

Santé publique France

12 rue du Val d'Osne - 94415 Saint Maurice Cedex

www.santepubliquefrance.fr

Centre National de Référence des E. coli, Shigella et Salmonella Institut Pasteur

28 rue du Docteur Roux, Paris, 75724

Tél.: +33 (0)1 40 03 23 40

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

Laboratoire Associé pour les E. coli à l'Hôpital Robert Debré

48 Boulevard Sérurier, Paris, 75019 Tél.: +33 (0)1 40 03 23 40

https://cnr-escherichiacoli-robertdebre.aphp.fr/



RAPPORT ANNUEL

D'ACTIVITE 2023

Année d'exercice 2022

CNR E. coli, Shigella et Salmonella

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire Coordonnateur	Unité des Bactéries pathogènes entériques, Institut Pasteur	Pr François-Xavier WEILL
Laboratoire Associé	Service de Microbiologie,Hôpital Robert Debré, AP-HP	Pr Stéphane BONACORSI

Sommaire des Figures	8
Sommaire des Tableaux	10
Résumé analytique	13
Faits marquants	13
Executive summary	14
Highlights	14
1. Missions et organisation du CNR	15
Organigramme	15
Mission et Organisation	16
Démarche Qualité	16
2. Activités d'expertise	17
2.1 Evolution des techniques	17
Salmonella	17
Shigella/EIEC	17
E. coli (EHEC)	17
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousses	18
CNR-ESS	18
CNR-LA	18
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	18
2.4 Collections de matériel biologique	18
2.5 Activités d'expertises	18
CNR-ESS	18
Salmonella	19
Shigella/EIEC	20
CNR-LA	21
Inventaire des prélèvements reçus au CNR-LA en 2022	21
Activité d'expertise sur les Escherichia coli entéro-hémorragiques	21
Activité d'expertise sur les Escherichia coli extra-intestinaux	22
Délai de restitution des résultats	22
Délai de restitution de résultats du CNR-ESS	22
Délai de rendu de résultats du CNR-LA	23
2.6 Activités de séquençage	24
2.7 Partage de séquences produites par les CNR	25
3. Activités de surveillance : Salmonella	26
3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à Salmonella	26
Nombre annuel de Salmonella répertoriées au CNR-ESS	26
Types de prélèvement d'origine pour les souches de Salmonella	28
Distribution des Salmonella par classes d'âge	28

Origine géographique des souches de Salmonella reçues	28
Foyers de cas groupés à Salmonella	31
Évolution des principaux sérotypes de Salmonella	32
Le sérotype Typhi	35
Le sérotype Paratyphi A	37
Le sérotype Paratyphi B	37
3.2 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	39
Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis	41
Résistance aux antibiotiques du variant 1,4,[5],12:i :- (monophasique)	42
Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium	43
Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky	44
Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby	45
Résistance aux antibiotiques du sérotype Dublin	46
Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar	47
Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis	48
Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport	49
Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow	50
Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi	51
Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A	52
Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B	53
Résistance aux antibiotiques des autres sérotypes	54
Détection de gènes de résistance par séquençage du génome complet	55
3.3 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	58
Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France	58
Relevés périodiques envoyés à Santé publique France	58
Relevés annuels	58
Relevés ponctuels	58
Contribution aux réseaux de surveillance internationaux	58
Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	59
4. Activités de surveillance: Shigella/EIEC	60
4.1 Description du réseau de partenaires	60
4.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	60
Distribution globale des cas d'infection à Shigella/EIEC en France métropolitaine et d'Outre-mer	60
Origine des prélèvements	62
Analyse de la distribution de cas de shigellose en France métropolitaine et analyse de tendances	63
Répartition par sérogroupes et par sérotypes	63
Répartition par sexe	66
Répartition par âge	66
Notion de voyage	67

	Analyse de la distribution de cas de shigellose en France d'Outre-mer et analyse de tendances	68
	Répartition par sérogroupes et par sérotypes	68
	Répartition par sexe	68
	Répartition par âge	68
	Notion de voyage	69
	Analyse de la distribution de cas d'infection par EIEC et analyse de tendances	69
4.3	Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	71
	Surveillance globale	71
	Shigella spp.	71
	EIEC	72
	Résistances émergentes chez Shigella spp.	72
	Résistance à l'azithromycine	72
	Résistance aux quinolones	73
	Résistance aux céphalosporines de troisième génération	75
	Autres résistances émergentes chez Shigella spp.	76
	Étude de la résistance in vitro aux antibiotiques	76
4.4	Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	79
	Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France (SpF)	79
	Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens (ECDC)	79
4.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	79
5 .	Activités de surveillance: E. coli	80
5.1	Description du réseau de partenaires	80
5.2	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	80
	Activité de surveillance sur les Escherichia coli entéro-hémorragiques	80
	Résultats obtenus sur les prélèvements de selles en 2022	80
5.3	Souches de <i>E. coli</i> d'origine humaine productrices de Shiga-toxines isolées en 2022	82
5.4	Activité de surveillance sur Escherichia coli extra-intestinaux (ExPEC) en 2022	94
	E. coli responsables de méningites de 2022	94
	E. coli extra-intestinales responsables de pathologies autres que les méningites	95
5.5	Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	97
5.6	Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	98
5.7	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	98
6.	Alertes	99
6.1	Alertes : Salmonella	99
	Alertes : Shigella/EIEC	103
	Alertes : E. coli	103
-	Epidémie nationale à STEC O26 et O103 liée à la consommation de pizzas surgelées	103
	Epidémie à STEC O26 liée à des produits laitiers d'une ferme - PACA	104
	Cas groupés d'infections à O145 en lien possible avec la consommation de végétaux	105

