



INSTITUT PASTEUR



Hôpital R. Debré - Paris

# Rapport d'Activité 2008

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

Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques

Institut Pasteur

Et

## Laboratoire associé

Service de Microbiologie

Hôpital Robert - Debré - Paris

### Responsables :

CNR-IP :

Weill François-Xavier Tél : 0145688345

Filliol Ingrid Tél : 0145688344

Téléphone : 0145688339 (Secrétariat)

[colishig@pasteur.fr](mailto:colishig@pasteur.fr)

[francois-xavier.weill@pasteur.fr](mailto:francois-xavier.weill@pasteur.fr)

[ingrid.filliol-toutain@pasteur.fr](mailto:ingrid.filliol-toutain@pasteur.fr)

Télécopie : 0145688837

Laboratoire associé (HRD) :

Bingen Edouard Tél : 0140032340

Mariani-Kurkdjian Patricia Tél : 0140032341

Stéphane Bonacorsi Tél : 0140035792

Téléphone : 0140032340 (Secrétariat)

[edouard.bingen@rdb.aphp.fr](mailto:edouard.bingen@rdb.aphp.fr)

[patricia.mariani@rdb.aphp.fr](mailto:patricia.mariani@rdb.aphp.fr)

[stephane.bonacorsi@rdb.aphp.fr](mailto:stephane.bonacorsi@rdb.aphp.fr)

Télécopie : 0140032450

## Sommaire :

<b><u>1- Introduction</u></b> .....	<b>4</b>
1.1-Missions et Objectifs du CNR.....	4
1.2- Résumé des activités 2008.....	5
1.3- Les équipes.....	6
a- Le CNR (IP) : Effectif / Qualification du Personnel .....	6
b- Le laboratoire associé (RD) : Effectif / Qualification du Personnel .....	6
c- Démarche qualité .....	7
1.4- Les locaux et équipements .....	8
a- Institut Pasteur.....	8
b- Hôpital Robert Debré.....	9
<b><u>2- Activités d'expertise</u></b> .....	<b>10</b>
<u>2.1- Capacité techniques du CNR</u> .....	10
a- Techniques de référence .....	10
b- Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles.....	14
c- Collection de souches.....	14
<u>2.2- Activités d'expertise de l'année 2008</u> .....	15
<u>A- <i>E. coli</i></u> .....	15
a- Inventaire global des souches de <i>E. coli</i> et selles analysées en 2008 .....	15
b- Résultats obtenus sur les prélèvements de selles.....	16
c- Analyse des souches de <i>E. coli</i> d'origine humaine productrices de Shigatoxines.....	17
d- Sérotypage moléculaire des souches STEC non sérotypables.....	19
e- Analyse globale des gènes de virulence des souches de <i>E. coli</i> non STEC reçues au CNR (IP).....	20
f- Sérodiagnostic des syndromes hémolytiques et urémiques (IP).....	21
g- Souches de <i>E. coli</i> extra intestinaux.....	24
<u>B-<i>Shigella</i></u> .....	26
a-Analyses des 758 souches reçues de 756 patients de France métropolitaine en 2008.....	26
b- Bilan des feuilles d'informations reçues au CNR (245 fiches pour 245 patients).....	29
c- Souches reçues des DOMT-TOM (49 souches pour 49 patients de Guyane) et de l'étranger (25 souches pour 25 patients) .....	30
d- <i>Shigella</i> d'origine non humaine (3 souches).....	30
C- Analyse de l'évolution des tendances de l'activité du CNR.....	31
<b><u>3. Activités de Surveillance</u></b> .....	<b>31</b>
3.1- Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.....	31
A- Réseau partenaire.....	31
B- Analyse de la distribution des différents agents et analyses des tendances.....	32
C- Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS .....	38
D- Collaboration avec des partenaires nationaux : animal, alimentaire, Environnement.....	38
E- Collaboration avec des partenaires internationaux .....	39

<u>3-2 Surveillance de la résistance aux anti-infectieux</u> .....	39
A- Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches STEC .....	39
B- Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>E. coli</i> responsables de méningites .....	40
C- Étude de la résistance aux antibiotiques de souches de <i>Shigella</i> .....	40
a- Surveillance globale.....	40
b- Surveillance de <i>S. sonnei</i> .....	42
 <u>3-3 Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux</u> .....	44
A- <i>E. coli</i> .....	44
a- Alerte au steaks hachés contaminés par <i>E. coli</i> O157 .....	44
b- Alerte O26 .....	44
c- Cas de <i>E. coli</i> au service de néonatalogie de Valenciennes (59) .....	44
d. Investigation d'une épidémie de souches de <i>E.coli</i> BLSE à la maternité du CHU de Bordeaux (RD).....	45
e. Analyse des souches O157 reçues en 2008.....	45
B- <i>Shigella</i> .....	46
a- Épidémies dans la communauté juive d'Ile de France .....	46
b- Festival "Boom".....	46
c- Contamination de laboratoire .....	47
d. Surveillance des biotypes de <i>S. sonnei</i> .....	47
 <u>3-4 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier Européens</u> .....	48
 <b><u>4- Alerte</u></b> .....	<b>48</b>
 <b><u>5- Activités d'information, de formation et de conseil</u></b> .....	<b>48</b>
a-Enseignement / formation.....	48
b-Information et conseil aux biologistes et praticiens.....	49
c-Diffusion des données de surveillance à l'InVS.....	50
d- Activités d'expertises après du ministère chargé de la santé, de l'InVS, la DGS, l'AFSSA, l'OMS.....	50
 <b><u>6- Travaux de recherche en lien direct avec l'activité du CNR</u></b> .....	<b>51</b>
A- <i>E. coli</i> : (IP).....	51
a. <i>E. coli</i> extra intestinaux.....	51
b. <i>E. coli</i> intestinaux .....	52
B- <i>Shigella</i> (IP) .....	54
 <b><u>7- Liste des publications et communications 2008</u></b> .....	<b>58</b>
 <b><u>8- Programme de travail 2009-2010</u></b> .....	<b>60</b>
A/ Pour les <i>E. coli</i> responsables d'infections digestives.....	60
B/ Pour les <i>E. coli</i> responsables de méningites néonatales.....	63
C/ Pour les <i>Shigella</i> .....	64
 <b>ANNEXES</b> .....	<b>66</b>

# **1- Introduction**

## **1.1-Missions et Objectifs du CNR**

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

***Le cahier des charges du CNR-ECS répartit les missions entre le CNR de l'Institut Pasteur (IP) et le laboratoire associé au CNR situé à l'Hôpital Robert Debré (RD) de la façon suivante:***

### ***Pour les E. coli responsables d'infections digestives :***

- Contribuer au développement du diagnostic de routine des infections à *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) et en particulier des *E. coli* producteurs de Shigatoxines (STEC) dans les laboratoires de diagnostic : (IP, RD).
- Contribuer à la surveillance des infections à STEC et du syndrome hémolytique et urémique (SHU) en lien avec l'Institut de Veille Sanitaire (InVS), en confirmant l'infection à STEC par sérologie (IP), et/ou mise en évidence de STEC dans les selles (RD, IP).
- Participer, en lien avec l'InVS, à l'investigation de cas groupés par typage des souches et comparaison de souches isolées chez les malades et dans d'autres sources (IP, RD en collaboration avec les structures en charge de la surveillance ou d'études ponctuelles sur les STEC chez l'animal, dans les aliments et dans l'environnement telles que l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments...).
- Contribuer à des études de recherche appliquée (IP, RD).
- Contribuer avec l'InVS aux réseaux de surveillance internationaux et en particulier européen (Enter-Net) notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonoses 2003/99/CE (IP, RD).
- Contribuer à l'alerte en signalant à l'InVS tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, survenue de cas groupés, apparition de souches inhabituelles, etc. (IP, RD).

### ***Pour les E. coli responsables de méningites néonatales : (RD)***

- Développer et mettre en œuvre des techniques de typage et de génotypage des souches permettant de les caractériser (typage, génotypage, empreinte de virulence) et de distinguer les souches responsables de cas groupés de celles qui sont responsables de cas sporadiques et l'affiliation des souches aux différents clones
- Développer en liaison avec l'InVS un réseau de surveillance basé sur les laboratoires correspondants hospitaliers permettant de constituer une banque de souches isolées dans le LCR et de suivre l'évolution des caractéristiques de ces infections et leurs facteurs de risque (létalité, séquelles neurologiques, etc.)
- Étudier et suivre la résistance des souches aux antibiotiques
- Apporter une expertise pour une aide au diagnostic des méningites décapitées par antibiothérapie,
- Contribuer à l'alerte en signalant à l'Institut de Veille Sanitaire tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, cas groupés, formes cliniques ou souches inhabituelles, etc.

### ***Pour les Shigella (IP)***

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

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

## **1.2- Résumé d'activité 2008**

Concernant l'ensemble de l'activité du CNR et du Laboratoire Associé : un total de **1651** souches, **261** selles et **379** sérums ont été analysés.

En mars 2008, la découverte de viande avariée contaminée par *E. coli* O157:H7 a été largement médiatisée par des rappels de lots de steaks hachés accompagnés de conseils en matière d'alimentation pour le public. Pendant cette période, le CNR-ECS n'a pas mis en évidence de souches O157 dans les départements concernés et aucun cas de contamination liée à la consommation de steaks hachés n'a été notifié. A la suite de cet épisode et de cette forte médiatisation, le CNR-IP et le Laboratoire Associé RD ont vu une augmentation de son activité de caractérisation des souches d'*E. coli* de 47,7% par rapport à 2007 (734 souches en 2008 pour 497 en 2007). Aucune épidémie collective à *E. coli* producteurs de Shigatoxine (STEC) n'a été signalée en 2008.

Sur un total de 722 souches d'*E. coli* (699 patients) isolés en France métropolitaine en 2008, seules 87 souches (provenant de 87 patients) ont révélé la présence de Shigatoxine (12,4%). Pour les 261 selles analysées (provenant de 174 patients) pour la présence de gènes de virulence spécifiques des *E. coli* entéro-hémorragique (EHEC ou STEC), seules 30 (provenant de 30 patients) se sont révélées positives (17,2%). Pour les EHEC, 375 sérologies anti-LPS ont été réalisées pour 275 patients de France métropolitaine et 96 patients (34.9%) avaient une sérologie positive.

Concernant les *Shigella*, l'épidémie à *S. sonnei* de 2007 dans des écoles confessionnelles de la communauté juive d'Ile de France (853 souches par rapport à 763 en 2006), s'est terminée en janvier 2008. Quelques cas (25) ont toutefois été signalés par la CIRE IDF en novembre 2008. Depuis, aucune épidémie majeure n'a été signalée. Malgré cela, le CNR-ECS a reçu un nombre de souches de *Shigella* comparable à celui de 2007 (844). Le signalement des cas de *Shigella* par le biais de la feuille d'information a également augmenté (197 en 2007 pour 245 en 2008).

Le nombre de laboratoires du réseau du CNR-ECS a augmenté de 13,1% entre 2007 (n=596) et 2008 (n=686).

### 1.3- Les équipes

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

##### ✓ Effectif par catégories de fonctions

Suite au départ à la retraite du Pr. Patrick Grimont fin 2007, un nouveau laboratoire a été créé en janvier 2008 : le Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques (BPE). Ce laboratoire dirigé par le Dr François-Xavier Weill regroupe les CNR *E. coli* et *Shigella*, *Salmonella*, vibrions et Choléra et le CCOMS *Salmonella*. Le personnel du CNR *E. coli* et *Shigella* se répartissant de la façon suivante:

Nom - Prénom	Libellé Emploi	ETP
M. WEILL François-Xavier	Cadre Confirmé B - Responsable de laboratoire	0,30
Mme FILLIOL Ingrid	Cadre Confirmé A - Adjoint CNR	1,00
Mme CARLE Isabelle	Technicien supérieur de laboratoire 1er degré	1,00
Melle LEFEVRE Martine	Technicien supérieur de laboratoire 1er degré	1,00
Mme LEJAY-COLLIN Monique	Technicien supérieur de laboratoire 1er degré	0,90
Melle ROUX Chrystelle	Technicien de laboratoire	0,10
Mme Issenhuth-JeanJean Sylvie	Technicien supérieur de laboratoire 1er degré	0,50
Mme ABIHSSIRA Marie-Valérie	Secrétaire	0,25
Melle PRETESAC Annie	Responsable de préparation	0,10
M. TOMMASINO Patrice	Agent de laboratoire	0,10

##### ✓ Qualification du personnel cadre

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

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

##### ✓ Effectif par catégories de fonctions

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

### c- Démarche qualité

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

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

- modes opératoires, procédures générales (protocoles de milieux de culture, tampons...) et spécifiques (protocoles PCR...).
- suivi du matériel scientifique.

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

En 2007, les scores ont été de :

(1) 90% pour le sérogroupage « O » par agglutination ou *rfb*-RFLP, et 100% pour le type flagellaire « H » par *fliC*-RFLP et/ou séquençage *fliC*.

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

Les souches du contrôle 2008-2009 sont en cours de typage au CNR et au laboratoire associé.

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

De plus, le laboratoire associé participe également depuis 2005 à des **contrôles de qualité** externes internationaux organisés par le **Réseau européen de Surveillance aux infections à EHEC** (Enter-Net) : « **Enter-Net ring trial** » sur la détection de gènes de virulence .

## **1.4- Les locaux et équipements**

### **a-Institut Pasteur**

#### **Locaux**

Le CNR-ECS est situé dans le laboratoire BPE à l'Institut Pasteur. Ce centre comprend :

- Une grande pièce pour le sérotypage moléculaire des *E. coli* et *Shigella*, les amplifications géniques (PCR) et le séquençage (poste de sécurité PCR)
- Une petite pièce avec poste de sécurité microbiologique pour l'étude des *Shigella* (identification et sérotypie),
- Une petite pièce climatisée pour le RiboPrinter (automate de ribotypie), les électrophorèses en agarose et en champ pulsé (pièce partagée avec les autres CNR de l'Unité BBPE)
- Un bureau avec deux ordinateurs Macintosh (G3 et iMac) reliés au réseau Ethernet de l'Institut Pasteur et une imprimante couleur.

Pour réduire les coûts, le circuit des souches est commun pour tous les CNR de l'Unité BBPE (ouverture des paquets, enregistrement des informations épidémiologiques sur Macintosh, secrétariat, même informatique, local commun pour conserver les souches, chambre froide commune).

#### **Matériel, équipement de la structure actuelle**

- Équipement habituel de laboratoires de bactériologie : enceintes climatiques (+4°C, 30°C, 37°C, réfrigérée de 4° à 30°C), microscope...,
- Postes de sécurité microbiologique de type II (x 2),
- Matériel d'électrophorèse en agarose et d'hybridation, capture électronique des images \*
- Thermocyclers (x 5), \*
- Riboprinter ou appareil de ribotypage automatisé (Qualicon), \*
- Appareil d'électrophorèse en champ pulsé Biorad DRIII, en pièce climatisée \*
- Système automatisé de lecture et d'interprétation d'antibiogrammes OSIRIS (Bio-Rad) avec logiciel d'épidémiologie \*
- Équipement informatique : 4 ordinateurs Macintosh en réseau protégé, sauvegardes des données assurées sur disque dur externe., 1 PC
- Congélateurs à -80°C (x4) \*
- Laverie et autoclaves. \*

\* Partagé avec les autres CNR de l'Unité

#### **Moyens extérieurs à la structure :**

- Structures transversales notamment (CIBU, Plate-forme génomique Puces à ADN, séquences, Coordination épidémiologique), mais aussi les structures disponibles sur le campus (animaleries, etc...) et nécessaires aux missions du CNR.
- Collaboration avec la Plateforme de Santé Publique de l'Institut Pasteur (PF8) pour les différents projet impliquant du séquençage.
- Réseau informatique de l'IP.
- Accès à un laboratoire P3 dans le bâtiment.

## **b- Hôpital Robert Debré**

### **Locaux**

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

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

### **Matériels et Equipements de la structure actuelle**

#### **Locaux en propre**

- Poste de sécurité microbiologique de type II
- Étuve
- Microscope
- Centrifugeuse
- Réfrigérateur
- Congélateur à  $-20^{\circ}\text{C}$

#### **Locaux communs**

- Pièce pré PCR avec poste de sécurité PCR
- Une pièce climatisée comprenant :
  - Thermocyclers (x 3)
  - Appareil d'électrophorèse en champ pulsé (Chef mapper- Biorad )
- Pièce post PCR comprenant
  - Matériel d'électrophorèse en agarose
  - Appareils de capture électronique des images (Gel docXRS /Biorad et Biocapture/Vilbert Lourmat)
- Laverie
- Réserve matériel en verre et matériel plastique à usage unique
- Chambre froide
- Congélateurs à  $-80^{\circ}\text{C}$  (x 4)
- Logiciel de gestion des laboratoires (Lab400)
- Équipements informatiques de bureau en réseau protégé avec sauvegarde en salle informatique centrale de l'hôpital
- Bureaux médicaux

#### **Moyens extérieurs à la structure**

- Accès à la structure universitaire EA 3105
- Utilisation d'un prestataire de service (Génome Express) pour des séquençages

## **2- Activités d'expertise**

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

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

### **2.1- Capacité technique du CNR**

#### **a- Techniques de référence**

##### **- Méthodes d'identification**

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

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

- Tests biochimiques réalisés en macro-galerie :

Lactose, o-nitrophenyl-beta-D-galactopyranoside (ONPG), Lysine décarboxylase (LDC), Ornithine décarboxylase (ODC), Gaz/Glucose, Mannitol, Gaz/Mannitol, Dulcitol, Rhamnose, Xylose, Indole, Citrate de simmons, Citrate de Christensen, Acétate de trabulsi, Mucate, sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S), tétrathionate réductase (TTR), Glycérol, beta-glucuronidase. Possibilité de réalisation de micro-galerie (API 20E, Biomérieux).

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

##### ***Autres méthodes de différenciation d'espèces utilisées en routine***

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

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

##### ***Autres méthodes de différenciation d'espèces utilisables si besoin***

- **Le séquençage du gène *rrs*** (codant pour l'ARN 16S) **ou du gène *rpoB*** (codant pour la sous-unité bêta de l'ARN polymérase) permet de vérifier l'appartenance des souches aux genres *E. coli*-*Shigella* ou de les classer avec les autres entérobactéries correspondantes grâce à la comparaison aux bases de données.

- **99 tests d'utilisation de sources carbonées avec la galerie Biotype-100** (BioMérieux) pour la caractérisation phénotypique, aidée du logiciel d'identification Recognizer (Taxotron package, IP). Les *Shigella* utilisent moins de substrats que *E. coli*.

## - Méthodes de typage

### Le sérotypage par agglutination

#### \* *E. coli*

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

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

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

L'agglutination avec le sérum anti-capsulaire K1 est aussi effectuée en fonction de la demande et du contexte clinique (femmes enceintes, nouveau-nés)

#### \* *Shigella*

Concernant les *Shigella*, les sérums utilisés sont les sérums Eurobio ou de Sifin ainsi que quelques sérums spécifiques fabriqués au CNR-IP.

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

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

### Le sérotypage moléculaire par PCR-RFLP

Le sérotypage moléculaire, mis au point à l'IP, consiste en une analyse des profils de restriction obtenus après amplification de la région génétique *rfb* (antigène O) et du gène *fliC* (antigène H) des *E. coli* et *Shigella*. L'agglutination des souches de *E. coli* est la technique de base, mais cette méthode immunologique est très souvent mise en défaut pour *E. coli* en raison d'un nombre de sérotypes très élevé (plus de 170 antigènes O et 50 antigènes H connus) et le schéma antigénique n'est pas exhaustif (à la différence des *Salmonella*). Pour les *Shigella*, le sérotypage moléculaire est utile quand les souches ne sont pas sérotypables (nouveaux sérotypes en l'absence d'antisérums spécifiques ou quand les souches sont rough).

- **L'antigène O** est déterminé après amplification du groupe de gènes *rfb* (environ 20kb) codant pour cet antigène, puis restriction enzymatique avec *MboI*. Le profil de restriction ainsi obtenu est comparé à une base de données. Cette base regroupe 250 profils déterminés pour 148 sérogroupes O d' *E. coli* et 35 sérotypes de *Shigella*. Les antigènes O déterminés de façon moléculaire sont notés R (et non « O »).

- **L'antigène H** est déterminé après amplification du gène *fliC*, codant pour la flagelline chez *E. coli* (gène cryptique chez *Shigella*), puis restriction enzymatique avec *HhaI*. Le profil de restriction ainsi obtenu est comparé à une base de données de plus de 200 profils déterminés pour 70 sérotypes d' *E. coli* et 35 de *Shigella*. Les antigènes H déterminés de façon moléculaire sont notés F (et non « H »).

Cette méthode développée dans notre laboratoire permet presque toujours d'obtenir des résultats (contrairement au typage classique par agglutination). Nous prévoyons d'effectuer le sérotypage moléculaire sur un maximum de souches non agglutinables particulièrement lorsque celles-ci sont responsables d'épidémie ou encore si elles possèdent des gènes de virulence. Les souches qui sont testées en priorité sont les EHEC responsables de SHU.

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

Une base de données de séquences de référence pour 92 sérotypes d' *E. coli* et près de 40 sérotypes de *Shigella* permet de comparer les séquences obtenues par alignement afin de déterminer le « H » moléculaire (« F »). Pour *Shigella*, la base est en cours de validation, mais les comparaisons sont plus difficiles à effectuer du fait de l'insertion fréquente de séquences d'insertion (IS) intra-géniques. L'identification bien que plus laborieuse reste le plus souvent possible.

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

Cette méthode a fait l'objet d'une standardisation par le réseau PulseNet USA puis PulseNet Europe afin de pouvoir effectuer des comparaisons de profils inter-laboratoires. Cette méthode permettant de vérifier la clonalité des souches est utilisée au CNR-IP et au Laboratoire Associé en cas d'épidémie, particulièrement à EHEC.

La méthode reste longue et fastidieuse (environ 3 jours). D'autres endonucléases peuvent aussi être utilisées si nécessaire, telle que *BlnI*.

### **Le typage moléculaire par Multi Locus Sequence Typing (MLST)**

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

### **- Détection par PCR des gènes de pathogénicité**

La panoplie des gènes de pathogénicité présents chez *E. coli* est imposante. Au CNR, nous effectuons différentes PCR, avec par ordre de priorité :

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

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

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

- La détection de gènes codant l'invasivité : le locus *ial* (Invasion Associated Locus) qui est situé sur le plasmide d'invasivité, et le gène *ipaH* qui est situé à la fois sur le chromosome

et le plasmide d'invasivité. Ces gènes sont utilisés pour l'identification des *Shigella* et des *E. coli* entéroinvasifs (EIEC)

- La détection du gène *st* codant pour la toxine thermostable ST1a et du gène *lt* codant pour la toxine thermolabile LT. Ces deux toxines peuvent être présentes chez les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC).

- La détection du gène *astA* codant pour l'entérotoxine 1 thermostable (EAST1) présente chez les *E. coli* entéroaggrégants (EAggEC).

- La détection du gène *aggA* codant pour les fimbriae I (AAF/I) responsables de l'adhésion aggrégative présente chez les EAggEC.

- La détection des gènes codant pour les adhésines **PAP, SFA, AFA** chez des souches responsables de diarrhées ou uropathogènes (UPEC).

- La détection d'autres gènes tels que *cnf1* et *aer* dans des souches responsables de septicémie.

La détection par PCR de tous ces gènes s'effectue sur souches isolées ou directement sur les selles. Des systèmes de PCR multiplex sont utilisés pour certains gènes. Certaines PCR sont réalisées dans des cas particuliers (méningite ou sépticémie):

- PCR spécifique du clone hypervirulent O45 : K1, responsable de méningite néonatale en France

- PCR de détection du sous groupe d'ExPEC hautement virulent (ribotype B2<sub>1</sub> / ST 29)

-

#### - Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

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

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

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

**Suite à l'épidémie survenue en 2007, la sensibilité à l'azithromycine est testée en plus, à la fois par la méthode de diffusion et par E-test, pour toutes les souches de *Shigella sonnei* résistantes à l'amoxicilline et au cotrimoxazole.**

### - Sérodiagnostic :

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

#### **Liste réduite des LPS**

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

#### **Liste complètes des LPS**

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

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

### **b- Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles**

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

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

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

### **c- Collection de souches**

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

- les souches de référence pour les gènes de pathogénicité de *E. coli*,
- les souches de référence des différents sérotypes O et H pour le typage moléculaire,
- toutes les souches du CNR possédant des gènes de pathogénicité, particulièrement les Shiga-toxines,
- les souches de *S. dysenteriae* de type 1.

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

À l'hôpital Robert Debré, les souches sont conservées à  $-80^{\circ}\text{C}$  dans une pièce dédiée. Plusieurs collections de souches humaines sont ainsi disponibles depuis 1987 :

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

## **2.2- Activités d'expertise de l'année 2008**

Un total de 1559 souches, 39 selles et 379 sérums ont été reçus et analysés au CNR-IP en 2008. Un total de 92 souches, 222 selles ont été reçues et analysées au laboratoire associé RD en 2008.

Soit globalement, **1651** souches, **261** selles et **379** sérums analysés par le CNR-ESC en 2008. La répartition de ces prélèvements est décrite dans le tableau 1.

**Tableau 1 : répartition des prélèvements reçus au CNR :**

	<b>France métropolitaine</b>	<b>DOM-TOM</b>	<b>Étranger</b>	<b>Total</b>
Selles IP	39	0	0	39
Selles RD	222	0	0	222
<b>Total Selles</b>	<b>261</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>261</b>
<i>E. coli</i> IP	647	13	2	662
<i>E. coli</i> RD	92	0	0	92
<b>Total <i>E. coli</i></b>	<b>739</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>754</b>
Absence de culture ou non <i>E. coli-Shigella</i>	50	1	2	53
<b>Sérums</b>	<b>374</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>379</b>
<b><i>Shigella</i></b>	<b>770</b>	<b>49</b>	<b>25</b>	<b>844</b>

En plus de ces prélèvements, 245 feuilles d'informations concernant des cas de *Shigella* ont été adressées au CNR. (Exemple de feuille d'information : cf. **Annexe 1**)

### **A- *E. coli***

#### **a- Inventaire global des souches de *E. coli* et selles analysées en 2008**

Le CNR-IP a reçu au total 662 souches et 39 selles, et le laboratoire associé (RD) a reçu 92 souches et 222 selles, adressées par de nombreux laboratoires hospitaliers, laboratoires d'analyses médicales, facultés de médecine, centres de santé, laboratoires départementaux, et Instituts médicaux ou vétérinaires (liste exhaustive en **Annexe 3**).

Parmi les 662 souches reçues à l'IP, 2 venaient de l'étranger (Cameroun, Monaco) et 13 des DOM-TOM, les caractéristiques des **647 souches provenant de 619 patients de France métropolitaine** seront analysées dans la suite de ce rapport.

**Tableau 2 : Inventaires des souches et selles reçues au CNR pour *E. coli***

	<b>IP</b>	<b>RD</b>	<b>Total</b>
Souches d'origine humaine	642 (619 patients)	92 (89 patients)	734 (708patients)
Souches d'origine animale ou alimentaire	5		5
Souches isolées de selles	494 (483 patients)	46 (44 patients)	540 (527 patients)
Souches urinaires	55 (55 patients)	10 (10 patients)	65 (65 patients)
Souches sanguines	27 (25 patients)	7 (7 patients)	34 (32 patients)
Souches d'autres origines (LCR, vagin, biopsies, articulaire, pus, bile...)	35 (31 patients)	29 (28 patients)	64 (59 patients)
Souches d'origine non précisée	31 (31 patients)		31 (31 patients)
Selles	39 (36 patients dont 12 dans le cadre de la surveillance du SHU)	222 selles dont 22 écouvillons rectaux (138 patients dont 112 selles dans le cadre de la surveillance du SHU, 88 patients et 38 selles pour l'entourage de 14 cas de SHU)	261 (174 patients dont 124 dans le cadre de la surveillance du SHU)

**b- Résultats obtenus sur les prélèvements de selles**

Les **prélèvements de selles humaines ou les souches** provenaient de patients ayant différentes symptomatologie, détaillées dans le **tableau 3**.

