



Institut Pasteur

Centre National de Référence

des Salmonella

Rapport d'activité annuel 2008



Weill François-Xavier

Le Hello Simon

**Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques
INSTITUT PASTEUR, PARIS**

Téléphone 01 45 68 83 39 (Secrétariat)
01 45 68 83 45 (FXW) francois-xavier.weill@pasteur.fr
01 40 61 37 24 (SLH) simon.le-hello@pasteur.fr
Télécopie 01 45 68 88 37

I. INTRODUCTION.....	4
I. 1 RAPPEL DES MISSIONS DU CNR	4
I. 2 RESUME DES ACTIVITES DE L'ANNEE 2008.....	6
I. 3 PERSONNELS DU CNR	8
I. 3. 1 <i>Les responsables scientifiques</i>	8
I. 3. 2 <i>Le personnel technique et administratif</i>	8
I. 4 LES LOCAUX ET EQUIPEMENTS	10
I. 5 LA DEMARCHE QUALITE	10
II. ACTIVITES D'EXPERTISE	12
II.1 CAPACITES TECHNIQUES DU CNR	12
II.1.1 <i>Liste des techniques de référence</i>	12
II.1.2 <i>Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles</i>	13
II.1.3 <i>Collection de souches</i>	13
II.1.4 <i>Liste des techniques recommandées par le CNR</i>	14
II. 2 ACTIVITES D'EXPERTISE EN 2008	14
II. 2.1. 1 Activité de sérotypage, CNR-Salm, 2004 à 2008	14
II. 2.1. 2 Activité de typage par électrophorèse en champ pulsé, CNR-Salm, 2003 à 2008	14
II. 2.1. 3 Activité de typage par la méthode MLVA, CNR-Salm, 2006 à 2008	15
III. ACTIVITES DE SURVEILLANCE.....	16
III.1 SURVEILLANCE DE L'EVOLUTION ET DES CARACTERISTIQUES DES INFECTIONS	16
III.1.1 <i>Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-Salm</i>	16
III.1.2 <i>Définition de l'échantillon de souches isolées</i>	17
III.1.3 <i>Analyse de la distribution des différents sérotypes et analyse des tendances</i>	17
III.1.3.1 Nombre annuel de souches de <i>Salmonella</i> d'origine humaine repertoriées au CNR-Salm, 1988-2008	17
III.1.3.2 Répartition des 15 principaux sérotypes de <i>Salmonella</i> , 2005-2008.....	18
III.1.3.3 Proportion de souches par rapport aux compte-rendus de sérotypage	19
III.1.3.4 Proportion relative des sérotypes Enteritidis et Typhimurium en France, 1991-2008	20
III.1.3.5 Répartition par sites de prélèvement des souches de <i>Salmonella</i> , CNR-Salm 2004-2008	20
III.1.3.6 Distribution par tranches d'âge des patients, CNR-Salm 2004 -2008.....	21
III.1.3.7 Nombre de souches reçues au CNR-Salm par régions, 2003-2008	21
III.1.3.8 Délais moyens de rendu des résultats de sérotypage en 2008.....	24
III.1.3.9 Le sérotype Typhi en 2008.....	25
III.1.3.10 Le sérotype Paratyphi A en 2008.....	26
III.1.3.11 Le sérotype Paratyphi B en 2008	26
III.1.4 <i>Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS</i>	27
III.1.4.1 Relevés périodiques envoyés à l'InVS :	27
III.1.4.2 Notifications de foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs entre 2002 et 2008	27
III.1.4.3 Les différents foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs en 2008	28
III.1.4.4 Détection des seuils d'alerte.....	32
III.1.5 <i>Collaboration avec les réseaux nationaux de surveillance des salmonelles chez l'animal</i>	33
III. 2 SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES.....	33
III.2.1 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium, 1993-2007</i>	34
III.2.2 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype 1,4[5],12:i:- (monophasique) en 2007</i>	34
III.2.2 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis, 1993-2007</i>	37
III.2.3 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar, 1997-2008</i>	38
III.2.4 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow, 1997-2007</i>	39
III.2.5 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport, 1997-2008</i>	40
III.2.6 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis, 1997-2008</i>	41
III.2.7 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby, 2000-2006</i>	43
III.2.8 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Heidelberg, 1997-2008</i>	43
III.2.9 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Brandenburg, 1997-2008</i>	43
III.2.10 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Panama en 2007</i>	43
III.2.11 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi, 1997-2008</i>	44
III.2.12 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A, 2005-2008</i>	47
III.2.13 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B, 2000-2008</i>	47
III.2.14 <i>Souches présentant une résistance particulière aux antibiotiques, CNR-Salm 2005-2008</i>	48
III.2.14.1 Souches résistantes aux céphalosporines de 3 ^{ème} génération	48
III.2.14.2 Souches résistantes à la ciprofloxacine	50
III. 3 DETECTION ET INVESTIGATION DES CAS GROUPES ET DES PHENOMENES ANORMAUX	53

III. 4 CONTRIBUTION AUX RESEAUX DE SURVEILLANCE INTERNATIONAUX	55
III.4.1 Contribution aux réseaux européens	55
III.4.2 Contribution aux réseaux internationaux	55
III. 5 ENQUETES OU ETUDES PONCTUELLES CONCOURANT A LA SURVEILLANCE.....	56
IV. ALERTE.....	57
V. ACTIVITES D'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL.....	58
V.1 REUNIONS ET MISSIONS.....	58
V.2 ENSEIGNEMENT	58
V.3 ACCUEIL DE STAGIAIRES	59
V.4 CONGRES	59
V.5 MODALITES DE DIFFUSION DES DONNEES DE SURVEILLANCE ET PRODUCTION DU CNR	59
V.6 CONSEILS AUX PROFESSIONNELS DE SANTE	60
VI. TRAVAUX DE RECHERCHE EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR	61
VI.1 CONTRIBUTION AU DEVELOPPEMENT DE NOUVELLES METHODES DE TYPAGE ET SOUS-TYPAGE DES <i>SALMONELLA</i>	61
VI.2 ETUDE DES MECANISMES DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ <i>SALMONELLA</i>	62
VII. LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS.....	64
VII.1 PUBLICATIONS NATIONALES	64
VII.2 PUBLICATIONS INTERNATIONALES	64
VIII. LE PROGRAMME DE TRAVAIL POUR LES ANNEES 2009-2010.....	66

I. INTRODUCTION

I. 1 Rappel des missions du CNR

Historique :

Le Centre National de Référence des *Salmonella* ou CNR-Salm est situé au sein du Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques (LBPE) à l'Institut Pasteur à Paris. Le Laboratoire des Entérobactéries dirigé par Léon Le Minor, a fait office de laboratoire de référence pour les *Salmonella* de 1947 à 1971. Il a été reconnu officiellement Centre National de Référence par l'arrêté du 18 avril 1972. Dirigé de sa création à 1988 par Léon Le Minor (assisté par S. Le Minor de 1972 à 1981, puis par Patrick A.D. Grimont de 1982 à 1988), le CNR des *Salmonella* et *Shigella* a été dirigé par Patrick A.D. Grimont assisté de Philippe J.M. Bouvet de 1989 à 2002. En 2002 (arrêté du 26 avril 2002), le CNR des *Salmonella* et *Shigella*, est redevenu le CNR des *Salmonella*, co-dirigé par Patrick A.D. Grimont et François-Xavier Weill. Le CNR-Salm a été renouvelé pour la période 2006-2009 (arrêté du 30 décembre 2005). L'arrêté du 22 janvier 2009 prolonge le renouvellement du CNR-Salm jusqu'au 31 décembre 2010 (responsables : François-Xavier Weill et Simon Le Hello).

Missions du CNR : L'arrêté du 29 novembre 2004 a fixé les nouvelles missions du CNR-Salm :

- contribuer au développement des méthodes de typage,
- suivre des tendances évolutives temporelles des différents sérotypes de *Salmonella*, en s'appuyant sur un réseau de laboratoires d'analyse de biologie médicale sur tout le territoire,
- contribuer à la surveillance et à l'investigation des toxi-infections alimentaires collectives à *Salmonella* en signalant à l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) les foyers de cas groupés notifiés au CNR-Salm,
- suivre l'évolution de la résistance aux antibiotiques de *Salmonella* et d'étudier les mécanismes de résistance notamment en collaboration avec le CNR des mécanismes de résistance aux antibiotiques,
- détecter précocement les épisodes épidémiques, par la caractérisation des souches de *Salmonella* par la méthode de typage la plus adaptée au sérotype en cause et par le développement de seuils d'alerte,
- développer la capacité, lors de la survenue d'une épidémie, de réaliser rapidement un typage le plus discriminant possible (adapté en fonction du sérotype en cause) des souches de *Salmonella* concernées afin de différencier les cas épidémiques et non épidémiques et de comparer des souches isolées chez les malades et dans d'autres sources en particulier alimentaire,

- collaborer avec les réseaux nationaux de surveillance des salmonelles chez l'animal, dans les aliments et l'environnement,
- participer avec l'InVS au réseau européen de surveillance des *Salmonella* Enter-Net (envoi trimestriel des données de surveillance, collaboration en cas d'alerte européenne, ...)
- collaborer aux réseaux de surveillance internationaux et en particulier européens notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonoses 2003/99/CE,
- contribuer à l'alerte en signalant à l'InVS, tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, survenue de cas groupés, modification des profils de résistance, apparition de souches inhabituelles, ...

I. 2 Résumé des activités de l'année 2008

- **10322** isollements de *Salmonella* d'origine humaine (**7439** souches et **2883** fiches d'information), en provenance de France métropolitaine et des DOM-TOM, ont été répertoriés par le CNR-Salm.
- Le sérotype **Typhimurium** est depuis 2005 le premier sérotype de *Salmonella* isolé chez l'homme (4748 isollements contre 1929 pour le sérotype Enteritidis en 2008).
- 138 souches de **sérotype Typhi** isolées chez 126 patients ont été répertoriées au CNR-Salm (6^{ème} sérotype le plus fréquemment isolé). Quarante-et-un souches ont été isolées de laboratoires métropolitains, une d'un laboratoire guadeloupéen, 9 de laboratoires guyanais, 3 de la Réunion et 34 du C.H. de Mamoudzou (Mayotte).
- Le sérotype **Napoli** qui était en nette progression depuis ces dernières années est passé de 144 isollements, 5^{ème} sérotype le plus fréquemment isolé en 2006, à 55 isollements en 2008 (17^{ème} sérotype).
- Le sérotype **Kentucky** est constante augmentation, il devient le 5^{ème} sérotype le plus fréquemment isolé (139 isollements). Les souches, majoritairement résistantes à la ciprofloxacine (99/132, 75%), seraient contractées en Afrique du Nord et de l'Est.
- **304 foyers de cas groupés** impliquant 61 sérotypes ont été signalés à l'InVS.
- Entre 2007 et 2008, **le nombre d'isollements de *Salmonella* répertoriés au CNR-Salm a augmenté de 27% (+2198 isollements)**. Cette augmentation est pour une part due à l'arrêt de l'activité de sérotypage du laboratoire spécialisé Biomnis (ex Marcel Mérieux) et à son transfert au CNR-Salm depuis juillet 2008 (soit +817 en 2008 dont 748 depuis juillet).
- L'année 2008 a été riche en signalements d'excès de cas de salmonelloses par le CNR-Salm. Ainsi, neuf signalements (sérotype Typhimurium DT104, Typhimurium sensible aux antibiotiques, Muenster, Brandenburg, diarizonae 61:(k):1,5,7, Putten, Give, Typhi (Mayotte) et Ajiobo) ont été communiqués à l'InVS et **investigués** sur le plan microbiologique **par le CNR-Salm. Une source alimentaire a été retrouvée dans cinq épidémies** : saucisson de type rosette (Typhimurium DT104), fromage de chèvre (Muenster), contamination de géloses au sang commerciale (diarizonae et 61:(k):1,5,7), steak haché (Putten) et lait infantile (Give). Le CNR-Salm a apporté son soutien microbiologique aux investigations internationales des épidémies liées à Agona (steak haché, Royaume-Uni) et Saintpaul en Guyane Française (piment mexicain, USA).
- **Le sérotype Enteritidis** reste globalement sensible aux antibiotiques les plus couramment utilisés (67% en 2007). Cependant la résistance à l'acide nalidixique est en nette augmentation depuis 1993 (prévalence de 23% en 2007).
- **Le sérotype Typhimurium** reste un sérotype multirésistant aux antibiotiques. Cependant depuis ces dernières années, la multirésistance associée au clone DT104 est en diminution. Environ 60 % de souches appartenaient au lysotype DT104 entre 1997 et 2002, pour atteindre 37% en 2006 et 2007.

- **Le sérotype monophasique 1,4,[5],12:i :-** est un variant monophasique de Typhimurium qui émerge en Europe. Il devient le 3^{ème} sérotype isolé chez l'homme en France métropolitaine en 2008. Il est également multirésistant aux antibiotiques (phénotype ASSuTe) mais se différencie du clone « pentarésistant » DT104 (phénotype ASSpCSuTe).
- En 2008, le pourcentage de résistance à l'acide nalidixique (avec CMI de la ciprofloxacine < à 1 mg/L) des souches **de sérotype Typhi** est d'environ 18%. Ces souches ont été contractées suite à des séjours en Inde ou en Asie du sud-Est. A noter la présence de 8% de souches multi-résistantes (type ASuTmpCTe ± Nal) de patients revenant d'Inde ou Bangladesh mais aussi, fait nouveau, d'Afrique. Le pourcentage de résistance à l'acide nalidixique (CMI de la ciprofloxacine < à 1 mg/L) des souches **de sérotype Paratyphi A** reste élevé (environ 62%). Ces souches ont été contractées en Inde, Bangladesh, Pakistan et pour la première en Afrique (Sénégal, Tchad et Guinée-Bissao).
- **Les souches résistantes aux C3G** (par production de beta-lactamase à spectre élargi (BLSE) ou céphalosporinases), très rarement observées dans le genre *Salmonella* jusqu'à présent, semblent être en nette augmentation. Au cours de l'étude de prévalence de la résistance aux antibiotiques des souches non-typhiques isolées en 2006 (534 souches analysées), elles n'étaient observées que dans le sérotype Virchow (prévalence de 1%, BLSE) et dans le sérotype Newport (prévalence de 8%, céphalosporinase CMY-2). L'augmentation provient en partie de souches épidémiques productrices de BLSE ou de céphalosporinases (en relation avec des enfants adoptés du Mali ou d'Ethiopie) ou sporadiques.
- **Les souches résistantes à la ciprofloxacine** restent également exceptionnelles dans le genre *Salmonella* en dehors de celles du sérotype Kentucky (75% en 2008) qui ont été acquises chez des patients à l'occasion d'un séjour en Afrique du Nord ou de l'Est.
- **Deux nouvelles méthodes de typage ont été validées par le CNR-Salm.** La méthode de sous-typage MLVA pour le sérotype Enteritidis et Typhimurium et la nouvelle méthode de typage et sous-typage en une seule étape basée sur le polymorphisme des régions CRISPR.

I. 3 Personnels du CNR

I. 3. 1 Les responsables scientifiques

François-Xavier Weill

Docteur en médecine, DES de Biologie Médicale, Doctorat d'université de Microbiologie, Ancien Interne et Assistant Hospitalier Universitaire.

Simon Le Hello

Docteur en pharmacie, DES de Biologie Médicale, DEA.

I. 3. 2 Le personnel technique et administratif

*** Techniciens effectuant les analyses :**

- **Françoise Guesnier**, technicienne supérieure de laboratoire. Expérience : 8 ans au CNR et 27 ans en LABM. Départ en pré-retraite en juillet 2008 et remplacé par
- **Lucile Sontag**, technicienne supérieure de laboratoire qui a intégré le CNR depuis le 20 octobre 2008.
- **Laëtitia Fabre**, technicienne supérieure de laboratoire, Bachelor in Science (Kingston, RU), Master 2 de Microbiologie. Expérience : 7 ans au CNR.
- **Marie Demartin**, technicienne supérieure de laboratoire, Licence en Qualité (IP de Lille). Expérience : 7 ans au CNR.
- **Véronique Guibert**, technicienne de laboratoire qualifié. Expérience : 13 ans au CNR.
- **Adeline Josse**, technicienne de laboratoire qualifié. Expérience : 3 ans au CNR.

*** Technicien développant à temps plein de nouvelles techniques pour le CNR :**

- **Sylvie Issenhuth-Jeanjean**, technicienne supérieure de laboratoire, niveau 2^{ème} année DEUG Sciences de la Nature. Expérience : 22 ans en Bactériologie et 11 ans au CNR.

***Technicien du laboratoire de préparation réalisant les milieux spéciaux pour le CNR :**

- **Chrystelle Roux**, technicienne de laboratoire. Expérience : 25 ans.

*** Technicien du Centre Collaborateur OMS préparant les sérums pour le CNR :**

- **Brigitte Chavinier**, technicienne supérieure de laboratoire. Expérience : 5 ans

*** Secrétariat:**

- **Valérie Abihssira**, employée administrative. Expérience à ce poste: 10 ans.
- **Chrystelle Phalente**, employée administrative. CDD de 8 mois en 2008

*** Personnel du laboratoire de préparation (à temps partiel) :**

- **Annie Prêtesac**, responsable de préparation.
- **Cartini Mardi**, aide de laboratoire et **Patrice Tommasino**, agent de laboratoire.