	Cas groupés d'infections à O157 d'origine non-identifiée	105
7.	Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil	107
7.1	Conseil et expertise aux professionnels de santé	107
	CNR-ESS	107
	Diffusion des données de surveillance et des productions du CNR	107
	Enseignements et formations aux professionnels de la santé	107
	Accueil de stagiaires	107
	CNR-LA	108
7.2	Conseil et expertise aux autorités sanitaires	109
	CNR-ESS	109
	Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France (SpF)	109
	Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens (ECDC)	109
	Réunions scientifiques avec autorités sanitaires	109
	CNR-LA	109
7.3 (Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public)	110
8.	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	111
8.1 A	Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct missions et activités du CNR	t avec les 111
	CNR-ESS	111
	Identification des populations de Shigella par cgMLST	111
	ShigaPass : sérotypage in silico des Shigella	112
	Analyse génomique de souches de S. sonnei hautement résistantes aux antibiotiques	113
	Histoire génomique de S. enterica sérotype Paratyphi B	114
	Épidémiologie génomique de S. enterica sérotype Napoli	115
	Phylogéographie de S. enterica sérotype Panama	117
	CNR-LA	117
8.2 L	Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien de les missions et activités du CNR	irect avec 118
	Publications nationales	118
	Publications internationales	118
	Communications internationales	119
9	9. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des alim	ients,
environ	nnementaux	121
9.1 (CNR-ESS	121
9.2 (CNR-LA	121
10.	Programme d'activité pour les années suivantes	122
10.1	Expertise:	122
10.2	Conseil:	122
10.3	Contribution à la surveillance épidémiologique et à l'alerte:	122

1.	Annexe 1 : Missions & organisation du CNR	123
1.1	Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	123
1.2 (Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	126
	CNR-ESS	126
	Effectif par catégories de fonctions	126
	Les responsables scientifiques	127
	Le personnel technique	127
	Le personnel administratif	127
	CNR-LA	128
	Effectif par catégories de fonctions	128
1.3 I	Locaux et équipements	128
	CNR-ESS	128
	CNR-LA	131
1.4 (Collections de matériel biologique	132
	Conditions de stockage	132
	CNR-ESS	132
	CNR-LA	132
	Conditions de mise à disposition	132
	CNR-ESS	132
	CNR-LA	133
1.5 I	Démarche qualité du laboratoire	133
	CNR-ESS	133
	CNR-LA	133
2.	Annexe 2 : Capacités techniques du CNR	134
2.1 I	Liste des techniques de référence	134
	Liste des techniques pour les Salmonella (CNR-ESS)	134
	Techniques de culture bactérienne	134
	Techniques disponibles pour le typage bactérien	134
	Liste des techniques pour les Shigella/EIEC (CNR-ESS)	135
	Techniques de culture bactérienne	135
	Techniques pour l'identification et le typage des Shigella	135
	Liste des techniques pour les EHEC (CNR-ESS)	136
	Liste des techniques pour les E. coli (CNR-LA)	137
	Techniques pour l'identification	137
	Sensibilité aux anti-infectieux	137
2.2	Liste des techniques recommandées par le CNR	137
	Salmonella	137
	Shigella/EIEC	137
	E. coli	138