**Tableau 3 : Symptomatologies des patients pour lesquels les selles et ou les souches ont été analysées :**

<b>Symptomatologie</b>	<b>N patients</b>
SHU typique ou suspicion	95
Diarrhée sans précision	52
Diarrhée glairo-sanglante	44
Sujets contacts de patients SHU	40
Microangiopathie thrombotique	25
Etiologie inconnue	16
Rectocolite hémorragique	6
Maladie de Crohn	5
Choc septique	4
Diarrhée aqueuse	4
Diarrhée de retour	3
SHU atypique	3
Pancréatite	2
Pyélonéphrite	2
Encéphalite	1
Insuffisance rénale	1

De plus, afin d'étudier la prévalence des STEC dans la population d'enfants consultants aux urgences de l'hôpital pour une diarrhée, la recherche de *E. coli* O157:H7 a été systématiquement réalisée sur les selles aqueuses, et les selles glairo-sanglantes soit, en 2008, 420 selles sur les 1854 selles reçues dans le service de Microbiologie pendant cette période.

Sur les 261 prélèvements de selles reçues dans le cadre de la surveillance du SHU, la recherche directe des gènes de pathogénicité par amplification génique *in vitro* a été positive dans 30 cas avec les profils de virulence suivants :

- 1 profil *stx2+ eae+ hlyA*
- 1 profil *stx2+ hlyA*
- 1 profil *stx2 + EAST1*
- 3 profil EAST1
- 1 profil EAST1 + *saa*
- 4 profils *stx1 + stx2+ eae*
- 3 profils *stx2*
- 16 profils *stx2 + eae*

Les résultats de la PCR directe sur les selles ont été corrélés aux résultats obtenus après culture des selles sauf dans 13 cas pour lesquels la PCR directe était négative en raison de la présence d'inhibiteurs dans les selles alors que la culture a permis d'isoler 8 souches de *E. coli* O157 .

4 souches de *E.coli* non sous typable (NST) et une souche de *E .coli* O26 .

La culture des selles a été réalisée, avant et après enrichissement en eau peptonée (4 à 6h à 37°C) sur différents milieux : Mac Conkey-sorbitol (+ tellurite et cefixime), milieu de Drigalski. Les caractéristiques des souches isolées à partir des selles ont été analysées avec les autres souches reçues au CNR et au Laboratoire Associé (**Tableau 4**).

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

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

En excluant les souches vaginales envoyées pour détermination du K1 (n=23) et en incluant les souches isolées à partir des selles, l'analyse de la présence des différents gènes précédemment cités, a porté sur **711** souches correspondant à **688** patients de France métropolitaine.

En ne considérant qu'une souche par patient, **87** souches STEC ou VTEC ont été mises en évidence (12,6%). Leur répartition est indiquée dans le **Tableau 4**.

**Tableau 4 : Répartition des souches STEC par sérotype**

	O26	O111	O128	O157	NT ou rough	Total
<i>stx1, stx2, eae</i>	1			7	3	11
<i>stx1, stx2, eae, ehlyA</i>		1		3		4
<i>stx1</i>			1		9	10
<i>stx1, eae</i>	1					1
<i>stx1, stx2, ehlyA</i>			1		1	2
<i>stx1, eae, ehlyA</i>	7			2		9
<i>stx2</i>					7	7
<i>stx2, eae</i>	2			18	9	29
<i>stx2, eae, ehlyA</i>	1			12	1	14
<b>TOTAL</b>	<b>12</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>42</b>	<b>30</b>	<b>87</b>

NT = *E. coli* non sérotypable

### **Sérotype O157**

Les 42 patients pour lesquels des souches de sérotype O157 ont été isolées se répartissaient en :

- 1 garçon de 8 mois présentant une diarrhée sanglante et un SHU
- 22 enfants de 1 à 5 ans (10 filles et 12 garçons) dont les symptômes étaient :
  - o une diarrhée sanglante chez 2 garçons dont l'un avait un frère atteint de SHU et chez une fille dont le frère avait un SHU
  - o une diarrhée sanglante suivie d'un SHU chez 2 filles
  - o un SHU chez 5 filles et 5 garçons
- 12 enfants de 7 à 13 ans (7 filles et 5 garçons) dont les symptômes étaient :
  - o une diarrhée sanglante chez 4 garçons et une diarrhée chez 1 fille dont le frère présentait un SHU
  - o une diarrhée sanglante suivie d'un SHU chez 1 fille
  - o un SHU chez 1 garçon
- 6 adultes de 16 à 59 ans (4 femmes et 2 hommes) dont les symptômes étaient :
  - o une diarrhée sanglante chez 2 femmes et 1 homme
  - o un SHU chez 1 femme et 1 homme
  - o une microangiopathie thrombotique (MAT) chez une femme
- 1 homme de 71 ans qui présentait un SHU

### **Sérotype O128**

Les 2 souches ont été retrouvées chez une fillette de 1 an présentant une diarrhée et une femme de 28 ans pour laquelle les symptômes n'étaient pas précisés.

### **Sérotype O111**

Cette souche a été retrouvée chez une femme de 62 ans, aucun symptôme n'était mentionné.

### **Sérotype O26**

Les 12 patients pour lesquels des souches de sérotype O26 ont été isolées se répartissaient en :

- 10 enfants de 1 à 4 ans (5 filles et 5 garçons) dont les symptômes étaient :
  - o un SHU chez 2 garçons dont l'un est décédé
  - o une diarrhée chez 1 garçon et 2 filles dont l'une est la sœur d'un patient ayant eu un SHU mais sans isolement de la bactérie en raison d'une antibiothérapie administrée au tout début de la diarrhée sanglante.
- 1 garçon de 8 ans dont les symptômes n'étaient pas précisés
- 1 homme de 53 ans qui présentait une MAT et avait bénéficié d'une greffe rénale

### ***E. coli* non sérotypables (NT) ou rough**

Les 30 patients pour lesquels des souches non sérotypables ont été isolées se répartissaient en :

- 8 enfants de 1 à 5 ans (4 filles, 3 garçons et 1 ou le sexe n'était pas précisé) dont les symptômes disponibles étaient :
  - o un SHU chez 2 filles et 2 garçons
  - o la sœur d'une fillette atteint d'un SHU
- 7 enfants de 7 à 12 ans (1 fille et 6 garçons) dont les symptômes étaient :
  - o une diarrhée chez 1 garçon
  - o un SHU chez 3 garçons
- 10 adultes de 25 à 61 ans (7 femmes et 3 hommes) dont les symptômes disponibles étaient :
  - o une diarrhée sanglante chez 1 homme et une diarrhée chez 2 hommes
  - o une MAT chez une femme
- 5 adultes de 68 à 84 ans (3 femmes et 2 hommes) dont 2 femmes présentaient un SHU.

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

La mise en évidence des STEC a été réalisée dans l'entourage de 14 cas de SHU soit 36 personnes prélevées. Seules les personnes vivant sous le même toit ont eu un prélèvement de selles ainsi que la nourrice d'un des patients ayant un SHU. Une souche de STEC a été mise en évidence dans 5 cas (3 souches de O157, 1 souche O26, 1 souche NST). Les souches présentaient le même profil de virulence que celle du cas de SHU de la même famille. Il s'agissait dans tous les cas de frères ou de sœurs de patients présentant un SHU. Aucune souche de STEC n'a été retrouvée chez les adultes.

### **Analyse des variants du gène *stx2* (RD)**

La mise en évidence de 2 des variants du gène *stx2* (*stx2c*, *stx2d*) a été réalisée sur 43 souches de la collection du laboratoire associé selon la méthode d' Osek et al (Journal of Applied Microbiology 2003).

Parmi ces 43 souches, 26 étaient de sérotype O157, 15 non sérotypables, une de sérotype O111 et une de sérotype O26. Les profils de virulence étaient les suivants : *eae+stx2* (n=35), *eae+stx1+stx2* (n= 6), *stx2* (n=2) .

Les résultats de la recherche des variants *stx2* sont reportés dans le **Tableau 5**.

Le profil *stx2c+stx2d* a été retrouvé le plus fréquemment chez les STEC O157 (46% des souches).

Cette recherche sera étendue aux autres variants *stx* et réalisée sur l'ensemble de notre collection et ce afin de corréler la présence d'un variant *stx2* à la survenue de complications majeure au décours d'une infection à STEC.

**Tableau 5: Analyse des variants *stx***

STEC	N	Variants <i>stx2</i>			
		<i>stx2c</i>	<i>stx2d</i>	<i>stx2c+ stx2d</i>	négatif
O157	26	1	1	12	12
NST	15			3	12
O111	1		1		
O26	1				1

NST= non sérotypable

### **c- Sérotypage moléculaire des souches STEC non sérotypables**

Les résultats du sérotypage moléculaire de 29 souches : 4 souches de 2007 n'ayant pas été typées l'année dernière et 25 souches de 2008 (sur les 30 souches non sérotypables par agglutination isolées en 2008) sont présentés dans le **Tableau 6**.

Il est intéressant de noter l'appartenance de 8 souches au sérotype O117, 5 au sérotype O174 et une au sérotype O121. On peut aussi remarquer le défaut de sensibilité des réactions d'agglutination ; en effet, les sérotypes O26, O103 et O145 devraient être identifiés par agglutination.

Dix souches non sérotypables n'ont pu être identifiées par sérotypage moléculaire car les profils obtenus n'existaient pas dans la base de données moléculaires.

**Tableau 6 : Résultats du sérotypage moléculaire de 29 souches non sérotypables**

Année	N°IP	Gènes de virulence	Sérotypage moléculaire	
			O	H
2007	#09 0115	stx2, eae, hlyA	NT*	H 25
2007	#09 0116	stx2, eae, hlyA	NT*	H 25
2007	#09 0117	stx2, eae, hlyA	NT*	H 25
2008	#08 3961	stx2	NT*	F45
2008	#09 0120	stx2, eae, hlyA	NT*	en cours
2008	#09 0121	stx2	NT*	F10
2008	#09 0124	stx2, eae, hlyA	NT*	F25
2008	#09 0127	stx2, eae, hlyA	NT*	F2
2008	#09 0128	stx1, eae, hlyA	NT*	F25
2008	#09 0122	stx2, eae, hlyA	O26b	F11
2008	#09 0123	stx2, eae, hlyA	O26b	F11
2008	#09 0130	stx2, eae, hlyA	R101/R162**	F33
2007	#09 0118	stx1, eae, hlyA	R103	en cours
2008	#08 0237	stx1	R117	F7
2008	#08 2167	stx1, EAST1	R117	F7
2008	#08 2581	stx1	R117	F7
2008	#08 3478	stx1, EAST1	R117	F7
2008	#08 7085	stx1, EAST1	R117	F7
2008	#08 8524	stx1	R117	F7
2008	#08 9127	stx1, EAST1	R117	F7
2008	#08 2168	stx1, EAST1	R117**	F7
2008	#08 6462	stx2, eae, hlyA	R121**	F19
2008	#09 0125	stx2, eae, hlyA	R145**	F2
2008	#09 0126	stx2, eae, hlyA	R145**	F2
2008	#08 2153	stx2c, EAST1	R174	F21
2008	#08 9911	stx2	R174	en cours
2008	#0810562	stx1, stx2, hlyA, saa	R174	F2
2008	#09 0119	stx2	R174	F21
2008	#09 0129	stx2	R174	F21

NT= non sérotypable, pas de profils correspondant dans la base de données

\* : profil le plus proche dans la base

**e- Analyse globale des gènes de virulence des souches de E. coli non STEC recues au CNR-IP**

En excluant les souches vaginales envoyées pour détermination du K1 et les souches STEC, 600 souches (dont 10 doublons) isolées en France métropolitaine et dans les DOM-TOM ont été analysées au CNR-IP.

Pour l'étude de la répartition par sérotype et gènes de virulence, nous avons considéré une souche par patient, sauf dans les cas où chez un même patient ont été isolées des souches ayant des sérotypes, une composition en gènes ou des caractères biochimiques différents (ce qui était le cas pour 13 patients). Soit 590 souches pour 577 patients.

**Tableau 7 : Analyses des sérotypes et gènes de virulence des souches non-STEC**

	<i>AAF1</i>	<i>aer</i>	<i>AFA</i>	<i>bfpA</i>	<i>cnf</i>	<i>eae</i>	<i>eae, astA</i>	<i>eae, ial</i>	<i>eae, ehlyA</i>	<i>astA</i>	<i>astA, saa</i>	<i>astA, pap</i>	<i>astA, pap, sfa</i>	<i>ial, ipaH</i>	<i>lt, astA</i>	<i>pap</i>	<i>pap, sfa</i>	<i>pap, sfa, cnf</i>	<i>sfa</i>	sans gène	Total
NT	1	14	5		7	22	5	1		34		1		1	1	13	3	1	5	315	429
O25																				2	2
O26						15			5											6	26
O44																				2	2
O55						16				1										8	25
O78										1										2	3
O86										1										11	12
O91																				1	1
O103					1	1				1										2	5
O111						3				8										1	12
O114																				2	2
O118																				1	1
O119																				1	1
O124														1							1
O125										3										2	5
O126										1										2	3
O127						8														2	10
O128				1		8				1	2		1							9	22
O142										1											1
O145						1				1											2
O157						1						1									2
O158																				1	1
rough										8										14	22
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>14</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>8</b>	<b>75</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>61</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>13</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>384</b>	<b>590</b>

**f- Sérodiagnostic des syndromes hémolytiques et urémiques (IP)**

Un total de **379 sérums**, reçus de différents services pédiatriques et de laboratoires d'analyses médicales ayant participé au réseau de surveillance des SHU, ont été analysés. Parmi ces sérums, 1 sérum provenait d'Italie, un de Mayotte et deux de Martinique. Soit 375 sérums provenant de France métropolitaine.

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

En considérant un sérum par patient (le positif en cas de discordance), soit **275** sérums, le bilan des résultats obtenus est le suivant :

34,9 % des 275 patients ont révélé la présence d'anticorps anti-LPS, avec des anticorps anti O157 pour 70,8% des positifs.

Pour les 99 patients pour lesquels au moins 2 sérums ont été prélevés :

- 5 ont présenté un premier sérum positif et un deuxième négatif (5,2%)
- 1 a présenté un premier sérum négatif et un deuxième positif (1%)

La répartition par âge et par sexe des patients avec une sérologie positive est indiquée dans le **Tableau 8**.

**Tableau 8: Répartition par âge et sexe des résultats de sérologie anti-LPS**

	< 1 an		1-5 ans			6-15 ans		16-64 ans			> 65 ans			NR			Total
	M	F	M	F	NR	M	F	M	F	NR	M	F	M	F	NR		
IgM O128				1													1
Ig A O103/IgM O103				1					2					1			4
Ig A O111/IgM O111						1		1									2
Ig A O145/IgM O145						3											3
Ig A O157/IgM O157	1		19	7		5	9		2				5	3			51
Ig A O157/IgM O157 + Ig A O103/IgM O103				1													1
Ig A O157/IgM O157 + Ig A O128/IgM O128			1														1
Ig A O26/IgM O26				1													1
Ig A O55/IgM O55			1														1
Ig A O91/IgM O91							1										1
Ig M O103				2		1		1	6	1	1		1				13
IgA O128											1			1			2
IgA O128 / IgM O157			2														2
IgA O157			1						1				1				3
IgM O157			2	3	1		1	2	1								10
<b>Total Positifs</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>26</b>	<b>16</b>	<b>1</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>4</b>	<b>12</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>0</b>		<b>96</b>
<b>Négatif</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>22</b>	<b>27</b>	<b>1</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>30</b>	<b>35</b>	<b>2</b>	<b>9</b>	<b>24</b>	<b>1</b>	<b>6</b>	<b>1</b>		<b>180</b>
<b>Total</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>48</b>	<b>43</b>	<b>2</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>34</b>	<b>47</b>	<b>3</b>	<b>11</b>	<b>24</b>	<b>8</b>	<b>11</b>	<b>1</b>		<b>275</b>

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

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

Pour 53 patients, les analyses ont été effectuées à la fois sur la souche (ou les selles) et sur le sérum (**Tableau 9**) .

La sérologie ne permettant que la détection des sérotypes O26, O55, O91, O103, O111, O128, O145 et O157, les résultats étaient concordants pour 35 patients (en gras).

Pour 4 patients les PCR sur selles étaient négatives et aucune souche n'a été isolée (en italique), alors que la sérologie s'est révélée positive pour 3 cas.

Des résultats discordants ont été obtenus chez 14 patients avec :

- 5 patients avec une sérologie positive alors que les souches isolées étaient non sérotypables
- 2 patients avec une discordance entre le sérotype de la souches et la sérologie
- 7 patients avec une sérologie négative alors que les souches isolées avaient des sérotypes détectables en sérologie : O157 ; O145, O26. La plus faible sensibilité du line blot lors des infections à *E. coli* O26 est connu et c'est pour cela que 2 préparations de LPS O26 sont déposées sur les bandelettes.

**Tableau 9: Comparaison des résultats obtenus pour les souches et sérums de 53 patients**

<b>N de patients</b>	<b>PCR sur selles ou souches</b>	<b>Sérotype</b>	<b>Sérologie</b>
1	<i>stx2, eae</i>	<b>O157</b>	<b>IgA anti-O157</b>
1	négatives	NI	<i>IgM anti-O103</i>
1	négatives	NT	IgM anti-O103, IgA anti-O103
1	<i>stx1, stx2, eae</i>	O157	IgM anti-O103, IgA anti-O103
1	<i>stx1, stx2, eae</i>	<b>O157</b>	<b>IgM anti-O103, IgA anti-O103, IgM anti-O157, IgA anti-O157</b>
1	<i>stx2, eae</i>	NT*	IgM anti-O145, IgA anti-O145
1	<i>stx2, eae</i>	<b>R145*</b>	<b>IgM anti-O145, IgA anti-O145</b>
2	<i>stx2, eae, hlyA</i>	<b>O157</b>	<b>IgM anti-O157</b>
1	négatives	NT	IgM anti-O157
2	négatives	NI	<i>IgM anti-O157, IgA anti-O157</i>
2	négatives	NT	IgM anti-O157, IgA anti-O157
3	<i>stx1, stx2, eae</i>	<b>O157</b>	<b>IgM anti-O157, IgA anti-O157</b>
10	<i>stx2, eae</i>	<b>O157</b>	<b>IgM anti-O157, IgA anti-O157</b>
2	<i>stx2, eae, hlyA</i>	<b>O157</b>	<b>IgM anti-O157, IgA anti-O157</b>
1	négatives	O25	IgM anti-O157, IgA anti-O157
1	négatives	NI	Négative
8	négatives	NT	Négative
2	<i>stx1, stx2, eae</i>	NT	Négative
2	<i>stx2, eae</i>	NT	Négative
1	<i>stx1</i>	NT*	Négative
1	<i>stx2, eae, hlyA</i>	O157	Négative
1	<i>stx2, eae</i>	O157	Négative
1	<i>stx1, stx2, eae</i>	O26	Négative
1	<i>stx2, eae</i>	O26	Négative
1	<i>stx2, eae, hlyA</i>	O26	Négative
1	<i>stx2, eae</i>	<b>R101/R162*</b>	<b>Négative</b>
1	<i>stx2, eae</i>	R145*	Négative
1	<i>stx2</i>	<b>R174*</b>	<b>Négative</b>
1	<i>stx2, eae</i>	R26b*	Négative

NT= non sérotypable

NI= Non isolée, pas de souche isolée des selles

\* : sérotypage moléculaire : si NT (pas de profil correspondant)

### *g- Souches de E. coli extra intestinales (EXPEC)*

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

Le Laboratoire Associé a reçu 8 souches d' *E. coli* isolées de LCR de nouveau-nés atteints de méningites néonatales. Les caractéristiques de ces souches sont représentées dans le **Tableau 10**. La PCR spécifique O45 a été réalisée sur les souches appartenant au groupe B21 (n=4) et aucune souche était positive. Ces résultats permettent d'incrémenter la base de données françaises des méningites néonatales à *E. coli*.

**Tableau 10 : Résultats de l'étude des souches de méningites néonatales**

S	Origine	Age au Prélèvement	Gp Phylo	PCR O45	Phage K1	agg K1	ChuA	Hra	yjaA	TSPE4.C2	fyuA	Hly	sfa/foc	PAP C	Aer	PAP G	cnfI	iroN
275	Caen	13 jours	B21	neg	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	+
277	Lisieux	15 jours	B2		+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+
278	Trousseau	2,5 mois	B21	neg	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
279	Armentières	10 jours	B21	neg	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	+
280	Armentières	14 jours	A		-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+
281	Bourg en Bresse	9 jours	B2		-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	II	-	+
282	Villefranche sur Saône	14 jours	B2		+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
283	Poissy	40 jours	B21	neg	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+

\* pour PAP G : les résultats positifs sont indiqués par II pour PAP GII positif et III pour PAP GIII positif.

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

Le laboratoire Associé a reçu 28 souches de EXPEC non méningites isolées des prélèvements suivants :

- hémocultures (n=6)
- urines (n= 5)
- prélèvements vaginaux (n= 5)
- prélèvements respiratoires (n=4)
- cathéter (n=1)
- prélèvements périphériques de nouveau-nés (n= 6)
- liquide articulaire (n=1)

Les caractéristiques de ces souches sont représentées dans le **Tableau 11**.

**Tableau 11 : Facteurs de pathogénicité des souches de *E. coli* responsables de septicémies**

S	ville	age	Clinique	gp	PCR O45	phage K1	aggl K1	ChuA	Hra	yjaA	TSPE4.C2	fyuA	Hly	sfa/foc	PAP C	Aer	PAP G	cnf1	iroN
Ex2	Meaux	1 mois	Urosepsis severe avec choc et décès	D		-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Ex10	Fort de France	17 jours	entérocolite nécrosante (décès de la jumelle)	D		NR	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Ex13	Bordeaux	NR	grossesse	A		-	-	-	-	-	-								
Ex14	Bordeaux	NR	PNA	D				+	+	-	+								
Ex15	Montfermeil	9 jours	sépticémie par translocation endogène	B21	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	+
Ex16	Montfermeil	9 jours	sépticémie par translocation endogène	B21	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	+
Ex17	Montfermeil	7 jours	IMF	B21	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	+
Ex18	Lariboisière-Paris	77 ans	cystite gangréneuse, décès	B2		-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Ex19	Chambéry	8 jours	Sepsis sévère et décès	A		+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Ex20	Chambéry	5 jours		D		+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
Ex21	Paris	9 mois	PNA	B21	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	+
Ex22	Paris	NR	sepsis	B1		-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Ex23	Paris	2 mois	arthrite	D			-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Ex24	Gonesse	7 mois	MSN																
Ex25	Clichy	NR	grossesse	A		-	-	-	-	-	-								
Ex26	Poissy	NR	sepsis	B21	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
Ex27	Poissy	NR	sepsis	B21	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
Ex28	Poissy	NR	sepsis	B21	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
Ex29	Lille	6 jours	IMF	B2		+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
Ex30	Dijon	56 ans	fasceite nécrosante	D		+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-
Ex31	Fort de France	1 an	entérocolite	B21	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	+
Ex32	Fort de France	1 an	entérocolite	B21	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	+
Ex33	Fort de France	1 an	entérocolite	D		+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Ex34	Boulogne	10 jours	Urosepsis severe	B2		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	+
Ex35	Aulnay ss bois	27 ans	grossesse	B21	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	III	+	+
Ex36	Franconville	28 ans	grossesse	B2		-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	III	+	-
Ex37	Franconville	27 ans	grossesse	A		-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+
Ex39	Paris	NR	IMF	B2		+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+

## B- Shigella

Durant l'année 2008, le CNR-ESC a reçu et étudié 955 souches envoyées comme appartenant au genre *Shigella*. Sur ces 955 souches, 844 ont été identifiées comme *Shigella*, 90 comme *E. coli* (9,4%) et 21 comme n'étant ni *E. coli*, ni *Shigella* ou n'ayant pas pu être cultivées (2,1%). Parmi les 844 souches de *Shigella*, 770 souches ont été identifiées chez 759 patients de France métropolitaine, 49 souches chez 49 patients originaires de Guyane française et 25 souches chez 25 patients vivant à l'étranger : 18 d'Espagne, 1 de Belgique, 2 du Bénin, 3 du Niger et 1 du Sénégal. De plus, **245** fiches d'informations ont été envoyées au CNR pour signaler une infection à *Shigella*. En compilant informations et souches et après élimination des doublons, un total de **1077** souches de *Shigella* a été répertorié au CNR en 2008 (dont 1002 en France métropolitaine réparties en 758 souches humaines, 3 souches isolées de fèces de singes et 241 informations sur des souches humaines).

### a- Analyses des 758 souches reçues de 756 patients de France métropolitaine en 2008

La répartition des différents sérotypes de *Shigella* est indiquée dans les **Tableaux 12 à 16**.

