prévention des risques (SPR) a apporté son soutien aux entités concernées pour la constitution de leurs dossiers techniques de demande de déclaration d'utilisation ou demande d'agrément pour l'utilisation confinée d'OGM à des fins de recherche, de développement et d'enseignement, auprès du Ministère de l'Education Nationale, de l'Enseignement supérieur et de la Recherche.

Traitement des données à caractère personnel

L'ensemble des procédures existantes énumérées ci-dessous vise au respect de la conformité à la réglementation relative au traitement automatisé des données à caractères personnel ou les évolutions prévues et font parties de la déclaration CNIL.

- Authentification : nativement, l'authentification est individuelle (personne physique) et elle s'effectue par le biais de la saisie d'un identifiant et d'un mot de passe associé. En fonction des infrastructures, elle peut être renforcée par l'utilisation d'un LDAP (Système d'annuaire centralisé). Une interface d'administration permet à l'administrateur de gérer l'ensemble des utilisateurs (révocation, changement de mot de passe, création, etc.) ;
- Droits des utilisateurs / Restriction des accès : une interface dédiée permet l'association d'actions et de droits à des groupes d'utilisateurs (personnel administratif, technicien, biologiste, administrateurs...) ;
- Traçabilité ;
- Journalisation des accès ;
- Traçabilité de toutes les actions sur la base de données du type (qui, quand, quoi) ;
- Traçabilité des modifications effectuées sur le logiciel et les ressources (versionning) ;
- Télémaintenance : à la demande du CNR, des opérations de télémaintenance peuvent avoir lieu sur les serveurs de base de données. Elles sont effectuées par tunnel sécurisé (ssh) via les comptes dédiés des personnels autorisés de la société EpiConcept. Chaque opération est journalisée ;

- Sauvegarde et restauration : l'hébergement et la sauvegarde des serveurs Lagon centralisés sont assurés par les services informatiques de l'Institut Pasteur. En dehors d'indication particulière, ceux-ci sont sauvegardés avec une procédure classique : dump quotidien des bases MySQL ; sauvegarde complète une fois par mois conservée 1 mois ; sauvegarde différentielle une fois par jour, conservée 3 mois. Le serveur est sauvegardé en une fois, pour tous les CNR hébergés. La sauvegarde se fait sur bande magnétique (LTO5) dans des locaux indépendants et sécurisés pour assurer une conservation des données en cas d'incident majeur. La sauvegarde se fait via le logiciel "Symantec NetBackupEnterprise Server 6.5".

L'hébergement et la sauvegarde des données Voozadoo sont assurés par EpiConcept dans le cadre d'un contrat. La PSSI d'EpiConcept, disponible sur demande, décrit tous ces processus.

L'Institut Pasteur a mis en place des actions de mise en conformité des activités des CNR au RGPD depuis son entrée en vigueur en 2018 et à la Loi Informatique et Libertés.

Des enjeux étant partagés par l'ensemble des CNR avec l'autorité de tutelle notamment sur la définition des responsabilités, Santé publique France coordonne depuis janvier 2022 un groupe de travail concernant le RGPD et la Loi Informatique et Libertés auquel participent les institutions hébergeant plusieurs CNR. Des échanges avec la CNIL sont en cours.

Les CNR de l'Institut Pasteur utilisent les applications (Lagon, Voozadoo) développées par la société EpiConcept.

Lagon

GENERALITES

L'ensemble des données épidémioclinico-microbiologiques collectées pour chaque souche est rassemblé dans le Système Informatique du Laboratoire (SIL) des CNR. Ce SIL, nommé Lagon, est en conformité avec les exigences réglementaires et normatives actuelles et une veille sur ces derniers points assure son actualisation. Il s'agit de la conformité aux exigences de la norme NF EN ISO 15189 d'accréditation des laboratoires d'analyses médicales qui s'applique aux CNR.

APPLICATION

Lagon v2 est une application dont l'architecture se base sur un modèle à plusieurs niveaux où l'on retrouve :

- Un client lourd (lagon.exe) commun à l'ensemble des CNR ;
- Une base de données elle aussi commune à l'ensemble des CNR (lagon) ;
- Une base de données propre à chaque CNR.

Les données propres à chaque CNR sont systématiquement localisées dans la base propre du CNR. Cette base est logiquement cloisonnée par rapport aux autres. La base propre au CNR contient :

- Les données (données administratives, d'analyses mais également base d'archivage des impressions) ;
- Les ressources (gabarits de compte rendu, structures de données, structures d'écran, ...). Les ressources sont, pour tout ou partie, adaptables aux besoins des CNR mais peuvent être mutualisées au besoin (liste de consultation de structure commune par exemple). Les versions successives des ressources sont conservées dans le temps ainsi que les données relatives aux modifications. L'architecture repose également sur une ressource centrale décrivant les analyses disponibles au CNR.