Sommaire des Figures

Figure 1. Organigramme du CNR-ESS en 2022	15
Figure 2. Nombre de souches de Salmonella et Shigella/EIEC envoyées au CNR-ESS, par type d'établ 2017-2022	
Figure 3. Nombre et type de laboratoires envoyant des Salmonella et Shigella/EIEC au CNR-ESS, 2017-2	.022 19
Figure 4. Délai de rendu des résultats du CNR-ESS, 2022	23
Figure 5. Évolution du nombre annuel de souches de Salmonella d'origine humaine enregistrées par le 0	
Figure 6. Nombre de cas et incidence des salmonelloses rapportés au CNR-ESS en 2022	30
Figure 7. Évolution des principaux sérotypes de Salmonella isolés chez l'homme, 1988-2022	33
Figure 8. Évolution des principaux HC5 des sérotypes prévalents de Salmonella isolés chez l'homme, 2	
Figure 9. Nombre de cas d'infections à <i>Shigella</i> /EIEC (souches et « fiches information »*, France métrope Outre-mer, 2005-2022)	
Figure 10. Cartes du nombre de cas et de l'incidence des infections à Shigella/EIEC par département France métropolitaine et Outre-mer, 2022)	•
Figure 11. Évolution des principaux sérotypes de Shigella (France métropolitaine, 2005-2022)	63
Figure 12. Évolution des cas de shigellose par sexe (France métropolitaine, 2005-2022)	66
Figure 13. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches, France métropolitaine, 2022)	66
Figure 14. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches, Outre-mer, 2022)	69
Figure 15. Gènes de résistance à l'azithromycine identifiés par WGS chez S. flexneri et S. sonne métropolitaine et Outre-Mer, 2018-2022).	•
Figure 16. Fréquence des gènes de résistance aux quinolones détectés par WGS chez Shigella spp métropolitaine et Outre-mer, 2022)	`
Figure 17. Fréquence des gènes de résistance aux céphalosporines de troisième génération détectés par V Shigella spp. (France métropolitaine et Outre-mer, 2018-2022)	
Figure 18. Répartition des gènes de résistance aux céphalosporines de troisième génération détectés parmi les sérogroupes de <i>Shigella</i> spp. (France métropolitaine et Outre-mer, 2018-2022)	•
Figure 19. Classe d'âge et sexe des patients ayant une recherche de EHEC positive en 2022	82
Figure 20. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés toutes pathologies confondues en 2022 (n=438)	83
Figure 21. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés au cours des SHU/MAT tous âges confondus (n=208)	
Figure 22. Répartition départementale des souches de EHEC isolées en 2022 (n = 438) sur le territoire	84
Figure 23. Évolution du nombre d'alertes à Salmonella analysées par le CNR-ESS	99
Figure 24. Résultat de typage MLVA liée à une épidémie par EHEC	104
Figure 25. Analyse des Shigella spp. du groupe S1 par la méthode cgMLST	112
Figure 26. Arbre phylogénétique de 3141 S. sonnei avec mise en évidence des 13 « clusters » de souc	hes XDF
	113

Figure 30. Analyse phylogénétique de S. enterica sérotype Panama (manuscrit en préparation)	. 117
Figure 31. Plan des locaux du CNR-ESS	. 129
Figure 32. Plan des locaux du LA-RD	. 131
	Figure 27. Arbre phylogénétique de <i>S. enterica</i> sérotype Paratyphi B et distribution des génotypes (manuscriparation)

Sommaire des Tableaux

Tableau 1. Nombre de souches de Salmonella enregistrées en 2022	20
Tableau 2. Nombre de souches de Shigella/EIEC enregistrées en 2022*	21
Tableau 3. Répartition des différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au CNR-LA en 2022	21
Tableau 4. Les différents types de prélèvements reçus en 2022 pour la recherche de EHEC	22
Tableau 5. Nombre de souches de Salmonella analysées dans le cadre de l'activité de surveillance en 2022	27
Tableau 6. Répartition des souches reçues et analysées au CNR-ESS par sites de prélèvement, 2017-2022	28
Tableau 7. Distribution des cas de salmonellose rapportés au CNR-ESS par classes d'âge en 2022*	28
Tableau 8. Répartition des souches de Salmonella par régions d'origine de 2017 à 2022	29
Tableau 9. Foyers de cas groupés par sérotype de Salmonella de 2017 à 2022	31
Tableau 10. Récapitulatif des différents foyers de cas groupés à Salmonella de 2017 à 2022	31
Tableau 11. Les 20 principaux sérotypes de Salmonella de 2017 à 2022	32
Tableau 12. Les principaux sérotypes de Salmonella au cours des années 2017-2022	33
Tableau 13. Origine géographique des souches de sérotype Typhi (une par patient), 2017-2022	35
Tableau 14. Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi A (une par patient), 2017-2022	37
Tableau 15. Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi B (dt-) (une par patient), 2017-2022	38
Tableau 16. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de Salmonella en 2022	40
Tableau 17. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Enteritidis	41
Tableau 18. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du variant 1,4,[5],12:i:- (monophasique)	42
Tableau 19. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhimurium	43
Tableau 20. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Kentucky	44
Tableau 21. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Derby	45
Tableau 22. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Dublin	46
Tableau 23. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Hadar	47
Tableau 24. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Infantis	48
Tableau 25. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Newport	49
Tableau 26. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de sérotype Virchow	50
Tableau 27. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhi	51
Tableau 28. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi A	52
Tableau 29. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi B (dt-)	53
Tableau 30. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi B biotype Java	53
Tableau 31. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques des autres sérotypes	54
Tableau 32. Salmonella contenant des gènes de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE)	55
Tableau 33. Salmonella contenant des gènes de céphamycinase	56