- **Tableau 12 : *Shigella boydii* (57 souches pour 57 patients)**

Sérotipe	Nombre de cas	Département d'isolement ( ) <sup>a</sup>	Epidémie <sup>b</sup>	Voyage, pays potentiel d'origine ( ) <sup>a</sup>
<b>1</b>	6	28, 33, 38, 75 (2), 93		Guinée, Inde
<b>2</b>	16	06, 13, 30, 31, 35 (2), 59, 67, 69 (3), 75, 81, 93, 95 (2)	Collective ( ?, 35, Sénégal)	Cap Vert, Centrafrique, Mali, Maroc, Sénégal, Turquie
<b>4</b>	11	01, 14, 22, 34, 69 (4), 73, 77, 91		Maroc, Sénégal (2), Vietnam
<b>10</b>	2	73, 75		Inde, Soudan
<b>10 man-</b>	1	01		
<b>11</b>	3	50, 71, 78		Mali
<b>14</b>	3	73, 93, 94		Madagascar
<b>18</b>	2	06, 92		Maroc, Togo
<b>19</b>	5	08, 10, 34, 75, 76		Egypte , Inde/Népal, Mali
<b>20</b>	8	13, 60, 67, 69, 72, 74, 92, 93		Afrique, Madagascar, Turquie (2)

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

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

- **Tableau 13 : *Shigella dysenteriae* (29 souches pour 29 patients)**

Sérotipe	Nombre de cas	Département d'isolement ( ) <sup>a</sup>	Epidémie <sup>b</sup>	Voyage, pays potentiel d'origine ( ) <sup>a</sup>
<b>1</b>	1	77	Familiale (2, 77, Inde)	Inde
<b>2</b>	10	50, 51, 59, 67, 69, 76, 79, 86, 93 (2)	Familiale (6, 76, Centrafrique)	Centrafrique, Egypte, Inde, Madagascar, Maroc, Togo
<b>3</b>	10	19, 26, 47, 57, 69 (2), 75(2), 80, 94		Bénin, Mali, Maghreb, Maroc
<b>4</b>	3	44, 76, 95		Haïti
<b>6</b>	1	77		Congo
<b>12</b>	1	50	Familiale ( ?, 50, Pakistan)	Pakistan
<b>97-10607</b>	3	72, 78, 92		Guinée/Sénégal

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

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

- Tableau 14 : *Shigella flexneri* (304 souches pour 304 patients\*)

Sérotype	Nombre de cas	Département d'isolement ( ) <sup>a</sup>	Epidémie <sup>b</sup>	Voyage, pays potentiel d'origine ( ) <sup>a</sup>
<b>1</b>	1	87		
<b>1a</b>	6	47, 59, 67, 75 (2), 83		Mongolie, Pérou
<b>1b</b>	43	12, 19, 21, 28, 31, 33(2), 35, 38, 57 (2), 59 (2), 64, 69 (6), 75 (5), 76 (2), 78 (2), 82, 87, 89, 91 (3), 92 (3), 93 (2), 94 (2), 95	Familiale ( ?, 76, soeurs)	Afrique, Burkina Faso, Congo (3), Côte d'Ivoire, Egypte, Guinée, Maghreb, Maroc (4), Sénégal, Togo, Tunisie
<b>1c ou 7</b>	14	14, 31, 44, 69 (2), 73, 75(5), 77 (2), 93		Inde (3), Madagascar
<b>2a</b>	75	06 (3), 13, 14, 26, 30, 31 (3), 35, 37, 44 (5), 50, 51, 57, 58, 59 (2), 60, 64, 66 (3), 67 (4), 69 (7), 70, 72 (3), 73, 74(2), 75 (8), 76 (2), 77, 78 (5), 83, 87, 88, 91 (2), 93 (6), 94, 95	Familiale (2, 44) Laboratoire (1, 72)** Familiale (2, 74, camping) Familiale (2, 74, père-fils) Familiale (2, 78, mère-fille) Familiale (4, 93, Maroc) Collective ( ?, 44, gens du voyage)	Afrique (3), Burkina Faso, Cameroun, Djibouti, Egypte (2), Ethiopie, Guinée, Haïti, Inde (4), Indonésie, Irlande, Lybie (3), Mali (2), Maroc (5), Mauritanie (2), Népal, Rép. Dominicaine, Sénégal, Yemen
<b>2b</b>	16	26, 29, 31, 43, 44, 67*, 69 (2), 75, 78, 83, 92, 93 (2), 95 (2)		Egypte, Kenya, Mali, Tunisie (2)
<b>3</b>	1	75		Congo
<b>3a</b>	61	14, 17, 25, 31 (4), 33 (3), 37, 44 (2), 47, 54, 59 (5), 60, 61, 67 (2), 69* (5), 74, 75 (13), 77, 78 (2), 79, 81, 89 (2), 92 (2), 93 (5), 94 (2), 95 (2)	Familiale (2, 31, frère-sœur) Familiale (2, 89, frères) Familiale (2, 92)	Benin, Cap Vert, Congo, Costa Rica, Guyane, Inde, Madagascar (2), Mali, Maroc, Rép. Dominicaine, Sénégal, Thaïlande
<b>3b</b>	3	28, 75, 76		Etats Unis
<b>4</b>	16	06, 12, 29, 37, 38, 45, 54, 67, 75 (2), 77, 78, 91, 92, 94, 95,	Familiale (2, 12, Tunisie)	Centrafrique, Côte d'Ivoire, Inde, Jordanie, Maroc (2), Sénégal, Tunisie
<b>4a</b>	1	91		
<b>4c</b>	6	30, 67, 69, 72, 76, 93		
<b>4 variété Saigonensis</b>	1	77		
<b>6 Boyd 88</b>	50	01, 08, 22, 25, 29, 33, 38, 40, 44 (4), 50, 51 (2), 57, 59, 66, 67 (4), 68, 69 (4), 73, 75 (4), 76, 77, 78 (2), 85, 89, 91(3), 92 (6), 93, 94, 95(2)	Familiale (2, 44, frère-sœur, Algérie) Familiale ( ?, 44) Familiale (2, 67, Maroc) Familiale ( ?, 93, Tunisie)	Afrique (4), Algérie (4), Egypte (3), Inde (2), Mali/Mauritanie, Maroc (5), Sénégal, Tunisie (5)
<b>6 Herfordshire</b>	7	03, 36, 37, 75(3), 95		Centrafrique
<b>6 Manchester</b>	1	75		Madagascar
<b>Y</b>	2	54, 59		

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

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

\*2 patients avec deux souches différentes 1 *S. flexneri* et 1 *S. sonnei*

\*\*Contamination d'une technicienne de laboratoire par une souche de patient.

- Tableau 15 : *Shigella sonnei* (362 souches pour 362 patients\*)

biotypes	Nombre de cas	Département d'isolement ( ) <sup>a</sup>	Epidémie <sup>b</sup>	Voyage, pays potentiel d'origine ( ) <sup>a</sup>
<b>a</b>	17	29, 31, 33 (2), 36, 45, 49, 52, 61, 67, 75 (3), 92, 94	Collective (festival « Boom », dpt 67, 33, 61, Espagne, Portugal)** Familiale (2, 33, voyage de noce, Bali)	Bali, Brésil (2), Espagne, Indonésie, Israël, Nouvelle Calédonie, Portugal (2), Rép. Dominicaine (3), Seychelles
<b>a (Man-)</b>	1	62		
<b>a (ODC-)</b>	1	67		Suisse
<b>a (rough)</b>	1	03		
<b>e</b>	1	69		
<b>g</b>	167	03, 04, 06 (2), 07, 08, 10, 11, 13 (2), 14, 16, 20A, 24 (2), 25, 26, 27, 28 (2), 31 (5), 33, 38 (3), 39, 42, 44 (6), 45 (4), 48, 49, 50, 52, 54 (2), 57 (2), 59 (15), 60, 61, 62 (3), 64, 67 (2), 68 (3), 69* (5), 70, 72, 73, 74 (5), 75 (23), 76, 77 (3), 78 (5), 81, 82, 84 (2), 85, 91 (4), 92 (17), 93 (8), 94 (5), 95 (8)	Familiale (? , 3, Maghreb) Familiale (2, 6) Familiale (3, 28, frères, Tunisie) Familliale (3, 44) Familiale (? , 59) Familiale (3, 69) Familiale (? , 69, Maroc) Familiale (2, 74, Cambodge) Familiale (2, 84, grand-mère à petite-fille) Familiale (? , 94, père retour Inde) Familiale (2, 95) Familiale (2, 95, frères) Collective (3 ou +, 62, école) Collective (16, 75, repas anniversaire) Collective [(4, 95) + (1, 94) communauté juive d'Ile de France***] Collective [(3, 93) communauté juive d'Ile de France****]	Afghanistan, Afrique, Algérie (7), Bolivie, Brésil, Burkina Faso, Cambodge (2), Congo, Côte d'Ivoire, Egypte (8), Guinée (2), Inde (7), Italie/Sicile, Madagascar, Maghreb, Maroc (6), Mexique, Pérou, Somalie, Tanzanie, Tunisie (3), Turquie, Zambie
<b>g (Man-)</b>	107	01 (2), 02, 03, 04, 06 (2), 11, 13, 14, 15, 16 (2), 21 (2), 22 (3), 29 (2), 31 (4), 33 (4), 34, 35 (6), 38, 41, 45 (2), 49 (2), 50, 59, 60, 67* (6), 68 (2), 69 (2), 72 (2), 73 (2), 75 (8), 76 (2), 77 (4), 78 (4), 81 (2), 83 (3), 85 (3), 86, 87, 88, 89, 91 (2), 92 (9), 93 (2), 94 (4), 95 (2)	Familiale (2, 33) Familiale (2, 35, mère à fille) Familiale (4, 50, Maroc) Familiale (? , 67, restaurant libanais) Familiale (3, 75, Maroc) Familiale (3, 76, Maroc) Familiale (2, 77) Familiale (2, 83, Maroc) Familiale (? , 88, Maroc)	Madagascar, Maroc (28), Martinique
<b>g (ODC-)</b>	1	94		
<b>g (ONPG-)</b>	66	14, 21, 22, 26, 28, 29 (2), 30, 31, 33, 35, 38, 41, 44 (3), 45 (3), 50, 51, 52, 56, 57, 59, 62, 66, 67 (2), 68 (3), 70, 71 (2), 73 (2), 75 (8), 76, 77 (2), 78 (3), 80, 83 (2), 85 (2), 86, 91, 92 (3), 93, 94, 95 (3)	Familiale (2, 68, Sénégal) Familiale (2, 75, frère à sœur) Familiale (2, 85)	Afrique (2), Algérie, Cap Vert, Ghana, Liberia, Maghreb, Sénégal (6), Tunisie (10), Vietnam

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

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

\*2 patients avec deux souches différentes 1 *S. flexneri* et 1 *S. sonnei*

\*\* Épidémie chez des personnes ayant participé au festival «Boom» au Portugal du 11 au 18 août 2008

\*\*\*Épidémie dans la communauté juive d'Ile de France (fin de l'épidémie de 2007)

\*\*\*\*Épidémie dans la communauté juive d'Ile de France (nov-déc 2008)

- Tableau 16 : *Shigella* non sérogroupables (6 souches pour 6 patients):

Sérogroupe	Nombre de cas	Département d'isolement ( ) <sup>a</sup>	Epidémie <sup>b</sup>	Voyage, pays potentiel d'origine ( ) <sup>a</sup>
<i>Non sérogroupable</i>	6	31, 38, 75 (2), 89, 91		Egypte

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

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

**b- Bilan des feuilles d'informations reçues au CNR-IP (245 fiches pour 245 patients)**

Ces feuilles d'informations ont été établies pour répertorier les cas de *S. sonnei* au niveau de la France métropolitaine. Sur ces feuilles d'informations deux cas permettent de noter le caractère ONPG et Rhamnose de la souche, ce qui permet de définir le biotype. Le **Tableau 17** présente les résultats obtenus à partir de ces fiches pour 241 patients sur les 245 (pour 4 patients, les souches ont été envoyées en parallèle par un autre laboratoire et ont été comptabilisées dans le **Tableau 15**).

- **Tableau 17 : Résultats des feuilles d'information *Shigella* (241 souches/241 patients)**

Sérogroupe	Sérovar	Nombre de cas	Département d'isolement ( ) <sup>a</sup>	Epidémie <sup>b</sup>	Voyage, pays potentiel d'origine ( ) <sup>a</sup>
<i>boydii</i>	non précisé	1	60		
<i>flexneri</i>	non précisé	4	54, 74, 75, 91	Familiale (2, 74, père-fils, Lybie)=> 1 souche envoyé = <i>S. flexneri</i> 2a	Libye, Tunisie
<i>sonnei</i>	g	55	02, 06, 14, 17, 22, 25 (2), 31, 37, 38, 40(2), 42, 45, 50, 51, 56, 57, 59 (10), 66, 69 (5), 71, 74 (2), 75 (3), 77, 79 (2), 81, 84 (3), 86, 91, 92 (3), 93, 94 (2)	Familiale (2, 40, Egypte) Familiale (2, 59, cousine de retour du Maroc) Familiale (2, 59, père-fils, Egypte) Familiale (? , 91) Collective (4, 75, Inde)	Algérie, Benin, Birmanie, Burkina Faso, Egypte (6), Inde (3), Madagascar, Maroc (8), Niger, Togo
<i>sonnei</i>	g (ONPG - )	8	01, 25, 39, 64, 69, 74, 75, 76		Sénégal (2), Tunisie
<i>sonnei</i>	non précisé	173	02 (2), 06 (5), 09, 12, 14 (5), 17 (2), 18, 21, 22, 25, 31 (6), 32, 33 (4), 35 (4), 37, 39 (3), 40 (2), 42 (3), 43, 44 (4), 45 (3), 46, 47, 50, 54 (5), 56 (5), 57 (5), 58, 59 (10), 60, 62 (3), 63 (6), 66, 67 (9), 68, 69 (2), 74 (3), 75 (12), 76 (2), 77 (5), 78 (4), 79, 81, 84, 85 (2), 86, 87, 88, 90, 91 (6), 92 (8), 93 (7), 94 (3), 95 (10)	Familiale (2, 14, mère-fille) Familiale (2, 33, père-fille) Familiale (2, 42, frères) Familiale (2, 44, Maroc) Familiale (2, 59, frères) Familiale (2, 59) Familiale (2,63) Familiale (3, 74, Madagascar) Familiale (3, 74) Familiale (2, 77, mari-femme) Familiale (2, 86, sœurs) Familiale (? , 87) Familiale (2, 91, sœurs) Familiale (2, 92, frère-sœur) Collective (? , 62, ecole ?) Collective (? , 33, Portugal)*	Afrique, Algérie (2), Burkina Faso (2), Cameroun, Egypte (3), Espagne, Guinée, Inde (7), Kenya, Madagascar (3), Maghreb (2), Mali, Maroc (18), Mauritanie, Portugal, Sénégal (4), Tanzanie, Thaïlande, Tunisie (5)

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

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

\* potentiellement lié à l'épidémie chez des personnes ayant participé au festival "Boom" qui a eu lieu au Portugal du 11 au 18 août 2008

**c- Souches reçues des DOM-TOM (49 souches pour 49 patients de Guyane) et de l'étranger (25 souches pour 25 patients)**

- Tableau 18: Répartition des souches reçues d'outre mer et de l'étranger

Sérogroupe	Sérovar ou biotype pour <i>S. sonnei</i>	Guyane française	Belgique	Benin	Espagne	Niger	Sénégal
<i>S. boydii</i>	2				2		
<i>S. boydii</i>	4				2		
<i>S. boydii</i>	19					1	
<i>S. dysenteriae</i>	2				1		
<i>S. dysenteriae</i>	3						1
<i>S. dysenteriae</i>	97-10607				1		
<i>S. dysenteriae</i>	BEDP 02-5104 ou Sh111		1				
<i>S. flexneri</i>	1b	4				1	
<i>S. flexneri</i>	2a	22		1	2		
<i>S. flexneri</i>	3a	10					
<i>S. flexneri</i>	3b	2			1		
<i>S. flexneri</i>	4					1	
<i>S. flexneri</i>	4 saïgonensis				1		
<i>S. flexneri</i>	4c			1			
<i>S. sonnei</i>	a				1		
<i>S. sonnei</i>	g	10			4		
<i>S. sonnei</i>	g ONPG -	1					
<i>S. sonnei</i>	g Man -				1		
<i>Shigella sp.</i>	rough Man - (dys?)				2		

**d- Shigella d'origine non humaine (3 souches)**

Trois souches non-humaines de *Shigella* isolées de fèces de singe ont été étudiées (Tableau 19).

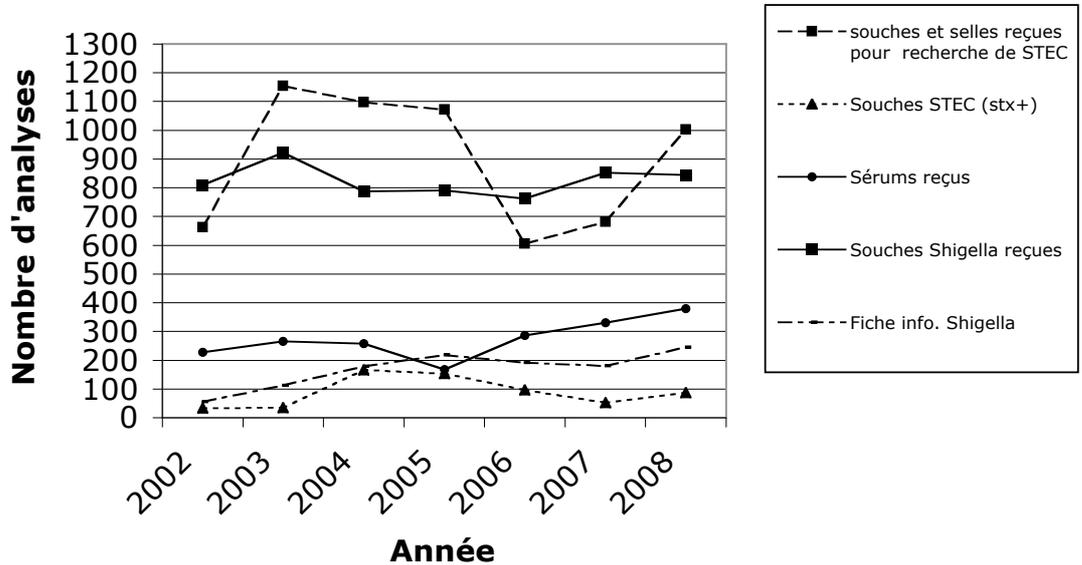
- Tableau 19 : Analyse des souches de *Shigella* d'origine non humaine

Sérogroupe	Sérovar	aliment ou réactif	Nombre de souche	Département du laboratoire	Département d'origine
<i>S. flexneri</i>	6 boyd 88	Fèces de macaque	1	1	69
<i>S. flexneri</i>	2a	Fèces de macaque	1	1	69
<i>S. flexneri</i>	y	Fèces de macaque	1	1	69

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

Une analyse de l'activité du CNR depuis 2002 dans les différents domaines d'expertise est représentée dans la **Figure 1**.

**Figure 1 : Courbe d'analyse de tendance de l'activité du CNR depuis 2002 :**



L'activité du CNR-ESC a été augmentée de 16,2% en 2008 par rapport à 2007, alors qu'aucune épidémie majeure n'est survenue. Au cours de cette même période, une augmentation des déclarations de *Shigella* sous forme de feuille d'information a été également observée (+24,4% en 2008 par rapport à 2007)

## 3. Activités de Surveillance

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

#### A- Réseau partenaire

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

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

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

### - Distribution des souches d'*E. coli* :

**Tableau 20: Répartition par âge, sexe et sérotype des patients chez lesquels a été isolée une souche sérotypable par agglutination :**

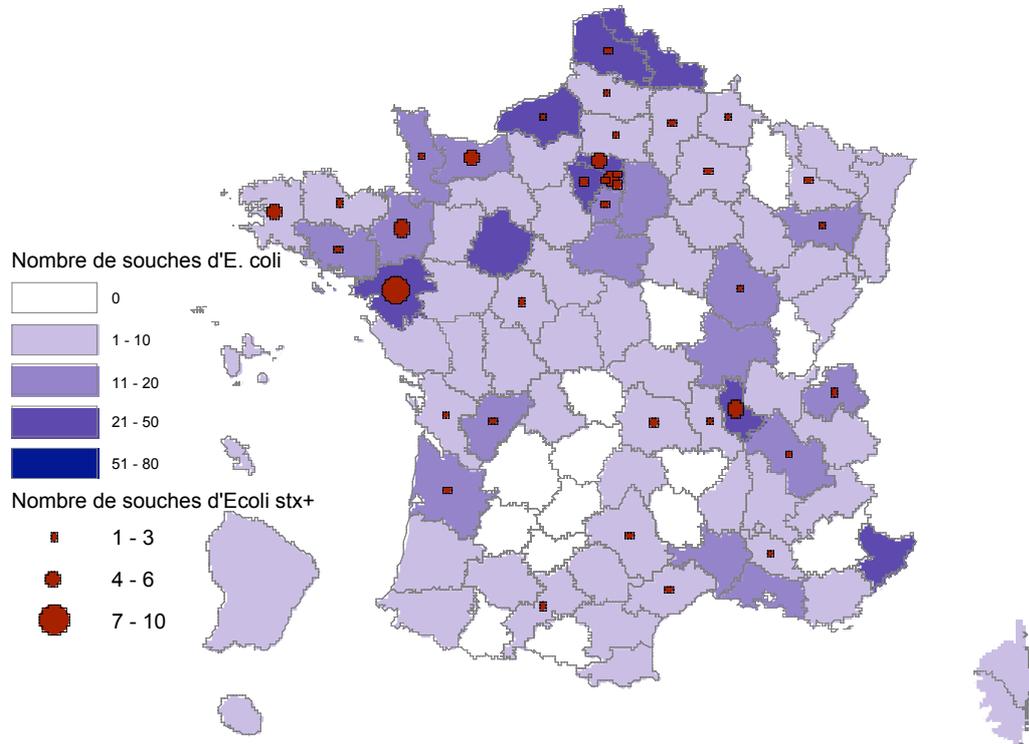
	< 1 an			1-5 ans			6-14 ans		15-64 ans		> 65 ans		NR	Total
	M	F	NR	M	F	NR	M	F	M	F	M	F		
O25				1										1
O26	2	1		21	13		1		1		1			40
O44												1		1
O55	3			11	11									25
O78									1			2		3
O86		1		4	4			1	1			1		12
O91	1													1
O103					1				1		3			5
O111		2		4	5					1				12
O114					1	1								2
O118		1												1
O119				1										1
O124									1					1
O125				1		1			1				1	4
O126				2	1									3
O127				4	4	1								9
O128	3	1		8	10					2				24
O142										1				1
O145					1							1		2
O157				11	24	8	6	9	3	4	1	2	1	69
O158			1											1
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>68</b>	<b>75</b>	<b>11</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	<b>218</b>

**Tableau 21 : Répartition par âge et sexe des 948 patients chez lesquels a été effectuée une recherche d'*E. coli* EHEC ( selle ou souche):**

Patients	F	M	NR	Total
< 1 an	41	42	1	84
1-5 ans	169	200	13	382
6-14 ans	48	49	2	99
15-64 ans	138	107	2	247
>65 ans	71	46	1	118
NR	8	4	6	18
<b>Total</b>	<b>475</b>	<b>448</b>	<b>25</b>	<b>948</b>

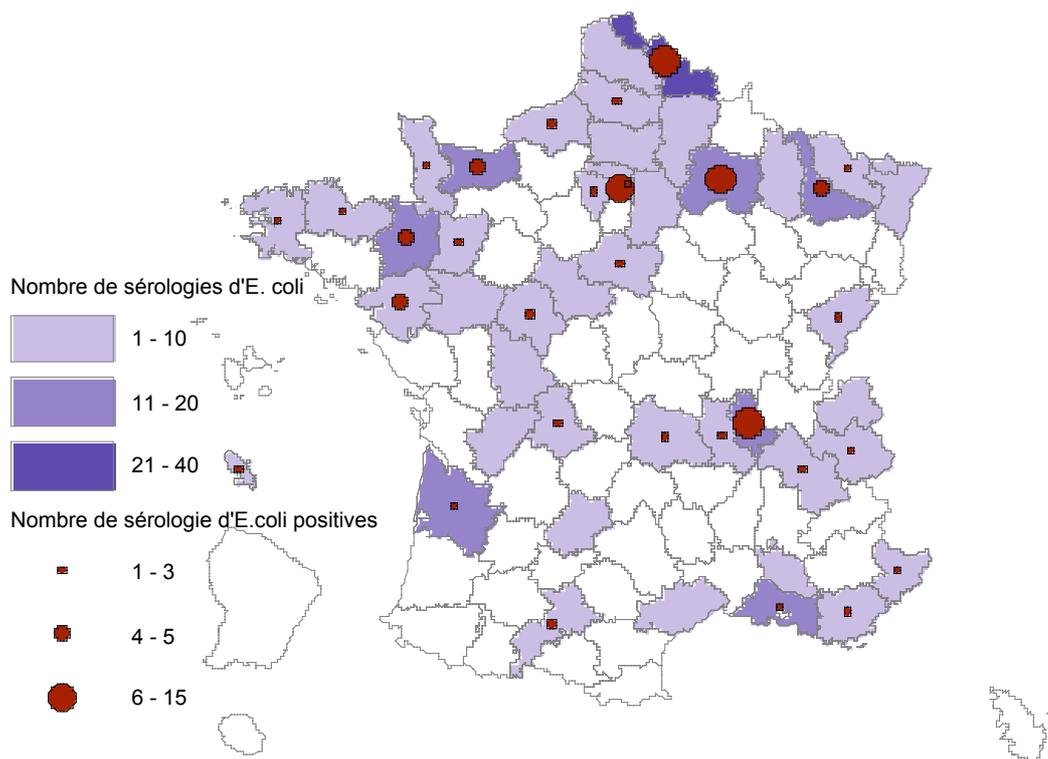
M= Masculin, F= Féminin, NR = non renseigné

**Figure 2 : Répartition par département du nombre de souches et prélèvements reçus pour sérotypage et/ou caractérisation des gènes de virulence d'*E. coli* (un par patient), et du nombre de souches et prélèvements contenant un STEC (*stx+*) en 2008**



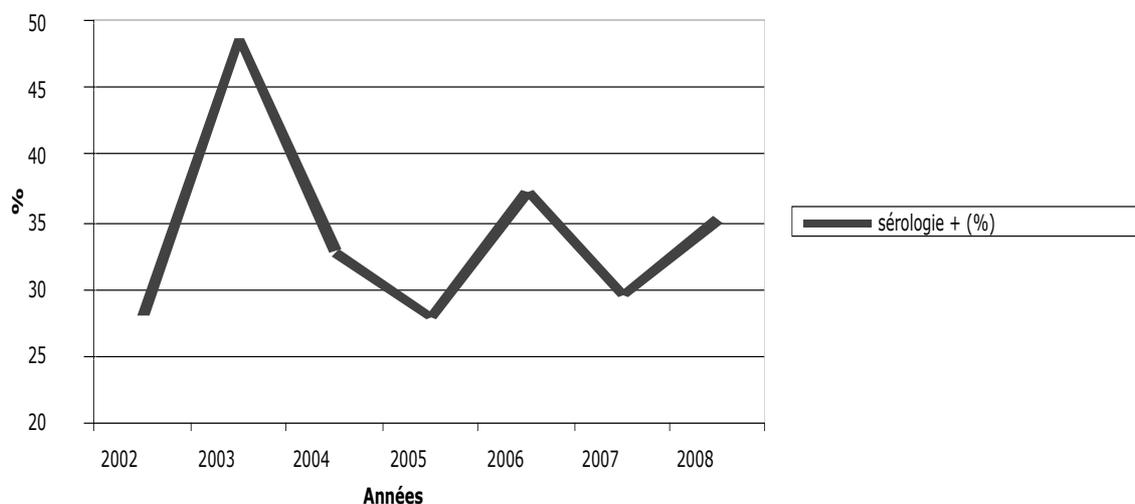
**- Répartition des analyses sérologiques :**

**Figure 3 : Répartition par département du nombre de sérologie *E. coli* reçues et du nombre de sérologie positive en 2008**



Répartition des résultats de sérologie par âge et sexe pour les 250 patients (cf. tableau 8 paragraphe 2-2-A-f)

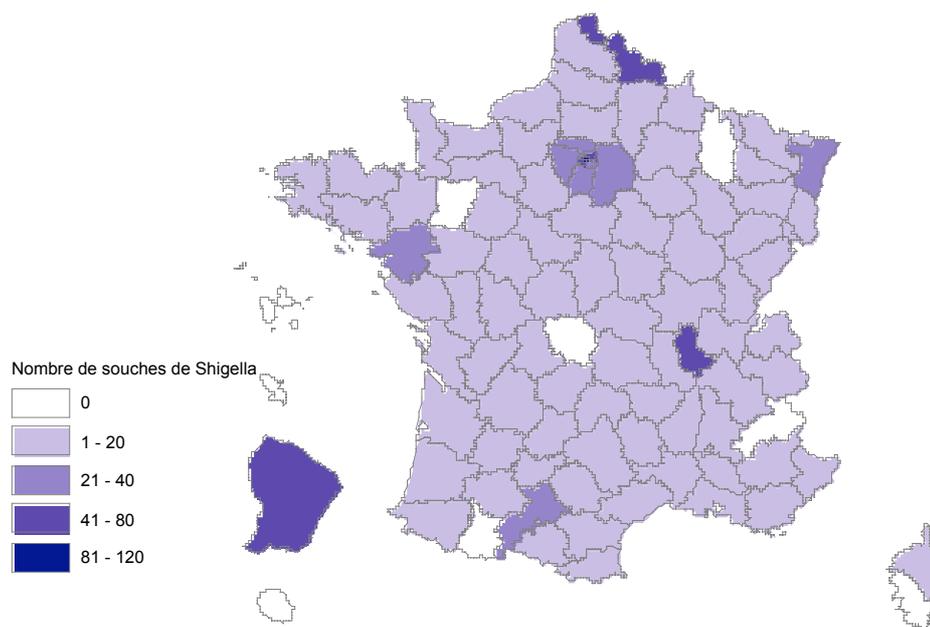
Figure 4 : Évolution des résultats de sérologies depuis 2002



### - Distribution des souches de *Shigella* :

Des souches de *Shigella* ou des fiches d'information ont été adressées par 90 départements de France métropolitaine et 2 DOM. Le détail des laboratoires est disponible en **annexe 3** et le détail de la répartition par département selon les sérotypes est disponible dans les **tableaux 12 à 18**. Seuls 5 départements (05, 23, 53, 55, et 65), n'ont pas envoyé de souches ou de feuilles d'information.