L'intérêt majeur de cette architecture réside dans le fait que, de ce fichier central, peuvent être déduits à la fois les structures de base de données, les écrans de saisie mais également les éléments importants dans le contrôle du workflow appelés « profils ». Les opérations sont effectuées en grande majorité sans besoin de modification du noyau « client lourd ». Les mécanismes assurant la traçabilité sur l'ensemble des analyses sont également rendus possibles et automatisés grâce à cette architecture. On peut ainsi suivre la validation des analyses de manière fine (qui, quand, quoi).

D'autre part, cette architecture logicielle a été conçue pour permettre de délocaliser les bases de données sur différents serveurs.

Lagon est protégé par 2 niveaux de mots de passe individuels et se situe sur un serveur interne protégé et dédié de l'Institut Pasteur. Une fermeture automatique de l'application a lieu après 15 minutes d'inactivité du poste. Les données sont sauvegardées quotidiennement de façon centralisée et automatisée. Un test de restauration de sauvegarde est effectué annuellement. Le fonctionnement de Lagon par chaque CNR est conforme au GBUI. (Guide de Bonne Utilisation de l'Informatique). L'ensemble des prestataires de service internes et externes ont signé des clauses de confidentialité et respectent les réglementations pour la gestion des matériels ou données de santé publique.

Le système informatique et de gestion des données ainsi que le respect des réglementations afférentes des CNR sont annuellement évalués par des audits internes et des audits d'évaluation COFRAC. Il s'agit d'une exigence de la norme d'accréditation NF EN ISO 15189 et des documents spécifiques du COFRAC.

SERVEUR

Le serveur de base de données mutualisé (MariaDB) repose sur une machine sécurisée et dédiée à l'application.

Voozanoo

APPLICATION

Voozanoo est une plateforme de conception de système d'information développée par la société EpiConcept. Dans le cadre des CNR, son utilisation est polymorphe et peut couvrir :

- Des systèmes de surveillance centralisés ;
- Des systèmes de déclaration et d'envoi de souche ;
- Des systèmes de suivi d'études cliniques (cahier d'observations/ CRF) ;
- Un système d'automatisation des rendus de lectures de plaques.

L'application, distribuée sous licence libre, est entièrement basée sur des technologies Web et facilite ainsi l'accès à de nombreux partenaires extérieurs (aucune installation requise, seulement un navigateur et une connexion Internet). D'architecture modulaire, Voozanoo permet de couvrir les besoins principaux en matière de traitement d'information dans le domaine de la santé publique :

- Collecte multisource (poste fixe, dispositifs mobiles, sources externes de données...) ;
- Traitements statistiques (module d'analyse basé sur R <https://cran.r-project.org/>);
- Production de sorties standardisées multiformat ;
- Transferts de fichiers sécurisés ;
- Analyse cartographique ;
- Outils de conception.

Une journalisation des connexions est effectuée. Une fermeture automatique de la session a lieu après une période d'inactivité paramétrable en fonction du CNR. Les données sont échangées en réseau sous forme chiffrée.

SERVEUR

A l'exception de l'automate de résultats du CNR des Hantavirus, hébergé à l'Institut Pasteur, l'ensemble des applications développées sous Voozanoo pour les CNR est hébergé sur les serveurs d'EpiConcept, certifié ISO27001 HDS²

La PSSI d'EpiConcept (Politique de Sécurité des Systèmes d'Information) est en partie disponible sur demande.

Sécurité & Interopérabilité

CHIFFREMENT DES ECHANGES

Les échanges de données Voozanoo sur le Web sont chiffrés via TLS 1.2.

Droits des utilisateurs / Restriction des accès :

² <https://esante.gouv.fr/offres-services/hds/liste-des-herbergeurs-certifies>

Une interface dédiée permet l'association d'actions et de droits à des groupes d'utilisateurs (personnel administratif, technicien, biologiste, administrateurs...).

D'autre part, Lagon est interconnecté avec l'annuaire de l'Institut Pasteur (LDAP). Toute personne ayant accès à Lagon doit être référencée et active dans cet annuaire. La gestion de l'identifiant et du mot de passe s'en trouve ainsi centralisée et commune. Dès qu'une personne quitte l'Institut Pasteur, elle ne peut plus accéder à Lagon.

INTEROPERABILITE AVEC SANTE PUBLIQUE FRANCE

Les solutions comme Lagon ou Voozadoo, par leur modularité, leur ouverture et les technologies utilisées permettent l'extraction et la transmission de données ou la mise à disposition de données sous les formes suivantes.