Identité	Libellé emploi / Qualification / Echelle	% activité	% section	ETP
Melle GUIBERT Véronique	Technicien de laboratoire Technicien de laboratoire qualifié Echelle 4	100,00	100,00	1,00
Melle GUIBOURDENCHE Martine	Ingénieur Ingénieur 2 Cadre (Assistant - Ingénieur 2 et Cadre confirmé A)	100,00	10,00	0,10
Melle JOSSE Adeline	Technicien de laboratoire Technicien de laboratoire qualifié Echelle 4	100,00	100,00	1,00
Melle MARDI Cartini	Aide de laboratoire Aide de laboratoire Echelle 2	100,00	60,00	0,60
Melle PRETESAC Annie	Responsable de préparation Responsable de préparation Echelle 3	100,00	60,00	0,60
Melle ROUX Chrystelle	Technicien de laboratoire Technicien de laboratoire Echelle 3	100,00	60,00	0,60
M. LE HELLO Simon	Pharmacien biologiste Cadre confirmé A RESPONSABLE ADJOINT	100,00	80,00	0,80
Mme ABIHSSIRA Marie-Valérie	Secrétaire Secrétaire 2ème degré Echelle 4	100,00	75,00	0,75
Mme ACCOU-DEMARTIN Marie	Technicien supérieur de laboratoire Technicien supérieur de laboratoire 1er degré Echelle 5	100,00	100,00	1,00
Mme BERLAND Laétitia	Technicien supérieur de laboratoire Technicien supérieur de laboratoire 1er degré Echelle 5	100,00	100,00	1,00
Mme CHAVINIER-JOVE Brigitte	Technicien supérieur de laboratoire Technicien supérieur de laboratoire 1er degré Echelle 5	100,00	90,00	0,90
Mme ISSENHUTH-JEANJEAN Sylvie	Technicien supérieur de laboratoire Technicien supérieur de laboratoire 1er degré Echelle 5	100,00	50,00	0,50
M. TOMMASINO Patrice	Agent de laboratoire Agent de laboratoire Echelle 1	100,00	60,00	0,60
M. WEILL Francois-Xavier	Médecin biologiste Cadre confirmé B RESPONSABLE	100,00	30,00	0,30
				9,75

I. 4 Les locaux et équipements

Le CNR est situé dans le Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques (LBPE) créé à l'Institut Pasteur le 1^{er} Janvier 2008 (anc. Unité Biodiversité des Bactéries Pathogènes Emergentes, Prof. Patrick A. D. Grimont, UBBPE). Ce Centre comprend :

- Une grande pièce pour le sérotypage, la détermination de la résistance aux antibiotiques et les amplifications géniques (PCR)
- Une petite pièce pour la réalisation des techniques de sous-typage
- Une petite pièce climatisée pour le RiboPrinter (automate de ribotypie), les électrophorèses en agarose et en champ pulsé (pièce partagée avec les autres CNR du Laboratoire BPE)
- Deux bureaux pour les responsables.

Pour réduire les coûts, le circuit des souches est commun pour tous les CNR du Laboratoire BPE (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 normal de laboratoires de bactériologie : enceintes climatiques (+4°C, 30°C, 37°C, réfrigérée de 4° à 30°C), microscope...
- Poste de sécurité microbiologique de type II
- Matériel d'électrophorèse en agarose et d'hybridation, capture électronique des images * Thermocycler (x 5) *
- Riboprinter ou appareil de ribotypage automatisé (Qualicon) *
- Appareil d'électrophorèse en champ pulsé CHEF-DRIII (BioRad), en pièce climatisée *
- Système automatisé de lecture et d'interprétation d'antibiogrammes OSIRIS (Bio-Rad) avec logiciel d'épidémiologie *
- Équipement informatique : 5 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 du Laboratoire

Moyens extérieurs à la structure :

- Centre Collaborateur OMS pour les *Salmonella*
- Structures transversales notamment (CIBU, Plate-forme de Santé Publique pour le séquençage, Plate-forme génomique Puces à ADN, Coordination épidémiologique, Coordination des CNR et des CCOMS)
- Service informatique
- Accès à un laboratoire P3 dans le bâtiment

I. 5 La démarche qualité

Le Laboratoire BPE pour ses activités d'identification, de sérotypage, de lysotypage, et de typage moléculaire est engagée dans une **démarche Qualité** : 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. Ce service a notamment la charge de coordonner les démarches des différents services de l'Institut Pasteur parmi lesquels les Centres Nationaux de Référence. 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.

Depuis 2002, le CNR-Salm a rédigé **la plupart des modes opératoires, des procédures générales** (protocoles de milieux de culture, tampons...) et **spécifiques** (protocoles PCR, électrophorèse en champ pulsé normalisée...). Un **suivi du matériel scientifique** et une **traçabilité de la préparation des milieux de culture et des réactifs** sont également réalisés.

De plus, le CNR-Salm participe chaque année au **contrôle de qualité** externe proposé par le **Réseau Européen de Surveillance Enter-Net**.

Dans la perspective du déménagement du LBPE en mars 2009 au Biotop 3eme étage, une remise à jour de son matériel actif et des produits chimiques utiles a été effectuée en 2008. Simon Le Hello a été également nommé correspondant HSQE (Hygiène, Sécurité, Qualité et Environnement) pour le LBPE, et à ce titre, a mise en œuvre l'évaluation des risques du laboratoire 2008.

II. ACTIVITES D'EXPERTISE

II.1 Capacités techniques du CNR

II.1.1 Liste des techniques de référence

Les techniques disponibles au CNR-Salm sont :

des techniques d'identification du genre, des espèces et des sous-espèces de *Salmonella

Bactériologie classique

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

- tests biochimiques réalisés en macro-galerie :

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 (H₂S), tétrathionate réductase (TTR), Glycérol, beta-glucuronidase. Possibilité de réalisation de micro-galerie (API 20E, BioMérieux).

Autres méthodes de différenciation d'espèces et de sous-espèces utilisables si besoin

- **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) .

- **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 au genre *Salmonella* (*rrs*) et aux différentes espèces et sous-espèces de *Salmonella* (*rpoB*) grâce à la comparaison des séquences obtenues à celles contenues dans la base de données du Laboratoire.

***des techniques d'identification des sérotypes**

- **sérotypage** d'une souche de *Salmonella*. Le **sérotypage complet de l'ensemble des souches de *Salmonella*** nécessite l'emploi d'environ 200 antisérums (polyvalents et monovalents) polyclonaux absorbés, préparés chez le lapin. Une technicienne du CNR-Salm fabrique les sérums non commercialisés (environ les 2/3 des sérums nécessaires).

- si nécessaire **l'analyse moléculaire par séquençage des gènes de flagellines *fliC* et *fljB***, ou l'analyse par **MLST** (Multi Locus Sequence Typing) permet de typer moléculairement une souche non sérotypable.

***des techniques de sous-typage des *Salmonella* :**

- **électrophorèse en champ pulsé** à l'aide de différentes endonucléases (méthode standardisée PulseNet),
- **ribotypie** (manuelle) pour le sérotype Typhi,
- **profil d'hybridation à l'aide d'une sonde IS200** pour le sérotype Paratyphi B,
- **analyse MLVA** (Multi Locus Variable numbers of tandem repeats Analysis) pour les sérotypes Typhimurium et Enteritidis,
- **analyse CRISPR** (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) sur l'ensemble des sérotypes de Salmonelles,
- **recherche par PCR de la présence de prophages** pour le sérotype Typhimurium,

***des techniques d'étude de la sensibilité aux antibiotiques**

- **antibiogramme** par diffusion en milieu gélosé de 16 à 32 antibiotiques testés (suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie).
- **étude des mécanismes de résistance aux antibiotiques** (caractérisation des gènes de résistance, de leur environnement génétique et de leur support).

II.1.2 Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles

Le sérotypage est la méthode de référence du typage des Salmonelles. Il permet de différencier 2579 sérotypes (FX Weill et PAD Grimont « formules antigéniques des sérovars de *Salmonella* » 9^{ième} édition, 2007). Un sérotypage complet est réalisé systématiquement sur toutes les souches adressées au CNR-Salm. Pour les sérotypes les plus fréquents (deux sérotypes, Typhimurium et Enteritidis représentent 65% des *Salmonella* isolées chez l'homme en France en 2008), une ou plusieurs techniques de sous-typage pré-citées et adaptées au sérotype en cause seront réalisées lors des investigations de cas groupés pour apprécier la clonalité des souches. Parfois le profil de résistance aux antibiotiques peut être un marqueur épidémiologique utile.

II.1.3 Collection de souches

Toutes les souches adressées au CNR-Salm depuis 1947 ont été conservées en tubes gélosés gardés à température ambiante. La collection du CNR-Salm comprend plus de 300.000 souches. L'ensemble de tous les sérotypes connus de *Salmonella* est conservé sous forme lyophilisée au Centre Collaborateur OMS de référence et de Recherche sur les *Salmonella* (CCOMS). Certaines souches possédant des résistances particulières aux antibiotiques sont conservées à -80°C. Les informations relatives aux souches sont disponibles sur des cahiers et sur des fichiers informatiques. La mise à disposition de ces souches se fait avec l'accord du ou des responsables du CNR-Salm.

II.1.4 Liste des techniques recommandées par le CNR

Le **sérotypage** des souches doit être réalisé conformément au schéma de White-Kauffmann-Le Minor (WKL) (9^{ième} édition 2007), maintenu par le CCOMS (dirigé par les responsables du CNR-Salm). La demande d'un schéma WKL en format pdf se faisant en écrivant à l'adresse whosalm@pasteur.fr (prière de mentionner les coordonnées professionnelles) ou téléchargeable en version anglaise ou française à l'adresse <http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadre/cnr/salmoms/salmoms-activites.html>.

Le sous-typage par **électrophorèse en champ pulsé** doit être réalisé à l'aide d'un protocole standardisé sur le plan international (protocole PulseNet). Des renseignements techniques sont disponibles auprès des responsables du CNR-Salm.

II. 2 Activités d'expertise en 2008

Le CNR-Salm a réalisé le sérotypage systématique de la totalité des souches reçues des laboratoires collaborateurs de son réseau et a enregistré les informations envoyées par les laboratoires collaborateurs ayant sérotypé localement leurs souches.

En 2008, le CNR-Salm a enregistré **10322** (8124 en 2007, + 27%) isollements humains de *Salmonella* en France métropolitaine, dans les départements et territoires d'outre-mer et à Monaco. Parmi ces **10322** isollements, **7439** (contre 5628 en 2007, +32%) ont été des souches sérotypées par le CNR-Salm et 2883 (contre 2496 en 2007, +15%) provenaient de fiches d'information adressées au CNR-Salm par les laboratoires collaborateurs.

Le CNR-Salm a également réalisé le sérotypage de **274** souches de *Salmonella* isolées chez l'animal, dans des aliments ou dans l'environnement et **37** souches de *Salmonella* isolées chez l'homme dans des pays étrangers (Belgique, Sénégal, Tunisie et Madagascar).

II. 2.1. 1 Activité de sérotypage, CNR-Salm, 2004 à 2008

	2004	2005	2006	2007	2008
Souches d'origine humaine reçues au CNR-Salm	6355	6629	6274	5628	7439
Informations sur les souches d'origine humaine sérotypées par les laboratoires	4234	4810	3880	2496	2883
Total souches d'origine humaine	10589	11439	10154	8124	10322

II. 2.1. 2 Activité de typage par électrophorèse en champ pulsé, CNR-Salm, 2003 à 2008

Année	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Nombre de typage par ECP	176	421	448	326	287	352

Cette activité en augmentation est variable d'une année sur l'autre en fonction des investigations d'épidémies et des travaux de recherche. Le CNR-Salm utilise les conditions de migration et le marqueur préconisés par le protocole PulseNet ce qui permet de comparer les profils entre les laboratoires sur le plan national (notamment avec l'AFSSA dans le cadre de la comparaison des souches humaines et alimentaires) et international.

II. 2.1. 3 Activité de typage par la méthode MLVA, CNR-Salm, 2005 à 2008

Année	2005	2006	2007	2008
Nombre de typage par MLVA	127	135	266	308

Cette méthode a été mise en route au CNR-Salm pour le sérotype Typhimurium en 2005 et pour le sérotype Enteritidis en 2006. Elle a été validée sur une collection de souches représentatives de la biodiversité et bien caractérisées sur le plan épidémiologique. Cette méthode implique la réalisation de 5 à 10 amplifications par PCR par souche analysée.

III. ACTIVITES DE SURVEILLANCE

III.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

III.1.1 Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-Salm

L'Unité des Entérobactéries à l'Institut Pasteur (Paris), qui a été renommée en 2001 « Unité de Biodiversité des Bactéries Pathogènes Emergentes » (BBPE) puis Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques (LBPE) le 1^{er} janvier 2008 a développé depuis le début des années 1950, sous l'impulsion de Léon Le Minor, un réseau de laboratoires collaborant sur une base volontaire à la surveillance des infections dues aux Entérobactéries (*Salmonella*, *Shigella*). De nombreux directeurs de laboratoires de biologie médicale (LABM) correspondants sont des anciens élèves des cours de l'Institut Pasteur.

Ce réseau de surveillance par les LABM est unique en France pour plusieurs raisons:

- son ancienneté (depuis l'après-guerre),
- le nombre très important de LABM participants (environ 30 % des laboratoires d'analyses médicales français),
- l'adhésion volontaire des LABM au système de surveillance des infections dues aux *Salmonella*, soit par l'envoi de souches pour sérotypage, soit par l'envoi de compte rendu de sérotypage si celui-ci a été fait dans le laboratoire expéditeur.

La participation des LABM est essentielle à la surveillance des infections dues aux *Salmonella* survenant en France. Sa pérennité dans la durée est une préoccupation de tous les instants pour les biologistes du CNR-Salm : conseils techniques par téléphone ou réponse aux demandes précises des LABM (bibliographie, données épidémiologiques...). La non-commercialisation de 70 % des sérums nécessaires au sérotypage complet d'une souche de *Salmonella*, le coût des sérums, la gestion difficile des stocks de sérums sur le plan de l'assurance-qualité et le renvoi des résultats le plus rapidement possible aux LABM fait que le CNR-Salm est une entité incontournable pour le sérotypage en routine.

En 2006, 1357 laboratoires d'analyses médicales (329 laboratoires de centres hospitaliers et 1028 LABM privés) de France métropolitaine et des départements d'Outre-Mer ont adressé des souches au CNR-Salm. Le nombre de laboratoires du réseau correspondait à environ 30 % (25 % des LABM et 75 % des laboratoires de centre hospitalier) des laboratoires d'analyses médicales recensés en France métropolitaine et dans les D.O.M en 2005

L'arrêt de l'activité de sérotypage en juillet 2008, du laboratoire Biomnis (ex Marcel Mérieux) et son transfert au CNR-Salm a permis d'améliorer la couverture géographique du réseau, notamment dans certaines régions. En effet, 50% et 13% des souches adressées par le laboratoire Biomnis proviennent respectivement de laboratoire de la région Rhone-Alpes et Provence-Alpes-Côte-d'Azur.

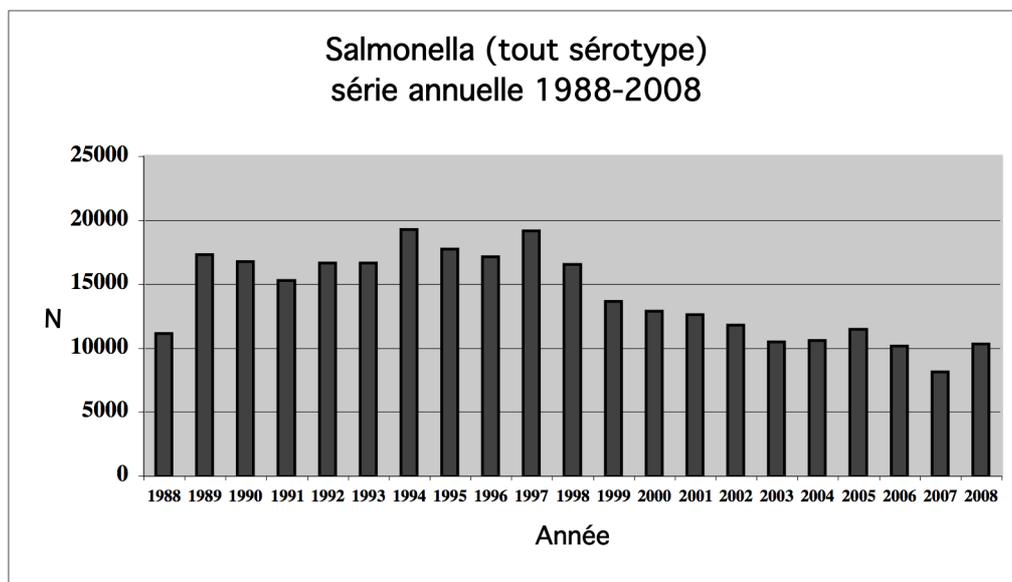
III.1.2 Définition de l'échantillon de souches isolées

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

III.1.3 Analyse de la distribution des différents sérotypes et analyse des tendances

En **2008**, le CNR-Salm a enregistré **10322** isolements humains de *Salmonella* en France métropolitaine, dans les départements et territoires d'outre-mer et à Monaco. Parmi ces **10322** isolements, **7439** ont été des souches sérotypées par le CNR-Salm et **2883** provenaient de fiches d'information adressées au CNR-Salm par les laboratoires collaborateurs.

III.1.3.1 Nombre annuel de souches de *Salmonella* d'origine humaine repertoriées au CNR-Salm, 1988-2008



Entre 2007 et 2008, le nombre d'isolements de *Salmonella* enregistrés au CNR-Salm a augmenté de 27% (+2198 isolements). Cette augmentation peut être attribué en partie à l'envoi des souches du laboratoire spécialisé Biomnis (ex Marcel Mérieux) de façon continue depuis juillet 2008 (soit +817 isolements en 2008 dont 748 depuis juillet) et en partie par la situation épidémiologique de 2008 (neuf signalements d'excès de cas, cinq épidémies nationales). Le nombre d'isolements de *Salmonella* en 2008 a rejoint le nombre moyen annuel de 2003 à 2006.