Tableau 34. Salmonella contenant des gènes de carbapénèmase	.56
Tableau 35. Salmonella contenant des gènes de résistance à l'azithromycine	.57
Tableau 36. Salmonella contenant des gènes de résistance à la colistine	.57
Tableau 37. Répartition des sites de prélèvement des Shigella spp. (France métropolitaine et Outre-mer, 2022)	.62
Tableau 38. Distribution annuelle des différents sérotypes de Shigella (France métropolitaine, 2018-2022)	.64
Tableau 39. Distribution annuelle des différents génotypes de S. sonnei (France métropolitaine, 2018-2022)	.65
Tableau 40. Notion de voyage associée aux cas de shigellose (France métropolitaine, 2022)	.67
Tableau 41. Distribution des différents sérogroupes et sérotypes de Shigella spp. (Outre-mer, 2022)	.68
Tableau 42. Distribution annuelle des différents sérotypes de EIEC (France métropolitaine et Outre-mer, 2018-20	,
Tableau 43. Notion de voyage associée aux cas d'infection à EIEC (souches, France métropolitaine, 2022)	70
Tableau 44. Caractérisation des principaux gènes de résistance aux antibiotiques détectés par WGS chez <i>Shig</i> spp. (France métropolitaine et Outre-mer, 2022)*	
Tableau 45. Gènes de résistance aux antibiotiques détectés par WGS chez les EIEC (France métropolitaine et Oumer, 2022)	
Tableau 46. Profils des gènes de résistance aux quinolones détectés par WGS chez <i>Shigella</i> spp. (Fra métropolitaine et Outre-mer, 2018-2022).	
Tableau 47. Antibiotiques utilisés pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de Shigella spp	.77
Tableau 48. Profil phénotypique de résistance aux antibiotiques chez les <i>Shigella</i> spp. contenant des gènes résistance aux céphalosporines de troisième génération (France métropolitaine et d'Outre-mer, 2022)	
Tableau 49. Symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC (souches ou selles) en 2022	.80
Tableau 50. Principal symptôme observé chez les patients ayant une recherche de EHEC positive (isolement d' souche ou PCR positive) en 2022	
Tableau 51. Symptômes des patients avec souches isolées en 2022	.82
Tableau 52. Sérotypage moléculaire par WGS des souches isolées en 2022	.85
Tableau 53. Distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2022	86
Tableau 54. Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les plus fréquemment isolés en 2022	.87
Tableau 55. Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les moins fréquemment isolés en 2022	.87
Tableau 56. Profil de virulence des EHEC non sérogroupables par méthode moléculaire WGS en 2022	.87
Tableau 57. Profil de virulence des EHEC non sérogroupables par méthode moléculaire WGS en 2022	88
Tableau 58. Répartition globale des sous-types de Stx en 2022 (souches responsables de SHU/MAT)	.88
Tableau 59. Répartition des profils des sous-types de Stx en fonction des sérogroupes de EHEC les plus fréque des souches isolées en 2022 (toutes pathologies)	
Tableau 60. Répartition des profils de sous-types de Stx en fonction des sérogroupes de EHEC les plus rares isc en 2022 (toutes pathologies)	
Tableau 61. Répartition des profils des sous-types de eae en fonction des sérogroupes de EHEC les plus fréque des souches isolées en 2022	

•	Tableau 62. Détails cliniques, sérogroupe et profil de virulence des souches porteuses du gène sa subA en fonction de l'âge en 2022
92	Tableau 63. La répartition des ST en fonction du sérogroupe (> 3 souches par ST)
93	Tableau 64. Analyse des cgMLST-HC5 des sérogroupes O26 (A), O157 (B) et O80 (C) en 2022
94	Tableau 65. Facteurs de virulence des E. coli responsables de méningites en 2022 (CNR-LA)
96	Tableau 66. Caractéristiques des souches de ExPEC hors méningites en 2022 CNR-LA
97	Tableau 67. Résistances aux antibiotiques observées chez les EHEC en 2022 CNR-LA
97	Tableau 68. CMI à l'azithromycine des souches EHEC isolées en 2022 au CNR-LA
CNR-LA98	Tableau 69. Prévalence de la résistance aux antibiotiques des souches EXPEC reçues en 2022 au
100	Tableau 70. Alertes épidémiques à Salmonella en France, 2022
102	Tableau 71. Alertes épidémiques internationales à Salmonella, 2022

RESUME ANALYTIQUE

Faits marquants

Salmonella

En **2022**, le CNR-ESS a reçu une quantité exceptionnelle de souches de *Salmonella* (**12 217 souches**) et a analysé dans le cadre de la surveillance épidémiologique un total de **11 433 souches** (une par patient). Toutes ces souches ont été analysées par séquençage du génome complet (**WGS**). En 2021, le nombre de souches de *Salmonella* analysées était de 9 408, soit une augmentation de 21,5 % entre 2021 et 2022.