- En ligne : transmission via Voozadoo. En fonction des applications, Santé publique France peut avoir accès à des informations agrégées via un compte dédié et sécurisé. La sécurisation des transferts est assurée par le serveur Web (protocole https).
- Extraction de données agrégées ou de fichiers à plat anonymisés (feuilles Excel, fichier texte, pdf, etc.). Le niveau de sécurisation des transferts dépend de la nature des données (individuelles ou agrégées).
- Interopérabilité / Web services : les technologies utilisées dans Lagon ou Voozadoo permettent une mise en place d'interfaces pour un transfert automatique et sécurisé de données standardisées. (Ce type d'architecture est similaire à celle mise en place pour les échanges avec l'ECDC pour alimenter la base TESSy – cf. machine to machine interface to TESSy³).

EpiConcept a mis en place le système d'information de sécurisation de la gestion des maladies à déclaration obligatoire. Dans ce cadre, les procédures d'anonymisation conformes aux prérequis de Santé publique France ont été mises en place ainsi qu'un serveur de code d'anonymat utilisé aujourd'hui par le CNR *Meningocoques* et *Haemophilus influenzae*. Chaque patient reçoit un code d'anonymat propre qui sert à tout échange entre le CNR et Santé publique France. Ce code d'anonymat est également utilisé au CNR *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*.

INTEROPERABILITE AVEC DES AUTOMATES DE LABORATOIRE

Plusieurs interfaces ont été mises en place « à façon » pour faciliter l'intégration des données en provenance d'automates de laboratoires directement dans Lagon. Ces outils sont développés en Python et interopèrent avec Lagon pour améliorer la qualité des données intégrées tout en réduisant drastiquement les temps de traitement.

INTEROPERABILITE AVEC BIONUMERICS

De nouvelles fonctionnalités ont été apportées à Lagon pour le rendre compatible avec Bionumerics (Applied Maths, Belgique), logiciel permettant l'analyse et le stockage des profils de macrorestriction (cf. paragraphe sur Bionumerics).

Les fonctionnalités développées permettent à Lagon d'exporter des données de type épidémiologique (lieu, date) mais également quelques données de résultats d'analyses, évitant ainsi une double saisie.

INTEROPERABILITE AVEC R

R⁴ est un système d'analyse statistique et graphique devenu très populaire au cours des deux dernières décennies.

Les outils mis en place au niveau des CNR permettent aux utilisateurs d'interagir directement (via des ponts ODBC) ou indirectement (via des exports) avec leur base de données.

³http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0907_TER_TESSy_Web_Service_Technical_Documentation_1.pdf

⁴ <https://cran.r-project.org/>

Dans le cadre du CNR *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*, les scripts de surveillance, fournis par Santé publique France, ont été adaptés et intégrés au fonctionnement de routine.

Dématérialisation des résultats

Depuis 2020, les CNR utilisent la solution BlueFiles pour l'envoi des résultats dématérialisés.

La solution BlueFiles permet d'échanger des fichiers en toute sécurité, quel que soit le destinataire en interne ou en externe. Elle garantit le chiffrement des données de bout en bout, la réception authentifiée et le contrôle distant après envoi. Cette solution est provisoire, car plusieurs évolutions concernant l'envoi des résultats dématérialisés sont à l'étude.

En effet, dans le cadre de leurs activités d'expertise, les responsables et responsables adjoints de CNR sont amenés à rendre des résultats d'analyse auprès d'établissements de santé qui requièrent de plus en plus fréquemment d'utiliser le dispositif MSSanté. Or la majorité d'entre eux ne sont pas professionnels de santé de formation, mais ont obtenu de la Commission Nationale de Biologie Médicale (CNBM) une autorisation d'exercice de la biologie médicale au titre des articles L 6213-2 et L 6213-2-1 du code de la santé publique. Pour accéder au dispositif MSSanté, un numéro RPPS associé à une carte de professionnel de santé est nécessaire. N'étant pas rattaché à un ordre professionnel (CNOM / CNOP), la CCR a interrogé la Direction Générale de l'Organisation des Soins, pour demander quelles sont les recours possibles pour que nos responsables et responsables adjoints de CNR non-biologistes obtiennent un numéro RPPS et puissent transmettre les résultats d'analyse via le dispositif MSSanté. Dans cette perspective, l'acquisition d'une solution donnant accès à ce service de messagerie électronique sécurisé nous permettra une meilleure communication avec les professionnels de santé.

La DSI doit étudier au second semestre 2022 l'opportunité de lancer un appel d'offre pour offrir aux CNR un SIL offrant un panel d'applications intégrées en faveur de la dématérialisation et l'automatisation. Un cahier des charges est en cours de rédaction, et le projet d'acquisition d'un nouveau SIL sera défini selon les nouveaux besoins et interfaces identifiés et les fonctionnalités attendues, et dépendra également du nombre de CNR placés sous la responsabilité de l'Institut Pasteur pour le mandat 2023-2027.