III.1.3.2 Répartition des 15 principaux sérotypes de *Salmonella*, 2005-2008

Rang	Distribution des sérotypes (n) par année*			
	2005	2006	2007	2008
1	Typhimurium (3992)	Typhimurium (4013)	Typhimurium (3019)	Typhimurium (4748)
2	Enteritidis (3638)	Enteritidis (2878)	Enteritidis (2187)	Enteritidis (1929)
3	Agona (274)	Derby (150)	Derby (127)	1, 4, [5],12:i:- (410)
4	Infantis (210)	Typhi (148)	Hadar (123)	Derby (177)
5	Typhi (187)	Napoli (144)	1, 4, [5],12:i:- (121)	Kentucky (139)
6	Derby (158)	Hadar (140)	Typhi (120)	Typhi (138)
7	Hadar (147)	Infantis (135)	Newport (118)	Newport (126)
8	Virchow (142)	Virchow (118)	Kentucky (113)	Panama (105)
9	Newport (133)	1, 4, [5],12:i:- (113)	Infantis (108)	Hadar (104)
10	Panama (124)	Newport (105)	Panama (89)	Infantis (100)
11	1, 4, [5],12:i:- (99)	Panama (95)	Virchow (87)	Brandenburg (101)
12	Manhattan (95)	Agona (73)	Napoli (71)	Give (90)
13	Napoli (93)	Brandenburg, Paratyphi B, Manhattan (64)	Bredeney (59)	Virchow (77)
14	Indiana (86)	-	Agona (55)	Corvallis (71)
15	Brandenburg (82)	-	Montevideo (54)	Bovismorbificans (69)

*données incluant les souches adressées au CNR-Salm et les comptes-rendus de sérotypage

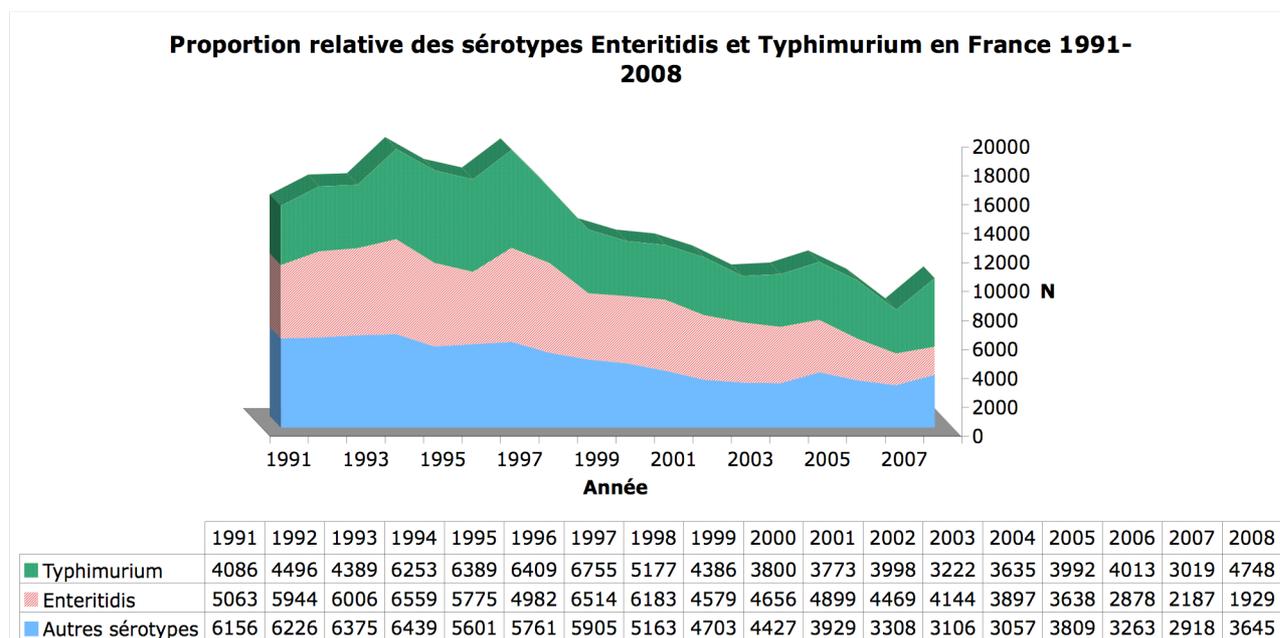
Depuis 2005, le sérotype prédominant est Typhimurium. En 2008, il a atteint un record avec 46% des isollements contre 35 à 39% de 2005 à 2007. Le sérotype Enteritidis est en baisse constante depuis 2005. Il a diminué de 21,9% entre 2006 et 2007 (-631 isollements) et encore de 11,8% entre 2007 et 2008 (-258 isollements). Le sérotype de formule antigénique 1,4,[5],12:i:- (variant monophasique de Typhimurium) prend une place prépondérante parmi les isollements de salmonelles en France et en Europe. Le sérotype Kentucky est en nette augmentation pour arriver à la 5^{ème} place, principalement du fait de l'émergence d'une souche résistante aux fluoroquinolones probablement originaire d'Afrique du Nord et de l'Est. Le sérotype Napoli, 5^{ème} sérotype en 2006, n'est plus dans ce tableau des 15 premiers sérotypes de 2008 (17^{ème} sérotype). L'apparition du sérotype Give en 13^{ème} position est liée à une épidémie suite à la contamination d'une poudre de lait infantile détectée pendant l'été 2008.

III.1.3.3 Proportion de souches par rapport aux compte-rendus de sérotypage

La part représentée par les comptes-rendus de sérotypage (ou fiches d'information) dans le total des isollements enregistrés au CNR-Salm est en constante diminution et était en 2008 d'environ 28% (tous sérotypes confondus) alors qu'elle était supérieure à 40% avant 2005. Cette proportion, voisine de 42% pour les sérotypes Typhimurium et Enteritidis est beaucoup plus faible (moins de 10%) pour d'autres sérotypes du fait de la non disponibilité dans le laboratoire correspondant et/ou dans le commerce de certains sérums agglutinants (tableau ci-dessous). De plus en plus de laboratoires préfèrent envoyer leurs souches au CNR-Salm que d'effectuer le sérotypage. Cette tendance est vraisemblablement liée aux coûts et à la gestion des antisérums dans le cadre d'une assurance-qualité engagée. En contre partie, l'analyse épidémiologique en temps réel de la base de données sérotypiques du CNR-Salm permet d'augmenter la rapidité de détection des phénomènes anormaux.

	Tous sérotypes	Enteritidis	Hadar	Typhi	Typhimurium	Virchow
Souches de <i>Salmonella</i> reçues en :						
2003	6244	2048	157	167	1489	157
2004	6355	2062	113	143	1667	88
2005	6629	1525	119	187	1829	121
2006	6274	1502	124	148	1852	102
2007	5628	1264	114	120	1632	81
2008	7439	1183	95	130	2713	71
Compte-rendus reçus en:						
2003	4228	2096	21	0	1732	44
2004	4234	1835	18	6	1968	34
2005	4810	2113	28	0	2163	21
2006	3880	1376	16	0	2161	16
2007	2496	923	9	0	1387	6
2008	2883	746	7	0	2035	6
Total :						
2003	10472	4144	179	167	3221	201
2004	10589	3897	131	149	3635	122
2005	11439	3638	147	187	3992	142
2006	10154	2878	140	148	4013	118
2007	8124	2187	123	120	3019	87
2008	10322	1929	102	130	4748	77
Proportion compte-rendus de sérotypage/total (%) en :						
2003	40,4	50,6	11,7	0	53,8	21,9
2004	40	47,1	13,7	4	54,1	27,9
2005	42	58,1	19	0	54,2	14,8
2006	38,2	47,8	11,4	0	53,8	13,6
2007	30,7	42,2	7,3	0	45,9	6,9
2008	28,3	38,7	6,8	0	42,9	7,8

III.1.3.4 Proportion relative des sérotypes Enteritidis et Typhimurium en France, 1991-2008



III.1.3.5 Répartition par sites de prélèvement des souches de *Salmonella* reçues au CNR-Salm entre 2004 et 2008

Sites de prélèvement	2004	2005	2006	2007	2008
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Selles	5520 (87,3)	5659 (86,4)	5362 (85,5)	4699 (83,7)	6221 (83,6)
Sang	421 (6,6)	435 (6,5) ¹	430 (6,9) ²	397 (7,1) ³	453 (6,1) ⁴
Urines	170 (2,6)	204 (3,1)	190 (3)	202 (3,6)	209 (2,8)
Pus	14 (0,2)	16 (0,2)	5 (<0,1)	10 (0,2)	10 (0,1)
Bile	13 (0,2)	5 (0,1)	6 (0,1)	4 (<0,1)	1 (<0,1)
LCR	2 (<0,1)	1 (<0,1)	2 (<0,1)	2 (<0,1)	0
Autres	25 (0,3)	83 (1,2)	26 (0,4)	15 (0,3)	81 (1,1)
Inconnu	154 (2,4)	151 (2,3)	253 (4)	285 (5,1)	464 (6,2)

^{1,2,3,4} Le % tient compte des souches de serotypes Typhi et Paratyphi A.

¹Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, le pourcentage est de 4,1%.

²Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, le pourcentage est de 4,6%.

³Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, le pourcentage est de 5,1%.

⁴Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, le pourcentage est de 4,2%.

III.1.3.6 Distribution par tranches d'âge des patients dont les souches de *Salmonella* ont été reçues au CNR-Salm entre 2004 et 2008

	2004	2005	2006	2007	2008
Classes d'âge	N (%)				
<1 an	296 (4,6)	295 (4,5)	239 (3,8)	193 (3,4)	258 (3,4)
1-5 ans	1726 (27,1)	1907 (29,1)	1812 (28,9)	1568 (27,9)	2128 (28,6)
6-14 ans	640 (14,7)	913 (13,9)	910 (14,5)	791 (14,1)	1221 (16,4)
15-64 ans	2335 (36,7)	2306 (34,7)	2307 (36,8)	2158 (38,3)	2711 (36,4)
>65 ans	864 (13,6)	937 (14,3)	870 (13,9)	809 (14,4)	1005 (13,5)
Inconnu	191 (3)	188 (2,9)	136 (2,1)	109 (1,9)	116 (1,6)

III.1.3.7 Nombre de souches reçues au CNR-Salm par régions, 2002-2008

	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008 (Biomnis)*
Alsace 67-68	242	157	248	135	155	116	179 (12)
Aquitaine 24-33-40-47-64	352	317	297	387	328	295	352 (2)
Auvergne 03-15-43-63	193	122	90	135	123	125	149 (17)
Bourgogne 21-58-71-89	193	135	157	148	126	158	174 (38)
Bretagne 22-29-35-56	194	200	188	200	185	149	225 (16)
Centre 18-28-36-37-41-45	213	198	192	230	207	145	270 (0)
Champagne-Ardennes 08-10-51-52	155	120	162	83	97	89	116 (4)
Corse 2A-2B	26	57	22	26	26	40	51 (13)
Franche-Comté 25-39-70-90	151	121	128	121	104	87	173 (21)
Ile-de-France 75-77-78-91-92-93-94-95	1619	1555	1659	1702	1500	1313	1567 (5)
Languedoc-Roussillon 11-30-34-48-66	299	285	316	248	249	252	421 (48)
Limousin 19-23-87	87	81	74	71	100	52	90 (1)
Lorraine 54-55-57-88	193	177	158	146	168	129	188 (5)
Midi-Pyrénées 09-12-31-32-46-65-81-82	440	432	430	428	323	257	412 (7)
Nord-Pas-de-Calais 59-62	249	257	235	238	325	209	309 (5)
Basse-Normandie 14-50-61	150	115	141	123	144	77	132 (0)
Haute-Normandie 27-76	155	128	139	184	133	130	159 (0)
Pays de la Loire 44-49-53-72-85	251	244	275	270	325	252	412 (41)
Picardie 02-60-80	173	157	141	130	136	127	189 (0)
Poitou-Charentes 16-17-79-86	200	193	181	209	218	156	187 (0)
Provence-Alpes-Côte d'Azur	323	373	349	360	423	329	481 (100)

04-05-06-13-83-84							
Rhône-Alpes	464	534	410	562	514	693	809 (371)
01-07-26-38-42-69-73-74							
TOTAL Métropole	6327	5968	5997	6136	5909	5233	7045
Monaco	19	11	3	7	13	12	6 (0)
Guadeloupe	22	29	55	75	51	59	50 (10)
Martinique	7	13	80	91	113	53	63 (4)
Guyane	91	121	118	116	68	128	123 (0)
La Réunion	109	80	70	65	76	71	42 (5)
Mayotte	16	41	29	62	30	53	45 (0)
Polynésie Française	1	1	3	0	3	16	21 (0)
St Pierre et Miquelon	0	0	0	0	0	1	0
Nouvelle Calédonie	1	0	0	0	0	2	5 (0)

*total des souches reçues (souches envoyées par Biomnis)

Depuis juillet 2008, le laboratoire Biomnis envoie systématiquement toutes les souches de salmonelles au CNR-Salm, soit 817 souches sur l'année dont 748 sur le second semestre. Sur les 817 souches envoyées par Biomnis, 92 n'ont pas d'indication de lieu d'isolement. Le laboratoire collecte les souches sur le plan national avec toutefois une dominance forte pour la Région Rhône-Alpes (50% des isollements Biomnis) et Provence-Alpes-Côte d'Azur (13%).

Figure 1. Nombre de souches reçues au CNR-Salm par région en 2008

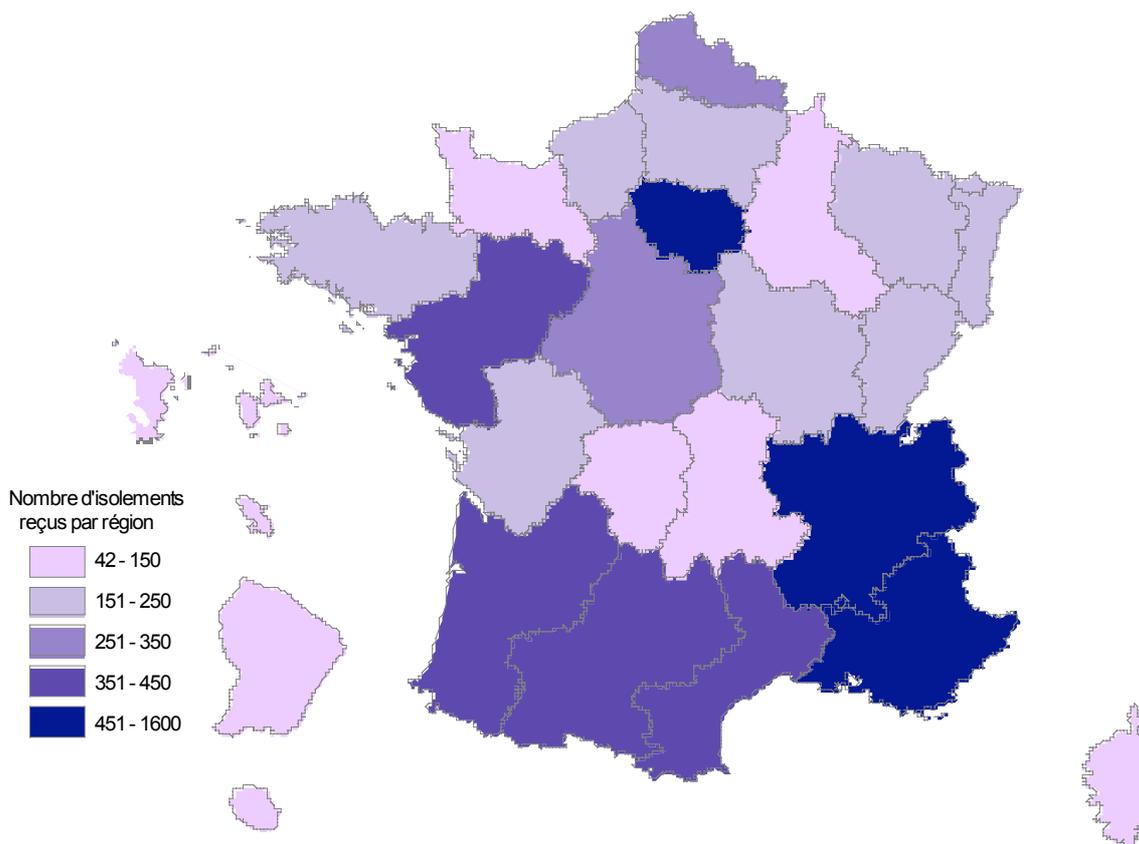
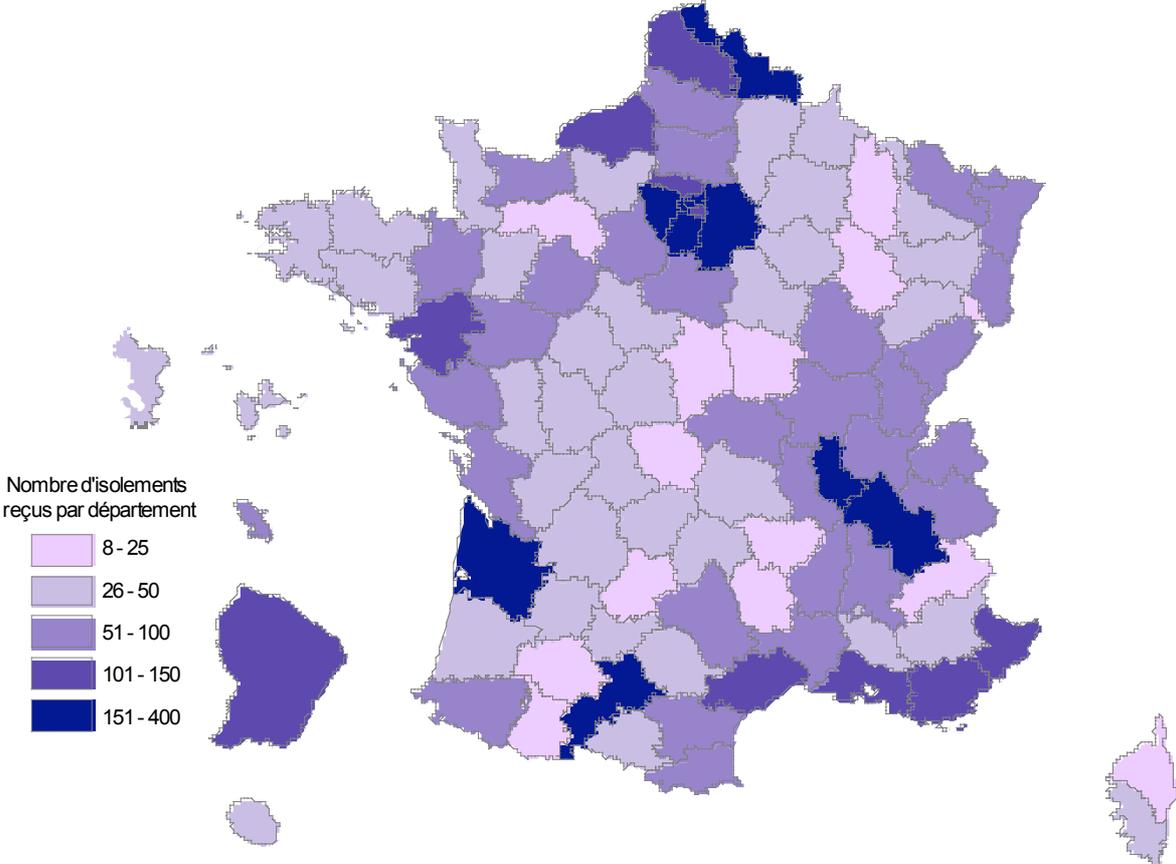
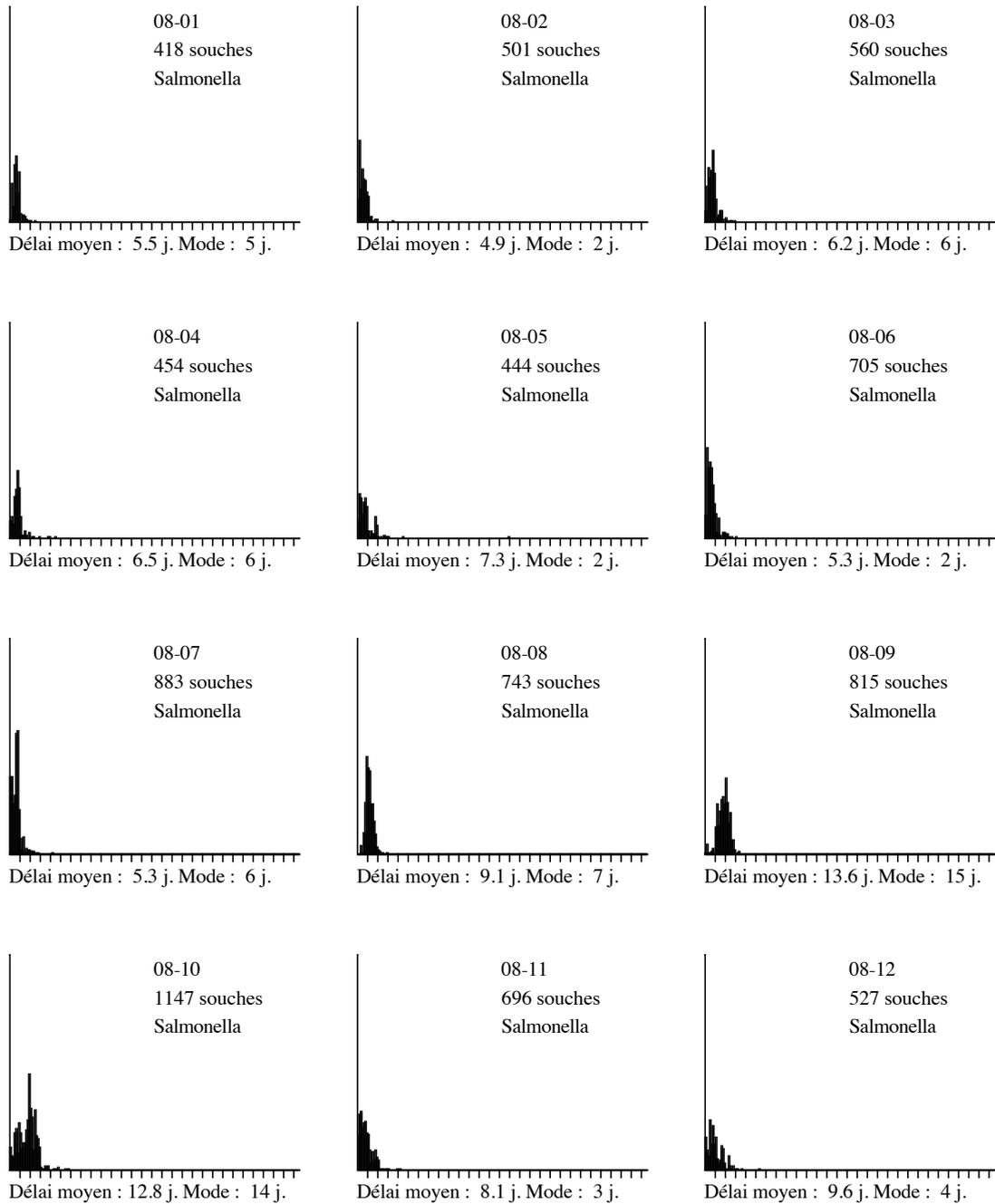