Figure 5 : Répartition par département du nombre de souches de *Shigella* et d'information sur les *Shigella* reçues en 2008



**Tableau 22 : Distribution des différents sérotypes de *Shigella* isolées en France métropolitaine chez l'homme par âge et par sexe (souches reçues + fiches d'info)**

	< 1 an		1-5 ans			6-14 ans			15-64 ans			> 65 ans			NR			Total
	M	F	M	F	NR	M	F	NR	M	F	NR	M	F	NR	M	F	NR	
<i>S. boydii</i> 1						1				4					1			6
<i>S. boydii</i> 2			1	2		1	1		2	7	1		1					16
<i>S. boydii</i> 4	1					1			1	6		2						11
<i>S. boydii</i> 10									2						1			3
<i>S. boydii</i> 11									1	2								3
<i>S. boydii</i> 14							1		1	1								3
<i>S. boydii</i> 18				1					1									2
<i>S. boydii</i> 19			1			1			2						1			5
<i>S. boydii</i> 20						1			3	4								8
<i>S. boydii</i> info													1					1
<b>Total <i>S. boydii</i></b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>13</b>	<b>24</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>2</b>		<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>58</b>
<i>S. dysenteriae</i> 1									1									1
<i>S. dysenteriae</i> 2						1			2	5			2					10
<i>S. dysenteriae</i> 3			1						2	7								10
<i>S. dysenteriae</i> 4									1	1			1					3
<i>S. dysenteriae</i> 6									1									1
<i>S. dysenteriae</i> 12				1														1
<i>S. dysenteriae</i> 97-10607									1	1						1		3
<b>Total <i>S. dysenteriae</i></b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>8</b>	<b>14</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>		<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>29</b>
<i>S. sonnei</i> a						1	1		5	11								18
<i>S. sonnei</i> a (Man-)									1									1
<i>S. sonnei</i> a (ODC-)									1									1
<i>S. sonnei</i> e										1								1
<i>S. sonnei</i> g			25	18	4	22	19	2	44	82			3	1	2			222
<i>S. sonnei</i> g (Man-)			8	7			7		32	50		1	2			1		108
<i>S. sonnei</i> g (ODC-)			1															1
<i>S. sonnei</i> g (ONPG-)			2	6	1	6	7		16	32	1	1	2					74
<i>S. sonnei</i> info		1	16	19	3	18	13		42	55		5	1					173
<b>Total <i>S. sonnei</i></b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>52</b>	<b>50</b>	<b>8</b>	<b>47</b>	<b>47</b>	<b>2</b>	<b>141</b>	<b>231</b>	<b>1</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>599</b>
<i>S. flexneri</i> 1			3	6		4	5		12	17	1		2					50
<i>S. flexneri</i> 2	1		9	10	1	6	8		22	30	1	1	2					91
<i>S. flexneri</i> 3			6	1		4	3	1	36	10		2	1		1			65
<i>S. flexneri</i> 4			3	2			1		7	8		1	2					24
<i>S. flexneri</i> 6			2	3		4	4		18	17	1	3	2	1	2	1		58
<i>S. flexneri</i> 1c ou 7			1						9	4								14
<i>S. flexneri</i> Y						1				1								2
<i>S. flexneri</i> info				2					2									4
<b>Total <i>S. flexneri</i></b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>24</b>	<b>24</b>	<b>1</b>	<b>19</b>	<b>21</b>	<b>1</b>	<b>106</b>	<b>87</b>	<b>3</b>	<b>7</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>308</b>
<i>S non sérogroupable</i>												1	2	1			1	5
<b>Total <i>Shigella</i></b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>79</b>	<b>78</b>	<b>9</b>	<b>72</b>	<b>70</b>	<b>3</b>	<b>268</b>	<b>356</b>	<b>5</b>	<b>17</b>	<b>24</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>999</b>

**Tableau 23: Distribution des 356 souches de *Shigella* signalées comme importées en France au retour d'un séjour à l'étranger**

	<b>AFRIQUE</b>	<b>AMÉRIQUE</b>	<b>OCÉANIE</b>	<b>ASIE</b>	<b>EUROPE</b>	<b>Total</b>
<i>S. boydii</i> 1	1			1		2
<i>S. boydii</i> 2	5			1		6
<i>S. boydii</i> 4	3			1		4
<i>S. boydii</i> 10	1			1		2
<i>S. boydii</i> 11	1					1
<i>S. boydii</i> 14	2					2
<i>S. boydii</i> 19	2			1		3
<i>S. boydii</i> 20	2			2		4
<b>Total <i>S. boydii</i></b>	<b>17</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>0</b>	<b>24</b>
<i>S. dysenteriae</i> 1				1		1
<i>S. dysenteriae</i> 2	6			1		7
<i>S. dysenteriae</i> 3	4					4
<i>S. dysenteriae</i> 4		1				1
<i>S. dysenteriae</i> 6	1					1
<i>S. dysenteriae</i> 12				1		1
<i>S. dysenteriae</i> 97-10607	1					1
<b>Total <i>S. dysenteriae</i></b>	<b>12</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>16</b>
<i>S. sonnei</i> a	1	5	1	3	3	13
<i>S. sonnei</i> a (ODC-)					1	1
<i>S. sonnei</i> g	56	4		15	1	76
<i>S. sonnei</i> g (Man-)	29	1				30
<i>S. sonnei</i> g (ONPG-)	26			1		27
<i>S. sonnei</i> info	46			8	2	56
<b>Total <i>S. sonnei</i></b>	<b>158</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>27</b>	<b>7</b>	<b>203</b>
<i>S. flexneri</i> 1	16	1		1		18
<i>S. flexneri</i> 2	26	2		7	1	36
<i>S. flexneri</i> 3	9	4		2		15
<i>S. flexneri</i> 4	6			2		8
<i>S. flexneri</i> 6	25			2		27
<i>S. flexneri</i> 1c ou 7	1			3	2	6
<i>S. flexneri</i> info	2					2
<b>Total <i>S. flexneri</i></b>	<b>85</b>	<b>7</b>	<b>0</b>	<b>17</b>	<b>3</b>	<b>518</b>
<i>S. nst</i>	1					1
<b>Total <i>Shigella</i></b>	<b>273</b>	<b>18</b>	<b>1</b>	<b>54</b>	<b>10</b>	<b>356</b>

Figure 6 : Distribution des sérotypes de *Shigella* reçues au CNR-IP depuis 2002 :

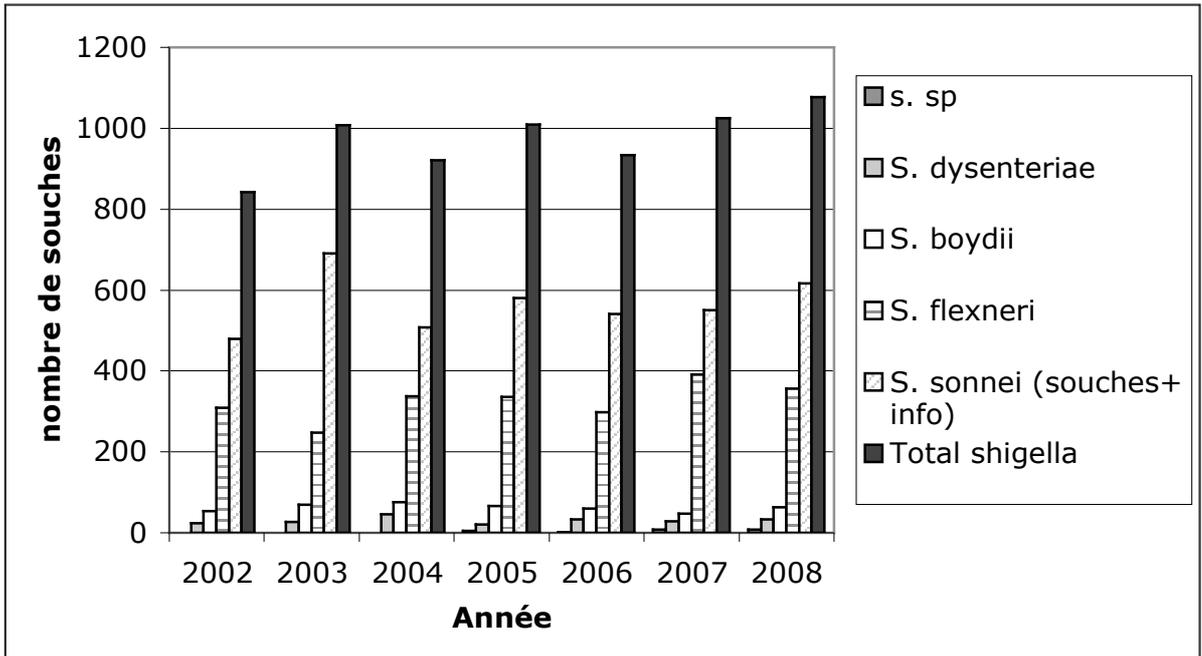
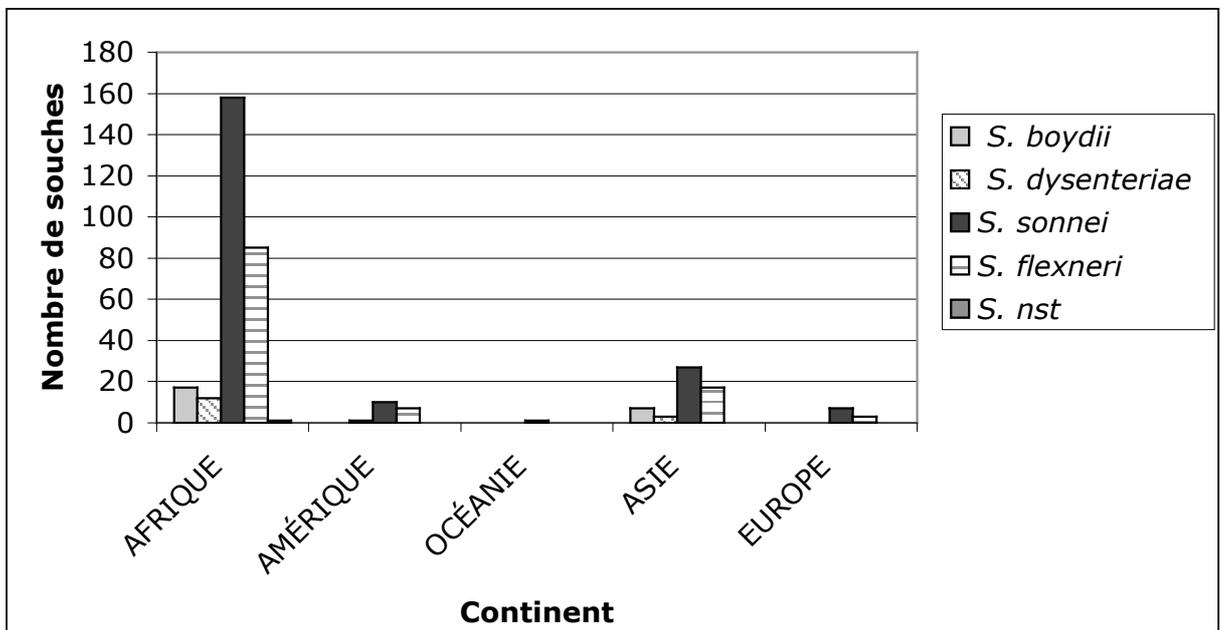


Figure 7 : Distribution des 287 souches de *Shigella* contractées à l'étranger en 2007 (selon le continent d'origine)



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

Une fiche de renseignements spécifique au CNR-ESC doit accompagner chaque souche ou prélèvement reçu au CNR (**Annexe 1**). Dans cette fiche, il doit être indiqué: le nom et l'adresse du laboratoire expéditeur, la demande d'examen, les renseignements sur le patient, les symptômes cliniques, le prélèvement et des renseignements épidémiologiques permettant de mettre en évidence les épidémies potentielles et leurs origines. Ces fiches et les résultats obtenus permettent l'interface avec l'InVS à différents niveaux :

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

- En ce qui concerne la surveillance des *E. coli* STEC, toutes souches ou selles porteuses de gènes *stx* sont immédiatement signalées à l'InVS par l'envoi d'une copie du résultat par FAX.

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

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

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

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

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

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

- Collaboration avec d'autres équipes de l'Institut Pasteur de Paris :

- o Avec Yves Germani de l'Unité de Pathogénie Moléculaire Microbienne du Pr Philippe Sansonetti, pour un projet avec des Instituts du réseau de l'IP portant sur le « diagnostic d'urgence des diarrhées sanglantes ». Ce projet est un Programme Transversal de Recherche (PTR179) qui regroupe différentes unités de l'IP (PF5, l'Unité Biologie Cellulaire des Parasites, le Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques (à laquelle appartient le CNR), l'Unité Epidémiologie des Maladies Emergentes, l'Unité Pathogénie Microbienne Moléculaire) et Instituts du réseau de l'IP (Dakar, Bangui, Cantacuzène, Madagascar). Ce projet a donné lieu à un projet ACIP de « diagnostic d'urgence de la dysenterie et des diarrhées hémorragiques ».

- o Avec la plateforme Génomique des Pathogènes et Santé Publique PF8, pour le séquençage dans le cadre du sérotypage moléculaire et de plusieurs projets de recherche

## E- Collaboration avec des partenaires internationaux

- **Réseau des Instituts Pasteur : un projet ACIP *Shigella*** «Epidémiologie moléculaire de la multirésistance aux antibiotiques chez *S. flexneri* en Afrique et en Asie» a débuté en 2007 sous la direction du Dr Antoinette Ngandjio du Centre Pasteur du Cameroun. L'objectif de ce projet est d'étudier les caractéristiques génétiques des souches de *S. flexneri* penta résistantes isolées en 2004-2005 dans trois pays africains (Cameroun, République centrafricaine, Sénégal) et un pays asiatique (Vietnam) et en Guyane française. Après confirmation du phénotype ACSSuTe, les gènes de résistance correspondants seront recherchés et leur localisation déterminée (plasmidique ou chromosomique). La diversité génétique des souches sera déterminée par PFGE.

Ce projet permettra de connaître les gènes impliqués dans la multirésistance chez *S. flexneri*, de même que la diversité clonale des souches. Il permettra aussi d'améliorer les compétences des sites collaborateurs en matière d'étude des mécanismes génétiques de la résistance aux antibiotiques.

- **Collaboration avec le Pr Gordon Dougan du Wellcome Trust Sanger Institute à Cambridge (RU) et le Dr Jun Yu de l'Université de Strathclyde à Glasgow (RU).** Ce projet vise à étudier la structure de la population des *S. sonnei* en utilisant des techniques de "Multi Locus Sequence Typing" (MLST) et des PCR ciblant des régions d'évolution rapide (surtout phagiques). Dans ce cadre le CNR est chargé de constituer une collection de souches bien caractérisées et avec la plus grande biodiversité.

- **Collaboration avec le Dr Chien-Shun Chiou du CDC de Taichung, Taiwan.** Un article taiwanais (Liang SY et al. Multilocus variable-number tandem-repeat analysis for molecular typing of *Shigella sonnei*. J Clin Microbiol. 2007) présentait une nouvelle technique, le multilocus variable-number tandem-repeat (VNTR) analysis (MLVA) qui serait susceptible d'être plus discriminante et plus simple à réaliser que le PFGE pour *S. sonnei*. Une collaboration a été engagée avec le CDC de Taiwan pour la validation de la méthode sur des souches de notre collection dans le but de sa mise en oeuvre au CNR-IP.

- **Collaboration avec le Dr Kaisar Ali Talukder, de l'ICDDR, Dhaka, Bangladesh et le Dr Nancy Strockbine du CDC, Atlanta, USA.** Pour l'étude et la description de souches de *Shigella* présentant de nouveaux sérotypes non reconnus par les sérums utilisés en agglutination classique.

## 3-2 Surveillance de la résistance aux anti-infectieux

### A- Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches STEC (RD)

Bien que l'utilisation des antibiotiques soit controversée dans les infections à STEC, l'étude de la sensibilité des souches présente un intérêt épidémiologique. Le laboratoire associé a étudié la sensibilité des souches isolées en 2008, vis-à-vis des antibiotiques suivants :

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

Les résultats sont exprimés en pourcentage de résistance (**Tableau 24**)

**Tableau 24: Prévalence de la Résistance des souches aux antibiotiques (%)**

	AMX	CFM	ROC	SXT	CIP
<b>Sérotype O157 H7 (n=27)</b>	0	0	0	0	0
<b>Sérotypes non-O157 (n=14)</b>	25	0	0	13	0

En raison des fortes concentrations intraluminales de l'azithromycine, les CMI de l'azithromycine ont été déterminées vis à vis des souches isolées en 2008 par la méthode du E-test (**Tableau 25**).

**Tableau 25 : CMI des souches STEC à l'azithromycine**

Azithromycine	CMI <sub>50</sub> (mg/l)	CMI <sub>90</sub> (mg/l)	Range (mg/l)
<b>Sérotype O157 H7 (n=27)</b>	6	8	3 - 16
<b>Sérotypes non-O157 (n=14)</b>	8	24	6 - >256

### **B- Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *E. coli* responsables de pathologies extra-intestinales (RD)**

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

Les souches isolées de patients atteintes de méningites (n=8) sont sensibles à tous les antibiotiques testés.

Pour les souches isolées d'autres pathologies (n=28), la prévalence de la résistance aux antibiotiques testés est détaillée dans le **tableau 26**.

**Tableau 26 : prévalence de la résistance des souches EXPEC non méningites**

	AMX	CFM	CTX	Nal	CIP	SXT	G
%R	40	0	0	3,7	3,7	12	3,7

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

#### **a- Surveillance globale**

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

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

Un antibiogramme a été réalisé en 2008 sur toutes les souches de *Shigella* reçues au CNR-IP (à l'exception d'une souche non subcultivable). Les résultats de la résistance aux principaux antibiotiques des 758 souches humaines isolées en France métropolitaine sont présentés dans le **Tableau 27**.

**Tableau 27 : Pourcentage de souches de *Shigella* résistantes aux antibiotiques.**

	nombre de souches:	AMX	CRO	CAZ	K	GM	NA	CIP	C	TE	SSS	TMP	SXT	AMX + SXT
<i>S. boydii</i>	57	22,8	1,8	1,8	0,0	0,0	17,5	1,8	5,3	<b>66,7</b>	<b>71,9</b>	<b>64,9</b>	<b>56,1</b>	21,1
<i>S. dysenteriae</i>	29	<b>51,7</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	3,4	3,4	51,7	<b>89,7</b>	<b>69,0</b>	<b>69,0</b>	<b>69,0</b>	34,5
<i>S. flexneri</i>	303*	<b>55,1</b>	0,0	0,0	0,0	2,6	7,3	4,0	51,8	<b>68,0</b>	<b>52,5</b>	<b>54,1</b>	46,9	31,7
<i>S. sonnei</i>	363	11,3	0,8	0,8	0,0	0,3	7,7	0,6	1,9	<b>68,3</b>	<b>73,3</b>	<b>95,0</b>	<b>86,2</b>	8,8
<i>S. nst</i>	6	33,3	0,0	0,0	0,0	0,0	16,7	0,0	16,7	<b>50,0</b>	33,3	33,3	33,3	16,7
<b>S. Total</b>	758	31,4	0,5	0,5	0,0	1,2	8,2	2,1	24,1	<b>68,7</b>	<b>64,4</b>	<b>74,9</b>	<b>67,2</b>	19,9

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

Pour ce calcul ont été considérées comme résistantes, les souches résistantes et intermédiaires. Sont présentés en gras les résultats avec plus de 50% des souches résistantes.

Pour les souches résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G), un autre antibiogramme complémentaire a été effectué ainsi que la recherche par PCR des gènes codant pour des bêta lactamases. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 28**.

**Tableau 28 : Caractéristiques des 4 souches résistante au C3G :**

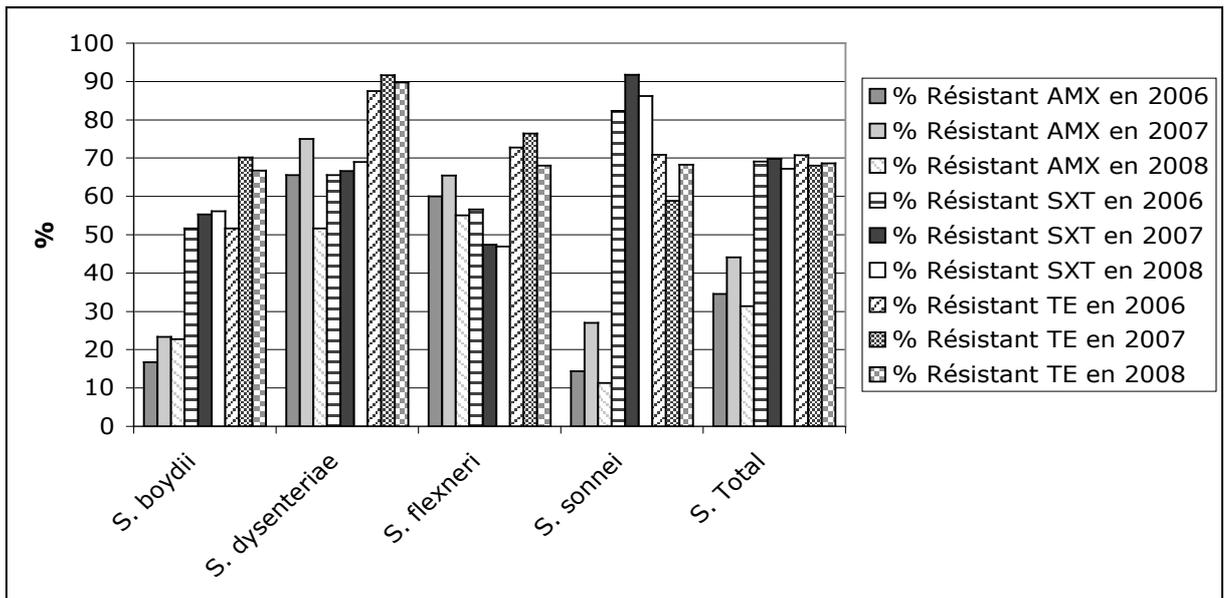
Numéro	#08 8848	#08 7227	#08 7891	#08 7785	
Espèce	<i>S. boydii</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>S. sonnei</i>	
Bio/Séro	20	g	g	a ODC-	
Sexe	F	F	M	M	
Age	15 à 64 ans	15 à 64 ans	1 à 5 ans	15 à 64 ans	
Département	60	57	59	67	
Voyage	Turquie	non	non	Suisse	
Résistances associées	ASNaITeTmPSxt	ASNaITeSuITmPSxt	ASTeSuITmPSxt	A	
CMI (µg/ml)	CAZ	24	96	16	
	CRO	64	>256	>256	
	CIP	0,125	0,19	nd	nd
	AZM	2	12	24	8
β-lactamases typées par PCR	CTX-M	TEM, CTX-M	TEM, CTX-M	CTX-M	

Nd= non déterminé, F= Féminin, M= Masculin

Les 4 souches résistantes au C3G étaient sensibles à l'imipénème.

La surveillance de la résistance à l'amoxicilline, au cotrimoxazole et aux tétracyclines chez les différents sérogroupes de *Shigella* entre 2006 et 2008 est caractérisée par une diminution de la résistance à l'amoxicilline, particulièrement chez *S. sonnei* (**Figure 8**). Le pourcentage élevé de *S. sonnei* résistante à l'amoxicilline en 2007 était lié à l'épidémie dans la communauté juive d'Ile de France.

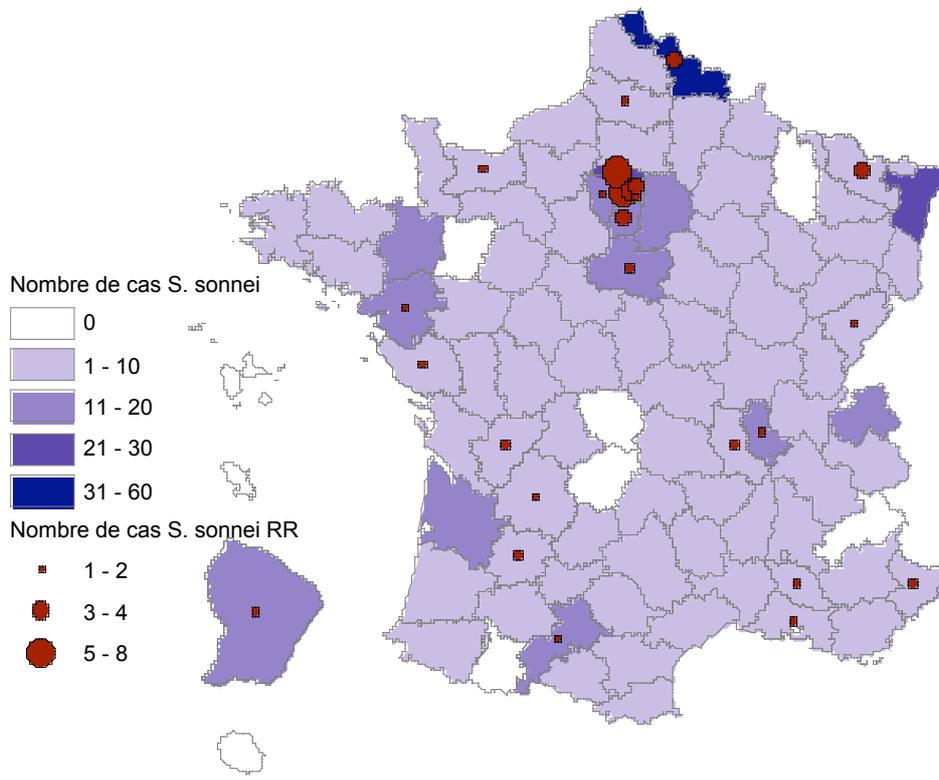
**Figure 8 : Evolution de la résistance à l'amoxicilline (AMX), au cotrimoxazole (SXT) et aux tétracyclines (TE) chez les différents sérogroupes de *Shigella* entre 2006 et 2008.**



### **b- Surveillance de *S. sonnei***

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

**Figure 9: Répartition des souches de *S. sonnei* en France avec mise en évidence des souches résistantes à l'amoxicilline et au cotrimoxazole (souches RR).**

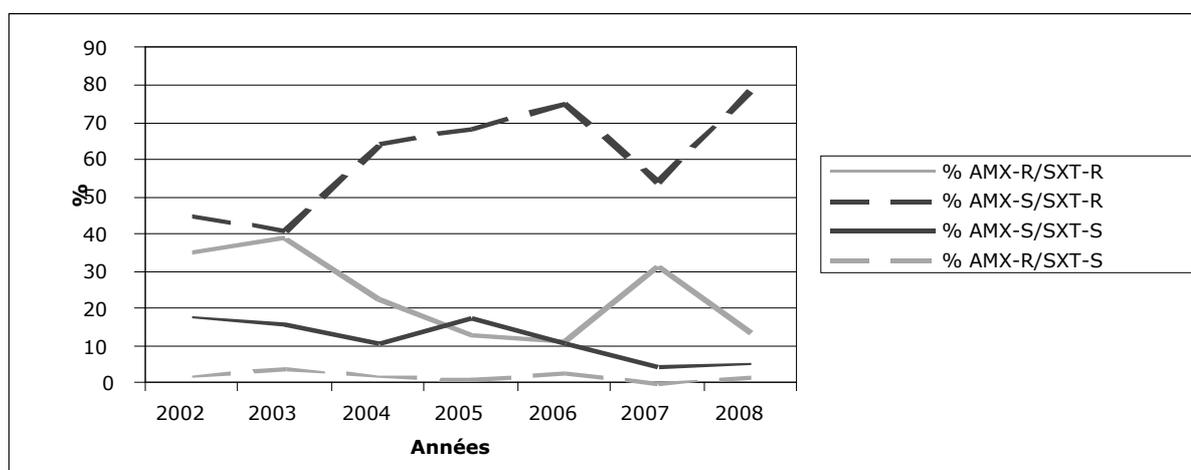


**Tableau 29 : Bilan des tendances de résistance à l'amoxicilline (AMX) et au cotrimoxazole (SXT) chez *S. sonnei* biotype g**

	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
<b>nombre de souches testées</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>228</b>	<b>298</b>	<b>265</b>	<b>167</b>
<b>% AMX-R/SXT-R</b>	35	39	23	13,2	11,4	31,7	13,8
<b>% AMX-S/SXT-R</b>	45	41	64	68,4	75,2	54	79
<b>% AMX-S/SXT-S</b>	18	16	11	17,5	10,7	4,5	5,39
<b>% AMX-R/SXT-S</b>	2	4	2	0,9	2,7	0	1,8

R= résistant, S= sensible

**Figure 10 : Analyse des tendances de résistance à l'amoxicilline (AMX) et au cotrimoxazole (SXT) chez *S. sonnei* biotype g**



R= résistant, S= sensible

Une augmentation du nombre des souches résistantes simultanément à l'amoxicilline et au cotrimoxazole (AMX<sup>R</sup>-SXT<sup>R</sup>) (en gris plein) a été notée en 2002, 2003 et 2007 (périodes épidémiques dans la communauté juive d'Ile de France).