Le CNR-ESS participe à la surveillance de la sensibilité aux antibiotiques en testant toutes les salmonelles de sérotypes **Kentucky**, **Typhi**, **Paratyphi A** et **Paratyphi B** et **10** % des autres sérotypes (**1507 souches** au total) par la technique de diffusion sur milieu gélosé (antibiogramme) ou par microdilution en plaque. De plus, le contenu en gènes de résistance aux antibiotiques est maintenant analysable sur l'ensemble des 11 433 souches séquencées. En 2022, le CNR-ESS a identifié, pour la première fois depuis 2019, deux souches codant pour le gène *mcr-1*, associé à la résistance à la colistine.

En 2022, le CNR-ESS a participé à l'investigation de plus de 75 épisodes de cas groupés sur le plan national et à 43 enquêtes épidémiologiques européennes.

Shigella

En 2022, le nombre de cas enregistrés et analysés dans le cadre de la surveillance est revenu au niveau prépandémique **avec 1302 cas** d'infection à *Shigella*/EIEC (1212 cas en France métropolitaine et 90 en Outre-mer). Sur les 1302 cas, 1286 était causés par des *Shigella* spp. et 16 par des EIEC.

La caractérisation génomique des souches de *Shigella* spp. a permis l'identification d'un **nouveau clone épidémique de S. sonnei** (génotype 3.6.3) résistant à l'azithromycine et aux céphalosporines de troisième génération en lien avec des séjours en Tunisie.

En 2022, le CNR-ESS a répondu à **deux enquêtes épidémiologiques européennes** et a lancé une alerte internationale concernant le clone émergent de *S. sonnei* de génotype 3.6.3 identifié en France.

E. coli (EHEC)

En 2022, 1714 échantillons ont été reçus au CNR-LA dont 1457 prélèvements de selles, représentant une hausse de 32,3 % du nombre total d'échantillon reçus comparativement à l'année précédente. En 2022, 438 souches de EHEC ont été isolées et identifiées au CNR-LA puis caractérisées par WGS au CNR-ESS.

En France, toutes pathologies confondues, les sérogroupes majeurs de EHEC retrouvés étaient : **O26** (40,4 %), **O157** (13,9 %) et **O80** (9,4 %). Au cours des SHU, la prédominance du sérogroupe O26 s'affirme (56,7 %) suivi du sérogroupe O80 (10,1 %) et du sérogroupe O157 (5,3 %).

L'année 2022 a été marquée par la **plus grande épidémie** survenue **en France** en **février 2022** sur une durée de 11 semaines. Cette épidémie était liée à la consommation de **pizzas surgelées** touchant **59 personnes** incluant 50 cas de SHU pédiatrique dont 2 décès. Les souches incriminées étaient un **EHEC 026:H11** et un **EHEC 0103:H2** caractérisées par typage MLVA et séquençage WGS.

Une autre épidémie à STEC O26 liée à la consommation de produits laitiers fermiers a touché 13 patients et 3 épisodes de cas groupés d'infections à EHEC O26 (11 cas), O157 (9 cas), O145 (4 cas) sont également survenus en 2022.

EXECUTIVE SUMMARY

Highlights

Salmonella

In 2022, the CNR-ESS has received an unprecedented quantity of *Salmonella* strains (12 217 strains) and has analysed, for epidemiological surveillance purposes, a total of 11 433 strains (one per patient). All those strains have been analysed by whole genome sequencing (WGS). In 2021, the number of *Salmonella* strains analysed was of 9 408, which means an increase of 21,5 % between 2021 and 2022.

The CNR-ESS participates in the surveillance of antibiotic susceptibility by testing **all** strains of serotypes **Kentucky**, **Typhi**, **Paratyphi A** and **Paratyphi B**, **and 10** % of other serotypes (**1507 strains in total**) by the disk-diffusion on solid medium technique (antibiogram) or by microdilution on plate. In addition, the content in **antibiotic resistance genes** is now available for the ensemble of **11 433 strains** that were sequenced and analysed. In 2022, the CNR-ESS has identified for the first time since 2019 two strains of *Salmonella* encoding for the *mcr-1* gene, associated to resistance to colistin.

In 2022, the CNR-ESS has participated to the investigation of over 75 episodes of grouped cases at a national level and has participated in 43 European epidemiological inquiries.

Shigella

In **2022**, the number of cases identified and analyzed as part of surveillance returned to the pre-pandemic levels with **1,302 cases of** *Shigella*/EIEC **infection** (1,212 cases in mainland France and 90 in the overseas departments). Of the 1302 cases, **1286 were caused by** *Shigella* **spp. and 16 by EIEC**.

The genotypic characterization of strains of *Shigella* spp. allowed the identification of a **new epidemic clone** of *S. sonnei* genotype 3.6.3 resistant to azithromycin and third generation cephalosporins in connection with stays in **Tunisia**.

In 2022, the CNR-ESS responded to two European epidemiological surveys and launched an international alert concerning the emerging clone of *S. sonnei* genotype 3.6.3 identified in France.

E. coli (EHEC)

In **2022**, a total of **1714 samples** were received at the CNR-LA, including **1457 stool** samples, representing a **32.3** % **increase** in the total number of samples received compared with the previous year. During 2022, **438 EHEC** strains were isolated and identified at CNR-LA, then characterized by WGS at CNR-ESS.