Figure 2. Nombre de souches reçues au CNR-Salm par département en 2008



III.1.3.8 Délais moyens de rendu des résultats de sérotypage en 2008

Distribution mensuelle des délais de réponse



III.1.3.9 Le sérotype Typhi en 2008

En 2008, 138 souches de *S. enterica* sérotype Typhi isolées chez 131 patients ont été répertoriées au CNR-Salm. Quatre-vingt onze souches ont été isolées de laboratoires métropolitains, une d'un laboratoire guadeloupéen, 9 de laboratoires guyanais, 3 de laboratoires de l'île de la Réunion et 34 du centre hospitalier de Mamoudzou (Mayotte).

Le tableau ci-dessous précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignement, le lieu de la contamination pour les souches métropolitaines.

Pays de contamination	Nombre de souches
Afrique (65 souches)	
Maroc	10
Sénégal	8
Algérie	3
Mali	3
Afrique	1
Benin	1
Cameroun	1
Congo	1
Côte d'Ivoire	1
Egypte	1
Palestine	1
Asie (16 souches)	
Inde	13
Pakistan	1
Bengladesh	1
Cambodge	1
Amérique (3 souches)	
Chili	1
Haïti	1
République dominicaine	1
Europe (0 souche)	
TOTAL	84

III.1.3.10 Le sérotype Paratyphi A en 2008

En 2008, 49 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi A ont été répertoriées au CNR-Salm. Sur les 49 souches, 47 ont été reçues au CNR-Salm. Elles provenaient de 41 patients et ont été toutes isolées dans des laboratoires métropolitains.

Le tableau ci-dessous précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignement, le lieu de la contamination.

Pays de contamination	Nombre de souches
Afrique (11 souches)	
Sénégal	8
Egypte	1
Guinée Bissao	1
Tchad	1
Asie (17 souches)	
Inde	11
Pakistan	4
Bengladesh	1
Népal	1
TOTAL	28

III.1.3.11 Le sérotype Paratyphi B en 2008

Le sérotype Paratyphi B est associé à des paratyphoïdes ou à des diarrhées fébriles. Historiquement, les souches se différencient en fonction de leur capacité à fermenter le d-tartrate (dt). Ainsi d'un point de vue phénotypique, on peut subdiviser les souches de sérotype Paratyphi en biotype B dt- associées à une pathologie de type fièvre typhoïde et en biotype dt+ (ou Java) associées à de simples diarrhées. En 2008, 59 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi B ont été répertoriées au CNR-Salm. Sur les 59 souches, 51 ont été reçues au CNR-Salm. Elles provenaient de 48 patients et ont été toutes isolées dans des laboratoires métropolitains sauf une provenant d'un laboratoire de l'île de la Réunion. 42 souches sont de biotype Java (dt+) contre 9 dt-. Ces 9 dernières potentiellement responsables de fièvres paratyphoïdes proviennent, lorsque c'est indiqué, de Turquie (3), Maroc (1) et des Amériques sans précision (1).

III.1.4 Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS

III.1.4.1 Relevés périodiques envoyés à l'InVS :

Relevés hebdomadaires :

- **foyers de cas groupés** d'infections à *Salmonella* signalés par les laboratoires correspondants (304 messages en 2008),
- informations épidémiologiques diverses sur les souches étudiées au laboratoire pour les sérotypes de *Salmonella responsables des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes* ou sur les souches impliquées dans des épidémies.

Relevés annuels :

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

Relevés ponctuels :

- réponses du CNR-Salm à des demandes d'information émanant de l'InVS,
- Au cours d'une épidémie, l'analyse des données (localisation géographique, classe d'âge touchée) pour ces sérotypes est quotidienne et une liste des dernières souches identifiées au Centre comprenant tous les renseignements épidémiologiques est expédiée régulièrement à l'InVS.

III.1.4.2 Notifications de foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs du CNR-Salm entre 2002 et 2008

De 2002 à 2008, le CNR a retransmis à l'InVS par télécopie ou par courrier électronique **2189** notifications de foyers de cas groupés.

Foyers de cas groupés signalés au CNR-Salm en :							
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Nombre total de foyers	332	382	317	311	286	257	304
Causés par : le sérotype							
Enteritidis	167	193	163	104	87	81	69
Typhimurium	98	93	79	124	86	102	125

III.1.4.3 Les différents foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs du CNR-Salm en 2008

304 épisodes de cas groupés

Nombre de sérotypes de *Salmonella* : 61

Foyers hospitaliers : 26

Foyers familiaux : 193

Infections collectives : 76

TIAC : 0

Colonies de vacances : 1

Crèches : 3

Ecoles : 5

***Salmonella* sérotype 1,4,[5],12:-:-**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Antibes.

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

Montbelliard

***Salmonella* sérotype 1,4,[5],12:i:-**

- Epidémie(s) familiale(s) (13) à :

Neufchateau, Vitre, Gap, Nice, Dreux, Perpignan, Porto-Vecchio, Savigny-Sur-Orge, Les Ullis (2), Clamart, Grenoble, Saint-Valery-En-Caux

- Infection(s) collectives(s) (3) à :

Grenoble, Saint-Amand-Montrond, Levallois-Perret.

- Infection(s) hospitalière(s) (2) à :

Aubenas, Saint-Tropez.

***Salmonella* sérotype 1,40:z4,z23:-**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Grenoble

***Salmonella* sérotype 4,5,12:b :-**

- Epidémie(s) dans une école (1) à :

Vesoul.

***Salmonella* sérotype 48:z4,z23 :-**

- Epidémie(s) familiale(s) (3) à :

Alençon, Montélimar, Narbonne.

***Salmonella* sérotype 50:g,z51:-**

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

Cayenne.

***Salmonella* sérotype Aberdeen**

- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :

Le Lamentin.

***Salmonella* sérotype Agbeni**

- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :

Avignon.

***Salmonella* sérotype Agona**

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

Dortagne sur sèvre.

***Salmonella* sérotype Altona**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

-Infection(s) collective(s) (1) à :	Monaco.
<i>Salmonella</i> sérotype Bovismorbificans	Carrieres-sur-seine.
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	Paris.
- Infection(s) collectives(s) (1) à :	Valognes.
<i>Salmonella</i> sérotype Braenderup	Les Ulis, Sevran.
- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :	Carpentras.
<i>Salmonella</i> sérotype Brandenburg	Laval.
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	Valbonne.
<i>Salmonella</i> sérotype Bredeney	Versailles.
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	Colombes.
<i>Salmonella</i> sérotype Claibornei	Grenoble.
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	Pont-L'abbe.
<i>Salmonella</i> sérotype Colindale	Pringy.
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	Trebes.
<i>Salmonella</i> sérotype Corvallis	Clamart.
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	saint-Laurent-Du-Pont, Aurillac, Bazas, Beaumont-Sur-Oise, Belfort, Blanquefort, Boulogne-Billancourt, Brazey En Plaine, Bressuire, Cavignac, Compiègne, Coutances, Figeac, Frontignan, Gueret (2 foyers), La Rochelle, Lagny-Sur-Marne, Langon, Luzarches, Lyon (3 foyers), Metz, Montfermeil, Nantes, Niort, Papeete, Paris (2 foyers), Pornichet (2 foyers), Rodez, Saint-Affrique, Saint-Jean-De-Luz, Saint-Laurent-Du-Var, Sainte-Hermine (2 foyers), Sete, Sevres, Toulouse, Troyes, Valentigney.
- Infection(s) collective(s) (1) à :	Biarritz, Carcassonne, Forbach, Melun.
<i>Salmonella</i> sérotype Derby	Antibes, Chagny, Chatellerault, Grenoble, Hagueneau, La Rochelle, Le Loroux-Bottereau, Lyon, Marseille, Nice, Paimpol, Pringy,
- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :	
<i>Salmonella</i> sérotype Duisburg	
- Infection(s) collective(s) (1) à :	
<i>Salmonella</i> sérotype Durham	
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	
<i>Salmonella</i> sérotype Enteritidis	
- Epidémie(s) familiale(s) (43) à :	
- Infection(s) collectives(s) (16) à :	

- Rochefort-Sur-Mer, Saint-Quentin, Vendome.
- Epidémie(s) dans une crèche (3) à :
Lattes, Paris, Puteaux.
 - Epidémie(s) dans une école (2) à :
Anglet, Valence D'agen.
 - Epidémie(s) dans une colonie de vacances (1) à :
Saint-Brice-Sous-Forêt
- Salmonella sérotype Give**
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Nantes.
 - Epidémie(s) collective(s) (1) à :
Carpentras.
- Salmonella sérotype Hadar**
- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :
Cornebarrieu, Morlaix.
 - Infection(s) collectives(s) (2) à :
Brest Armees, Paris 15.
- Salmonella sérotype Heidelberg**
- Epidémie(s) hospitalière(s) (3) à :
Maubeuge.
- Salmonella sérotype Hessarek**
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Perigueux.
- Salmonella sérotype Indiana**
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Hericourt.
- Salmonella sérotype Infantis**
- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :
Mulhouse.
- Salmonella sérotype Kentucky**
- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :
Meudon-La-Forêt, Vitry-Le-François.
 - Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :
Villeuneuve-La-Garenne.
 - Epidémie(s) collective(s) (1) à :
Tourcoing.
- Salmonella sérotype Kottbus**
- Infection(s) familiale(s) (1) à :
Lannion.
- Salmonella sérotype Lagos**
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Hericourt.
- Salmonella sérotype Livingstone**
- Epidémie(s) familiale(s) (3) à :
Le Chesnay, Saint-Cyr-L'ecole (2 foyers).
- Salmonella sérotype Manhattan**
- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :
Pointe-à-Pitre
 - Epidémie(s) collective(s) (1) à :
Boulogne-Billancourt.
- Salmonella sérotype Mbandaka**
- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :
Soissons.
- Salmonella sérotype Monschau**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	Rennes.
Salmonella sérotype Montevideo	
- Epidémie(s) familiale(s) (3) à :	Barlin (2 foyers), Toulon.
Salmonella sérotype Muenchen	
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	Aubervilliers.
Salmonella sérotype Muenster	
- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :	Aubenas, Le Creusot
- Infection(s) collective(s) (1) à :	Frejus
Salmonella sérotype Ndolo	
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	Mamoudzou.
Salmonella sérotype Newport	
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	Maubeuge.
- Infection(s) collective(s) (1) à :	Cholet.
Salmonella sérotype Panama	
- Epidémie(s) familiale(s) (5) à :	Bordeaux, Fort De France, Fougères, Rivière-Salée, Sens.
- Epidémie(s) hospitalière(s) (2) à :	Cayenne, Le Lamentin.
Salmonella sérotype Paratyphi A	
- Infection(s) collective(s) (1) à :	Montargis.
Salmonella sérotype Paratyphi B	
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	Ormesson-Sur-Marne.
- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :	Casteljaloux.
- Infection(s) collective(s) (1) à :	Nîmes.
Salmonella sérotype Poona	
- Infection(s) collective(s) (1) à :	Vitre.
Salmonella sérotype Postdam	
- Infection(s) collective(s) (1) à :	Metz Armées.
Salmonella sérotype Rosenberg	
- Infection(s) collectives(s) (1) à :	Mende.
Salmonella sérotype Saintpaul	
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	La Teste.
Salmonella sérotype Schwarzengrund	
- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :	Bordeaux.
Salmonella sérotype Thiaroye	
- Infection(s) collective(s) (1) à :	Toulouse.

Salmonella sérotype Typhi

- Epidémie(s) familiale(s) (3) à :
Ambilly, Avignon, Meulan.
- Infection(s) collective(s) (6) à :
Mamoudzou (6 foyers).

Salmonella sérotype Typhimurium

- Epidémie(s) familiale(s) (88) à :
Agen, Albertville, Albi, Altkirsh, Amboise, Annecy Le Vieux, Annonay, Antibes (2 foyers), Aubenas (3 foyers), Barlin, Bassens, Bazas, Beaumont-Sur-Oise, Biarritz, Boos, Bordeaux, Bouguenais, Boulogne, Boulogne-Billancourt, Breuillet, Castelnaudary, Castelsarrazin, Chambray-Les-Tours, Chauny, Creteil, Croissy-Sur-Seine, Deols, Epernon, Etampes, Fayence, Flers (3 foyers), Gien, Grenoble, Hagueneau, Hyeres, Jonzac, La Celle-Saint-Cloud, La Chatre, La Mure, Lagny-Sur-Marne, Lannion, Le Mans, Les Mureaux, Limoges, Lognes, Longvic, Lons-Le-Saunier (2 foyers), Lyon (4 foyers), Magny-Les-Hameaux, Massy, Mende, Mennecy, Montceau-Les-Mines, Montlucon, Montpon-Menestrel, Mortagne-Sur-Sevre, Neauphle-Le-Chateau, Nimes, Orsay, Pace, Paris, Pauillac, Pontivy, Pontoise, Porto-Vecchio, Rambouillet, Royan, Saint-Alban, Saint-Amand-Montrond (2 foyers), Savigny-Sur-Orge, Semur-En-Auxois, Sotteville-Les-Rouen, Ste Genevieve Des Bois, Toulouges, Villemur-Sur-Tarn, Villeneuve-Sur-Lot, Villeneuve-Tolosane, Voiron.
- Epidémie(s) hospitalière(s) (4) à :
Chateau-Gontier, Fecamp, Perpignan, Vendome.
- Infection(s) collectives(s) (31) à :
Amboise, Angers, Aubervilliers, Dieppe, Forbach, Fougères, Grenoble, Hagueneau, La Rochelle, Lectoure, Lisieux (2 foyers), Mantes-La-Jolie, Montpon-Menesterol, Montreuil-Sous-Bois, Morlaix, Moulins, Orleans, Orsay, Ozoir-La-Ferrière,
- Epidémie(s) dans une école (2) à :
Orsay, Sens.

Salmonella sérotype Utah

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Lunel.

Salmonella sérotype Virchow

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
La Teste

Salmonella sérotype Weltevreden

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Toulouse.
- Epidémie(s) hospitalière(s) (2) à :
Saint-Denis, Saint-Pierre.

III.1.4.4 Détection des seuils d'alerte

L'analyse des tendances évolutives temporo-spatiales des sérotypes de *Salmonella* est réalisé par un programme (écrit par Yann Le Strat de l'InVS) comprenant trois algorithmes. Ce programme est utilisé au CNR-Salm chaque semaine depuis juin 06 et le rapport d'analyse est envoyé par courrier électronique à l'InVS.