L'épidémie de 2007 s'est poursuivie jusqu'à fin janvier 2008 avec mise en évidence au CNR de 4 souches dans le département 95 et une dans le 94. Une autre épidémie dans la même communauté s'est déclarée dans le département 93 fin novembre, cette épidémie présentait les mêmes caractéristiques de résistance (AMX<sup>R</sup>-SXT<sup>R</sup>), seules 3 souches ont été reçues au CNR entre novembre et décembre 2008 dans le cadre de cette épidémie.

Lors du premier pic épidémique début 2007 une résistance à l'azithromycine (AZM) avait été mise en évidence avec une CMI  $\geq 256$   $\mu\text{g/ml}$ . La résistance à l'AZM des bactéries gram-, dont les *Shigella*, est mal connue et seules des normes pour la définition de la sensibilité ou de la résistance à l'AZM des bactéries gram + existent et sont décrites par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (<http://www.sfm.asso.fr>, CASFM 2007) : Disque 15  $\mu\text{g}$ : S si  $\geq 22$  mm, R si  $< 17$ mm, CMI en milieu liquide: S  $\leq 0,5$   $\mu\text{g/ml}$ , R  $> 4$   $\mu\text{g/ml}$ . En 1999, la sensibilité naturelle des *Shigella* est observée avec des CMI de 1 à 32  $\mu\text{g/ml}$  (Stock I et al. Diagn. Microbiol Infect Dis. 1999)

L'interprétation de la sensibilité à AZM est délicate ; en effet, avec *S. sonnei* un phénomène de zone avec la présence de 2 zones visibles de sensibilité différente (Sanjeey K et al. Ped Infect Dis Journal. 2005). La zone correspondant à la plus grande résistance a été retenue.

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

Dans ce cadre toutes les *S. sonnei* g AMX<sup>R</sup>-SXT<sup>R</sup> reçues en 2008 au CNR ont été testées et les valeurs de diamètre étaient comprises entre 14 et 27 mm et celles des CMI comprises entre 6 et 32 µg/ml. **Aucune résistance à l'AZM comparable à celle de début 2007 (CMI ≥ 256µg/ml) n'a été observée en 2008.**

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

#### **A- *E. coli* :**

##### **a- Alerte aux steaks hachés contaminés par *E. coli* O157**

En mars 2008, la découverte de viande avariée contaminée par *E. coli* O157 : H7 a été largement médiatisée par des rappels de lots de steaks hachés.

En fait, le 19/03/08, Mme Vernozy du laboratoire de référence des *E. coli* alimentaire et vétérinaire de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon (ENV), a confirmé la présence d'*E. coli* O157 : H7 dans un prélèvement provenant d'un autocontrôle de l'établissement de fabrication. La Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) et l'InVS ont été informés le 20-21/03/08 et la DGAL a demandé le 21 mars un retrait par affichette des produits de 2 enseignes de grande distribution (20 départements concernés). Les 4 prélèvements analysés à l'ENV étaient tous contaminés par des *E. coli* O157 : H7 pathogènes (*eae+*, *stx1+*, *stx2+*)

Au cours de la période du 15 mars au 15 avril, 8 souches STEC ont été mises en évidence au CNR, dont trois *E. coli* O157 dans des départements non concernés (29, 38 et 88) et possédant les gènes de virulence *stx2* et *eae* mais pas *stx1*. Aucune TIAC n'a été mise en évidence.

##### **b- Alerte O26**

Un autocontrôle de camembert au lait cru a mis en évidence la présence d'une souche O26 *stx+* *eae+* dans un lot fabriqué le 26/01/08 et dont la date probable de consommation était située du 15 février au 20 mars. Aucune souche O26 n'a été répertoriée au CNR au cours de cette période. Aucune TIAC n'a été mise en évidence.

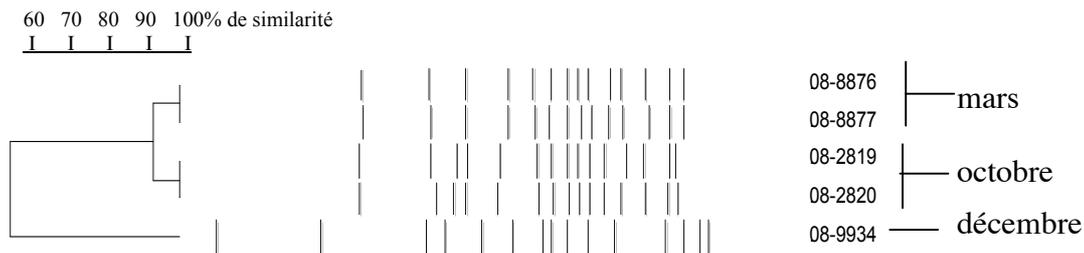
##### **c- Cas de *E. coli* au service de néonatalogie de Valenciennes (59)**

En 2008, 5 souches de *E. coli* ont été isolées chez des nouveau-nés du service de néonatalogie du CH de Valenciennes (59) présentant une nécrose intestinale grave (2 en avril, 2 en octobre et une en décembre). Les 5 souches étaient non agglutinables avec les sérums disponibles et présentaient le même gène de virulence (*cnf*).

Afin de déterminer si une même souche circulait dans le service et avait contaminé les 5 nouveau-nés, une comparaison des souches par PFGE en utilisant l'enzyme *XbaI* a été réalisée (>F> **figure 11**). Trois profils différents ont été obtenus indiquant que les souches n'étaient pas reliées génétiquement.

L'analyse de l'opéron O par PCR-RFLP, n'a pas permis de déterminer le sérotype de ces souches et a montré 3 profils distincts de la même manière que le PFGE.

**Figure 11 : PFGE des 5 souches du service de néonatalogie de Valenciennes:**



#### **d. Investigation d'une épidémie de souches de *E. coli* BLSE à la maternité du CHU de Bordeaux (RD)**

Sur une période de 5 mois, de novembre 2007 à avril 2008, 10 souches d'*E. coli* ont été trouvées productrices de BLSE, sur les 250 (4%) isolées de patients hospitalisés à la maternité de l'Hôpital Universitaire de Bordeaux. Parmi ces 10 souches, 8 provenaient des urines ou de prélèvements génitaux de parturientes et 2 du liquide gastrique de leurs nouveau-nés. Les 10 patients étaient hospitalisés dans 5 unités différentes de la maternité.

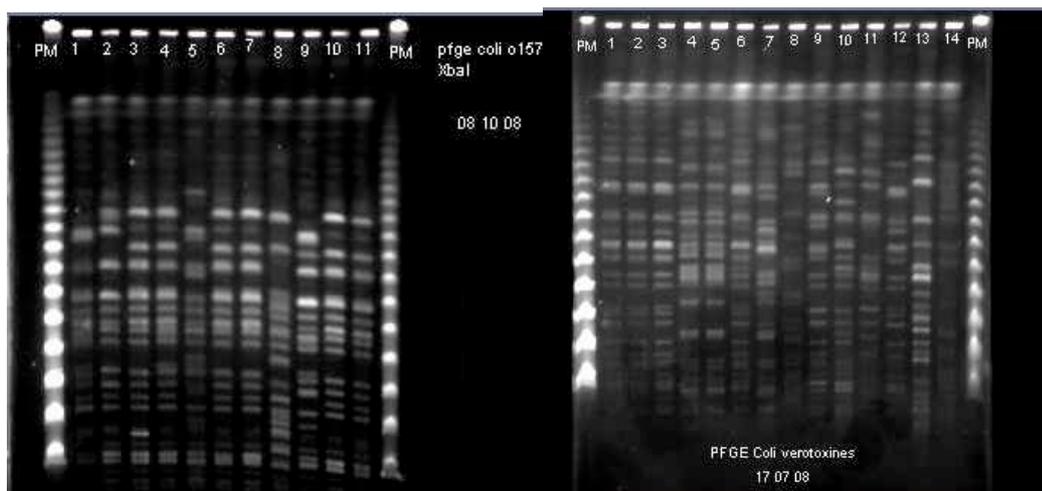
L'analyse des souches en PFGE a démontré qu'elles n'étaient pas épidémiologiquement reliées à l'exception des souches provenant des couples mères-enfants. Par ailleurs, des échantillons environnementaux prélevés dans des secteurs où toutes les patientes avaient séjourné (pièces d'échographie et de prélèvement) n'ont pas révélé la présence d'entérobactéries productrices de BLSE. Ces données suggèrent l'introduction de souches communautaires productrices de BLSE à l'hôpital par des patientes.

Cette étude a fait l'objet d'une communication orale à la 28<sup>ème</sup> Réunion de Chimiothérapie Infectieuse (RICAI) en 2008 (Paris, Décembre 2008) : **Introduction probable d'*Escherichia coli* producteurs de CTX-M de la communauté dans un service de maternité, et transmission des mères aux nouveau-nés.** V.Dubois, B. De Barbeyrac, A.M. Rogues, C. Arpin, P. Mariani-Kurkdjian, F. Mégraud, C. Quentin.

#### **e. Analyse des souches O157 reçues en 2008**

En 2008, 42 souches de *E. coli* O157 ont été répertoriées par le CNR et le Laboratoire Associé. Une analyse de toutes les souches par PFGE après digestion par l'enzyme *Xba*I est en cours. Cette analyse permettra de connaître la diversité des souches qui ont circulées en France en 2008 et de détecter d'éventuels liens entre les souches. La numérisation des profils PFGE permettra la constitution d'une banque de données des profils types de *E. coli* O157:H7. Ces profils pourront être comparés avec les autres banques de données internationales, américaines (PulseNet USA) et européennes (PulseNet Europe), afin d'identifier la circulation de souches en Europe et avec les USA.

Figure 12 : PFGE de 26 des souches de *E. coli* O157 isolées en 2008



## **B- Shigella**

### **a- Épidémies dans la communauté juive d'Ile de France :**

#### **- Fin de l'épidémie de 2007 :**

L'épidémie de *S. sonnei* g AMX<sup>R</sup>-SXT<sup>R</sup> s'est terminée fin janvier 2008 avec mise en évidence au CNR de quatre souches dans le département 95 et une dans le département 94. Aucune résistance à l'AZM n'a été mise en évidence début 2008 contrairement aux souches du début d'épidémie en 2007.

#### **- Nouvel épisode épidémique en Seine-Saint-Denis:**

Une autre épidémie à *S. sonnei* g dans la même communauté s'est déclarée dans le département 93 fin novembre. Cette épidémie présentait les mêmes caractéristiques de résistance à l'AMX et au SXT. Le premier cas a été signalé le 26 novembre 2008 par le Laboratoire Associé au CNR, l'enquête de la Ddass 93 a recensé 25 cas. Seulement 3 souches ont été reçues au CNR entre novembre et décembre 2008 dans le cadre de cette épidémie. Aucune résistance à l'AZM n'a été mise en évidence sur ces souches.

### **b- Festival "Boom"**

Le 5 septembre 2008, le CNR a signalé à l'InVs un cas de *S. sonnei* de biotype "a", pour lequel il était précisé sur la feuille d'information la participation au festival "Boom" qui avait eu lieu au Portugal du 11 au 18 août. L'analyse des souches de *S. sonnei* biotype "a" reçues au CNR a permis de mettre en évidence 3 souches dans différents départements (67, 33 et 61) où les patients signalaient un voyage en Espagne et/ou au Portugal en août. De plus un cas potentiel a été signalé par feuille d'information comme *S. sonnei* avec un voyage au Portugal dans le département 33. Une investigation a pu être mise en place au Portugal en se basant sur le diagnostic du biotype "a" qui est beaucoup plus rare que le biotype "g".

### c- Contamination de laboratoire

A la demande du C.H. du Mans une analyse comparative, d'une souche (08-8432) isolée d'une technicienne de laboratoire et de deux souches (08-8115 et 08-8116) isolées d'un patient, a été effectuée par PFGE afin de valider ou non la contamination professionnelle. Les 3 souches présentaient un sérotype identique : *S. flexneri* 2a.

L'analyse PFGE réalisée en parallèle avec les enzymes *XbaI* et *BlnI* a confirmé la clonalité des souches.

**Figure 13 : PFGE des souches de *S. flexneri* 2a du C.H. du Mans**

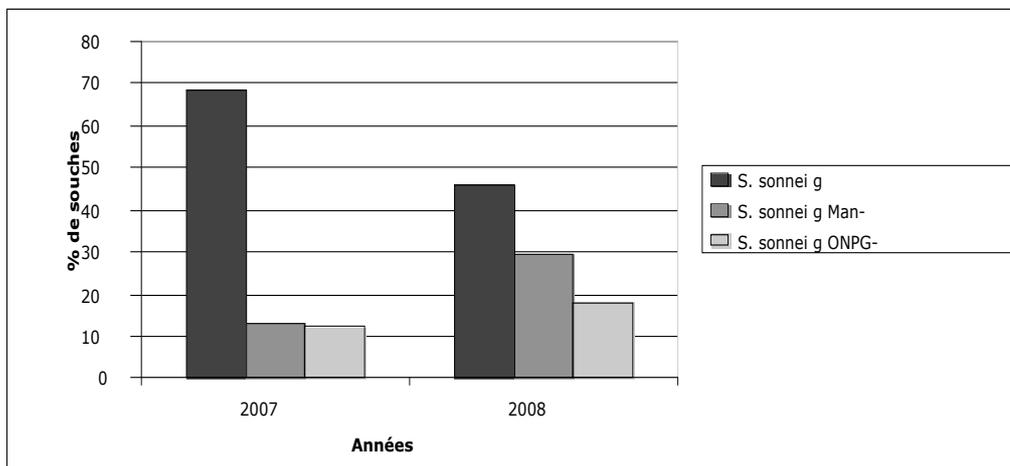


### d- Surveillance des biotypes de *S. sonnei* :

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

La proportion de ces souches semble évoluer (**Figure 14**) avec une nette augmentation des souches Man- en 2008. Ce caractère Man- caractérise en général les souches de *S. dysenteriae*.

**Figure 14 : Analyse de l'évolution des biotypes principaux de *S. sonnei***



Une analyse de l'origine des souches de *S. sonnei* g Man- a montré que, pour 23 souches sur les 107, il était signalé un voyage au Maroc.

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

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

#### **4-Alerte**

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

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

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

- Concernant les résultats de sérologie pour la surveillance de SHU, une copie de tous les résultats concernant des enfants de moins de 15 ans (positifs ou négatifs), est faxée à l'InVS dès son édition.

- Concernant les *Shigella*, la surveillance se fait à la signature des résultats avec une signalisation par téléphone ou courrier électronique de toute épidémie signalée ou remarquée au laboratoire par les responsables.

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

- Signalement au Réseau Européen de surveillance des *E. coli* entérohémorragiques (ECDC-FWD) de souches ayant le même sérotype que certaines souches épidémiques signalées en Europe.

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

#### **a-Enseignement / formation**

- Participation aux journées portes ouvertes de l'Institut Pasteur les 22 et 23 novembre 2008 (I. Filliol, I Carle, M. Lejay-Collin, M. Lefevre) : sensibilisation grand public «Où se cachent les bactéries» avec observation de boîtes de culture et de bactéries au microscope, recommandations d'hygiène et 3 posters sur les modes de contamination et le diagnostic des *E. coli* et *Shigella*. Près de 22 000 visiteurs sur le campus en 2 jours.

- Participation à l'enseignement universitaire sur les *E. coli* intestinaux et extra-intestinaux (E. Bingen et P. Mariani-Kurkdjian): DCEM1, DES de Biologie, DIU de Pathologie infectieuse pédiatrique (organisé par le Groupe De Pathologie Infectieuse Pédiatrique), Hôpital Saint Vincent de Paul, Paris (3 heures par an), Internes de Pédiatrie et de Biologie au sein de l'hôpital Robert Debré.

- Formation continue en médecine ambulatoire (E. Bingen et P. Mariani-Kurkdjian) (participation aux journées de pathologie infectieuse pédiatrique ambulatoire organisées par le Dr Cohen).

- Formation continue aux techniciens de laboratoire (E. Bingen et P. Mariani-Kurkdjian).

- Participation à la journée d'enseignement du groupe STEC EXPERT – Expert regroupant les industriels de la viande (P.Mariani-Kurkdjian) 25 et 26 Juin 2008 au Haras National du Lion d'Angers.

- Participation à l'enseignement de la Recherche pour la formation de stagiaires et la préparation de DEA et de thèses d'université.

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

Liste des stagiaires du CNR-IP en 2008 :

- M. Adjehi DADIE (Côte d'Ivoire), 12 novembre 2007 au 7 février 2008, «caractérisation de 200 souches de *E. coli* d'origine humaine, alimentaire et environnementale de Côte d'Ivoire ».
- Melle Amandine NUCCI, 2 stages : 1ère et 2<sup>ème</sup> année de BTS à l'ENCPB Paris, du 26 mai au 7 juillet 2008 puis du 17 novembre au 25 janvier 2008, «caractérisation moléculaire des gènes responsables de la multirésistance aux antibiotiques chez *S. flexneri* en Guyane française en 2004-2005».
- Mme Jav SARANTUYA, enseignante à l'Université d'Ulaanbaatar - Mongolie, du 3 au 5 juin 2008, «identification et caractérisation d'*E.coli*».

Liste des stagiaires du laboratoire associé RD en 2008

- Farah MESSAI-MAHJOUB, Master M2 – Paris XI – 2008, «recherche des déterminants génétiques du plasmide pS88 impliqués dans la virulence de Escherichia coli (O45:K1:H7) responsable de méningite néonatale».
- Sophie DUGUÉ, Master M2 – Paris XI - 2008, «étude de la physiopathologie de l'étape initiale de translocation digestive de Escherichia coli K1 responsable de méningite néonatale dans deux modèles ex-vivo».

**b-Information et conseil aux biologistes et praticiens**

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

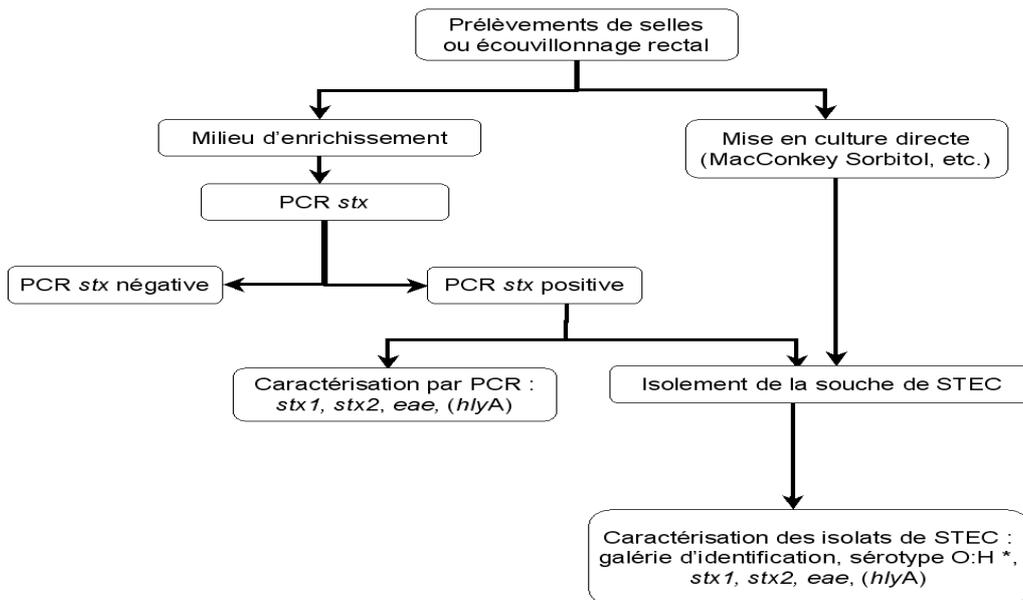
Les résultats sont envoyés au laboratoire par courrier, une copie peut être envoyée par FAX sur demande du laboratoire par téléphone, Fax ou courrier électronique.

Des conseils à la fois pratiques (milieu de transport, feuille d'information...), diagnostic (importance des gènes de pathogénicité ou du sérotype détecté...), thérapeutiques et/ou épidémiologiques sont donnés de façon presque quotidienne par téléphone ou courrier électronique. Les appels reçus sont notés dans un cahier avec la date, l'heure, le laboratoire et le type d'information demandée. Le volume des demandes est très variable et peut aller de 1 à 20 appels par jour.

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

Dans le cadre de l'information au praticien un article a été rédigé par l'InVS, le CNR et le Laboratoire Associé: **E. Espié, P. Mariani-Kurkdjian, I. Filliol, V. Vaillant et H de Valk. Infections humaines à *E. coli* producteurs de Shiga-toxines en France : Aspects cliniques, diagnostiques et épidémiologiques. Revue Francophone des Laboratoires. Mars 2008, n°400, p59-65.** Cet article permet aux laboratoires d'avoir toutes les informations concernant la détection des souches STEC et particulièrement le schéma d'isolement qui suit.

**Figure 15 : Procédures d'isolement des souches STEC :**



### **c- Diffusion des données de surveillance à l'InVS**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### **A- *E. coli* (RD)**

#### **a. *Escherichia coli* extra intestinaux**

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

Nous avons reçu l'accord du GPIP pour effectuer le recueil exhaustif des données cliniques auprès de chaque service clinique. Cette étude porte sur les antécédents familiaux, le déroulement de la grossesse, de l'accouchement et des suites de couches, l'examen clinique à la naissance et le terme de l'enfant, les antécédents personnels, le tableau clinique au moment de la prise en charge de la méningite, l'évolution avec en particulier le décès ou l'apparition de complications et localisations parenchymateuses. Le bilan infectieux réalisé est détaillé ainsi que l'antibiogramme de chaque souche. Enfin la prise en charge thérapeutique est étudiée en particulier avec le type, la dose, et la durée des antibiotiques.

Cette étude clinique a été réalisée par le Dr V. Houdouin, (Pédiatre) qui a obtenu son doctorat dans l'EA 3105 du Pr Bingen en collaboration avec le Pr Aujard (Service de Néonatalogie). Parallèlement à la caractérisation clinique, la caractérisation génétique des souches d'ECMN a été réalisée au sein du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Robert Debré, comprenant, l'analyse phylogénétique et la recherche de l'ensemble des facteurs de virulence (empreinte de virulence) impliqué à ce jour dans la pathogénicité des ECMN.

Les résultats de ce travail ont permis d'établir pour la première fois une épidémiologie bactérienne et clinique des méningites néonatales à *E. coli* en France avec un taux de mortalité de 14 % et un taux de séquelles neurologiques de 21 %. Les souches ont été caractérisées par la détermination du groupe phylogénétique, du Sequence Type complex (STc), et du sérotype. Les clones ont été caractérisés par la combinaison du STc et de l'antigène O définissant le « séquence O type ». La caractérisation des souches comparativement aux tableaux cliniques a permis d'associer les souches appartenant à des séquence O types peu fréquents avec la prématurité d'une part et la mortalité d'autre part. Ce travail a fait partie intégrante de la thèse de doctorat de V. Houdouin et a fait l'objet d'une publication : Association between mortality of *Escherichia coli* meningitis in young infants and non-virulent clonal groups of strains. Houdouin V, Bonacorsi S, Bidet P, Blanco J, De La Rocque F, Cohen R, Aujard Y, Bingen E. Clin Microbiol Infect. 2008 Jul;14(7):685-90.

**Participation au séquençage et à l'annotation de souches *E. coli* dans le cadre du consortium Coliscope** créée en 2003, dirigé par le Pr Denamur de l'unité INSERM U722 en partenariat avec le Génoscope et qui séquence actuellement 6 souches de *E. coli* représentatives des différents groupes phylogénétiques ainsi que des différentes pathogénies extra-intestinales ([www.genoscope.cns.fr](http://www.genoscope.cns.fr)). A ce titre la souche S88 (O45:K1:H7) de notre équipe a été choisie comme représentant du clone émergent français responsable de méningites mais aussi (cf infra) de pyélonéphrites avec bactériémies. Au sein de ce consortium deux membres de l'équipe, le Dr S. Bonacorsi et le Dr P. Bidet ont participé à l'annotation de S88 en collaboration avec l'unité INSERM U570 du Pr X. Nassif et également à l'annotation des autres souches. L'annotation de S88 a récemment été finalisée. S88 est caractérisée par un chromosome de 5032 kb et la présence d'un plasmide de 133 kb. Au sein du chromosome 2 îlots de pathogénicité déjà décrits dans d'autres souches de *E. coli* responsables d'infection extra-intestinales ont été identifiés. De plus 7 régions génomiques spécifiques de S88 ont été détectées et sont susceptibles d'héberger de nouveaux facteurs de virulence.

- **Relation entre facteur de risque de bactériémie et virulence** : notre équipe est directement impliquée dans l'analyse des cas de bactériémies pédiatriques à *E. coli* survenant en France dans le cadre de l'étude Colibafi coordonnée par le Pr E. Denamur (U722). Cette étude multicentrique a pour objectif de déterminer les facteurs de risque des bactériémies à *E. coli* chez l'adulte et chez l'enfant. Les souches de bactériémies isolées chez l'enfant au cours de cette étude (200 souches attendues fin 2008) seront caractérisées sur le plan moléculaire par notre laboratoire. Grâce au recueil exhaustif des données cliniques, il nous sera possible d'établir une collection nationale de souches invasives parfaitement caractérisées sur le plan clinique. Ainsi, une collection de souches isolées de bactériémie d'origine urinaire (représentant la majorité des souches) survenant chez des sujets sans facteurs de risques (immunodépression, anomalies des voies urinaires) pourra être comparée aux souches d'infections urinaires sans bactériémie recueillies précédemment dans le cadre du CIRC. Les attributs qui permettent aux souches hautement virulentes de provoquer une bactériémie que nous avons identifiés lors de l'étude locale pourront ainsi être validés par une étude multicentrique en bénéficiant d'un plus grand nombre de souches. Les facteurs de risque de bactériémies en l'absence d'infection urinaire seront également analysés spécifiquement. Ces collections nous permettront de plus d'entreprendre des études plus approfondies par DNA-array afin de mettre en évidence d'autres attributs encore inconnus impliqués dans la traversée des barrières épithéliales rénales.