In France, for all pathologies combined, the major EHEC serogroups found were **O26** (40.4 %), **O157** (13.9 %) and **O80** (9.4 %). In HUS patients, serogroup O26 predominates (56.7 %), followed by serogroup O80 (10.1 %) and serogroup O157 (5.3 %).

The year 2022 was marked by the **largest outbreak in France**, which occurred in **February 2022** over a period of 11 weeks. This outbreak was linked to the consumption of **frozen pizza**, affecting **59 people** including 50 cases of pediatric HUS, with 2 deaths. The strains involved were **EHEC O26:H11** and **EHEC O103:H2**, characterized by MLVA typing and WGS sequencing.

Another EHEC O26 outbreak linked to the consumption of free-range dairy products affected 13 patients, and 3 episodes of clustered cases of EHEC O26 (11 cases), O157 (9 cases) and O145 (4 cases) infections also occurred in 2022.

1. Missions et organisation du CNR

Organigramme

CNR-ESS

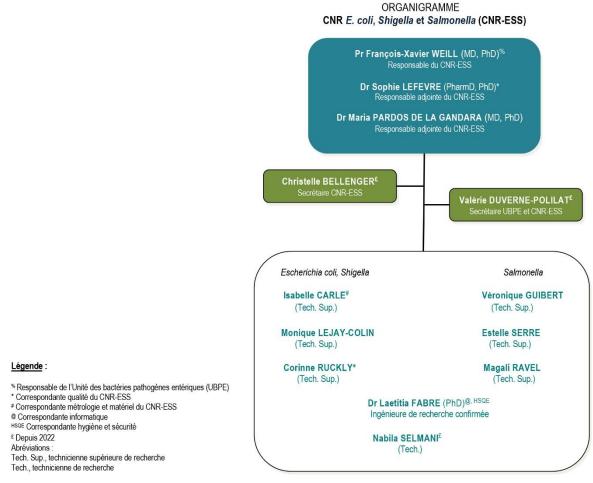


Figure 1. Organigramme du CNR-ESS en 2022

En mai 2022, Christelle BELLENGER a remplacé Carole GASTON comme secrétaire du CNR-ESS et Valérie DUVERNE-POLILAT a remplacé Florence JUGLAS comme secrétaire de l'Unité et du CNR-ESS. En novembre 2022, Nabila SELMANI a remplacé Chantal DEMOËN comme technicienne du CNR-ESS.

CNR-LA

Aucune modification à signaler.

Mission et Organisation

Missions: voir l'annexe 1.

Organisation : pas de modification par rapport au dossier de candidature présenté en mai 2022.

Démarche Qualité

CNR-ESS

Aucune évolution n'a eu lieu dans la démarche qualité du CNR-ESS depuis le versement de candidature soumis en début de mandat en 2022.

Pour le détail de la démarche qualité du CNR-ESS, voir <u>l'annexe 1</u>.

CNR-LA

En janvier 2021 une demande d'extension de la ligne de portée BA02 pour l'analyse "LAMP sur Amplex *E coli* entérohémorragique" a été déposée et est en attente de la visite COFRAC prévue au cours du dernier trimestre 2023.

2. Activités d'expertise

Les techniques utilisées par le CNR-ESS pour son activité de surveillance n'ont pas changé depuis le dossier de candidature. Elles sont décrites dans <u>l'annexe 2</u>, paragraphe 2.1 Liste des techniques de référence

2.1 Evolution des techniques

Depuis octobre 2018, la méthode **cgMLST** (pour core genome MLST) et le **hierarchical clustering** (HierCC) appliqué au cgMLST via le site EnteroBase (https://EnteroBase.warwick.ac.uk) sont utilisés pour le sous-typage de l'ensemble des souches reçues au CNR-ESS. Le groupement des isolats en groupes de proximité génétique HC5, HC10, HC20 et HC50 est communiqué de façon hebdomadaire à Santé publique France (SpF) pour les *Salmonella* et pour les EHEC, et lors des investigations d'évènements inhabituels chez les *Shigella*/EIEC. Cette approche de la surveillance est désormais utilisée par la France, ainsi que par le réseau européen EpiPulse-FWD du ECDC.

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

Salmonella

De façon à maintenir un lien robuste avec les données issues du sérotypage, le CNR-ESS est en train de finaliser un outil génomique permettant de déterminer *in silico* l'antigène O (k-mers spécifiques de la région *rfb*) et les antigènes H (analyse des séquences des gènes *fliC* et *fljB*) et donc d'inférer le sérotype de la souche de *Salmonella*. Cet outil sera plus discriminant que les outils disponibles (SegSero2 et SISTR1).