III.1.5 Collaboration avec les réseaux nationaux de surveillance des salmonelles chez l'animal

Les collaborations entre le CNR-Salm et l'**AFSSA-LERQAP** (Agence française de Sécurité Sanitaire des Aliments - Laboratoire d'Étude et de Recherches sur la Qualité des Aliments et sur les Procédés agroalimentaires) sont très anciennes et étroites. L'AFSSA-LERQAP collecte par l'intermédiaire de laboratoires vétérinaires, d'hygiène alimentaire, ou d'analyses de l'environnement, regroupés en un « Réseau *Salmonella* » des souches de *Salmonella* adressées pour sérotypage et des informations sur les souches déjà sérotypées. Chaque année un responsable du CNR-Salm vient présenter les données du Centre lors de la réunion annuelle du réseau *Salmonella* de l'AFSSA.

III. 2 Surveillance de la résistance aux antibiotiques

L'étude de la résistance aux antibiotiques est réalisée sur un échantillon représentatif des principaux sérotypes de *Salmonella*, tous les ans ou les deux ans suivant les tendances. La technique utilisée est l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé (*Enterobacteriaceae*) en suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM; communiqué 2007). De 16 à 32 antibiotiques sont testés. Les résultats dans ce rapport ne mentionnent que les principaux antibiotiques.

abréviations utilisées: A ou Am; amoxicilline; Cro, ceftriaxone; Caz, ceftazidime; S, streptomycine; Sp, spectinomycine; K, kanamycine; To, tobramycine; G, gentamicine; Su, sulfamides; Tmp, triméthoprim; C, chloramphénicol; Te, tétracycline; Nal, acide nalidixique; Cip, ciprofloxacine.

III.2.1 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium, 1993-2007

Antibiotique	% de souches résistantes en :							
	1993	1997	2000	2002	2003	2005	2006	2007
	(n=297) (N=1593)	(n=250) (N=2801)	(n=320) (N=1613)	(n=320) (N=1756)	(n=100) (N=1489)	(n=100) (N=1767)	(n=100) (N=1852)	(n=100) (N=1632)
Amoxicilline	55,2	68,4	64,3	64,5	62	60	48	48
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0,3	0	1	0	1
Gentamicine	0,3	0,7	0,9	0,3	0	0	1	0
Acide nalidixique	3	3,6	10,3	4	1	8	3	4
Ciprofloxacine	0	0	0	0,3	0	0	0	0
Sulfamides	58,9	70	69,6	68	64	61	48	52
Triméthoprim	0	6	8,7	5,3	8	10	5	6
Chloramphénicol	44,1	61,2	59	57	46	42	38	37
Tétracycline	69,6	83,2	81,2	71	67	65	52	61

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches (une seule par patient) du sérotype reçues au CNR-Salm

Principaux profils de résistance	% de souches possédant ce profil en :							
	1993	1997	2000	2002	2003	2005	2006	2007
AS[Sp]SuCTe*	34,3	54,6	50,9	48,8	43	32	32	32
Multi-sensibles	28,6	14,1	11,3	21,5	26	28	44	34
Te	11,8	13,7	9,4	3,8	10	5	5	11
ASSuTe	8,9	4,4	2,8	3,8	7	9	6	4
AS[Sp]SuCTeNal*	0	1,5	3,8	3,8	1	5	2	2
AS[Sp]SuCTeTmp*	2,5	1,5	2,8	3	2	4	1	1
S[Sp]Su*	1,1	0,5	0,9	2,2	2	0	1	2
ASu*	0,7	0	0,3	1,8	3	0	1	1
ASuTmpTe	1,1	0	0	0,3	4	3	1	4

[Sp] La spectinomycine n'était pas testée avant 2003

Depuis ces dernières années, la multirésistance associée au clone DT104 (*) diminue en France. Environ 60% de souches multi-résistantes appartenaient au lysotype DT104 entre 1997 et 2002, 51% en 2003, 41% en 2005 et 37% et 38% en 2006 et 2007.

III.2.1.1 Résistance aux antibiotiques du sérotype 1,4,[5],12:i:- (monophasique) en 2007.

Antibiotique	% de souches résistantes en 2007 :	
	2007 (n=50)	(N=121)
Amoxicilline	64	
Ceftriaxone/ceftazidime	0	
Gentamicine	2	
Acide nalidixique	0	
Ciprofloxacine	0	
Sulfamides	40	
Triméthoprim	16	
Chloramphénicol	20	
Tétracycline	90	

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype reçues au CNR

Le sérotype 1,4,[5],12:i:- (monophasique) est un sérotype qui a connu une très nette augmentation ces dernières années passant de 99 à 410 isollements de 2005 à 2008 (du 11ème au 3ème sérotype le plus fréquemment isolé). Ce sérotype fait l'objet, pour la première fois dans ce rapport annuel, d'une étude de sensibilité aux antibiotiques pour les souches isolées en 2007. Il s'agit d'un sérotype présentant des niveaux de résistance aux antibiotiques assez comparables avec le sérotype Typhimurium de formule antigénique 1,4,[5],12:i:1,2 et dont il est un probable variant monophasique. Cependant, les profils distribués sont nettement différents et présentés ci-dessous.

Profils de résistance comparés en 2007 entre le sérotype 1,4,[5],12:i:- (monophasique) et Typhimurium

% Principaux profils de résistance	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	Typhimurium
ASSuCTe*	0	32
Multi-sensibles	8	34
Te	20	11
ASSuTe	62	4
ASSuCTeNal*	0	2
ASSuCTeTmp*	0	1
SSu*	0	2
ASu*	0	1
ASuTmpTe	0	4
SSuTmpCTe	16	0
SSuCTe	2	0
ASToGNetSuC	2	0

Depuis ces dernières années, la multirésistance du sérotype Typhimurium est liée à la prévalence du clone DT104 (*38% en 2007). Ce profil, principalement pentarésistant de type « AS[Sp]SuCTe » (avec un gène *bla*_{PSE-1} de résistance à l'amoxicilline), est inexistant chez le « variant » monophasique 1,4,[5],12:i:- qui présente majoritairement un profil « ASSuTe » (avec un gène *bla*_{TEM} de résistance à l'amoxicilline). Ceci est en faveur de l'émergence d'un clone monophasique du sérotype Typhimurium résistant à l'amoxicilline qui se distingue du clone DT104.

III.2.2 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis, 1993-2007

Antibiotique	% de souches résistantes en *:							
	1993	1997	2000	2002	2003	2005	2006	2007
	(n=70) (N=2345)	(n=380) (N=2585)	(n=82) (N=1992)	(n=99) (N=2054)	(n=100) (N=2048)	(n=100) (N=1495)	(n=100) (N=1264)	(n=100) (N=1183)
Amoxicilline	0	6,8	7,3	6,1	10	12	4	5
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	1	0	0	0
Gentamicine	0	0,5	1,2	0	1	2	0	1
Acide nalidixique	0	2	9,7	11,1	28	21	22	23
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	0	0
Sulfamides	0	3,9	1,2	0	2	2	2	3
Triméthoprim	0	2,3	2,4	0	3	2	1	2
Chloramphénicol	0	0,7	0	0	1	0	0	0
Tétracycline	2,8	3,4	12,1	3	4	1	3	11

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches (une seule par patient) du sérotype reçues au CNR-Salm

* Pour l'année 2004, se référer au rapport précédent.

Le sérotype Enteritidis reste globalement sensible aux antibiotiques. Cependant la résistance à l'acide nalidixique est en nette augmentation depuis 1993. La CMI à la ciprofloxacine reste toutefois assez basse (0,125 mg/L).

III.2.3 Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar, 1997-2008

Antibiotique	% de souches résistantes en :					
	1997 (n=200) (N=1067)	2000 (n=80) (N=651)	2002 (n=79) (N=244)	2003 (n=40) (N=157)	2006 (n=40) (N=114)	2008 (n=44) (N=97)
Amoxicilline	78	57,5	51,9	42,5	50	57,5
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	84	77,5	79,7	65	80	67,5
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0
Sulfamides	5	1,2	1,3	0	6	2
Triméthoprim	3,5	2,4	6,3	2,5	6	4
Chloramphénicol	1	0	0	0	0	0
Tétracycline	88	98,7	91,1	92,5	94	90

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches (une seule par patient) du sérotype reçues au CNR-Salm

Ce sérotype en diminution très nette depuis 1997 reste multirésistant aux antibiotiques.

Profils de résistance observés en 2006-2008

Profils de résistance %	2006	2008
Am S Te Nal	42	42,5
S Te Nal	28	20
S Te	10	7,5
Am S K Te Nal	4	0
Nal	4	0
S Sul Tmp Te	4	5
Am S K Tmp Te Nal	2	0
Multi-sensibles	2	7,5
S K Te	2	0
Am S Sul Te	2	0
Am Te	0	7,5
Am S K Tmp Te	0	5

III.2.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow, 1997-2007

Antibiotique	% de souches résistantes en* :							
	1997 (n=50) (N=501)	2000 (n=50) (N=239)	2002 (n=40) (N=126)	2003 (n=100) (N=157)	2004 (n=77) (N=88)	2005 (n=100) (N=114)	2006 (n=98) (N=101)	2007 (n=74) (N=79)
Amoxicilline	26	6	5	14	20,8	11	6,1	20,3
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	3	6,5	3	1	4
Gentamicine	0	0	0	1	2,6	1	3	1,4
Acide nalidixique	24	48	45	35	41,6	51	32,7	43,2
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	1	0	0
Sulfamides	12	4	10	17	31,2	16	13,3	29,7
Triméthoprim	20	2,4	5	18	29,9	15	13,3	29,7
Chloramphénicol	6	6	2,5	2	5,2	0	3	16,2
Tétracycline	24	10	5	16	23,4	16	9,2	25,7

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches (une seule par patient) du sérotype reçues au CNR-Salm

* Pour l'année 2001, se référer au rapport précédent

A partir de 2003, des souches résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) ont été détectées chez le sérotype Virchow. L'analyse des mécanismes moléculaires de résistance des souches isolées entre 2003 et 2005 ont permis d'identifier les beta-lactamases à spectre étendu (BLSE) CTX-M-2 (phénotype ACroSuTmpTeNal, prévalence de 2 % en 2003, de 6,5 % en 2004 et de 1% en 2005), CTX-M-9 (phénotype ACroSSpKSuTmpTeNal, prévalence de 1 % en 2003), TEM-52 (phénotype ACazNal, prévalence de 1 % en 2005) et SHV-12 (phénotype ACazSSpKGSuTmpCTeNal, prévalence de 1 % en 2005).

Les 3 souches résistantes aux C3G en 2007 ont pour phénotype ACazNal (n=2) et ACroSSpKSuTmpTeNal (n=1).

III.2.5 Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport, 1997-2008.

Antibiotique	% de souches résistantes en *:								
	1997 (n=40) (N=170)	2000 (n=100) (N=109)	2001 (n=124) (N=134)	2002 (n=66) (N=71)	2003 (n=126) (N=138)	2004 (n=91) (N=94)	2006 (n=88) (N=91)	2007 (n=105) (N=109)	2008 (n=118) (N=120)
Amoxicilline	27,5	27	9,7	1,5	19,8	8,8	10,2	10,4	6,8
Ceftriaxone/ceftazidime	0	15	4	1,5	17,5	2,2	8	0,9	4,2
Gentamicine	2,5	4	1,6	0	1,6	2,2	0	0,9	0,8
Acide nalidixique	15	23	7,3	4,5	1,6	4,4	1,1	4,7	3,4
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sulfamides	27,5	29	10,5	4,5	19,8	8,8	11,4	12,3	7,6
Triméthoprim	27,5	10	4	3	1,6	4,4	3,4	8,5	1,7
Chloramphénicol	25	25	9,7	1,5	15,9	8,8	9,1	1,8	5,9
Tétracycline	45	27	11,3	3	19	9,9	12,5	11,3	9,3

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches (une seule par patient) du sérotype reçues au CNR-Salm

*Pour l'année 2005, se référer au rapport précédent

Depuis 2000, des souches résistantes aux C3G sont détectées dans ce sérotype avec des fréquences variables suivant les années. L'analyse des mécanismes moléculaires de résistance ont permis d'identifier la production de la céphalosporinase plasmidique CMY-2. Ces souches de phénotype ACazSSuCTe (ou plus rarement ACazSSpKToGSuCTe et ACazSKSuCTe) sont apparues durant la dernière décennie chez les bovins aux Etats-Unis (après l'autorisation d'utilisation d'une C3G, le ceftiofur pour le traitement de la pneumonie des bovins). Une analyse rétrospective nous a permis d'individualiser en 2000, un foyer de cas groupés dans la région parisienne. En 2003, une petite épidémie suite à de la consommation de la viande de cheval insuffisamment cuite a été détectée dans le Nord de la France (Espié et al. *Epidemiol Infect* 2005). Toutes les souches résistantes aux C3G isolées entre 2000 et 2005 ont été caractérisées au CNR-Salm et publiées (Egorova et al. *Emerg Infect Dis* 2008).

Depuis 2005, 12 nouvelles souches de phénotype ACazSSuCTe, ACazSSuTe ou ACazSKSuCTe ont été confirmées comme productrices de CMY-2.

III.2.6 Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis, 1997-2008.

Antibiotique	% de souches résistantes en :					
	1997 (n=40) (N=179)	2000 (n=40) (N=151)	2002 (n=51) (N=133)	2003 (n=45) (N=108)	2006 (n=58) (N=105)	2008 (n=50) (N=92)
Amoxicilline	2.5	2.5	2	0	0	10
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	0	2.5	2	0	1,7	8
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	2
Sulfamides	5	5	4	4,4	0	12
Triméthoprim	5	2.5	0	4,4	0	14
Chloramphénicol	2.5	2.5	2	0	1,7	2
Tétracycline	35	2.5	4	0	5,2	20

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype reçues au CNR

Ce sérotype est en diminution depuis 1997 mais la prévalence de souches multirésistantes aux antibiotiques est en augmentation en 2008. Une souche (n° 08-5424) isolée en 2008 présentait une CMI à la ciprofloxacine de 1 mg/L.

Profils de résistance observés en 2008

Profils de résistance %	n	%
Multi-sensible	36	72
Te	5	10
Am (S) Su Tmp	3	6
S Sp Su Tmp Te Nal	2	4
Su Tmp Te	1	2
Am	1	2
Am Su Tmp C Te Cip	1	2
C Te Nal	1	2

III.2.7 Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby, 2000-2006.

Antibiotique	% de souches résistantes en :		
	2000 (n=40) (N=142)	2002 (n=39) (N=128)	2006 (n=50) (N=137)
Amoxicilline	2,5	5	2
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0
Gentamicine	0	2,6	2
Acide nalidixique	0	2,5	2
Ciprofloxacine	0	0	0
Sulfamides	57,5	51,3	76
Triméthoprine	5	3	8
Chloramphénicol	2,5	0	0
Tétracycline	55	61,5	80

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype reçues au CNR

Profils de résistance observés en 2006

Profils de résistance	N	%
S Sp Sul Te	32	64
Multi-sensibles	9	18
Sul Tmp Te	3	6
Te	2	4
Am S Sul Tmp Te	1	2
Nal	1	2
S Sp K T G Sul Tmp Te	1	2
S Sul Te	1	2

III.2.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype Heidelberg entre 1997 et 2008.

Antibiotique	% de souches résistantes en :				
	1997 (n=50) (N=269)	2000 (n=50) (N=157)	2002 (n=67) (N=84)	2007 (n=32) (N=35)	2008 (n=28) (N=28)
Amoxicilline	26	36	31,5	6,3	28,6
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	10,7
Acide nalidixique	0	2	13,5	31,3	50
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0
Sulfamides	20	40	27	9,3	10,7
Triméthoprim	18	38	28,5	9,3	7,1
Chloramphénicol	6	0	0	0	7,1
Tétracycline	22	48	27	3,1	14,2

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype reçues au CNR

Depuis 2000, la résistance à l'acide nalidixique est en nette augmentation et en 2008, trois souches produisant une bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) ont été identifiées.

Profils de résistance observés en 2007 et 2008

Profils de résistance	2007	
	n	%
Multi sensibles	17	53,1
Nal	10	31,3
ASSuTmpTe	1	3,1
SSpSuTmp	1	3,1

Profils de résistance	2008	
	n	%
Multi sensibles	9	32,1
Nal	9	32,1
A(S)(Su)TeNal	2	7,1
ACroNal	2	7,1
ACroSSpGTSuTeNal	1	3,6
ASSpKSuTmpCTeNal	1	3,6

III.2.9 Résistance aux antibiotiques du sérotype Brandenburg entre 1997 et 2008.

Antibiotique	% de souches résistantes en :			
	1997 (n=40) (N=170)	2000 (n=40) (N=148)	2002 (n=39) (N=110)	2008 (n=50) (N=98)
Amoxicilline	15	5	7,5	24
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0
Acide nalidixique	12	0	10,3	0
Ciprofloxacine	0	0	0	0
Sulfamides	17,5	5	15	46
Triméthoprim	20	5	15	28
Chloramphénicol	10	0	10,3	22
Tétracycline	75	67,5	74,5	72

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype reçues au CNR

Profils de résistance observés en 2008

Profils de résistance	2008	
	n	%
Multi-sensibles	14	28
Te	12	24
S Su Te	9	18
Am S Sp To G Net Su Tmp C Te	9	18
Am S Sp To Su Tmp C Te	2	4
S Su Tmp Te	2	4

III.2.10 Résistance aux antibiotiques du sérotype Panama en 2007.

Antibiotique	% de souches résistantes en 2007 :	
	2007 (n=69)	(N=74)
Amoxicilline	4,3	
Ceftriaxone/ceftazidime	0	
Acide nalidixique	1,4	
Ciprofloxacine	0	
Sulfamides	2,9	
Triméthoprim	2,9	
Chloramphénicol	2,9	
Tétracycline	1,4	

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype reçues au CNR

Les souches de sérotype Panama sont majoritairement sensibles aux agents antibactériens les plus communément utilisés (95,6% des souches isolées en 2007). Quarante-huit souches (69%) provenaient de laboratoires des Antilles-Guyane françaises (16 de Guadeloupe, 21 de Martinique et 11 de Guyane Française).

III.2.11 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi, 1997-2008

Antibiotique	% de souches résistantes en :							
	1997 (n=40) (N=170)	2000 (n=40) (N=186)	2002 (n=40) (N=133)	2004* (n=37) (N=109)	2005* (n=63) (N=116)	2006* (n=106) (N=111)	2007* (n=65) (N=65)	2008* (n=90) (N=90)
Amoxicilline	0	0	2,5	27	8,1	12,3	20	12,2
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	0	5	7,5	24,3	17,8	37,7	33,3	27,8
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	0	0
Cotrimoxazole	5	2,5	7,5	25	7,9	12,3	22,2	12,2
Chloramphénicol	7,5	0	7,5	NT	5,9	12,3	15,6	14,4
Tétracycline	5	0	7,5	NT	5,9	12,3	15,6	8,9

*Souches isolées en France métropolitaine (une seule par patient) correspondant à l'exclusion des souches provenant de Mayotte et des Antilles-Guyane.