#### **b. *E. coli* intestinaux :**

Concernant les *E. coli*, la plupart des laboratoires recherche uniquement O157:H7 en se basant sur la réaction au sorbitol. En effet les O157:H7 ne fermentent pas le sorbitol. Or de plus en plus de souches d'*E. coli* atypiques dont des souches qui ne fermentent pas le sorbitol mais qui n'agglutinent pas forcément avec l'antisérum O157 sont observées au CNR.

71 souches sorbitol négatives ont été répertoriées en 2008, certaines étaient agglutinables et seulement 21 souches étaient O157 (29,6%) dont 6 immobiles. Les sérotypes de souches non O157 qui ont été agglutinées sont variés avec 2 O26, 5 O55, 2 O86, 3 O103, 1 O111, 2 O128 (dont une *stx1+*).

Pour poursuivre le travail de 2007, nous avons, si possible, déterminé le sérotype des souches sorbitol négatives non agglutinables reçues en 2008 au CNR-IP.

L'ensemble des résultats est présenté dans le **Tableau 30**.

Les sérotypes retrouvés étaient très variés et seules 3 souches de sérotype R117 étaient *stx+*. Il est important de ne pas baser le diagnostic O157 uniquement sur le sorbitol. De plus, les souches O157 sorbitol négatives ne présentaient pas toutes des gènes *stx* (17/19).

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

Tableau 30 : Résultats de typages des souches d'*E. coli* sorbitol négatives non agglutinables reçues au CNR-IP en 2008 :

N° Souches	PCR virulence	prélevements	Sérotypage moléculaire O
#08 1498	<i>eae</i>	selles	C7
#08 1749		selles	NT
#08 2065	<i>eae</i>	selles	NT
#08 2185		selles	NT
#08 3542		humain	NT
#08 5508	<i>eae</i>	selles	NT
#08 8646		selles	NT
#08 9017	<i>astA</i>	vaginal	NT
#08 9536	<i>aer</i>	sang	NT
#08 9639		selles	NT
#08 9876		selles	NT
#0810140	<i>eae</i>	selles	NT
#08 1015		selles	R1
#08 3105	<i>aer</i>	sang	R1*
#08 5088	<i>eae</i>	humain	R101/R162*
#08 5983		selles	R102
#08 0682		humain	R11
#08 2994		selles	R117
#08 3478	<i>stxI, astA</i>	selles	R117
#08 7085	<i>stxI, astA</i>	selles	R117
#08 9127	<i>stxI, astA</i>	selles	R117
#08 4790	<i>eae</i>	selles	R128
#08 2233	<i>SFA</i>	urines	R152
#08 0025	<i>afa</i>	urines	R21
#08 7620	<i>astA</i>	selles	R22
#08 0890	<i>astA</i>	selles	R22/R55b*
#08 2240		selles	R22/R55b*
#08 3051	<i>astA</i>	selles	R22/R55b*
#08 6263	<i>astA</i>	selles	R22/R55b*
#08 5978		urines	R25*
#08 2883		humain	R2a/R5b/R50*
#08 2350		selles	R5b
#08 6296		selles	R5b
#08 7361		humain	R5b
#08 7737		selles	R5b
#0810105	<i>eae</i>	selles	R66
#08 8522		humain	R83

NT= non sérotypable (profil non présent dans la base de données)

\* profils proche mais non identique dans la base de données.

## **B- Shigella (CNR-IP) :**

### **\* le CNR-IP participe au projet au « diagnostic d'urgence de la dysenterie et des diarrhées hémorragiques (PTR 179) :**

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

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

Dans ce cadre le CNR fournit les souches de référence après contrôle de leur sérotypes et compositions en gènes de virulence, fourni les protocoles de validations des résultats par PCR et agglutination, et prépare les souches pour les tests en aveugle.

Les bandelettes *S. dysenteriae* 1, *S. flexneri* 2a et *Shigella* ont été validées sur de nombreux échantillons.

Une bandelette pour la détection de *S. sonnei* est en cours de développement.

**\* Caractérisation du gène responsable de la résistance à l'AZM dans le cadre de l'épidémie à *S. sonnei* en Ile de France :** le CNR-IP et le Laboratoire Associé ont dans ce cadre effectué la comparaison des souches par PFGE et REP-PCR, et le Pr Roland Leclercq (service de Microbiologie, CHU de Caen), a réalisé la caractérisation du gène de résistance aux macrolides. Le gène *mph(A)* porté par un plasmide conjugatif a pu être mis en évidence chez la souche résistante. Un article a été publié pour décrire cette résistance : Boumghar-Bourtchai L, Mariani-Kurkdjian P, Bingen E, Filliol I, Dhalluin A, Ait Ifrane S, Weill FX, Leclercq R. Macrolide-Resistant *Shigella sonnei*. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:1297-9.

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

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

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

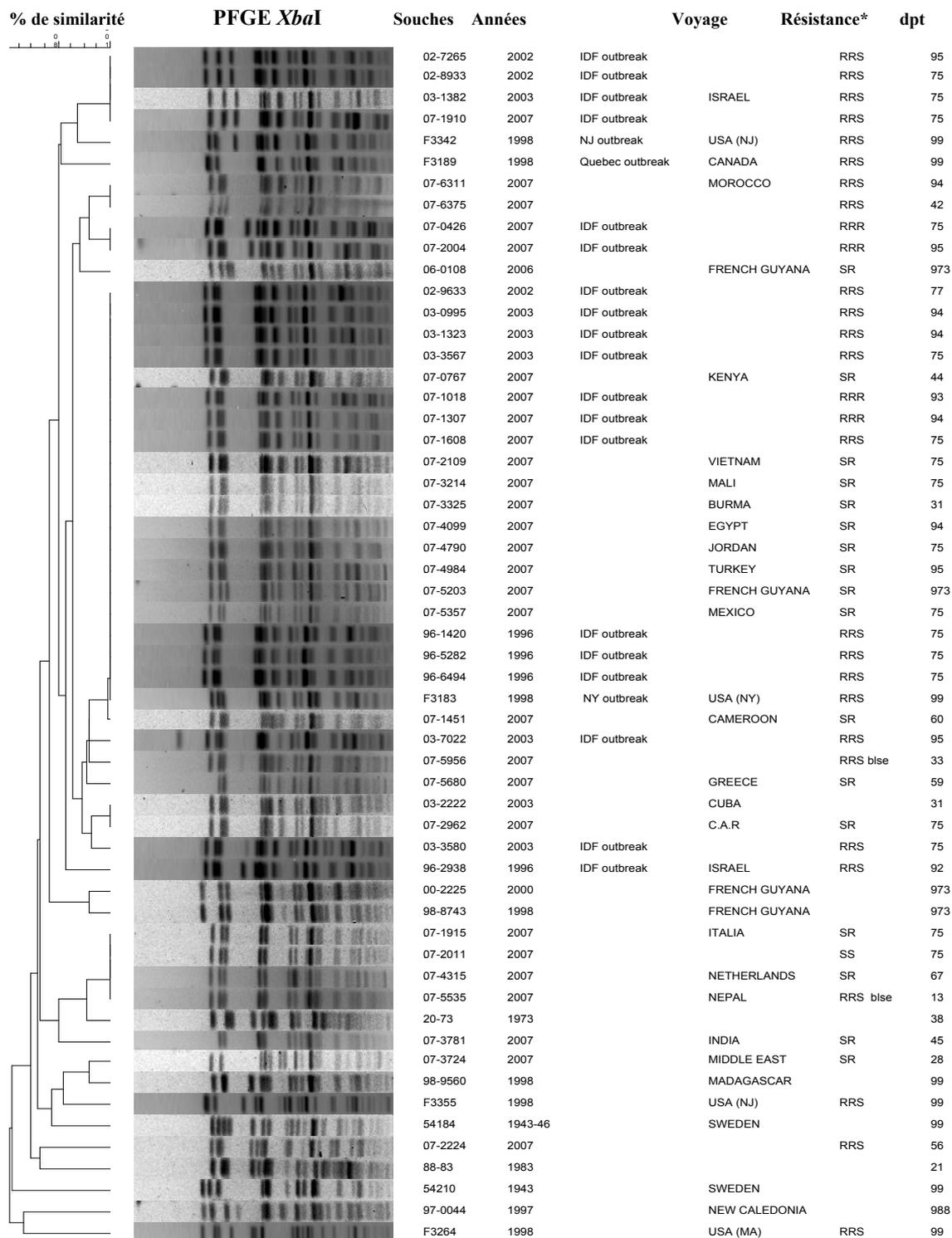
En parallèle, le CNR-IP a mis en place une étude sur les souche de *S. flexneri* de Guyane française isolées en 2004-2005 afin de comparer les résultats avec ceux obtenus en Afrique et Asie (travail d'Amandine Nucci, stagiaire de BTS)

**\* Projet d'étude de la structure de la population des *S. sonnei* :** ce projet initié en 2007 par le Wellcome Trust Sanger Institute à Cambridge (UK) prévoit de typer un grand nombre de souches de *S. sonnei* du monde entier en utilisant le "Multi Locus Sequence Typing" (MLST) et des PCR ciblant des régions d'évolution rapide (surtout phagiques). Ce travail est en cours sur une collection d'environ 150 souches de *S. sonnei* du CNR, isolées entre 1943 et 2007.

**\* Etude du pouvoir discriminant du PFGE chez *S. sonnei* :**

Suite à l'épidémie de 2007, la question de la valeur discriminative du PFGE chez *S. sonnei* a été posée. Pour valider ou non la méthode, 102 souches de *S. sonnei* de différents biotypes ont été étudiées en PFGE. Les résultats des PFGE obtenus sur les 56 souches de biotype g sont présentés dans la **Figure 16**.

**Figure 16 : PFGE *Xba*I de 56 souches de *Shigella sonnei* biotype g**



\* R pour Résistant et S pour Sensible avec les antibiotiques dans l'ordre suivant : amoxicilline, cotrimoxazole et parfois azithromycine.

Une grande homogénéité des profils a été observée parmi l'ensemble des souches étudiées qu'elles proviennent de la communauté juive d'Ile de France (IDF outbreak) ou bien qu'elles soient importées de différents pays. Cette faible discrimination montre que le PFGE n'est pas un marqueur épidémiologique optimal pour le suivi fin des souches de *S. sonnei*.

**\* Validation et mise en place d'une nouvelle technique de typage des souches de *S. sonnei* : le « multilocus variable-number tandem-repeat (VNTR) analysis (MLVA) ».** Cette technique, développée au CDC de Taiwan, serait susceptible d'être plus discriminante et aussi plus simple à utiliser que le PFGE pour *S. sonnei*. La validation de la méthode, passe par le typage avec 26 loci d'un grand nombre de souches de différentes origines. Ce travail est réalisé sur une collection d'environ 150 souches de *S. sonnei* du CNR-IP, isolées entre 1943 et 2007. Les résultats sont en cours d'analyse au CNR afin d'apprécier le pouvoir discriminatif et la reproductibilité de cette méthode avant d'envisager son utilisation comme alternative au PFGE.

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

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

En 2008, le CNR a continué son travail de séquençage du gène *fliC*. La présence de séquences d'insertion dans *fliC* a pour l'instant pu être mise en évidence pour différents sérotypes de *S. dysenteriae* et *S. boydii*, en revanche aucune séquence d'insertion n'a été détectée dans le gène *fliC* de *S. flexneri* et *S. sonnei*. Une base de données des séquences des *fliC* de l'ensemble des sérotypes de *Shigella* sera publiée en 2009.

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

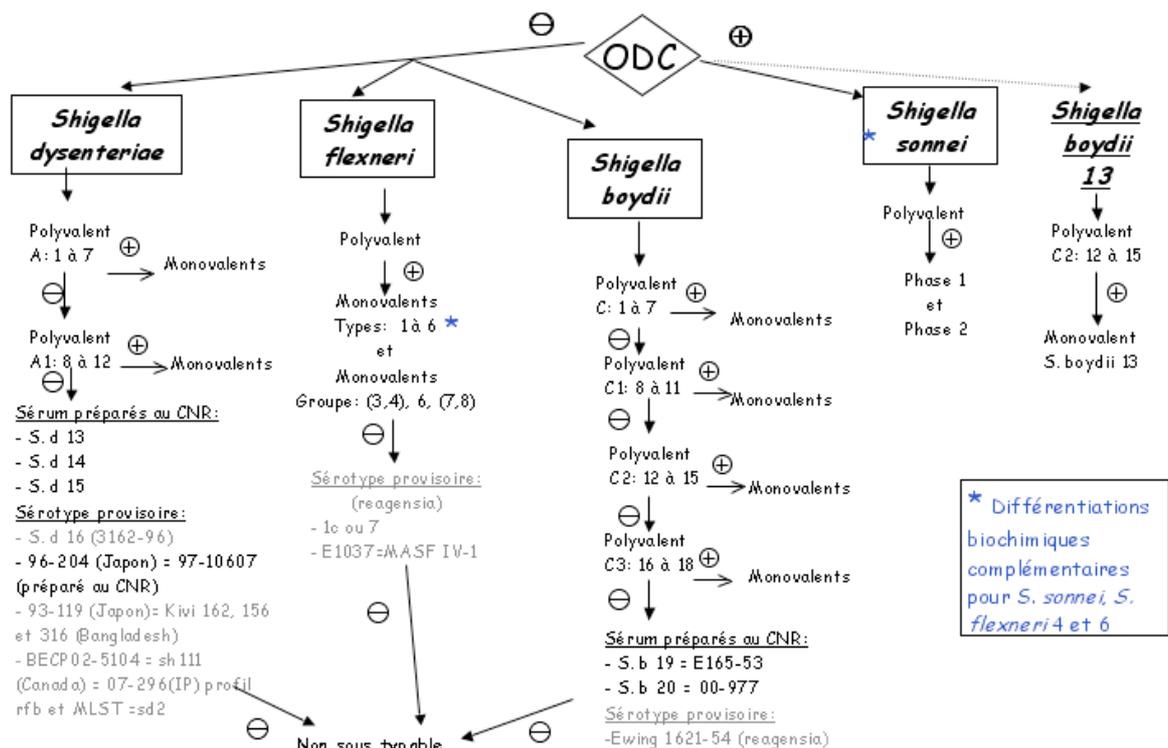
Le terme CRISPR désigne une famille de séquences génomiques répétées. Cette famille se caractérise par des séries de répétitions directes, courtes (de 21 à 37 paires de bases) et régulièrement espacées par des séquences, généralement uniques et non codantes, de 20 à 40 paires de bases (Spaceurs ou Spacers).

Une séquence répétée avait été mise en évidence chez *E. coli* par Jensen et al, en 2002 (Mol. Microbiology). Nous avons évalué sa présence dans les génomes publiés de *E. coli* et *Shigella*. Deux loci (1 et 2) ont été mis en évidence. Des amorces ont été synthétisées pour amplifier le premier locus puis le contenu en espaceurs a été inventorié pour 124 souches de *Shigella* appartenant à 57 sérotypes. L'analyse des résultats est toujours en cours mais semble concordante avec le sérotypage et les autres méthodes moléculaires de typage.

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

Chaque année le CNR-IP isole des souches non sérotypables en agglutination classique. Un bilan des souches décrites dans la littérature comme nouveaux sérotypes a été fait lors du *Shigella* Workshop (ICDDR, Dhaka, Bangladesh en Novembre 2007) regroupant plusieurs équipes (CDC, ICDDR, CNR-IP). A la suite, le CNR a modifié son schéma d'agglutination (**Figure 17**) pour y inclure les sérotypes provisoires décrits dans la littérature et a testé de nouveaux sérums pour pouvoir agglutiner un maximum de nouveaux sérotype. En plus des sérums japonais de Denka Seiken (distribués par Eurobio) ou de SIFIN (Allemagne), de nouveaux sérums complémentaires ont été testés ou vont être testés par le CNR-IP, tels que les anticorps monoclonaux de Reagensia (Suède).

**Figure 17 : Schéma d'agglutination des *Shigella* au CNR (sérum Eurobio= Denka Seiken) :**



Les sérotypes provisoires dont les sérums ne sont pas disponibles au CNR sont indiqués en grisé. Les sérums commercialisés par Reagensia vont être testés prochainement.

L'ensemble des 28 souches de *S. flexneri* non sérotypables depuis 2005 (1 en 2005, 13 en 2006, 15 en 2007 et 14 en 2008) ont pu être agglutinées avec le sérum *S. flexneri* 1c (ou 7, sérotype provisoire).

Depuis 2007, les souches de la collection du CNR non sérotypables par agglutination avec les sérums disponibles sont analysées par des méthodes moléculaires telles que le sérotypage moléculaire par *rfb*-RFLP, séquençage *fliC* avec parfois utilisation du PFGE et/ou du typage MLST. Dans ce cadre plusieurs souches ont pu être reliées à des nouveaux sérotypes :

- Une collaboration en 2007 avec l'ICDDR de Dhaka (Bangladesh) a permis de relier des souches de *S. dysenteriae* décrites comme nouveaux sérotypes isolées au Japon (93-119) avec des souches isolées au Bangladesh (article en cours pour la définition de ce nouveau sérotype). Le sérum correspondant est en cours de fabrication au CNR-IP.

- Deux souches reçues au CNR-IP en 2007 (07-2661) et 2008 (08-2793) de patients infectés par le VIH de retour du Cameroun ont pu être reliées par *rfb*-RFLP à une souche non typable isolée au Canada (BEDP-025104) et décrite par Melito et al (J. Clin. Microbiol. 2005) Le sérum correspondant est en cours de fabrication au CNR-IP.

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

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

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

L'analyse de la sensibilité aux antibiotiques de cette collection a permis d'identifier les 1ères souches multirésistantes lors de la grande épidémie d'Amérique centrale en 1969-1972. Cette résistance à la streptomycine, aux sulfamides, au chloramphénicol et à la tétracycline était médiée par un plasmide de type incB. De 1972 à 1981, plusieurs autres plasmides, de types incX ou incII, entraînant une résistance additionnelle aux aminopénicillines et au cotrimoxazole ont été identifiés. Nous avons mis en évidence qu'au cours des années 1980 à partir de l'Inde, la très grande majorité des souches avait acquis dans le chromosome un îlot de pathogénicité (le SRL-PAI) comportant une région de multirésistance aux antibiotiques. Pour connaître les relations entre les différentes populations bactériennes circulant à l'heure actuelle ou au cours des dernières décennies, notamment leur dynamique au regard des stratégies antibiotiques, il est nécessaire de pouvoir disposer d'une méthode de sous-typage informative sur le plan phylogénétique. Une analyse préliminaire par la méthode de référence de génétique des populations bactériennes, le MLST, sur 38 souches n'avait montré la présence que de deux séquençotypes, ST146 et ST260 (ne différant que par une mutation ponctuelle [ou Single Nucleotide Polymorphism, SNP] dans le gène *fumC*). Du fait de cette homogénéité génétique, il a été nécessaire d'identifier de nombreux autres gènes susceptibles de posséder des SNPs. L'inventaire de ces gènes a été réalisé en collaboration avec la Plateforme de Génotypage et de Santé Publique PF8 sur 1000 ORFs d'un sous-ensemble de 20 souches représentatives par la méthode « Comparative Genome Sequencing Microarrays » (CGSM). En parallèle, les 20 génomes sont en cours de séquençage complet en collaboration avec le Centre National de Génotypage d'Evry (fin prévue en avril 2009). Après sélection des gènes contenant des SNPs informatifs, l'analyse de ceux-ci sera réalisée sur les 80 souches additionnelles de la collection et l'histoire évolutive de cet agent pathogène pourra être reconstituée.

## **7- Liste des publications et communications 2008**

### **Publications**

**Boumghar-Bourtchai L, Mariani-Kurkdjian P, Bingen E, Filliol I, Dhalluin A, Ait Ifrane S, Weill FX, Leclercq R.** Macrolide-Resistant *Shigella sonnei*. **Emerging Infectious Diseases**. 2008; 14:1297-9.

**Espié E, Grimont F, Mariani-Kurkdjian P, Bouvet P, Haeghebaert S, Filliol I, Loirat C, Decludt B, Minh NN, Vaillant V, de Valk H.** Surveillance of Hemolytic Uremic Syndrome in children less than 15 years of age, a system to monitor O157 and non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in France, 1996-2006. **The Pediatric Infectious Disease Journal**. 2008; 27:595-601.

**Espié E, Mariani-Kurkdjian P, Filliol I, Vaillant V, de Valk H.** Infections humaines à *E. coli* producteurs de Shigatoxine en France : aspects cliniques, diagnostiques et épidémiologiques. **Revue Francophone des Laboratoires**. Mars 2008. N°400 ; 59-65.

**Cohen N, Filliol I, Karraouan B, Badri S, Carle I, Ennaji H, Bouchrif B, Hassar M, Karib H.** Microbial quality control of raw ground beef and fresh sausage in Casablanca (Morocco). **Journal of Environmental Health**. 2008;71:51-5.

**King LA, Mailles A, Mariani-Kurkdjian P, Vernozy-Rozand C, Montet MP, Grimont E, Pihier N, Devalk H, Perret F, Bingen E, Espié E, Vaillant V.** Community-wide outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 associated with consumption of frozen beef burgers. **Epidemiology and Infection.** 2008;23:1-8.

**Delignette-Muller ML, Cornu M; AFSSA STEC study group.** Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in frozen ground beef patties consumed by young children in French households. **International Journal of Food Microbiology.** 2008;128:158-64.

**Boyer-Mariotte S, Duboc P, Bonacorsi S, Lemeland JF, Bingen E, Piquier D.** CTX-M-15-producing *Escherichia coli* in fatal neonatal meningitis: failure of empirical chemotherapy. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy.** 2008;62:1472-4.

**Barl T, Dobrindt U, Yu X, Katcoff DJ, Sompolinsky D, Bonacorsi S, Hacker J, Bachmann TT.** Genotyping DNA chip for the simultaneous assessment of antibiotic resistance and pathogenic potential of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. **International Journal of Antimicrobial Agents.** 2008;32:272-7.

**Houdouin V, Bonacorsi S, Bidet P, Blanco J, De La Rocque F, Cohen R, Aujard Y, Bingen E.** Association between mortality of *Escherichia coli* meningitis in young infants and non-virulent clonal groups of strains. **Clinical Microbiology and Infection.** 2008;14:685-90.

**Raymond J, Lopez E, Bonacorsi S, Poyart C, Moriette G, Jarreau PH, Bingen E.** Evidence for transmission of *Escherichia coli* from mother to child in late-onset neonatal infection. **The Pediatric Infectious Disease Journal.** 2008;27:186-8.

### **Congrès nationaux ou internationaux en relation avec le CNR**

Participation de FX. Weill et P. Mariani-Kurkdjian à la Réunion annuelle du réseau européen de surveillance des maladies entériques (ECDC, Stockholm, Suède, du 2 au 4 octobre 2008)

E. Bingen, S. Bonacorsi, P. Bidet. Epidémiologie des méningites néonatales à *Escherichia coli* K1 : émergence d'un clone français. Communication orale à la 28<sup>ème</sup> Réunion de Chimiothérapie Infectieuse (RICAI) en 2008 (Paris, décembre 2008)

S. Bonacorsi, P. Bidet, E. Bingen. Caractérisation génétique de *Escherichia coli* responsable d'infections extra-intestinales en pédiatrie. Communication orale à la 28<sup>ème</sup> Réunion de Chimiothérapie Infectieuse (RICAI) en 2008 (Paris, décembre 2008)

V. Dubois, B. De Barbeyrac, A.M. Rogues, C. Arpin, P. Mariani-Kurkdjian, F. Mégraud, C. Quentin Introduction probable d'*Escherichia coli* producteurs de CTX-M de la communauté dans un service de maternité, et transmission des mères aux nouveau-nés. Communication affichée à la 28<sup>ème</sup> Réunion de Chimiothérapie Infectieuse (RICAI) en 2008 (Paris, décembre 2008)

## **8- Programme de travail 2009-2010**

En 2009, le CNR-IP va recentrer son activité de surveillance sur les *E. coli* producteurs de Shigatoxines, conformément à son cahier des charges, **en réalisant systématiquement la recherche de ces agents pathogènes ou de leurs gènes sur les selles ou sur les souches adressées par les laboratoires du réseau du CNR-ESC ou bien en effectuant la sérologie anti-LPS**. La recherche systématique de tous les gènes de virulence des différents pathovars d'*E. coli* ne sera plus réalisée systématiquement mais uniquement après entente préalable chez des cas bien documentés ou lors de situations épidémiques. En effet la très grande majorité des demandes n'était pas accompagnée de renseignement clinique ce qui rendait nulle l'exploitation des données issues de cette activité.

En 2008, une collaboration entre le CNR-Salm et le Contrôle National de Qualité (CNQ) de l'AFSSAPS a été engagée. Ainsi en 2009, deux souches sélectionnées par le CNR-IP seront adressées à l'ensemble des laboratoires hospitaliers et libéraux de France dans le cadre du CNQ Bactériologie de façon à apprécier leur capacité d'identification. Au cours de ce CNQ, une enquête permettra également de connaître le nombre de souches de *Shigella* isolées dans ces laboratoires en 2008.

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

Dans le but de confirmer l'identité des souches reçues au niveau de l'espèce génomique *E. coli/Shigella* :

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

Puis le CNR-IP effectuera de façon systématique :

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

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

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

Afin de prévenir les laboratoires collaborateurs de cette modification, dès septembre 2008 lors des rendus de résultats une lettre explicative a été envoyée aux laboratoires. Cette lettre réactualisée en janvier 2009 est disponible sur le site internet du CNR-ESC (**Annexe 2**).

**Point 1- Contribution au développement du diagnostic de routine des infections à *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) et en particulier des *E. coli* producteurs de Shiga toxines (STEC) dans les laboratoires de diagnostic :**

**Développement et/ou amélioration des méthodes diagnostiques :**

- Développement d'une PCR multiplexe pour les gènes de virulence *stx1*, *stx2*, *eae* et *hlyA* dans le but de simplifier la méthode.
- Sous typage des gènes des shigatoxines parallèlement par des méthodes de PCR-RFLP (IP) et par PCR spécifiques (RD).
- Sous-typage des gènes *eae* par PCR (RD)
- Développement d'une base de données moléculaires de profils PFGE (méthode standardisée) pour *E. coli* O157:H7 de façon à permettre les comparaisons de profils avec les autres banques de données internationales (PulseNet USA (PulseNet Europe) ou avec les différents Centres Nationaux de Références. Les profils types de 48 souches françaises de *E. coli* O157:H7 ont déjà été étudiées et publiées (Bidet et al, J Med Microb. 2005) **(CNR-IP et Laboratoire Associé)**
- Participation au **diagnostic d'urgence de la dysenterie et des colites hémorragiques** (projet PTR 179) ; afin de permettre un diagnostic direct dans les selles des principaux pathogènes tels que *S. dysenteriae* 1, *S. flexneri* 2a, *S. sonnei*, *E. coli* O157 et les toxines *stx1* et *stx2*. Ce PTR devrait être ensuite généralisé à de nombreux sérotypes et de nombreuses autres espèces bactériennes responsables de diarrhées.