SITE INTERNET PAGES WEB CNR

Les pages Web des CNR sont présentes sur le site de l'Institut Pasteur dans la rubrique Santé :

<http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-nationaux-reference>

Sont mentionnées des informations générales dans les grands chapitres suivants :

- Les CNR
- Accès direct aux fiches de renseignements
- Envoi de matériel biologique
- Management de la Qualité
- Historique
- Missions
- Organisation
- Coordination des Centres de Référence

Le chapitre « Les CNR » comprend tous les CNR placés sous la responsabilité de l'Institut Pasteur avec pour chaque entité ses spécificités présentées dans les rubriques suivantes :

- Missions
- Activités
- Envoyer un échantillon/une souche
- Rapports d'activité
- La maladie – Recommandations
- Activités de recherche

L'architecture a été pensée et renseignée pour être en cohérence avec les éléments qui doivent impérativement apparaître dans le cadre des obligations de la norme NF EN ISO 15189 à laquelle les CNR et la CIBU sont assujetties (Loi du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale). Les correspondants peuvent ainsi accéder plus aisément aux informations utiles pour l'envoi de matériel biologique aux CNR.

Par ailleurs, les CNR sont également présents dans la rubrique « Recherche » du site de l'Institut Pasteur : <https://research.pasteur.fr/fr/reference-centers/> qui présente plus spécifiquement les thématiques et programmes de recherche en liens avec les activités de référence.

CONCLUSION

L'organisation telle qu'elle est décrite dans ce document détaille l'aide apportée par l'Institut Pasteur aux CNR qu'il héberge. Dans un contexte environnemental, économique et social où le risque d'émergence ou de ré-émergence de pathologies infectieuses est clairement identifié, la Direction de l'Institut Pasteur soutient avec une très forte détermination les CNR, en mobilisant un ensemble de ressources, plateformes et services au bénéfice des missions qui leur sont confiées, et en leur garantissant l'accès à un environnement hautement innovant en matière scientifique et technologique.

LISTE DES ACRONYMES

ADN	Acide désoxyribonucléique
ANSES	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
AP-HP	Assistance Publique des Hôpitaux de Paris
ARS	Agence régionale de Santé
C2RT	Centre de Ressources et Recherches Technologiques
CCOMS	Centre Collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé
CCR	Coordination des Centres de Référence
CIBU	Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence
CNBM	Commission Nationale de Biologie Médicale
CNIL	Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés
CNR	Centre National de Référence
COFRAC	Comité français d'Accréditation
CRBIP	Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur
CNOM	Conseil National de l'Ordre des Médecins
CNOP	Conseil National de l'Ordre des Pharmaciens
CRBIP	Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur
CRF	Case Report Form
DGA	Directeur Général Adjoint
DF	Direction Financière
DGS	Direction Générale de la Santé
DJ	Direction Juridique
DM	Direction Médicale
DMDIV	Dispositifs Médicaux de Diagnostic In Vitro
DRH	Direction des Ressources Humaines
DRTE	Direction des Ressources Techniques et de l'Environnement
DSI	Direction des Systèmes d'Information
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EMERGEN	Consortium pour la surveillance et la recherche sur les infections à pathogènes EMERgents via la GENomique microbienne
GBEA	Guide de bonne Exécution des Analyses
GBUI	Guide de Bonne Utilisation de l'Informatique
GISAID	Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data
GWAS	Genome Wide Association Study

IFB	Institut Français de Bioinformatique
LDAP	Lightweight Directory Access Protocol
LREMS	Laboratoire de Référence et d'Expertise Multi-Site
LuLISA	Luciférase-Linked Immunosorbent Assay
MALDI-TOF	Spectromètre de masse à temps de vol (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation-Time of Flight)
MOT	Micro-Organisme et Toxine (hautement pathogène)
MTA	Material Transfer Agreement
MSSanté	Système de messageries électroniques réservé aux professionnels de santé
NGS	Next-Generation Sequencing
OGM	Organisme génétiquement modifié
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
P2M	Plateforme de Microbiologie Mutualisée
PFBMI	Plateforme de Biophysique des Interactions Moléculaires
PFDiag	Plateforme d'Innovation et de Développement de Tests Diagnostiques
PFIA	Plateforme d'ingénierie d'anticorps
PFP3R	Plateformes de Production et Purification de Protéines Recombinantes
PSSI	Politique de Sécurité des Systèmes d'Information
RGPD	Règlement Général sur la Protection des Données
RPPS	Répertoire Partagé des Professionnels de Santé
SAM	Système d'Astreintes microbiologiques
SIL	Système informatique de Laboratoire
SPF	Santé publique France
SPR	Service de Prévention des Risques
VIR	Virus des Infections Respiratoires (CNR VIR)
USDA	United States Department of Agriculture
UTechS	Unités de Technologie et de Service