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype (une seule par patient) reçues par patient au CNR-Salm

NT : non testé

Pour l'année 2003, se référer au précédent rapport

En 2008, le pourcentage de résistance à l'acide nalidixique (Nal^R avec une CMI de la ciprofloxacine < à 1 mg/L) des souches **de sérotype Typhi** est d'environ 30%. Ces souches Nal^R étaient acquises suite à des séjours en Inde ou en Asie du sud-Est. Ces souches contractées essentiellement dans le sous-continent indien sont souvent résistantes de façon isolée à l'acide nalidixique alors que précédemment elles étaient de plus multirésistantes (à l'amoxicilline, chloramphenicol, cotrimoxazole et tétracycline). Cela serait dû à la perte du plasmide IncHI1 en l'absence de pression de sélection par ces anciens antibiotiques.

Depuis ces dernières années de plus en plus de souches multirésistantes Nal^S sont acquises en Afrique. Par exemple, en 2008, lorsque que le lieu de contamination probable est indiqué, les souches multirésistantes de profil ASSuTmpTe provenaient du Congo (n=1), Mali (n=1) et de Côte d'Ivoire (n=1) et celles de profil étendu à l'acide nalidixique ASSuTmpC(Te)Nal provenaient d'Inde (n=2), de Bangladesh (n=1) et de Palestine (n=1).

Entre 2004 et 2008, 139 souches du sérotype Typhi reçues du centre hospitalier de Mamoudzou (Mayotte) ont été étudiées. Elles étaient toutes sensibles à l'amoxicilline, à l'acide nalidixique et au cotrimoxazole. Une investigation menée fin 2008 par macrorestriction ADN (PFGE par *XbaI*) a montré que la recrudescence des isollements entre le 22 octobre et le 2 novembre 2008 était liée à la circulation clonale d'une souche (n=18).

Entre 2004 et 2008, 39 souches du sérotype Typhi ont été reçues de Guyane française, 31 ont été étudiées. Elles étaient toutes sensibles à l'amoxicilline, à l'acide nalidixique et au cotrimoxazole.

III.2.12 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A, 2005-2008

Antibiotique	% de souches ^a résistantes en :			
	2005 (n=21) (N=33)	2006 (n=44) (N=45)	2007 (n=43) (N=43)	2008 (n=42) (N=42)
Amoxicilline	0	0	2,3	2,4
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0
Acide nalidixique	71,4*	50*	34,9*	61,9*
Ciprofloxacine	0	0	0	0
Cotrimoxazole	0	0	2,3	0
Chloramphénicol	0	2,3	2,3	2,4
Tétracycline	0	2,3	2,3	2,4

^a Souches isolées en France métropolitaine (une seule par patient)

* élévation de la CMI à la ciprofloxacine jusqu'à 0,5-1 mg/L

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype (une par patient) reçues au CNR-Salm

Le pourcentage de résistance à l'acide nalidixique (CMI de la ciprofloxacine < à 1 mg/L) des souches **de sérotype Paratyphi A** reste élevé (environ 62%). Ces souches ont été contractées en Inde, Bangladesh, Pakistan et, pour la première fois en Afrique comme le Sénégal, Tchad et Guinée-Bissao.

III.2.13 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B, 2000-2008

Antibiotique	% de souches résistantes en :						
	2000 (n=68) (N=75)	2001 (n=69) (N=73)	2002 (n=78) (N=78)	2003 (n=46) (N=48)	2006 (n=35) (N=51)	2007 (n=40) (N=40)	2008 (n=47) (N=51)
Amoxicilline	5,1	14,5	28,2	10,9	8,6	7,5	8,5
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	2,2	0	0	0
Acide nalidixique	1,5	2,9	0	0	2,9	5	4,3
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	0
Sulfamides	5,1	15,9	29,5	10,9	8,6	7,5	8,5
Triméthoprim	0	2,9	7,7	4,3	0	2,5	2,1
Chloramphénicol	5,1	11,6	24,4	8,7	8,6	5	8,5
Tétracycline	7,4	15,9	25,6	8,7	8,6	7,5	12,7

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype (une par patient) reçues au CNR-Salm

Aucune souche de Paratyphi B dt- (n=8) n'était résistante à l'amoxicilline et/ou à l'acide nalidixique.

III.2.14 Souches présentant une résistance particulière aux antibiotiques, détectées au CNR-Salm entre 2006 et 2008

III.2.14.1 Souches résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération

Deux mécanismes de résistance aux C3G et communs aux entérobactéries sont décrits chez *Salmonella*. Ces mécanismes de support plasmidique sont la production d'une BLSE et/ou la production d'une céphalosporinase (AmpC). Ils restent toutefois rares chez *Salmonella*

III.2.14.1.1 Souches productrices de β -lactamases à spectre étendu, CNR-Salm 2006-2008

Sérotype	Année	N ¹	Lieu de l'isolement	Type de la BLSE	Résistance associée ²	Souche	Renseignements épidémiologiques
Brandenburg ³	2008	1	Fougères (35)	CTX-M-14	SuTmpTe	08-1650	Contexte inconnu
Bredenev	2007	1	Carcassonne (11)	CTX-M-9	SSpSu	07-3397	Contexte inconnu
Concord et 6,7:l,v :-	2006-2008	35	France entière	CTX-M-15	SSpGSuC SGSuTmpCTeNal ⁵ SGSuTmpCTe SKTGSuCTe		Enfants adoptés d'Ethiopie. Quelques cas autochtones
Fyris	2008		Villeneuve St Georges (94)	CTX-M-15 SHV-12	SGSuTmpCTe	08-2400	Contexte inconnu
Havana	2007-2008	9	France entière	CTX-M-15	SSpKToGSuTmpCTeNal ⁶ SSpToGSuTmpCTeNal ⁶ SSpKToSuTmpCTeNal ⁶ SSpToGSuTmpCTe		Enfants adoptés du Mali
Heidelberg	2008	3	Clamart (92)	CTX-M-15	Nal	08-2380	Contexte inconnu
			Grenoble (38)	CTX-M-2	SSpToGSuNal	08-6304	Contexte inconnu
			Bordeaux (33)	En cours	Nal	08-7519	Voyage à la réunion
London	2007	1	St-Affrique (12)	CTX-M-1	SuTmp	07-0819	Contexte inconnu
Senftenberg	2006	1	Paris	CTX-M-3	Tmp	06-8933	Séjour en Turquie
Stanley	2007	1	St-Brieuc (22)	CTX-M-15	SSpKSuTmpTeNal	07-1884	Séjour au Pakistan
Telelkebir	2007-2008	11	France entière	CTX-M-15	SSpKToGSuTmpCTeNal ⁶ SSpKToGSuTmpCTe		Enfants adoptés du Mali
Typhimurium et 1,4,[5],12:i:-	2006	1	St-Girons (09)	CTX-M-1 ⁴	SuTmpTe	06-6550	Contexte inconnu
	2007	3	Steenvoorde (59)	En cours	SSpSuCTe	07-3847	Contexte inconnu
			Cahors (47)	CTX-M-15	SKToGSuTmpCTeNal	07-3206	Séjour en Afghanistan
			Cahors (47)	CTX-M-15	SKToGSuTmpCTeNal	07-3207	Séjour en Afghanistan
	2008	8	Belley (01)	En cours	SSpSuTmpCTe	08-0843	Contexte inconnu
			Grenade (31)	CTX-M-1	SuTmp	08-1537	Contexte inconnu
			Metz (57)	CTX-M-1	SuTmp	08-1745	Séjour au Burkina Faso
			Castres (81)	CTX-M-1	SuTmp	08-2211	Contexte inconnu
			Aurillac (15)	CTX-M-1	SuTmpTe	08-2712 ⁷	Contexte inconnu
			Aurillac (15)	CTX-M-14	Aucune	08-2711	Contexte inconnu
			Aurillac (15)	CTX-M-14	SSpSuCTe	08-3712	Contexte inconnu
			Bordeaux (33)	CTX-M ⁴	SSpGSuTmp	08-8519	Séjour en Algérie
Virchow	2006	1	Nimes (30)	TEM-52	Aucune	06-8083	Contexte inconnu
	2007	3	Dinan (22)	CTX-M-9	SSpKSuTmpTeNal	07-2762	Contexte inconnu
			Meaux (77)	TEM-52	Nal	07-3700	Contexte inconnu

			Riom (63)	En cours	Nal	07-4662	Contexte inconnu
	2008	1	Arcachon (33)	CTX-M ⁴	SSpKSuTmpTeNal	08-8672	Contexte inconnu
Waycross	2006-2008	17	France entière	CTX-M-15	Aucune G SuTmp GSuTmp		Enfants adoptés du Mali

¹Nombre de souches (une souche par patient).

¹Abréviations utilisées: S, streptomycine; Sp, spectinomycine; K, kanamycine; To, tobramycine; G, gentamicine; Ak, amikacine; Su, sulfamides; Tmp, triméthoprim; C, chloramphénicol; Te, tétracycline; Nal, acide nalidixique.

³Souche possédant à la fois une BLSE et une céphalosporinase.

⁴Groupage par PCR. Séquençage en cours pour détermination précise de l'allèle.

⁵Présence du gène de résistance aux quinolones *qnrA1*.

⁶Présence du gène de résistance aux quinolones *qnrB1*.

⁷Souche monophasique 4,5,12:i:-.

III.2.12.1.2 Souches productrices de céphalosporinases plasmidiques, CNR-Salm 2006-2008

Sérotype	Année	N ¹	Lieu de l'isolement	Type de la céphalosporinase	Résistance associée ²	Souche	Renseignements épidémiologiques
Agona	2006	2	Sannois (95)	CMY-2	SKSuTmpCTe	06-6634	Contexte inconnu
			Paris	CMY-2	SKSuTmpCTeNal	06-7675	Contexte inconnu
Anatum	2006	1	Paris	CMY ⁴	Aucune	06-4966	Porteur asymptomatique
Brandenburg ³	2008	1	Fougères (35)	ACC-1	SuTmpTe	08-1650	Contexte inconnu
Corvallis	2008	1	Nancy (54)	CMY-2	SSpGSuCTe	08-3705	Abcès du sein
Goldcoast	2008	1	Lisieux (14)	CMY-2	Aucune	08-5062	Contexte inconnu
Newport	2006-2008	13	France entière	CMY-2	SSuCTe SKSuCTe SSuTe		Non investigué
Reading	2006	1	Villecresnes (94)	CMY-2	SSpSuCTe	06-0179	Infection urinaire
Stanley	2006	2	Amiens (80)	CMY ⁴	SSpGSuCTe	06-8122	Séjour en Thaïlande
			Cenon (33)	CMY ⁴	SSpSuCTe	06-7118	Contexte inconnu
Typhimurium	2008	1	Valence (26)	CMY ⁴	Aucune	08-1532	Contexte inconnu

¹Nombre de souches (une souche par patient).

²Abréviations utilisées: S, streptomycine; Sp, spectinomycine; K, kanamycine; To, tobramycine; G, gentamicine; Ak, amikacine; Su, sulfamides; Tmp, triméthoprim; C, chloramphénicol; Te, tétracycline; Nal, acide nalidixique.

³Souche possédant à la fois une BLSE et une céphalosporinase.

⁴Groupage par PCR. Séquençage en cours pour détermination précise de l'allèle.

Les souches résistantes aux C3G sont très rarement observées dans le genre *Salmonella*. Les études de sensibilité aux antibiotiques menées par le CNR-Salm de 1993 à 2007 par échantillonnage des deux sérotypes majeurs, Enteritidis et Typhimurium (2718 souches testées) n'ont mis en évidence que quatre souches résistantes (0,15%), trois de sérotype Typhimurium (02-782, TEM-52 ; 05-9280, CTX-M ; 07-3847, BLSE en cours de typage) et une de sérotype Enteritidis (03-467, SHV-12). Ces souches ne sont identifiées que récemment au cours de la période 2002-2007 (4/1319, 0,3%). Un nombre croissant de souches résistantes aux C3G est également observé depuis 2007 au CNR-Salm, en dehors des études de prévalence.

Certains sérotypes sont, depuis quelques années, particulièrement affectés par cette résistance comme Virchow avec 15 souches sur 689 testées (2,2%) entre 1997 et 2007 (CTX-M-2, n= 9; CTX-M-9, n= 2; TEM-52, n= 2; SHV-12, n= 1 ; BLSE en cours de typage, n=1) et Newport

avec 58 souches sur 936 testées (6,2%) entre 1997 et 2008 qui produisaient la céphalosporinase CMY-2. L'atteinte préférentielle de ces sérotypes est un phénomène observé sur le plan international et serait vraisemblablement consécutif à l'utilisation de C3G dans la filière animale (bovins pour Newport et volailles pour Virchow). A côté de ces sérotypes majeurs, le CNR-Salm détecte des sérotypes rares producteurs de BLSE (Babelsberg, Concord, Waycross, Havana, Teletkebir) depuis 2003. Le plus souvent il s'agit de salmonelles sélectionnées par une mauvaise utilisation de C3G chez des enfants candidats à l'adoption dans leur pays d'origine (Mali et Ethiopie).

III.2.12.2 Souches résistantes à la ciprofloxacine

La résistance à la ciprofloxacine est définie *in vitro* par une concentration minimale inhibitrice (CMI) supérieure à 1 mg/L (communiqué 2008 du CA-SFM). Les mécanismes de résistance aux fluoroquinolones sont principalement des modifications au niveau du site de fixation de ces antibiotiques au niveau de la DNA gyrase et la topoisomérase IV. Ces modifications sont dues à des mutations ponctuelles dans les gènes *gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE*. L'accumulation de mutations et la présence additionnelle d'un mécanisme d'efflux ou de facteurs plasmidiques comme les gènes *qnr* et le gène *aac6'-I-cr* augmentent le niveau de résistance de ces souches.

III.2.12.2.1 Souches du sérotype Typhimurium résistantes à la ciprofloxacine détectées au CNR-Salm entre 2002 et 2008

Souche	Date	Lieu de l'isolement	Age/sexe	Lysotype/ pulsotype	Résistance associée	Renseignements épidémiologiques
02-8213	Oct 02	Gisors (27)	< 1 an/F	12 variant/ B1.4-X13	ASSpGSuTmpCTe	Contact possible avec perruches
03-3976	Juin 03	Romilly s/Seine (10)	62 ans/F	12 variant/ B1.4-X13	ASSpGSuTmpCTe	Contacts avec serpents (pythons)
03-9373	Nov 03	Grenade s/Garonne (31)	2 ans/F	12 variant/ B1.8-X9	ASSpSuCTe	Contacts avec serpent (Boa)
04-4301	Juill 04	Grenoble (38)	7 ans/F	12 variant/ B1.3-X13	ASSpGSuTmpCTe	Contacts avec serpent (couleuvre américaine)
04-4415	Juill 04	Grenoble (38)	18 mois/F	12 variant/ B1.3-X13	ASSpGSuTmpCTe	Demi-sœur de la précédente
03-9825	Déc 03	Isle d'Abaut (38)	Perroquet	12 variant/ B1.4-X13	ASSpGSuTmpCTe	Infection mortelle
04-6374	Juill 04	Grenoble (38)	Serpent	12 variant/ B1.1-X13	ASSpGSuTmpCTe	Serpent sain au contact d'un cas
04-8474	Nov 04	Nice (06)	Perroquet	12 variant/ B1.4-X13	ASSpGSuTmpCTe	Infection mortelle
04-8808	Nov 04	Nice (06)	Perroquet	12 variant/ B1.4-X13	ASSpGSuTmpCTe	Infection mortelle
05-1506	Mars 05	Alençon (61)	36 mois/F	12 variant/ B1.1-X53	ASSpGSuTmpCTe	Contacts avec serpent (python royal)
05-6408	Sept 05	St Nazaire (44)	8 mois/M	12 variant/ B1.3-X13	ASSpGSuTmpCTe	Contacts avec iguane
06-6158	Sept 06	Jonzac (16)	4 ans/F	12 variant/ B1.4-X58	ASSpGSuTmpCTe	Voyage en Chine avec consommation de tortue

¹abréviations utilisées pour les profils de résistance : A, amoxicilline; S, streptomycine; Sp, spectinomycine; K, kanamycine; T, tobramycine; G, gentamicine; Su, sulfamides; Tmp, triméthoprime; C, chloramphénicol; Te, tétracycline.

Ces souches possédaient une CMI à la ciprofloxacine supérieure à 16 mg/L. Une étude des mécanismes de résistance à la ciprofloxacine réalisée en collaboration avec le Dr Isabelle Casin (Hôpital Saint-Louis, Paris) a montré que ces souches présentaient deux substitutions significatives dans GyrA (Ser83Phe et Asp87Asn), une dans GyrB (Ser464Phe) et une dans ParC (Ser80Arg). Un mécanisme d'efflux était également présent. Une étude par électrophorèse en champ pulsé (*Xba*I et *Bln*I) ainsi qu'une étude par les méthodes MLVA et CRISPR a montré que ces souches étaient clonales.

Les souches résistantes à la ciprofloxacine (Cip^R) sont exceptionnelles dans le genre *Salmonella*. Les différentes études de sensibilité aux antibiotiques menées par le CNR-Salm entre 1997 et 2007 sur 6880 souches échantillonnées appartenant aux 15 principaux sérotypes n'avait mis en évidence que deux souches résistantes (< 0,1 %). Il s'agissait d'une souche de sérotype Typhimurium (02-8213) isolée en 2002 et d'une souche de sérotype Virchow (05-1106) isolée en 2005. Les différentes souches de sérotype Typhimurium mentionnées dans le tableau précédent ont été identifiées hors étude de prévalence par l'analyse des résultats d'antibiogrammes fournis systématiquement par les laboratoires correspondants en même temps que les souches à sérotyper. La faible prévalence de ces souches Cip^R sur le territoire national ainsi que sur le plan international pourrait être expliquée par une diffusion liée à un contact direct avec des nouveaux animaux de compagnie (reptiles +++) porteurs sains (la souche ayant vraisemblablement été sélectionnée par l'usage prophylactique d'enrofloxacin dans les animaleries). Bien qu'aucun nouveau cas n'ait été identifié depuis 2007, le nombre de cas pourrait devenir beaucoup plus important si une telle souche devait diffuser chez des animaux destinés à l'alimentation humaine. De telles souches ont été récemment décrites comme émergentes en Chine (Cui et al. Emerg Infect Dis. 2008, Xia et al. J Clin Microbiol. 2009). Une analyse comparative des profils PFGE et de ceux des souches chinoises est en cours ainsi qu'une étude de prévalence chez des reptiles d'importation.