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

Dans ce cadre un article permettant aux laboratoires d'avoir toutes les informations concernant les souches STEC a été rédigé par l'InVS, le CNR-IP et le Laboratoire Associé en 2008. De plus, le CNR-IP et le Laboratoire Associé vont continuer le travail d'information des laboratoires et de formation de stagiaires déjà entrepris.

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

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

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

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

Le CNR-IP et le Laboratoire associé vont poursuivre leur participation à l'investigation des cas groupés, en collaboration avec l'InVS, par :

- **Typage des souches et comparaison des souches isolées chez les malades et d'autres sources (alimentaire ou animale):**

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

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

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

### **Point 5- Contribution à des études de recherche appliquée**

- **Sérotypage moléculaire des *Escherichia coli* (CNR-IP) :**

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

### **Point 6- Contribution avec l'Institut de Veille Sanitaire aux réseaux de surveillance internationaux et en particulier européens (Enter-Net)**

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

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

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

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

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

## **B/ Pour les *E. coli* responsables de méningites néonatales (Laboratoire Associé)**

**Point 1- Développement et mise en œuvre des techniques de typage et de génotypage des souches. Distinction des souches responsables de cas groupés de celles responsables de cas sporadiques et affiliation des souches aux différents clones :**

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

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

**Le groupe phylogénétique** sera déterminé par un PCR multiplex permettant de distinguer les 4 principaux groupes (A, B1, B2, D). Les sous groupes phylogénétiques seront déterminés par ribotypage (figure 6).

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

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

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

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

### **- Investigation de cas groupés**

Le laboratoire apportera également son expertise dans l'analyse de la survenue de cas groupés ou de la transmission mère-enfant qui pourra être réalisée grâce au typage des souches par PFGE. Ces investigations bénéficieront de l'expérience du laboratoire depuis une quinzaine d'années dans le domaine de l'épidémiologie moléculaire ce qui nous a permis de constituer une banque de profils type.

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

Le Pr E. Bingen est coordinateur avec le Pr Aujard (Chef de service de Néonatalogie) de l'Observatoire national des méningites bactériennes de l'enfant. Cet observatoire a été créé à l'initiative du Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique (GPIP) de la Société Française de Pédiatrie (SFP) et de l'association clinique et thérapeutique infantile du Val de Marne (ACTIV). Cet observatoire comprend un réseau de 259 services de pédiatrie et 168 services de bactériologie répartis dans toute la France.

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

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

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

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

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

Le laboratoire apportera une expertise pour l'aide au diagnostic des méningites néonatales décapitées par une antibiothérapie par la réalisation de PCR spécifique vis à vis de *E. coli* et le cas échéant vis-à-vis d'autres bactéries responsables de méningites néonatales. Le laboratoire a acquis une expérience en matière de diagnostic par PCR des méningites décapitées (Negre et al 2004) et à ce titre a obtenu l'appel d'offre pour l'innovation technologique de l'APHP.

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

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

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

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

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

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

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

La surveillance de la résistance aux antibiotiques des *Shigella* est réalisée en routine pour toutes les souches. Une attention particulière est portée aux souches de *S. sonnei* résistantes à AMX et SXT avec la mise en place en routine pour ces souches d'un antibiogramme complémentaire à l'AZM. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques majeurs (C3G et fluoroquinolones) seront caractérisés.

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

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

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

### **Point 4- Contribution à des études de recherche appliquée**

Le CNR poursuivra ses travaux de recherche appliquée sur :

- **Le sérotypage moléculaire**

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

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

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

- **L' étude des mécanismes de résistance aux antibiotiques :**

La caractérisation des supports génétiques de la résistance aux antibiotiques est en cours de réalisation au CNR-IP sur toutes les souches d'intérêt (souches résistantes aux C3G, aux fluoroquinolones et souches multirésistantes avec îlot génomique SRL-PAI).

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

La collaboration avec le Wellcome Trust Sanger Institute à Cambridge sera poursuivie. Le CNR participera à l'analyse des résultats de l'étude génétiques des populations de *S. sonnei*.

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

L'analyse du second locus sera effectué pour l'ensemble des sérotypes de *Shigella*.

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

Le CNR-IP continuera sa collaboration avec le CDC de Taiwan en analysant les résultats obtenus sur les 150 souches de *S. sonnei* sélectionnées. Cette analyse sera effectuée en parallèle avec les résultats de PFGE afin de vérifier le pouvoir discriminant de la méthode. Si la méthode MLVA s'avère plus intéressante que le PFGE dans le suivi fin des souches de *S. sonnei*, elle sera mise en place au CNR-IP.

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

Le CNR-IP continuera de participer activement au réseau européen de surveillance ECDC-FWD (anciennement Enter-Net). Ses responsables poursuivront leur implication dans le réseau GlobalSalmSurv de l'Organisation Mondiale de la Santé dédié aux maladies entériques d'origine alimentaire.

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

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

# **ANNEXES**



# **Annexe 2:** **Lettre d'information sur les modifications de fonctionnement du CNR-IP en 2009**



Centre National de Référence  
des *Escherichia coli* et *Shigella*

Laboratoire des  
Bactéries Pathogènes Entériques  
Dr François-Xavier Weill  
Dr Ingrid Filliol

Paris le 08/01/09

**Aux laboratoires participant à la surveillance  
nationale des infections à *E. coli* et *Shigella***

**Objet : Activités du CNR *Escherichia coli* et *Shigella***

Chers collègues,

**Depuis le 1<sup>er</sup> Janvier 2009, conformément au cahier des charges de l'InVS, nous centrons notre activité *E. coli*, sur la recherche des *E. coli* Entéro-hémorragiques (EHEC).**

Dans ce cadre, nous réaliserons **gratuitement, sous réserve d'avoir toutes les informations épidémiologiques** (feuille d'information ci-jointe, téléchargeable à <http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/ecolishig-index.html>)

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

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

Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, 48 Bd Serurier, 75019 Paris Cedex 19

**Pour tout autre demande concernant les autres pathovars d'*E. coli*, l'analyse se fera uniquement en cas d'épidémies et/ou après entente préalable avec le CNR.**

**Concernant les *Shigella* l'activité reste inchangée :**

**identification antigénique gratuite de toutes les souches de *Shigella*, sous réserve sous réserve d'avoir toutes les informations épidémiologiques** (feuille d'information ci-jointe, téléchargeable à l'adresse : <http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/ecolishig-index.html>)

Pour les *Shigella sonnei*, l'envoi de souches est facultatif mais le signalement reste essentiel à la surveillance. Pour cela, merci de nous envoyer la feuille d'information ci jointe et l'antibiogramme par fax ou courrier.

Restant à votre disposition pour tous renseignements complémentaires.

Cordialement

25-28, Rue du Docteur Roux - 75724 Paris Cedex 15

Téléphone secrétariat : +33 (0)1 45 68 83 39 - Téléphone responsable : +33 (0)1 45 68 83 45 - Télécopie : +33 (0)1 45 68 88 37

Droit d'accès et de rectification auprès du Centre National de Référence, loi du 06 janvier 1978

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

## Annexe 3 :

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

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli</i> - <i>Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. Lalande	1	BOURG EN BRESSE				5			
L.D.A. de l'Ain-Cenord	1	BOURG EN BRESSE		1		3			
C.H. du Haut Bugey	1	OYONNAX		4					1
C.H. de Chateau-Thierry	2	CHATEAU-THIERRY		1					1
C.H. de Laon	2	LAON						1	2
L.A.M. Pokorny	2	SAINT QUENTIN	1						
C.H. de Saint-Quentin	2	SAINT-QUENTIN				1			
L.A.M. Saint-Jacques	3	MONTLUCON				3			
L.A.M. Maymat	3	MOULINS		1			1		
L.A.M. Recoules-Andrianony	3	MOULINS		1	2				
C.H. de Vichy	3	VICHY				1			
L.A.M. de La CCAS	4	MANOSQUE			1	1			
L.A.M. Peretti	4	MANOSQUE			1	1			
L.A.M. Durance	4	ORAISON			1				
C.H. G.de Briançon	5	BRIANCON		3					
C.H. de Gap	5	GAP		1					
L.A.M. Chicas	5	GAP		1					
C.H. d'Antibes-Juan-Les-Pins	6	ANTIBES		8		1	2		1
L.A.M. Mannant-Beyrac	6	BEAUSOLEIL		1			2		
C.H.G. de Grasse	6	GRASSE				1			
L.A.M. Pastorello	6	MOUANS-SARTOUX		2		2			
C.H. Fondation LENVAL	6	NICE		1		2			5
C.H.U. de l'Archet	6	NICE		2		3		6	
L.A.M. March	6	NICE		1					
L.A.M. Megdad	6	SAINT-LAURENT DU VAR				1			
C.H. d'Annonay	7	ANNONAY				1			
L.A.M. Forestier	7	ANNONAY		2					
C.H.G. de Charleville	8	CHARLEVILLE-MEZIERES				1			
L.A.M. Salvini	8	CHARLEVILLE-MEZIERES				1			
L.A.M. Voirin	8	CHARLEVILLE-MEZIERES				1			
L.A.M. De Verbizier Barrau	9	SAINT GIRONS							1
L.A.M. de la Gare /Pouillot-Préau	10	ROMILLY-SUR-SEINE		6					
C.H. de Troyes	10	TROYES			1	1			1
L.A.M. Piquemal	10	TROYES				1			
L.A.M. Manton-Marty	11	CASTELNAUDARY		1					
L.A.M. Perucho	11	LEZIGNAN-CORBIERES				2			
Centre de Biologie Médicale	11	NARBONNE		1					

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
C.H. de Rodez	12	RODEZ		2		1			1
C.H.G. de Villefranche	12	VILLEFRANCHE-DE-ROUERGUE	1			1			
C.H.G. d'Aix-en-Provence	13	AIX-EN-PROVENCE				2			
C.H.G. d'Arles	13	ARLES	1						
C.H.G. Joseph Imbert	13	ARLES				1			
C.H.G. d'Aubagne	13	AUBAGNE			1				
L.A.M. La Destrousse	13	LA DRESTROUSSE						1	
C.H. Nord	13	MARSEILLE						6	
C.H. de la Timone	13	MARSEILLE		1				5	
C.H. Saint-Joseph Fondation	13	MARSEILLE		10					
L.A.M. Mespiedre	13	MARSEILLE		2					
Centre de Biologie Médicale	13	SALON-DE-PROVENCE				2			
L.A.M. Dulière	13	SENAS	1						
L.A.M. Mersali	13	SEPTEMES-LES-VALLONS				1			
L.A.M. de Welle	13	VELAUX			1				
C.H. du Bessin	14	BAYEUX				1			
C.H.R.U. de Caen	14	CAEN	1	1		3	3	12	6
Groupement Biologique des Carnes	14	CARMES						1	
L.A.M. Colin-Ducluzeau /Databio	14	DEAUVILLE		2		1			
L.A.M. Lexobio/Sébé-Visseaux	14	LISIEUX		1		2			
L.A.M. Charbonnier-Rougery-Roche-Serres	15	AURILLAC				1			
L.A.M. C.J. BIO	16	COGNAC		11		2		1	
C.H. d'Angouleme, Girac	16	SAINT MICHEL		1		1			
L.A.M. Boyer-Couprrie	17	JONZAC		1					
C.H. de la Rochelle Saint-Louis	17	LA ROCHELLE		1		1			2
L.A.M. Prouteau-Dugaz	17	LA ROCHELLE	1						
C.H. de Rochefort sur mer	17	ROCHEFORT SUR MER							1
L.A.M. GCS Saintonge	17	SAINTES		1					
L.A.M. des Verdins	18	SAINT DOULCHARD							1
L.A.M. Leymarie-Labro-Chambon	19	BRIVE-LA-GAILLARDE				1			
L.A.M. Galtier	19	TULLE				1			
C.H. d'Ajaccio	20A	AJACCIO	1						
Laboratoire Departemental d'Analyses	20A	AJACCIO		2					
L.A.M. Ospédale	20A	PORTO-VECCHIO				1	1		
C.H.G. Bastia	20B	BASTIA		1					
C.H. de Beaune	21	BEAUNE		1					
L.A.M. Breuillot	21	BEAUNE				1			
C.H.R.U. du Bocage	21	DIJON		2					

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. Analabo	21	DIJON	1			1			
L.A.M. Augey	21	IS SUR TILLE		12	1		1		
L.A.M. du Bief	21	LONGVIC							1
L.A.M. Milliat-Morfaux	21	QUETIGNY		2					
C.H. Robert Morlevat	21	SEMUR-EN-AUXOIS				2			
L.A.M. Goelab	22	ETABLES-SUR-MER		2					
C.H. de Lannion	22	LANNION		1					
L.A.M. Rebour-Jezequel	22	LANNION				1			
L.A.M. Morvan-Auffret-Mascart	22	LOUDEAC				2			
L.A.M. Papin Gonzalez	22	QUEVERT	1						
C.H. de Saint-Brieuc "Yves Le Foll"	22	SAINT BRIEUC				2	1	6	2
L.A.M. Banctel-Kerlab	22	SAINT-BRIEUC				1			
C.H.G. de Périgueux	24	PERIGUEUX				2			
L.A.M. Banel	25	BAUME-LES-DAMES		1					
C.H.U de BESANCON Jean Minjoz	25	BESANCON		1				11	
L.A.M. de Montjoux	25	BESANCON				1			
L.A.M. Mougin	25	ECOLE VALENTIN				1			
C.H. A. Bouilloche	25	MONTBELIARD							3
L.A.M. du Près de la Rose	25	MONTBELIARD				1			
C.H. de Pontarlier	25	PONTARLIER							1
L.A.M. Millon	25	PONTARLIER			1				
L.A.M. Mathieu-Arnuti	26	CREST		2					
C.H. de Montélimar	26	MONTELMAR				3			
L.A.M. Unibio	26	ROMANS				2			
C.H. de Valence	26	VALENCE		1					
L.A.M. Gachet	26	VALENCE		1					
C.H.G. Saint-Louis	27	EVREUX		4					
C.H.G. de Gisors	27	GISORS		1					
L.A.M. Crouzet	27	LES ANDELYS				1			
L.A.M. Rivemale	27	VERNEUIL-SUR-AVRE		1					
C.H. DE CHARTRES	28	CHARTRES	1			1			
Centre de Biologie Médicale	28	CHARTRES				1			
C.H.G. de Dreux	28	DREUX				1			
L.A.M. Chauvin	28	EPERNON		1		1			
L.A.M. Girard	28	LUISANT				2			
L.A.M. Fradet	28	SAINT-LUBIN-DES-JONCHERETS		3					
C.H.U. de Brest	29	BREST		1			1	3	
L.A.M. Floch-Monard	29	BREST		1		1			
L.A.M. Verdier	29	BREST				2			
C.H.I. des Armées "Clermont-Tonnerre"	29	BREST NAVAL	1	1	1	1			
L.A.M. Gaudron	29	CARHAIX-PLOUGUER				2			

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. Yannic-Potard	29	LANDIVISIAU				1			
C.H.G. de Morlaix	29	MORLAIX				1	1		
C.H. d'Alès-en-Cévennes	30	ALES-EN-CEVENNES				2			
C.H.G. Louis Pasteur	30	BAGNOLS-SUR-CEZE		2					
L.A.M. Feuchères /Orcel-Pinodel	30	NIMES				1			
L.A.M. Hoyet-Zaranis	30	NIMES			1				
L.A.M. J. Jaures /Bobin-Cabrol	30	NIMES		1					
L.A.M. Sargues-Ricard	30	SAINT-GILLES				1			
L.A.M. Galtier-Pages	30	ST HIPPOLYTE DU FORT		7	3				
L.A.M. d'Astie	31	AUCAMVILLE		1					
L.A.M. Dinnat-Courtiols	31	AUTERIVE				1			
ADR BIO	31	BLAGNAC							1
L.A.M. Biomedica	31	CAZERES				1			
L.A.M. BIO 4	31	GRENADE-SUR-GARONNE	1						
L.A.M. Bio-Pôle Labège	31	LABEGE				1			
L.A.M. Pechmej	31	LUNION				1			
L.A.M. du C.M.B. de Muret	31	MURET				1			
L.A.M. Astie	31	SAINT-ALBAN		1					
L.A.M. Larrard	31	SAINT-GAUDENS				2			
L.A.M. Mulet	31	SAINT-JEAN		1					
C.H. Joseph Ducuing	31	TOULOUSE				1			
C.H.U. institut federatif de biologie	31	TOULOUSE						1	
C.H.U. Purpan	31	TOULOUSE	1			9		1	5
L.A.M. de la terrasse / Schmitt	31	TOULOUSE				1			
SCP Montagut/ Clinique St . Jean	31	TOULOUSE			1				
SELARL CEDIBIO	31	TOULOUSE							1
L.A.M. Ferrandery	31	TOURNEFEUILLE				3			
L.A.M. Chastaing	31	VILLEFRANCHE-DE-LAURAGAIS				2			
L.A.M. Froment Fernandez Clos Manescau	32	AUCH	1						1
L.A.M. Sel Anabio Pasquier	33	BLANQUEFORT						1	
C.H.R. Pellegrin	33	BORDEAUX				3	2	18	2
L.A.M. Exalab	33	BORDEAUX	2			2			
L.A.M. Taupin	33	BORDEAUX				1			
L.A.M. Selarl La Bonnaly	33	CAVIGNAC		4					
L.A.M. Bats-Subra	33	FLOIRAC				1			
C.H. Pasteur	33	LANGON				1			
L.A.M. Bouin-Latournerie	33	LANGON	1						
L.A.M. S. Sicard	33	LANGON				2			
L.A.B.M. Beau-Bouchareinc	33	LATRESNE				1			
C.H.G. Robert-Boulin	33	LIBOURNE				2			
L.A.M Mazzini	33	PAUILLAC							2

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. du Cheval Blanc/diallo	33	SAINT-ANDRE-DE-CUBZAC		1					
L.A.M. Guinaudie	33	SAINT-ANDRE-DE-CUBZAC		1					
L.A.M. Analabo - Maffre	33	TALENCE				1			
C.H.I.A. Robert Picqué	33	VILLENAVE DORNON		1					
L.A.M. M.Amat - P.Dumas	33	VILLENAVE DORNON - CHAMBERY				2			
L.A.M. Bouvier-Berthet	34	AGDE				1			
L.A.M. Pages	34	GANGES		2					
L.A.M. Ferrer-Bergogne	34	LE CRES		1					
C.H.U. Arnaud de Villeneuve	34	MONTPELLIER		4				8	
Clinique Saint-Roch	34	MONTPELLIER		1	1				
L.A.M. Illes	34	MONTPELLIER				1			
L.A.M. Lagarde-Balbi	34	PEROLS				1			
L.A.M. Godin	35	BETTON	1			2			
L.A.M. Delépine	35	LA GUERCHE-DE-BRETAGNE				1			
L.A.M. Galmiche	35	LE RHEU				2			
L.A.M. Decraene	35	PACE		1		1			
C.H.R. Sud de Rennes	35	RENNES		2		1		18	
L.A.M. Coatenlem / Harichaux	35	RENNES		1					
L.A.M. Delanoe, wen goureau, mesnard Yven-Combeau St Laurent	35	RENNES	1	1		1			3
L.A.M. Hérisset/Villejean Selarl	35	RENNES				2			
L.A.M. Olympiades	35	RENNES							1
C.H. de Saint Malo-Dr. Voisine	35	SAINT-MALO				1			
L.A.M. Legarrec-Lepesant-Rochard	35	VITRE		6					
L.A.M. Camenen-Jamet	36	CHATEAUROUX				1			
L.A.M. Cazala	36	CHATEAUROUX				1			
L.A.M. Opsomer-Périgois	36	LE BLANC		1					
C.H.I. Amboise et Château Renault	37	AMBOISE							1
L.A.M. Roger	37	CHAMBRAY-LES-TOURS				1			
L.A.M. Cadol-Blanchecotte	37	JOUE LES TOURS		1					
L.A.M. Poireau	37	SAINTE-MAURE-DE-TOURAIN		1					
C.H.R. Gatien-de-Clocheville	37	TOURS						1	
C.H.U. Bretonneau	37	TOURS		2		2	3	4	1
C.H.R.U. Trousseau	37	TOURS / CHAMBRAY LES TOURS				1		3	
C.H. Pierre Oudot	38	BOURGOIN-JALLIEU				1			
C.H.R.U. de Grenoble	38	GRENOBLE		5		7	1	6	1

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. Des Eaux Claires	38	GRENOBLE				1			
L.A.M. Biomerieux	38	LA BALME LES GROTTES		2		1			
L.A.M. du Drac/Revol	38	LE PONT-DE-CLAY		1					
L.A.M. Moirans	38	MOIRANS		1					
C.H.G. de Voiron	38	VOIRON				1			
L.A.M. Centre de Biologie	39	LONS-LE-SAUNIER				1			
C.H. Louis Jaillon	39	SAINT CLAUDE							4
L.A.M. Mauries-Sarrazin	40	CAPBRETON		2	1				
C.H. de Mont de Marsan /Layne	40	MONT DE MARSAN			1	1			4
L.A.M. Micots	40	SOUSTONS		2					
C.H.G. de Blois	41	BLOIS						2	
L.A.M. Gourdet	41	LA CHAUSSEE ST-VICTOR	1						
L.A.M. Georget-Durand	41	SAINT AIGNAN				1			
L.A.M. Des Bords Du Loir	41	VENDOME				1			1
C.H.G. de Roanne	42	ROANNE		2				3	
L.A.M. Seneterre Quaglia, Carret	42	SAINT CHAMOND	1						2
C.H.U. Nord-St Etienne	42	SAINT-ETIENNE	1			1		1	2
C.H. Emile Roux	43	LE PUY EN VELAY				1			1
L.A.M. d'Ancenis/Selarl Isosel	44	ANCENIS	2			1			
L.A.M. Attiogbe-Hue-Seon	44	BOUGUENAI				1			
Labo Biomedilam	44	CHATEAUBRIANT				1			
L.A.M. Birgand-Priet	44	CLISSON			1				
L.A.M. Grandjean/Brousse	44	LE LOROUX-BOTTEREAU		4					
C.H.U. de Nantes	44	NANTES		3	1	11		15	
CBMS	44	NANTES	2			2			1
L.A.M. Joudon-Quinton	44	NANTES				1			
L.A.M. Ruffin	44	NANTES	1						
L.A.M. Legrand	44	PORNICHET				3			
L.A.M. Tharreau-Caudal	44	REZE	1	4		2			1
BIOLAM	44	SAINT NAZAIRE							1
C.H. Saint Nazaire	44	SAINT NAZAIRE				1		1	1
L.A.M. Biolam/Lièvre	44	SAINT-NAZAIRE				1			
L.A.M. Thomas	44	SAVENAY		1					
C.H. de l'Agglomération Montargeoise	45	AMILLY				1			
L.A.M. Petat	45	BELLEGARDE			1				
C.H. Dezarnaulds	45	GIEN						1	
L.A.M. Serin	45	LA FERTE-SAINT-AUBIN				2			
C.H.R. d'Orléans /de la source	45	ORLEANS		3		1		2	4
L.A.M. De La Source	45	ORLEANS				1			
L.A.M. Desson	45	ORLEANS				5			
C.H.G. de Pithiviers	45	PITHIVIERS		5		1			

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. St-Jean de la Ruelle	45	SAINT-JEAN-DE-LA-RUELLE		1					
C.H. de Cahors	46	CAHORS						1	1
C.H. d'Agen	47	AGEN				1			
C.H. de Saint-Cyr	47	VILLENEUVE-SUR-LOT				2			1
C.H. de Mende	48	MENDE				1			
C.H.U. d'Angers	49	ANGERS		1	1			2	
L.A.M. Benoiton-Gourraud	49	CHOLET				2			
L.A.M. Tharreau	49	SEGRE				2			
C.H. d'Avranches-Granville	50	AVRANCHES/GRANVILLE		2				3	
C.H. Louis Pasteur	50	CHERBOURG		1		1			
L.A.M. du Val de Saire	50	CHERBOURG				1			
L.A.M. Saudin-Allard	50	CHERBOURG				1			
Centre Hospitalier Public du Cotentin	50	CHERBOURG-OCTEVILLE						1	1
L.A.M. Laforest	50	COUTANCES				1			
L.A.M. Chantereyne	50	EQUEURDREVILLE	1						
L.A.M. Saudin-Aubert	50	EQUEURDREVILLE		1					
SELARL BIOCENTRE MANCHE	50	SAINT LÔ							1
C.H. Mémorial France-Etats Unis	50	SAINT-LO				1			
L.A.M. de Saint-Lô	50	SAINT-LO				1			
L.A.M. Mouchel-Meingan	50	TOURLAVILLE		1					
L.A.M. Chambrin-TeXier	50	VALOGNES				2			
C.H.G. Auban-Moët	51	EPERNAY				1			
C.H.U. REIMS-Hôpital Robert DEBRE	51	REIMS				1		28	1
L.A.M. Gillard	51	REIMS				3			
C.H.G. de Saint-Dizier	52	SAINT-DIZIER				1			
L.A.M. Berthelot-Nourry/Bio Santé	52	SAINT-GEOSMES		3		2			
C.H. de Laval	53	LAVAL	2	3				1	
L.A.M. Biolaris	53	LAVAL		1					
C.H.G. Maillot	54	BRIEY							1
C.H.U. de Nancy	54	NANCY		1		5		20	5
C.H. de Pont-à-Mousson	54	PONT-A-MOUSSON						1	
C.H.R.U. de NANCY BRABOIS	54	VANDOEUVRE LES NANCY						1	
C.H. de VERDUN	55	VERDUN						1	
C.H. de Bretagne Sud	56	LORIENT							3
S.C.P. Bonnici Mendes Pouget	56	MONTAIGU							1
L.A.M. Subilleau-Fontaines-James-Fontenelle	56	PLOERMEL		12					
L.A.M Pessel	56	PONTIVY							1
L.A.M Le Roux Barreteau	56	QUEVEN				1			1

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. Goussé-Péron	56	RIANTEC		1					
C.H. Bretagne Atlantique	56	VANNES		1					
C.H. Sainte-Barbe	57	FORBACH				1			
C.H.R. de Metz-Thionville	57	METZ				4		1	4
L.A.M. De La Tannerie	57	METZ		1		1	2		
L.A.M. Pax	57	METZ						2	
C.H.I. des Armées Legouest	57	METZ ARMEES				1			
C.H.G. Saint Nicolas	57	SARREBOURG							2
L.A.M. Argenson-de Monchy / Albert 1er	57	THONVILLE	2			1			
C.H. P. Beregovoy	58	NEVERS							1
L.A.M. Ferrand	58	NEVERS				1			
LABM KUPERWASER-HACOT	59	ARMENTIERES						1	
L.A.M. Rouimi, SERLARL SYMBIO	59	DENAIN							1
C.H. de Douai	59	DOUAI	1						1
C.H. de Dunkerque	59	DUNKERQUE				4			1
L.A.M. Le Guilette	59	DUNKERQUE				1			
L.A.M. Lavieville-Coppé-De Bisschop/ Biopath	59	GRAVELINES		21	1				
L.A.M. Buret	59	HALLUIN				1			
C.H.R.U. Albert Calmette	59	LILLE				1		3	
C.H.R.U. de Lille Roger Salengro	59	LILLE						1	
C.H.R.U. Hôpital Jeanne Flandre	59	LILLE						5	
CHR Hopital de Cardiologie	59	LILLE						2	
Institut Pasteur de Lille	59	LILLE						14	
L.A.M. Biolille	59	LILLE					2		
L.A.M. Moquay	59	LILLE				1			
L.A.M. Demarez	59	LILLE				1			
L.A.M. Daligault - Cordelette /Qualis	59	LILLE FIVES		3	1	4			
C.H. saint Philibert	59	LOMME				2			1
C.H. de Sambre Avesnois	59	MAUBEUGE	1						2
L.A.M. Biofrance	59	MAUBEUGE				2			
C.H. Roubaix	59	ROUBAIX						1	
C.H. de Tourcoing Gustave Dron	59	TOURCOING				6			8
L.A.M Biocentre	59	TOURCOING				7			6
C.H. de Valenciennes	59	VALENCIENNES		5					
Polyclinique VAUBAN	59	VALENCIENNES						1	
C.H. Beauvais	60	BEAUVAIS	2			3			1
L.A.M. Ferrandier-Cazeaud	60	BEAUVAIS				1			
L.A.M. Mesnard	60	BEAUVAIS	1						
C.H.G. de Compiègne	60	COMPIEGNE						2	
C.H. Creil	60	CREIL		6					