Shigella/EIEC

Mise au point de deux nouveaux outils génomiques robustes et discriminants pour le typage et le suivi des populations de *Shigella* spp. La première méthode repose sur le schéma cgMLST *E. colil Shigella* d'EnteroBase (https://enterobase.warwick.ac.uk) (Yassine *et al.* Nature Communications 2022). La seconde méthode repose sur l'analyse de différentes cibles (*rfB*, *fliC*, MLST, CRISPR et prophages) via l'outil ShigaPass (Yassine *et al.* Microbial Genomics 2023). Les techniques de séro-agglutination des shigelles ne sont plus réalisées au CNR-ESS en première intention depuis lors.

E. coli (EHEC)

Mise au point du typage MLVA en temps réel des souches isolées de EHEC qui permet, en période épidémique, d'apporter une première réponse pour déterminer si des souches appartiennent ou non potentiellement à un cluster. Cette technique est beaucoup plus rapide (24 à 48h) que le WGS, cependant moins discriminante.

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousses

CNR-ESS

Le CNR-ESS est l'un des principaux utilisateurs du site **EnteroBase**. L'interaction du CNR-ESS avec l'équipe qui gère EnteroBase à l'Université de Warwick (Royaume-Uni) a débouché en juillet 2019 sur la modification de l'algorithme utilisé pour l'assignation des allèles cgMLST. Le CNR-ESS a été le principal laboratoire à tester les différents algorithmes et à valider la version qui fonctionne actuellement sur le site pour *E. coli, Shigella* et *Salmonella*. Depuis 2021, les responsables du CNR-ESS sont curateurs des bases *Salmonella* et *E. coli/Shigella* d'EnteroBase.

CNR-LA

Évaluation d'un système intégré totalement automatisé de PCR en temps réel : de l'extraction à l'analyse des résultats (ELITe InGenius™).

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

La validation de la méthode cgMLST d'EnteroBase par le CNR-ESS, puis son utilisation en routine a permis une meilleure interaction avec nos collègues du **Laboratoire National de Référence à l'Anses** dans le cadre des investigations nationales des salmonelloses. Le CNR-ESS promeut également l'utilisation de la méthode cgMLST d'EnteroBase et de son Hierarchical clustering pour la détermination des clusters épidémiques internationaux, via le réseau EPIS-FWD (pour Epidemic Intelligence Information System — Food and Waterborne Diseases and zoonoses : https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/epidemic-intelligence-information-system-epis).

En **2022**, cette méthode a été utilisée pour la gestion des épidémies à EHEC, *Shigella* et *Salmonella* sur le plan international (**68 alertes**, dont 52 à *Salmonella*, 12 à STEC et 4 à *Shigella*/EIEC).

2.4 Collections de matériel biologique

L'organisation, les conditions de stockage et la mise à disposition des collections de matériel biologique sont détaillées dans <u>l'annexe 1</u> paragraphe 1.4. Collections de matériel biologique.

2.5 Activités d'expertises

CNR-ESS

En 2022, le CNR-ESS a reçu une quantité exceptionnelle de souches à analyser : 14 218, dont 12 217 comme Salmonella spp., 1563 comme Shigella/EIEC et 438 comme EHEC (souches transmises par le CNR-LA). Il s'agissait du plus grand nombre de souches reçues au CNR-ESS depuis au moins 20 ans. Toutes les souches de Salmonella et Shigella reçues au CNR-ESS dans le cadre de son activité de surveillance étaient d'origine humaine.

En 2022, **679 laboratoires** ont envoyé des souches de *Salmonella* ou de *Shigella*/EIEC au CNR-ESS. La majorité des souches (**62 %**) étaient en provenance de laboratoires de biologie médicale (LBM) et **32 %** des souches ont été envoyées par des laboratoires hospitaliers (**Figure 2**). En revanche, le nombre de LBM ayant adressé des souches était moins important (**n = 319**) que celui des laboratoires hospitaliers (**n = 360**) (**Figure 3**).

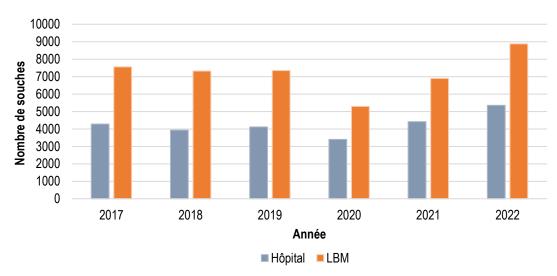


Figure 2. Nombre de souches de Salmonella et Shigella/EIEC envoyées au CNR-ESS, par type d'établissement, 2017-2022

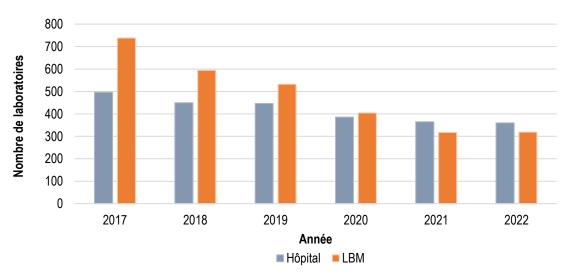


Figure 3. Nombre et type de laboratoires envoyant des Salmonella et Shigella/EIEC au CNR-ESS, 2017-2022