III.2.12.2.2 Souches d'autres sérotypes résistantes à la ciprofloxacine détectées au CNR-Salm entre 2002 et 2008

Souches du sérotype Kentucky

Nous avons publié en 2006 (Weill et al. Emerg Infect Dis) une étude sur des souches de sérotype Kentucky Cip^R reçues au CNR-Salm entre 2002 et 2005

Entre 2000 et 2005, 197 souches humaines de ce sérotype avaient été analysées au CNR-Salm (sur un total de 69,759 souches de *Salmonella* sérotypées) et 17 étaient résistantes à la ciprofloxacine (CMI comprises entre 4 et 16 mg/L). Une souche Cip^R mais non sérotypable (phénotype « rough ») avait été également incluse dans cette étude. Nous avons établi une surveillance continue et prospective sur ces souches responsables de l'émergence actuelle de ce sérotype (**Tableau 1**).

Tableau 1. Nombre de souches de *S. enterica* sérotype Kentucky reçues au CNR-Salm entre 2000 et 2008

Année	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Souches reçues	24	28	31	35	34	45	54	112	132
Souches testées	24	28	31	35	34	45	53	112	132
Souches Cip ^R n (%)	0 (0)	0 (0)	1(3,2)	0 (0)	5 (14,7)	11 (24,4)	16 (30,2)	68 (64,3)	99 (75%)

La première souche de sérotype Kentucky Cip^R avait été isolée en décembre 2002 en France chez un touriste français qui avait souffert d'une gastroentérite au cours d'une croisière sur le

Nil. Entre 2004 et 2005, un nombre croissant de ces souches était observé (**Tableau 1**). Les 17 autres souches Cip^R (16 de sérotype Kentucky et la souche « rough ») avaient été isolées lors de salmonelloses au cours ou au décours d'un voyage en Egypte ou en Afrique de l'Est. Aucune enquête alimentaire n'avait pu être réalisée et le type d'aliment responsable de la dissémination de telles souches n'avait donc pas pu être identifié.

L'étude des mécanismes de résistance à la ciprofloxacine avait identifié deux substitutions significatives dans GyrA (Ser83Phe et Asp87Gly chez 8 souches, Ser83Phe et Asp87Asn chez cinq souches, et Ser83Phe et Asp87Tyr chez cinq souches) et une dans ParC (Ser80Ile). Un mécanisme d'efflux était présent chez les souches avec les CMI les plus hautes.

Entre 2006 et 2008, le nombre de souches de *S. enterica* sérotype Kentucky Cip^R est passé de 16 (sur les 54 souches annuelles de Kentucky, 29,6%) à 99 (sur 132 souches, 75%). En 2008, un profil de résistance (ASSpGSuTeCip) était majoritaire (37 souches sur 99 souches Cip^R, 37,3%) puis le profil ACip (18 souches, 18,2%). Lorsque les renseignements épidémiologiques étaient complets (n=58), le pays où avait eu lieu la contamination se répartissait de façon suivante : Maroc (29 cas, 50%), Egypte (6 cas), Tanzanie, Algérie (2 cas), Tunisie, Djibouti, Syrie, Liban et Lybie (1 cas). Deux patients n'avaient pas déclaré avoir voyagé. Une collaboration internationale en cours a révélé la similarité des souches humaines Cip^R avec des souches aviaires et aquacoles de pays d'Afrique (F.X. Weill et S. Le Hello, non publié).

III. 3 Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux

En 2008, le CNR-Salm a participé :

- au signalement d'une augmentation du nombre de souches de sérotype Brandenburg reçues au CNR-Salm. Entre le 01 janvier et le 08 avril 2008, 34 souches, principalement isolées à partir de selles, correspondant à 32 malades ont été reçues au CNR, avec en particulier 20 souches reçues entre la semaine 8 et la semaine 14. Ce sérotype est peu fréquemment isolé par le CNR (50 isollements par an). Ces isollements provenaient de laboratoires distribués sur l'ensemble de la France (22 départements différents) et l'enquête alimentaire exploratoire par questionnaire téléphonique n'a pas permis d'impliquer un produit en particulier. Aucun nouveau cas isolé entre le 08/04/2008 et le 24/04/2008 n'a été reçu par le CNR-Salm.
- au signalement en janvier-février 2008 d'une augmentation de souches de *S. enterica* subspecies *diarizonae* de sérotype 61:(k):1,5,7. Dix cas ont été identifiés dans 10 hôpitaux de 7 régions différentes entre le 01 janvier et le 15 mai 2008 et ont été isolés de sites de prélèvements inhabituels. L'investigation menée par l'InVS a décelé qu'aucun cas n'avait de symptômes suggérant une infection à *Salmonella*. Les enquêtes de traçabilité ont mis en évidence l'utilisation commune de géloses au sang (GS) de mouton provenant d'un seul fabricant. Ce dernier a confirmé une contamination d'un cheptel de moutons qui sert à la fabrication des GS. Le 11 juin 2008, ce fabricant a informé ses clients de la possible contamination de ses géloses au sang. Depuis cette date, le CNR-Salm a dénombré 3 cas humains dont un de prélèvements inhabituels (liquide articulaire).
- à l'investigation microbiologique suite au signalement fin janvier 2008 par des laboratoires de la région Rhône-Alpes d'un nombre élevé de cas de salmonellose à *S. enterica* sérotype Typhimurium. Entre le 1^{er} janvier 2008 et le 30 mars 2008, 671 isollements de sérotype Typhimurium ont été reçus au CNR-Salm, ce qui est nettement supérieur aux années précédentes. Cent-un cas ont pu être interrogés par les épidémiologistes de l'InVS. Soixante-cinq pour-cent ont rapporté la consommation de rosette dans les jours précédant le début des symptômes. L'enquête vétérinaire de traçabilité de la rosette consommée par les cas a permis de remonter à un établissement producteur dans le Rhône avec isolement de *S. enterica* sérotype Typhimurium dans 3 lots différents de rosette fabriqués par l'entreprise. Les souches d'origine humaine et celles isolées de prélèvements alimentaires ont été caractérisées et comparées par électrophorèse en champ pulsé et MLVA au CNR-Salm. La technique d'électrophorèse en champ pulsé s'est avérée peu discriminante pour les souches épidémiques qui présentaient un profil unique X1, majoritaire chez les souches DT104. Seule la technique MLVA a réussi à corréliser respectivement 44, 10 et 6 souches humaines avec 3 types MLVA trouvés chez les 3 souches alimentaires (12-10-13-4-23, 12-15-13-4-15 et 12-14-14-4-15). Les mesures de contrôle (arrêt de la production et retrait et rappel de tous les lots de rosette) ont permis une baisse rapide du nombre de cas.
- au signalement de l'isolement de 17 souches de sérotype Muenster sur 3 semaines (semaines 9 à 12 2008) répartis essentiellement sur la moitié Nord du territoire français. Parmi les 13 cas interrogés par l'InVS, 69% ont rapporté la consommation de fromage de

chèvre acheté au Salon de l'Agriculture qui s'était tenu du 23 février au 02 mars 2008. Par ailleurs, une TIAC familiale à *S. enterica* sérotype Muenster, survenue le 09 mars 2008 en Ardèche, a été attribuée à la consommation de fromage de chèvre. L'enquête vétérinaire a confirmé la contamination de ce fromage et un auto-contrôle chez le fabricant est revenu positif pour *S. enterica* sérotype Muenster. Le retrait du lot le 24 mars a permis de ne plus recenser de cas lié à la consommation de chèvre.

- a participé à l'investigation microbiologique suite au signalement par plusieurs laboratoires d'analyses biomédicales privés et publics d'un nombre anormalement élevé d'isollements à Typhimurium (308 cas versus 128 en juin 2007) sensibles à l'ensemble des antibiotiques testés et sur l'ensemble du territoire français. Le typage moléculaire des souches de foyers de cas groupés (PFGE et MLVA) par le CNR-Salm a permis d'identifier une population clonale (de profil PGFE : XTYM-50 et de type MLVA : 11-17-9-4-0) pour 52 souches sur les 90 étudiées. Deux autres épidémies liées à une souche multisensible ont été identifiées à la même époque au Danemark et en Suisse. Nous avons pu montrer que la souche française était identique à la souche suisse mais différente de la souche danoise. Aucun aliment ou autre exposition qui puisse être la source d'infection n'a pu être retrouvée dans les pays concernés. En France, aucune mesure de contrôle de santé publique n'a donc pu être mise en place. En juillet le nombre d'isollements enregistrés au CNR-Salm est revenu à des valeurs attendues pour la saison.
- au signalement d'un nombre inhabituel d'isolement de souches de sérotype Give chez des nourrissons (moins de 1 an) entre le 20 août et le 8 septembre 2008. Ce signalement arrive après l'alerte le jeudi 18 Septembre 2008, de l'hôpital de Nantes qui a informé la Ddass de la Loire-Atlantique d'un cas de salmonellose chez un nourrisson nourri exclusivement au biberon. Le lundi 22 Septembre 2008, deux nouveaux cas de salmonellose chez des nourrissons ont été signalés par l'hôpital de Niort à la Ddass des Deux-Sèvres. Ce sérotype, habituellement très rarement isolé, était le seul pour lequel on notait une augmentation récente chez les nourrissons. Un questionnaire exploratoire mené par l'InVs avait permis de montrer que ces enfants n'avaient pas été en contact avec d'autres cas de diarrhée, et n'avaient aucune autre exposition commune que leur lait. Les nourrissons consommaient un même lot de lait infantile anti-régurgitation vendu exclusivement en pharmacie et dont la date limite de consommation était le 18/06/2011. Au total, au 1^{er} décembre 2008, le CNR-Salm a reçu, en 2008, 57 isollements de *S. enterica* de sérotype Give provenant d'enfants de moins de 1 an, tous reçus entre le 20 août et le 04 novembre 2008. Les analyses microbiologiques réalisées par le laboratoire départemental de Rennes sur les poudres de lait provenant de boîtes de lait incriminés ont permis de retrouver la présence de *S. enterica* de sérotype Give. Le 22 septembre, les autorités sanitaires et le producteur ont décidé le rappel de tous les lots de ce lait. Un message d'alerte européen a aussi été envoyé le 25/09. Les mesures de contrôle prises dès la suspicion de l'association de ces cas de salmonellose avec la consommation de ce lait en poudre ont probablement permis d'éviter de nouveaux cas.
- au signalement le 29 août 2008 par le CNR-Salm de 4 isollements récents de *S. enterica* sérotype Putten (sérotype rarement isolé) provenant de laboratoires du Nord-Ouest de la France. Les investigations épidémiologiques de la CIRE Ouest ont permis d'attribuer les infections à la consommation de produits hâchés frais de bœuf issus d'un établissement agroalimentaire de cette région.

- à l'investigation microbiologique de souches de *S. enterica* sérotype Typhi suite à la constatation d'une augmentation du nombre de cas de fièvres typhoïdes à Mayotte. Le CH de Mamoudzou a envoyé 14 Typhi isolés entre le 22 octobre et le 2 novembre 2008 pour lesquelles la PFGE a mis en évidence un seul profil épidémique. Une surveillance accrue par typage moléculaire est à envisager par la suite.
- au signalement de la recrudescence de souches de *S. enterica* sérotype Ajiobo en Rhône-Alpes en décembre 2008 (n=25). L'analyse par PFGE montre que la recrudescence des isollements en 2007/2008 est due à l'émergence d'un seul clone apparu en 2004. Ce sérotype reste à surveiller.
- à la réponse aux sollicitations de l'ECDC suite à des épidémies internationales : comparaison moléculaire des souches isolées au CNR-Salm de *S. enterica* sérotype Agona (Royaume-Uni, source : steak-haché) et de *S. enterica* sérotype Saintpaul en Guyane française (USA, source : piment mexicain).

III. 4 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

III.4.1 Contribution aux réseaux européens

Le CNR-Salm faisait partie du réseau **Enter-Net** qui était chargé de la surveillance internationale des infections gastro-intestinales humaines (*Salmonella*, VTEC y compris leur résistance aux antibiotiques). Ce réseau a été intégré à l'ECDC en 2008. Il regroupe de droit les différents pays de l'Union européenne ainsi que d'autres pays non-membres. La France par l'intermédiaire du CNR-Salm participe à ce réseau en transmettant via l'InVS les données trimestrielles sur les souches de *Salmonella* sérotypées (données épidémiologiques de base sur le patient : sexe, tranche d'âge, date d'isolement, notion de voyage à l'étranger). Le Centre participe également en répondant aux demandes d'information émanant de ce réseau. Le CNR-Salm participe aux contrôles de qualité externe «sérotypage et lysotypage des *Salmonella*» et «détermination de la sensibilité aux antibiotiques» organisés par ce Réseau. Chaque année le CNR-Salm adresse à la **Commission Européenne** (pour le laboratoire communautaire de référence sur l'épidémiologie des zoonoses, Berlin, Allemagne) par l'intermédiaire de l'InVS des données sur le nombre de *S. enterica* sérotypes Enteritidis et Typhimurium par classe d'âge isolées en France.

III.4.2 Contribution aux réseaux internationaux

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

Les souches étudiées au CNR-Salm dont les formules antigéniques ne figurent pas dans le schéma de White-Kauffmann-Le Minor sont transmises pour validation au Centre Collaborateur **OMS** de Référence et de Recherche sur les *Salmonella* (CCOMS) dont les responsables sont ceux du CNR-Salm. En 2008, le CNR-Salm a adressé au CCOMS les putatifs nouveaux sérotypes ou nouveaux variants de la sous-espèce *enterica* suivants:

* le putatif nouveau sérotype (nom en cours d'homologation) de formule 13,22:z:z6

- * le putatif nouveau sérotype (nom en cours d'homologation) de formule 16:j: -
- * le putatif nouveau variant R_{z45} du sérotype **Apapa** (45: m,t:-:R_{z45})

Les responsables du CNR-Salm participent au réseau Global Salm Surv de l'OMS comme enseignants pour la partie microbiologique (cours théoriques et travaux pratiques) lors de formations organisées par ce réseau. L'édition 2007 du schéma de White-Kauffmann-Le Minor par P.A.D. Grimont et F.X. Weill est accessible en version française sous forme d'un fichier pdf téléchargeable à l'adresse suivante : http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/salmoms/WKLM_Fr.pdf

III. 5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

En 2008, une collaboration entre le CNR-Salm et le Contrôle National de Qualité (CNQ) de l'AFSSAPS a été engagée. Ainsi en 2009, des souches de *Salmonella* sélectionnées par le CNR-Salm seront adressées à l'ensemble des laboratoires hospitaliers et libéraux de France dans le cadre du CNQ Bactériologie de façon à apprécier leur capacité de sérotypage. Au cours de ce CNQ, une enquête permettra également de connaître le nombre de souches de *Salmonella* isolées dans ces laboratoires en 2008 ainsi que leurs procédures quant au sérotypage (absence de sérotypage, sérotypage partiel ou complet, envoi au CNR ou à d'autres laboratoires spécialisées, absence de sérotypage et de transmission, ...).

IV. ALERTE

Les responsables du CNR-Salm sont en relation quotidienne avec leurs homologues du Département des Maladies Infectieuses de l'InVS. Toutes les élévations anormales de sérotypes ou d'antibiotypes détectés par le programme de détection ou détectés par les responsables du CNR sont communiquées en temps réel à l'InVS par voie téléphonique ou par courrier électronique.

V. ACTIVITES D'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL

V.1 Réunions et missions

- FX Weill. Participation à l'Atelier OMS Global Salm Surv « Surveillance intégrée de l'antibiorésistance et management de la qualité », 24-29 mars 2008, Yaoundé, Cameroun.
- FX Weill. Participation au « First Annual Meeting of the Food- and Waterborne Diseases Network in Europe », 01-02 octobre 2008, ECDC, Stockholm, Suède.

V.2 Enseignement

- FX Weill. Conférence « Quoi de neuf chez *Salmonella* ? », Hôpitaux Ambroise Paré et Raymond Poincaré, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, 30 janvier 2008.
- FX Weill. Conférence « Les sérotypes de *Salmonella* sont-ils solubles dans la génomique ? » Colloque « Des Pathogènes et des Hommes, Chapitre II », Institut Pasteur, 31 mars 2008.
- FX Weill. Conférence « La résistance aux antibiotiques chez *Salmonella*, données humaines et études collaboratives (Institut Pasteur-AFSSA-INRA) », Académie Vétérinaire de France, 3 avril 2008.
- FX Weill. Conférence « Quoi de neuf chez *Salmonella* ? », C.H. André Mignot, Versailles, 9 septembre 2008.
- FX Weill. Cours Master 2 de Microbiologie (Institut Pasteur, Paris 6 et 7), 25 septembre 2008, « Epidémiologie des salmonelloses mineures : évolution, résistance et facteurs génétiques ».
- FX Weill. Cours Master 2 de Microbiologie Appliquée (Paris 6), 21 octobre 2008, « Les salmonelles ».
- FX Weill. Conférence « Les données 2007 du CNR-Salm », Journée annuelle du réseau *Salmonella* de l'AFSSA-LERQAP, Maisons-Alfort, 18 novembre 2008.