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. Oise Picardie	60	SAINT JUST EN CHAUSSEE							1
C.H. de Senlis	60	SENLIS				1			
C.H. d'Alençon	61	ALENCON		2		1			
L.A.M. Moulin-Huart	61	LAIGLE		1		2			
C.H. d'Arras	62	ARRAS		1					
LABM SAINTE CROIX	62	ARRAS						1	
L.A.M. De Bisschop	62	BAPAUME			1				
L.A.M. Bio Artois	62	BARLIN				1			
C.H. de BETHUNE	62	BETHUNE						1	1
C.H. Duchene	62	BOULOGNE-SUR-MER		3					
L.A.M. Fermon-Lafitte /Calais Nord biopath	62	CALAIS		11					
L.A.M. Polyclinique de Riaumont	62	LIEVIN		3					
LABM MORIAMEZ	62	OIGNIES						1	
L.A.M. du Centre Hospitalier de	62	RANG-DU-FLIERS				1			
L.A.M Allard	62	SAINT POL SUR TERNOISE				3			2
C.H.U. Gabriel Montpied	63	CLERMONT-FERRAND		2				9	6
L.A.M. Darrasse	64	BIARRITZ		1					
L.A.M. Biopole	64	BILLERE	1						
Riera-Puyade	64	MOURENX				1			
C.H. d'Orthez	64	ORTHEZ				1			
C.H.G. de Pau	64	PAU				1			1
L.A.M. Daubin	66	CABESTANY		2					
SEL BIOPOLE 66 MEDIPOLE	66	CABESTANY							1
L.A.M. Mouliade-Pasquie	66	CANET EN ROUSSILLON /CANET-PLAGE		3					
C.H.G. Saint Jean Rousillon /Maréchal-Joffre	66	PERPIGNAN	1			4			1
L.A.M. Thule/Lheraud	66	THUIR				1			
L.A.M. Juan	66	TOULOUGES		1					
L.A.M. de la Redoute	67	HAGUENEAU	1			1			
L.A.M. du Centre Schiltigheim	67	SCHILTIGHEIM				1			
C.H.G. de Sélestat	67	SELESTAT				1			
L.A.M. Sainte-Barbe/Sel Biocentra	67	SELESTAT		2		3	1		
C.H.U. de Strasbourg	67	STRASBOURG				3		1	
Faculté de Médecine	67	STRASBOURG	1			5			
L.A.M. Schuh-Ebla/Biosphère SELARL BIO 67	67	STRASBOURG		1		14			9
C.H.G. de Wissembourg	67	WISSEMBOURG						2	
L.A.M. Saint-Morand	68	ALTKIRSH				2			
L.A.M. Monnier	68	CERNAY		1					

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. Eimer	68	COLMAR		1					
L.A.M. Lenys	68	COLMAR				1			
L.A.M. du Vignoble	68	KAYSERSBERG		1		2			
L.A.M. Fondation du Diaconat	68	MULHOUSE							1
L.A.M. de la Vallée biocentra / Raeis	68	MUNSTER		1		4			
L.A.M. des Menetriers /Lenys-Matter-Monsch	68	RIBEAUVILLE		1					
LAM CAB Ménétriers	68	RIBEAUVILLE					1		
L.A.M. Saint-Thiébaud	68	THANN			2				
C.H.S. Le Vinatier	69	BRON		2					
Groupement Hospitalier Est	69	BRON				3		17	4
C.H. Edouard-Herriot	69	LYON						2	
C.H. La Croix Rousse	69	LYON		2		2			2
C.H. St-Joseph St- Luc	69	LYON				2			
C.H.I.A. Desgenettes	69	LYON		2					1
Clinique Mutualiste E.André	69	LYON	1						
L.A.M. Biomnis	69	LYON	2	14	1	36		3	
L.A.M. Croix-Rousse / Dynabio / Milleret-Bersten	69	LYON	2			3			
L.A.M. de Mont Chat	69	LYON							1
L.A.M. Lumière/Rousille-Le Meur	69	LYON				1			
L.A.M. Cornet-Dumont	69	MORNANT		3	1				
L.A.M. Ingels-Vignon	69	VILLEFRANCHE-SUR-SAONE				1			
L.A.M. Didier	69	VILLEURBANNE		2					
L.A.M. Tonkin	69	VILLEURBANNE				1			
L.A.M. Roussel Marie	70	DAMPIERRE SUR SALON		8					
L.A.M. Benlarbi	70	HERICOURT				1			
L.A.M. Lab 70	70	VESOUL				1			
L.A.M. Leclerc	70	VESOUL				1			
C.H. William Morey	71	CHALON-SUR-SAONE				1			
L.A.M. Boucicaud	71	CHALON-SUR-SAONE				1			
L.A.M. Carron	71	MONTCEAU				1			
C.H. de Montceau-les-Mines /Jean-Bouveri	71	MONTCEAU-LES-MINES		2					1
L.A.M. Jorion	71	PARAY-LE-MONIAL		10					
L.A.M. Le Moing-Bondu	72	ALLONNES		9	2	2			
C.H. du Mans	72	LE MANS				3			
L.A.M. du Biomaine/Sigogneau	72	LE MANS		10		2			
L.A.M. Maine Biologie/ Mahé-Meziani	72	LE MANS		5		3			
L.A.M. Motheron-Thomas	72	SAINT-CALAIS	1						
L.A.M. Duffournet-Suermond	73	BOUG-ST-MAURICE	1						

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
C.H. de Chambéry	73	CHAMBERY		2		5		2	
L.A.M. du Grand Verger	73	CHAMBERY		1					
L.A.M. Nivolet/Meunier	73	CHAMBERY				2			
L.A.M. de Cognin/Monteil	73	COGNIN				1			
L.A.M. Bravais	73	LA MOTTE-SERVOLEX				3			
C.H.I. d'Annemasse-Bonneville	74	AMBILLY				2		1	3
C.H. d'Annecy	74	ANNECY /PRINGY		1		2		1	
L.A.M. Michel	74	CHAMONIX		1					
L.A.M. Louveau	74	CLUSES		4					
C.H.I Sud Lemans Valserine	74	SAINT JULIEN EN GENEVOIS							1
C.H. de Sallanches	74	SALLANCHES							1
C.H. du Léman	74	THONON LES BAINS				4		1	2
L.A.M. Bore-Guillin	74	THONON-LES-BAINS		6	1	1			
BIONORD	75	PARIS							1
C.H. Cochin-St-Vincent de Paul	75	PARIS				1			3
C.H. de la Croix-Saint-Simon	75	PARIS				1			
C.H. d'Enfants Armand Trousseau	75	PARIS						7	1
C.H. Européen Georges Pompidou	75	PARIS		1		5		1	
C.H. Lariboisière	75	PARIS				2			
C.H. Léopold Bellan	75	PARIS				1			
C.H. Necker - Enfants Malades	75	PARIS		1		3		11	
C.H. Pitié-Salpêtrière	75	PARIS				11		1	4
C.H. Robert Debré	75	PARIS				5		25	4
C.H. Saint-Antoine	75	PARIS				1		1	
C.H. Sainte-Anne	75	PARIS				1			
C.H. Saint-Michel	75	PARIS				1			
C.H. St-Joseph	75	PARIS				1			
C.H. Tenon	75	PARIS		1		5	2	1	3
C.H.I.A. du Val-de-Grace	75	PARIS		1				1	
C.H.U. Bichat-Cl. Bernard	75	PARIS							1
Centre Biologique Tolbiac	75	PARIS	1		1	2			
Centre Médical Europe	75	PARIS				1			
Institut Alfred Fournier	75	PARIS	1	1		3			
Institut Pasteur	75	PARIS	3			22			
L.A.M. ANA 17 /La Fourche	75	PARIS	1						
L.A.M. Attali	75	PARIS				1			
L.A.M. Benassaya	75	PARIS				3			
L.A.M. Bercy-Dugommier	75	PARIS			1				
L.A.M. Bernard	75	PARIS				1			
L.A.M. Bio Horizon	75	PARIS				8			
L.A.M. Bionord	75	PARIS	1						

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. Buzenval	75	PARIS		1					
L.A.M. Cosem	75	PARIS				3			
L.A.M. Daumesnil /Badré	75	PARIS				2			
L.A.M. de la Croix Nivert	75	PARIS				1			
L.A.M. de la Scala	75	PARIS						1	
L.A.M. Drouot	75	PARIS				2			
L.A.M. du CMETE	75	PARIS				2			
L.A.M. du Parc Monceau	75	PARIS				1			
L.A.M. Gascon	75	PARIS			1			1	
L.A.M. Gendrault-Mancy-Tallobre	75	PARIS		1		2			
L.A.M. Guirao-Devilaine	75	PARIS				2			
L.A.M. Henri IV	75	PARIS		1					
L.A.M. Jouve	75	PARIS		2					
L.A.M. Nation	75	PARIS	1	1					
L.A.M. Richelieu	75	PARIS				1			
L.A.M. Samama / Max Dormoy	75	PARIS	1						
L.A.M. Timsit-Berthellier	75	PARIS				1			
L.A.M. Vaugirard/Lokiec-Zérah	75	PARIS				1			
L.A.M. Vauvenargues	75	PARIS				1			
L.A.M. XV	75	PARIS		1					
SELAS BIOLOGIA	75	PARIS				1			
L.A.M. Leroy	76	BOLBEC		1		1			
L.A.M. Solabio	76	BOOS				1			
L.A.M. Betton	76	CANTELEU				1			
L.A.M. Goument	76	DARNETAL		1					
C.H.G. de Dieppe	76	DIEPPE		12	1			1	
C.H.I. Elbeuf/Louvier/Val-de-Reuil	76	ELBEUF				2			
L.A.M.Huet-Seguïn-Guyommard-Pépin	76	FECAMP		1					
L.A.M. Defrance	76	FORGES LES EAUX		1					
L.A.M. La Hêtraie	76	LE HAVRE				1			
L.A.M. Selarl Solabio/Boudhabhay	76	LILLEBONNE	1						
LABM DELAUNE	76	MONT ST AIGNAN					1		
L.A.M. Lemercier-Salomon-Volle	76	MONTVILLE		3	2				
C.H.G. Jacques Monod	76	MONTVILLIERS						1	
C.H.R.U. de Rouen Charles-Nicolle	76	ROUEN	1	2		3		12	2
L.A.M. clinique Mathilde/Sel Bioseine	76	ROUEN	1			3			
L.A.M. du Châtelet / des 2 rives	76	ROUEN	1						
L.A.M. Héraud	76	ROUEN				1			

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. Boyer	76	SAINT ETIENNE DU ROUVRAY	1			1			1
L.A.M. Saal	77	CHELLES	1			1			
L.A.M. SCP RUSE	77	CHELLES						1	
Laboratoire du Centre	77	COULOMMIERS		1					
L.A.M. BIO 2000	77	DAMMARTIN-EN-GOELE				1			
L.A.M. du Centre Médical	77	FEROLLES-ATTILLY				1			
C.H.G. Fontainebleau	77	FONTAINEBLEAU				2	3	1	2
C.H.G. de Lagny	77	LAGNY-SUR-MARNE				2			
L.A.M. Kinix	77	LE MEE-SUR-SEINE		1					
L.A.M. Pauc	77	LOGNES				1			
C.H. de Melun Marc-Jacquet	77	MELUN		1		3			1
L.A.M. Medibio 45/ Damonville	77	MELUN		6		1			
C.H. de Montereau	77	MONTEREAU							1
C.H. de Nemours	77	NEMOURS		1					
L.A.M. Bonheure	77	NEMOURS							2
L.A.M. Zanderman	77	OZOIR-LA-FERRIERRE	1	1					
L.A.M. BioPath	77	PONTAULT-COMBAULT				1			
C.H.G. Léon Binet	77	PROVINS				1			
L.A.M. du Centre/Nozach	77	SAINT-GERMAIN-SUR-MORIN				2		1	
L.A.M. du Centre	77	TOURNAN EN BRIE				2			
L.A.M./Selarl d'Armainvilliers	77	TOURNAN-EN-BRIE				1			
L.A.M. BIO VSM	77	VAIRES SUR MARNE							1
L.A.M. d'Andresy	78	ANDRESY				2			
L.A.M. Matthieu	78	CONFLANS-SAINTE-HONORINE				1			
L.A.M. Guyancourt Villaroy	78	GUYANCOURT		2		1			
L.A.M. Sainte Beuve	78	GUYANCOURT		2	1	1			
L.A.M. Carnot	78	HOUILLES				1			
L.A.M. la Caravelle	78	LA CELLE-SAINT-CLOUD	1	3		1			
C.H.G. André Mignot de Versailles	78	LE CHESNAY				2			1
L.A.M. Betray	78	LES MUREAUX		1					
L.A.M. Le Manach	78	MAGNY-LES-HAMEAUX		1	1	2	1		
C.H. F. Quesnay	78	MANTES LA JOLIE							1
L.A.M. Dalbis	78	MANTES-LA-JOLIE				1			
L.A.M. Moisset	78	NEAUPHLE-LE-CHATEAU		2	1				
L.A.M. Mathonnet	78	NOISY LE ROI	1	1		1	1		
C.H. Poissy St Germain	78	POISSY				1		1	1
L.A.M. Poissy Centre	78	POISSY						1	
C.H. de Rambouillet	78	RAMBOUILLET				1			

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. Kessous-Thenault	78	RAMBOUILLET						1	
C.H.G. de Saint-Germain-en-Laye	78	SAINT-GERMAIN-EN-LAYE						1	
L.A.M. Marie-Thérèse/Lalanne	78	SAINT-GERMAIN-EN-LAYE				2			
L.A.M. Chau	78	SARTROUVILLE				1			
L.A.M. Lucas	78	SARTROUVILLE		1		2			
L.A.M. Guittet-Courdesses	78	TRAPPES				1			
L.A.M. Guy	78	TRAPPES				1			
L.A.M. de Vélizy	78	VELIZY-VILLACOUBLAY		1				2	
L.A.M. Faure-Nalpas	78	VERNOUILLET				1			
L.A.M. Alpha	78	VERSAILLES				1			
L.A.M. Pimpin-Delage	78	VERSAILLES		3		3			1
Labo des Chantiers Franciscaines	78	VERSAILLES		1					
L.A.M. Delamare	78	VILLEPREUX		3					
C.H. de Niort	79	NIORT		1		1			2
L.A.M. Bottos, Micheau, Lelong	79	NIORT			1				1
L.A.M. Mornet	79	NIORT	1			1			
L.A.M. Jamet-Laborde	79	THOUARS		1					
C.H.R.U. Nord	80	AMIENS						10	
L.A.M. Cointe	80	AMIENS				1			
L.A.M. du Beffroi	80	AMIENS		1					
L.A.M. Montieres	80	AMIENS		1					
L.A.M. Saint-Acheul	80	AMIENS				2			
L.A.M. du Doullennais/Selarl	80	DOULLENS		3					
L.A.M. Plouviez	80	NOUVION EN PONTHEU		1					
C.H.G. d'Albi	81	ALBI							2
L.A.M. Almayrac-Delhoume	81	ALBI				1			
L.A.M. Selarl Caramel/Biolab 81	81	ALBI				1			
C.H. de Lavaur	81	LAVAU				1			
L.A.M. Moussali	81	LAVAU				1			
L.A.M. Puech	81	MAZAMET				1			
L.A.M. Henryon-Lecat	82	MOISSAC				2			
C.H.G. Jean Marcel	83	BRIGNOLES				2			
C.H. de Draguignan	83	DRAGUIGNAN				1		1	
L.A.M. Zanchi	83	FAYENCE		1					
C.H.I. de Fréjus-Saint-Raphaël	83	FREJUS				1			
LABM GOUBRON BLANC CHARMASSON GRUEZ	83	LA GARDE						1	
L.A.M. "Les Mûriers"	83	LA VALETTE DU VAR				4			
L.A.M. Benaich-Pidoux	83	SAINT-RAPHAEL				1			
L.A.M. des Lices	83	SAINT-TROPEZ	2						

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. Selarl Soclam	83	SIX-FOURS-LES-PLAGES			1				
C.H.I. Toulon-La Seyne/Mer	83	TOULON						1	
L.A.M. Aubert-Verneuil	84	APT						1	
C.H. Henri Duffaut	84	AVIGNON		2		2			4
L.A.M. Larrousse-Bret	84	JONQUIERES		1					
L.A.M. Garcin	84	LE THOR		1			1		
L.A.M. Del Puech	84	SORGUES		1					
L.A.M. Baudel	85	AIZENAY		1					
C.H.D. de la Vendée	85	LA ROCHE-SUR-YON				1			
L.A.M. Bonnaudet-Saïdi	85	LA ROCHE-SUR-YON				1			
L.A.M. du coteau /Rochelab	85	LA ROCHE-SUR-YON				1			
L.A.M. Les Salines	85	LES SABLES-DOLONNE				3			
L.A.M. Bonnici-Pouget-Mendes	85	MONTAIGU		7		1			1
Sans Adresse	85								1
L.A.M. Antoniotti-Aumond	86	LOUDUN	1			1			
C.H.U. de Poitiers	86	POITIERS				2		1	1
L.A.M. Blanchon Lhomme	86	POITIERS							1
C.H.R.U. Dupuytren	87	LIMOGES	1			4		2	1
C.H.G. de Remiremont	88	REMIREMONT		2		2			
L.A.M Legarrec Lepasant Rochard	88	VITRÉ							1
L.A.M. du Parc/Gaultier	88	VITTEL		14					
C.H. d'Auxerre	89	AUXERRE		2		2			
L.A.M. des Clairions /Saint-Antonin	89	AUXERRE				2			
L.A.M. Pleux-Simart	89	AUXERRE				1			
C.H. de Sens	89	SENS				1			
SELARL BIOLAB 90	90	BELFORT							1
C.H. d'Arpajon	91	ARPAJON							1
L.A.M. de Breuillet	91	BREUILLET			1				
L.A.M. Guichen	91	CHILLY-MAZARIN		1					
C.H. Dourdan	91	DOURDAN				1		1	
L.A.M. Rivière	91	DRAVEIL							2
BS BIO SELARL	91	EVRY							3
C.H. Louise Michel/Sud Francilien	91	EVRY				6			
L.A.M. Bentz-Perrin	91	EVRY	1						
C.H.G. de Longjumeau	91	LONGJUMEAU		1		5	1		
L.A.M. de l'Yvette	91	LONGJUMEAU				1			1
L.A.M. Hernandez-Morin	91	LONGJUMEAU				1			
L.A.M. Jacques Cartier	91	MASSY				1			
L.A.M. Ayache	91	MONTGERON	1	3		2			
L.A.M. de la République	91	MONTGERON				1			

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
C.H. d'Orsay	91	ORSAY		2					
L.A.M. Galien	91	QUINCY-SOUS-SENART				1			
L.A.M. de Sousa	91	VIRY-CHATILLON		1					
L.A.M du val d'Yerres	91	YERRES							1
L.A.M. Velpeau	92	ANTONY		1		3			
L.A.M. plaisance / Grl bio	92	ASNIERES		3	1	3			
C.H. Ambroise Paré	92	BOULOGNE-BILLANCOURT		5		4			1
L.A.M. du Point du Jour	92	BOULOGNE-BILLANCOURT				2			
C.H. Antoine Béclère	92	CLAMART				1			5
C.H.I. des Armées Percy	92	CLAMART		4			1		
L.A.M. Sandré	92	CLICHY		6		4			
C.H. Louis Mourier	92	COLOMBES				2			3
L.A.M. Français	92	COLOMBES	1			1			
L.A.M. Widmer	92	COLOMBES		4					
L.A.M. Fiévez/Selarl Bio	92	FONTENAY-AUX-ROSES	1					1	
C.H. Raymond Poincaré	92	GARCHES				1		1	1
L.A.M. Centre Municipal de Santé	92	GENNEVILLIERS	1			1			
L.A.M. Destrée/Selarl Bio	92	ISSY-LES-MOULINEAUX				1			
L.A.M. Bio Ouest Lambert	92	LA GARENNE-COLOMBES	1	2		4			
C.H. Notre Dame du Perpétuel Secours	92	LEVALLOIS-PERRET				1			
L.A.M. "Centre Eiffel"	92	LEVALLOIS-PERRET				1			
C.H.S. de Malakoff / Guillon	92	MALAKOFF		1		4			
C.H. de Courbevoie-Neuilly-sur-Seine	92	NEUILLY-SUR-SEINE	1						
L.A.M. Eylau Selas	92	NEUILLY-SUR-SEINE				1			
L.A.M. Lacroix	92	NEUILLY-SUR-SEINE		1					
L.A.M. Papot-Soulard	92	PUTEAUX		2	1	3			
L.A.M. Chabrol / Biosmose	92	RUEIL-MALMAISON				3			1
L.A.M. Biosmose / Thiebaut	92	RUEIL-MALMAISON				1			
L.A.M. Saab /Sel Rueil	92	RUEIL-MALMAISON		3					
C.H. de Saint-Cloud	92	SAINT-CLOUD				1			
L.A.M. Bio Paris Ouest-Labo Foch	92	SEVRES				2			
C.M.C. Foch	92	SURESNES	1						
L.A.M. Chapelle	92	SURESNES				1			
L.A.M. Max Krief	92	VILLENEUVE-LA-GARENNE				1			
L.A.M. des Quatre Chemins	93	AUBERVILLIERS				1			
C.H.I. Robert Ballanger	93	AULNAY SOUS BOIS		1		7			2
L.A.M. de la Gare	93	AULNAY-SOUS-BOIS		1					

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. des Franciliens/ Andiva-Bounhiol	93	AULNAY-SOUS-BOIS		5					
C.H. Avicenne	93	BOBIGNY				1		1	
C.H. Jean Verdier	93	BONDY				6		1	3
L.A.M. de Bondy	93	BONDY		2					
L.A.B.M BUI QUANG	93	EPINAY-SUR-SEINE						1	
L.A.M. des Quatre Routes	93	LA COURNEUVE				2			
L.A.M. Duchenne-Guilngar	93	LES PAVILLONS SOUS BOIS				6			
L.A.M. Elbaz	93	MONTREUIL				2			
C.H.I. André Grégoire	93	MONTREUIL-SOUS-BOIS	1			5	2	2	2
L.A.M. Flammang	93	NEUILLY-PLAISANCE	1	1		1			
L.A.M. Amgar-Calonne	93	ROMAINVILLE		1		2			
L.A.M. Gallieni (Iris)	93	ROSNY-SOUS-BOIS		1		1			
C.H. St Denis	93	SAINT DENIS					1		1
L.A.M. Diai	93	SEVRAN		1					
L.A.M. du Vert-Galant	93	TREMBLAY-EN-FRANCE		1		1			
L.A.M. Biopath bercy	94	CHARENTON-LE-PONT				1			
L.A.M. Cohen-Zaccarini-Hurtel-Mesguich	94	CHARENTON-LE-PONT		4		3			
C.H. Henri Mondor	94	CRETEIL						1	2
L.A.M. Stibbe	94	CRETEIL				2			
L.A.M. Charcot	94	FRESNES		1					
L.A.M. Saget / Le Magnen	94	FRESNES	1						
L.A.M. Freslon	94	IVRY-SUR-SEINE				1			
C.H.U. de Bicêtre	94	LE KREMLIN-BICETRE				2			
L.A.M. Hurtel-Cohen-Zaccarini	94	MAISONS-ALFORT				1			
L.A.M. C de Gaulle	94	NOGENT SUR MARNE							2
L.A.M. Beauhaire-Bienvenu	94	SAINT-MANDE	1			3			
L.A.M. Amsellem/Selarl Bio Epine	94	THIAIS				2			
L.A.M. Belle Epine	94	THIAIS	2			1			
L.A.M. Bertrand	94	VILLECRESNES	1			1			
C.H.I. de Villeneuve-Saint-Georges	94	VILLENEUVE-SAINT-GEORGES			1	1			1
L.A.M. Caillault	94	VILLENEUVE-SAINT-GEORGES				1			
L.A.M. Daudin, Anaval-Vincennes	94	VINCENNES				1			
L.A.M. de la Mairie / Kirren	94	VINCENNES				1			
C.H. Victor Dupouy	95	ARGENTEUIL				1			
C.H. de Beaumont	95	BEAUMONT-SUR-OISE		3		3			
L.A.M. de la Constellation	95	CERGY		1					

Laboratoires	Départements	Ville	<i>E. coli</i> envoyés comme <i>Shigella</i>	<i>E. coli</i>	non <i>E. coli-Shigella</i>	<i>Shigella</i>	Selles	Sérums	info <i>Shigella</i>
L.A.M. Kabla	95	CORMEILLES-EN-PARISIS						1	
C.H. Simone Veil / Emile Roux	95	EAUBONNE		1		1			1
L.A.M. Vartanian	95	EAUBONNE		2					
L.A.M. du Clos Bertin	95	FRANCONVILLE		7					
C.H. De Gonesse /Emmanuel Rain	95	GONESSE				3			5
L.A.M. Bonan	95	MRY-SUR-OISE				1			
L.A.M. Sainte Marie, SELARL BIODIAG	95	OSNY				1			1
C.H. René Dubos	95	PONTOISE				4		1	4
L.A.M. Saint-André	95	PONTOISE				4			
L.A.M. Durand	95	SAINT-BRICE-SOUS-FORET				1			
L.A.M. Irabs	95	SARCELLES			1	5			
L.A.M. Miel	95	VAUREAL		2	1	2			
C.H.U. de Pointe à Pitre/Abymes	971	POINTE-A-PITRE	1						
C.H. Zobda-Quitman	972	FORT DE FRANCE		5				2	
Clinique Saint-Paul	972	FORT DE FRANCE		1					
L.A.M. du Courbaril	972	LE ROBERT		1					
L.A.M. Darruau-Selarl-Alphalab	972	RIVIERE-SALEE		2					
C.H.G. de Cayenne	973	CAYENNE			1	10			
Institut Pasteur de la Guyane	973	CAYENNE				1			
C.H. de l'Ouest Guyanais "Franck Joly"	973	SAINT-LAURENT-DU-MARONI	1			38			
L.A.M. Fridmann	974	SAINT-GILLES-LES-BAINS		2					
C.H. de Mamoudzou	976	MAMOUDZOU						1	
Sans Adresse		S A				1		1	
C.H. Princesse Grâce	MO	MONACO		1					
CHU de Liège	B	BELGIQUE				1			
Centre Pasteur du Cameroun	CAM	CAMEROUN	1						
Laboratoire National de Santé Publique et	DY	BP COTONOU BENIN			2	2			
Hospital Vall d'Hebron	ES	BARCELONA E				18			
FLEMING LABS	I	ITALIE						1	
CERMES	RN	NIGER				3			
Institut Pasteur de Dakar	SN	SENEGAL				1			
		<b>TOTAL</b>	<b>90</b>	<b>572</b>	<b>53</b>	<b>844</b>	<b>39</b>	<b>379</b>	<b>245</b>