V.3 Accueil de stagiaires

Le CNR-Salm a reçu en 2008 comme stagiaires:

- Mr le Dr. Benoît Doublet, chargé de recherches à l'INRA. Stage post-doctoral (du 10 mars 08 au 10 mars 09) sur la caractérisation des variants génétiques du *Salmonella* genomic island 1, îlot chromosomique de multirésistance aux antibiotiques.
- Mlle Elodie Lepillet, étudiante en 2^{ème} année de l'IUT de Créteil-Vitry, Université Paris XII-Val de Marne (Du 14 avril au 20 juin). Stage d'étude sur la caractérisation des plasmides portant la multirésistance aux antibiotiques chez *S. enterica* sérotype Typhi.
- Mmes les Dr. Jav Sarantuya et Thulga Khosbayar, médecins biologistes à l'Université d'Oulan-Bator, Mongolie. Stage d'observation (du 02 juin au 09 juin).
- Mr Brahim Bouchrif, ingénieur à l'Institut Pasteur de Casablanca. Stage de recherche (du 02 septembre au 31 octobre 2008) sur la caractérisation de souches marocaines de *S. enterica* serotypes Kentucky résistantes à la ciprofloxacine et de *S. enterica* sérotypes Newport et Typhimurium résistantes aux C3G.
- Mlle le Dr. Maria Pardos, médecin-microbiologiste de la Faculté de Médecine de Saragosse, Espagne. Stage de recherche (du 01 octobre 2008 au 30 septembre 2009) sur la caractérisation des supports génétiques de la résistance aux C3G et aux beta-lactamines de type OXA chez des souches de *Salmonella* isolées en France et en Espagne.
- Mme le Dr. Antoinette N'gandjio, chercheur au Centre Pasteur du Cameroun. Stage de recherche (14/10-27/10) sur la caractérisation moléculaire de souches de *S. enterica* sérotype Typhi multirésistantes aux antibiotiques émergentes en Afrique de l'Ouest et Centrale.

V.4 Congrès

- FX Weill. Trésorier des Journées de Biologie Clinique Necker-Pasteur. Paris, 21-23 janvier 2008.

V.5 Modalités de diffusion des données de surveillance et production du CNR

Les rapports d'activité complets du CNR-Salm (depuis celui de 2003) sont consultables (fichiers pdf) sur le site web de l'Institut Pasteur à l'adresse suivante : <http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/salmcnr/salmcnr-actualites.html>

Les données de sous-typage des souches de *Salmonella* par MLVA sont consultables sur le site web MLVA-NET dédié à cette technique et développé par la Plateforme de Génotypage des Pathogènes et Santé Publique (PF8) de l'Institut Pasteur à l'adresse suivante : <http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlva/>

Des publications en 2008 de deux articles de synthèse sur les données du CNR-Salm dans la Revue Francophone des Laboratoires et dans le Bulletin de l'Académie Vétérinaire.

V.6 Conseils aux professionnels de santé

Les responsables du CNR-Salm sont sollicités quotidiennement par voie téléphonique ou électronique (salmonella@pasteur.fr) pour des conseils microbiologiques ou thérapeutiques.

VI. TRAVAUX DE RECHERCHE EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR

VI.1 Contribution au développement de nouvelles méthodes de typage et sous-typage des *Salmonella*

*Mise au point d'une **méthode originale de typage et sous-typage moléculaire des *Salmonella* en une seule étape**. Cette méthode est basée sur l'analyse du polymorphisme des deux régions CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) du génome de *Salmonella*. Ces régions sont caractérisées par des séquences répétées de 21 à 37 nucléotides et entre chaque répétition se localisent des séquences uniques de 20 à 40 nucléotides (les spacers). Des amorces ont été dessinées de façon à amplifier par PCR les deux régions CRISPR (amplification des deux régions à l'aide de 2 PCR classiques ou amplification simultanée des 2 régions à l'aide d'une PCR générant un fragment de grande taille de 8 à 20 kbp) chez différents sérotypes de *Salmonella*. Les fragments d'amplification de ces deux régions ont été séquencés de façon à identifier les différents spacers.

Cette méthode a été testée sur 600 souches appartenant à environ 100 sérotypes des différentes sous-espèces et espèces de *Salmonella* (dont les plus fréquents chez l'homme et dans la filière alimentaire : Enteritidis, Typhimurium, Hadar, Virchow, Infantis, Derby, Agona, Newport, Napoli, Indiana, Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B, Paratyphi C, Bovismorbificans, Panama, Saintpaul, Senftenberg, Anatum, Gallinarum, Brandenburg, Kottbus, Dublin, Napoli, Montevideo...).

Chez ces 600 souches, nous avons identifié plus de 2400 spacers différents (taille moyenne de 32 nucléotides). Pour les sérotypes étudiés, la composition en spacers (de 1 à 30 par locus) était caractéristique d'un sérotype. Quand plusieurs souches d'un même sérotype étaient étudiées, la composition en spacers pouvait varier (perte de certains spacers, acquisition de nouveaux) entre les souches et cette variabilité au sein d'un même sérotype était concordante avec les méthodes traditionnelles de sous-typage (p. ex. bonne identification des souches du clone DT104 de Typhimurium ou des souches d'Enteritidis dites Danysz, toujours utilisées comme souricide dans certains pays).

Nous continuons à analyser d'autres sérotypes moins fréquents de façon à constituer une banque de spacers la plus complète possible pour l'ensemble des sérotypes de *Salmonella*.

Dans le même temps en collaboration avec la Plateforme de Génomique et Santé Publique PF8, nous testons une puce à ADN de haute densité capable de déterminer la composition en spacers après amplification enzymatique des régions CRISPR. Les premiers résultats sont prometteurs avec identification du sérotype et du sous-type des souches en moins de 24 heures. Une optimisation du choix des sondes est en cours ainsi qu'une recherche de partenaires industriels.

Cette méthode a fait l'objet d'une demande de dépôt de brevet avec extension internationale par Weill et coll. Une publication scientifique est en cours de rédaction.

* Poursuite du développement en collaboration avec S. Brisse (Plateforme de Génomique et Santé Publique PF8) et M. Achtman (Environmental Research Institute, Cork, Irlande) **d'un système de typage des souches de *S. enterica* par MLST (multi locus sequence typing)**.

Cette méthode, facilement automatisable, repose sur la caractérisation par séquençage de sept gènes « de ménage » non soumis à une pression de sélection. Cette approche très prometteuse, quand elle sera validée, pourrait être une alternative voire une méthode de substitution au sérotypage classique. A l'heure actuelle, 1356 souches (appartenant aux sous-espèces *enterica* [n=1010], *salamae* [n=143], *arizonae* [n=31], *diarizonae* [n=111], *houtenae* [n=23] et *indica* [n=10] de l'espèce *enterica* et à l'espèce *bongori* [n=28]) appartenant à 453 sérotypes ont été analysées. Les résultats sont en cours de transfert sur le site MLST Salmonella du Max-Planck Institute de Berlin. L'ensemble des 2500 sérotypes de *Salmonella* déposés au Centre Collaborateur OMS sera analysé au cours des prochaines années.

*Poursuite de **l'analyse des séquences des gènes codant pour les flagellines**. Le sérotypage classique étant basé sur l'analyse antigéniques des facteurs somatiques O et des facteurs flagellaires H, une analyse extensive des séquences des gènes (*fliC* et *fliB*) codant pour les antigènes H est en cours. A l'heure actuelle, 585 souches ont été analysées simultanément pour leur contenu allélique des gènes *fliC* et *fliB* et pour leur type MLST.

* Développement en collaboration avec Bjorn-Arne Lindstedt (Oslo, Norvège) d'un système de **sous-typage des souches de *S. enterica* par analyse MLVA quel que soit le sérotype**.

* Collaboration avec Mark Achtman (Environmental Research Institute, Cork, Irlande) et Gordon Dougan (Sanger Institute, Cambridge, Royaume Uni) à la mise au point **d'un système de sous-typage très fin des souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi A** par l'analyse des mutations ponctuelles ou «single nucleotide polymorphisms (SNPs).

VI.2 Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Salmonella*

Le CNR-Salm a mené en 2008 plusieurs travaux sur la caractérisation de souches résistantes aux antibiotiques :

* Epidémiologie moléculaire et caractérisation de souches humaines de *S. enterica* sérotype Typhimurium portant le gène *bla*_{OXA-30} isolées en France et en Espagne.

* Poursuite de la caractérisation systématique de toutes les souches de *S. enterica* résistantes aux C3G isolées en France.

* Coordination d'une étude internationale (France, Danemark, USA) sur la diffusion de souches de *S. enterica* sérotype Kentucky résistantes à la ciprofloxacine.

* Caractérisation de souches marocaines de *S. enterica* serotypes Kentucky résistantes à la ciprofloxacine et de *S. enterica* sérotypes Newport et Typhimurium résistantes aux C3G, souches isolées d'aliments. Travail en collaboration avec l'Institut Pasteur de Casablanca.

* Séquençage d'un plasmide porteur d'un gène codant pour une nouvelle BLSE, CTX-M-53 isolée d'une souche de *S. enterica* sérotype Westhampton provenant de coquillages récoltés dans le Morbihan. Travail en collaboration avec les équipes d'Axel Cloeckert (INRA Nouzilly), d'Anne Brisabois (AFSSA-LERQAP, Maisons-Alfort) et de Richard Bonnet (CHU de Clermont-Ferrand).

* Etude de génétique des populations bactériennes de souches historiques de sérotype Typhi multirésistantes aux antibiotiques (années 1970 et 1980). Travail en collaboration avec Philippe Roumagnac (CEA, Cadarache) et Mark Achtman (Environmental Research Institute, Cork, Irlande).

* Etude de souches de sérotype Typhi avec un phénotype de résistance aux quinolones inhabituel. Travail en collaboration avec Philippe Roumagnac (CEA, Cadarache), Mark Achtman (Environmental Research Institute, Cork, Irlande) et John Wain (Sanger Institute, Cambridge, Royaume Uni).

* Caractérisation de nouveaux variants de l'îlot de multirésistance aux antibiotiques, *Salmonella* genomic island 1 chez les sérotypes Newport et Haïfa. Travail en collaboration avec l'équipe d'Axel Cloeckaert (INRA Nouzilly).

VII. LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

VII.1 Publications nationales

- **FX Weill**. *Salmonella* : épidémiologie, typage et résistance aux antibiotiques. **Revue Francophone des Laboratoires**. 2008:400, 37-47.
- **FX Weill**. Salmonelles non-typhiques d'origine animale et résistance aux antibiotiques. **Bulletin de l'Académie Vétérinaire**. 2008:161, 221-234.

VII.2 Publications internationales

- **CY Yu, SJ Chou, CM Yeh, MR Chao, KC Huang, YF Chang, CS Chiou, FX Weill, CH Chiu, CH Chu, C Chu**. Prevalence and Characterization of Multidrug-Resistant (ACSSuT) *Salmonella enterica* serovar Typhimurium Isolated from Four Gosling's Farms and a Hatchery Farm. **Journal of Clinical Microbiology**. 2008 ; 46 :522-6.
- **A Touati, S Benallaoua, A Gharout, E Le Magrex Debar, L Brasme, J Madoux, C De Champs, FX Weill**. First report of CTX-M-15 in *Salmonella enterica* serotype Kedougou recovered from an Algerian hospital. **The Pediatric Infectious Diseases Journal**. 2008;27:479-80.
- **S Baker, K Holt, E van de Vosse, P Roumagnac, S Whitehead, E King, P Ewels, A Keniry, FX Weill, D Lightfoot, J T van Dissel, KE Sanderson, P Deloukas, G Dougan**. High-Throughput single nucleotide polymorphism genotyping of *Salmonella* Typhi allows geographical assignment of haplotypes and pathotypes within an urban district in Jakarta, Indonesia. **Journal of Clinical Microbiology**. 2008;46:1741-6.
- **S Egorova, M Timinouni, M Demartin, S Granier, J Whichard, V Sangal, L Fabre, A Delauné, M Pardos, Y Millemann, E Espié, FX Weill**. Ceftriaxone-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport in France. **Emerging Infectious Diseases**. 2008;14 :954-7.
- **E d'Ortenzio, FX Weill, S Ragonneau, JA Lebon, A Kérouanton, P Renault, V Pierre**. First report of a *Salmonella enterica* serovar Weltevreden outbreak on Réunion island, France, August 2007. **Eurosurveillance**. 2008;13:1-3.
- **Editorial team, S Bertrand, R Rimhanen-Finne, FX Weill, W Rabsch, L Thornton, J Perevoscikovs, W van Pelt, M Heck**. *Salmonella* infections associated with reptiles: the current situation in Europe. **Eurosurveillance**. 2008;13(24):pii=18902.

- **N Jourdan, S Le Hello, G Delmas, J Clouzeau, C Manteau, B Désaubliaux, V Chagnon, F Thierry-Bled, N Demare, F X Weill, H de Valk.** Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype Give infections in infants in France, linked to infant milk formula, september 2008. **Eurosurveillance.** 2008 ; 13 (39) :pii :18994.
- **F Grandesso, N Jourdan-da Silva, S Le Hello, S Roussel, S Rasson, C Rousseau, K Wyndels, I Robemanpianina, I Bourdeau, C Peyron, R Gehin, M Moyano, C Vogeleisen.** Excess of infections due to a multi-drug sensitive *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in France in June 2008. **Eurosurveillance.** 2008 Oct 30;13(44):pii: 19022.
- **KE Holt, J Parkhill, C Mazzoni, P Roumagnac, FX Weill, I Goodhead, R Rance, S Baker, DJ Maskell, J Wain, C Dolecek, M Achtman, G Dougan.** High-Throughput sequencing provides insights into genome variation and evolution in *Salmonella* Typhi. **Nature Genetics.** 2008;40:987-93.
- **B Doublet, K Praud, S Bertrand, JM Collard, FX Weill, A Cloeckaert.** Novel insertion-sequence- and transposon-mediated genetic rearrangements in the genomic island SGII of *Salmonella enterica* serovar Kentucky. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy.** 2008 ; 5:3745-54.

VIII. LE PROGRAMME DE TRAVAIL POUR LES ANNEES 2009-2010

Le programme de travail pour les années 2009-2010 est orienté vers la mise en conformité totale au cahier des charges spécifiques du CNR :

Point 1 : contribuer au développement des méthodes de typage

Le CNR-Salm va poursuivre les différents travaux entrepris dans le développement de nouvelles méthodes de typage et de sous-typage. La méthode CRISPR appliquée déjà à 600 souches de 100 sérotypes va être appliquée à d'autres sérotypes. L'optimisation de la détection par puce à ADN de haute densité sera poursuivie. Les bases de données concernant les séquences des gènes des flagellines et les séquençotypes (MLST) vont être progressivement complétées.

Point 2 : suivre des tendances évolutives temporelles des différents sérotypes de *Salmonella*, en s'appuyant sur un réseau de laboratoires d'analyse de biologie médicale sur tout le territoire

Le réseau du CNR-Salm comprend environ 30% des LABM de France métropolitaine. Plusieurs études réalisées au cours de ces dernières années ont montré sa stabilité. En 2008, l'arrêt de l'activité de sérotypage par le laboratoire Biomnis (ex Marcel Mérieux) et son transfert au CNR-Salm a permis d'obtenir une couverture géographique optimale. En 2008, une collaboration entre le CNR-Salm et le Contrôle National de Qualité (CNQ) de l'AFSSAPS a été engagée. Ainsi en 2009, des souches de *Salmonella* sélectionnées par le CNR-Salm seront adressées à l'ensemble des laboratoires hospitaliers et libéraux de France dans le cadre du CNQ Bactériologie de façon à apprécier leur capacité de sérotypage. Au cours de ce CNQ, une enquête permettra également de connaître le nombre de souches de *Salmonella* isolées dans ces laboratoires en 2008 ainsi que leurs procédures quant au sérotypage (absence de sérotypage, sérotypage partiel ou complet, envoi au CNR ou à d'autres laboratoires spécialisées, absence de sérotypage et de transmission, ...).

En 2009-2010, un informaticien sera recruté au cours d'une mission transitoire pour accompagner le passage du système d'exploitation du laboratoire BactériCentre (Patrick Grimont) vers Lagon (Epiconcept). Les bases de données BactériCentre1992-2007 seront transférées dans une base plus adaptée pour l'utilisation des algorithmes de détection des dépassements de seuil. Cet informaticien aura également la charge de développer un site web pour la déclaration en ligne des souches sérotypées localement (cela remplacera les fiches information).

Point 3 : contribuer à la surveillance et à l'investigation des toxi-infections alimentaires collectives à *Salmonella* en signalant à l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) les foyers de cas groupés notifiés au CNR-Salm

Le CNR-Salm va poursuivre son envoi hebdomadaire à l'InVS des foyers de cas groupés notifiés par les laboratoires de son réseau ainsi que les différents relevés épidémiologiques habituels.

Point 5 : détecter précocement les épisodes épidémiques, par la caractérisation des souches de *Salmonella* par la méthode de typage la plus adaptée au sérotype en cause et par le développement de seuils d’alerte,

Le CNR-Salm continuera à utiliser en routine hebdomadaire le programme de détection basé sur les trois algorithmes et développé par l’InVS.

Point 6 : lors de la survenue d’une épidémie, de réaliser rapidement un typage le plus discriminant possible (adapté en fonction du sérotype en cause) des souches de *Salmonella* concernées afin de différencier les cas épidémiques et non épidémiques et de comparer des souches isolées chez les malades et dans d’autres sources en particulier alimentaire

Le CNR-Salm va poursuivre son expertise microbiologique lors d’investigations d’épidémies en collaboration avec l’InVS (pour le choix des souches épidémiques ou non épidémiques) et l’AFSSA-LERQAP (pour analyser en parallèle les souches représentatives d’origine alimentaire). Il mettra en œuvre la méthode la plus appropriée en fonction du sérotype de *Salmonella* en cause (électrophorèse en champ pulsé ou autres techniques) et utilisera pour valider la ou les méthodes, des souches épidémiques et non-épidémiques de sa collection de façon à déterminer si les souches étudiées sont reliées génétiquement.

Point 6 : collaborer avec les réseaux nationaux de surveillance des salmonelles chez l’animal, dans les aliments et l’environnement

Le CNR-Salm va poursuivre sa collaboration avec les réseaux de l’AFSSA. Il s’engage également à instaurer des collaborations avec tout autre structure en rapport avec les *Salmonella*.

Point 7 : participer avec l’InVS au réseau européen de surveillance des *Salmonella* Enter-Net (envoi trimestriel des données de surveillance, collaboration en cas d’alerte européenne, ...)

Le CNR-Salm va poursuivre son engagement conjoint avec l’InVS au sein de l’ ECDC-FWD.

Point 8 : collaborer aux réseaux de surveillance internationaux et en particulier européen notamment dans le cadre de l’application de la directive zoonoses 2003/99/CE

Le CNR-Salm va poursuivre sa collaboration avec les réseaux de surveillance internationaux, notamment en répondant aux collectes annuelles de données de ces structures.

Point 9: contribuer à l’alerte en signalant à l’InVS, tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, survenue de cas groupés, modification des profils de résistance, apparition de souches inhabituelles, ...

Le CNR-Salm va poursuivre sa collaboration quotidienne avec l’InVS.