Salmonella

Depuis juillet 2018, le CNR-ESS réalise dans un but épidémiologique le **typage par WGS** comme technique de **première intention** pour toutes les souches de *Salmonella* reçues des laboratoires collaborateurs de son réseau national. Le sérotypage classique par **agglutination** n'est plus réalisé que dans **certaines conditions très particulières** et toujours en association avec le WGS (sauf pour les doublons, voir plus bas). Par exemple pour compléter la base de données MLST/sérotype du CNR-ESS quand un nouveau séquençotype MLST est identifié à partir d'une séquence génomique. Ou exceptionnellement, à la demande de Santé publique France (SpF), comme test d'orientation lors de la phase initiale de certaines investigations d'épidémies quand seul un résultat rapide permet l'interrogatoire précoce des nouveaux cas (l'agglutination permettant d'identifier le sérotype en 2 à 5 jours par rapport à 19 jours en moyenne pour le WGS). Ou, enfin, pour les doublons qui sont des souches issues d'un même patient, d'un même laboratoire expéditeur, d'un même type de prélèvement dans un intervalle de temps inférieur à 60 jours.

En 2021, le CNR-ESS a clôturé la plateforme « **Voozanoo** » pour la déclaration en ligne d'isolements de *Salmonella* et *Shigella* sans envoi de souche et sollicite désormais l'envoi de toutes les souches de *Salmonella* et *Shigella* isolées dans les laboratoires de biologie médicale (LBM).

En 2022, le CNR-ESS a reçu 12 217 souches de Salmonella d'origine humaine (Tableau 1).

Tableau 1. Nombre de souches de Salmonella enregistrées en 2022

	Nombre de souches
Total reçu	12 217
Souches "Absence de culture"	19
Souches "Bactérie autre que Salmonella"	48
Souches "Doublon"	634
Souches "Autres" non analysées	40
Souches analysées "hors surveillance" (CEQ, etc.)	43
— Souches analysées "une par patient"	11 433

Des 12 217 souches reçues, 784 ont été exclues des analyses, dont 634 identifiées comme des « doublons » (même patient, même laboratoire expéditeur, même type de prélèvement dans un intervalle de temps inférieur à 60 jours ou même profil génomique). Par ailleurs, 48 souches envoyées pour sérotypage de *Salmonella* se sont avérées être des bactéries autres que *Salmonella*. Finalement, 40 souches n'ont pas été analysées en raison de problèmes d'envoi (tube cassé, absence de culture, envoi erroné au CNR-ESS). Ainsi, 11 433 souches de *Salmonella* ont été analysées dans le cadre des activités de surveillance du CNR-ESS en 2022. Cela confirme la tendance à l'augmentation du nombre de souches analysées chaque année, à l'exception de 2020, première année de la pandémie à SARS-CoV-2.

Shigella/EIEC

En 2022, le CNR-ESS a analysé 1539 cultures bactériennes transmises par son réseau de LBM de France métropolitaine et d'Outre-mer et identifiées comme *Shigella* spp..

Entre octobre 2021 et octobre 2022, des PCR systématiques à la recherche des principaux pathovars entériques de *E. coli* ont été réalisées sur toutes les cultures reçues au CNR-ESS. Les souches avec une PCR positive pour les *Shigella*/EIEC étaient ensuite séquencées par WGS. En novembre 2022, le dépistage systématique par PCR a été abandonné. Le séquençage WGS se fait désormais en première intention, à l'exception des cultures bactériennes polymorphes.

Le **Tableau 2** montre le nombre de souches envoyées comme *Shigella*/EIEC en 2022. Au total, 86 % (1324/1539) des souches réceptionnées ont été confirmées comme des *Shigella* spp. (n = 1303) ou des EIEC (n = 17). Pour quatre cultures bactériennes la présence de *Shigella*/EIEC a été confirmée par PCR mais aucune souche n'a pu être isolée. Les autres souches (14 %, 215/1539) étaient des « bactéries autres que *Shigella*/EIEC », de type *E. coli* atypiques le plus fréquemment. Nous observons ce taux élevé de mauvaise identification des *Shigella* par les LBM depuis 2016 (4 % en 2014, 6 % en 2015, 12 % en 2016, 17 % en 2017, 21 % en 2018 et 2019, 26 % en 2020, 19 % en 2021, 14 % en 2022). Ceci est vraisemblablement attribuable à l'abandon de plus en plus répandu des tests de séro-agglutination difficiles à maintenir dans le cadre de l'accréditation ISO-15189 couplé à une moindre utilisation des tests biochimiques au profit de la spectrométrie de masse (Maldi-Tof).

Tableau 2. Nombre de souches de Shigella/EIEC enregistrées en 2022*

	Nombre de souches
Shigella/EIEC	1324
Bactéries autres que Shigella/EIEC	215
Nombre total de souches enregistrées	1539

^{*}par date de réception au CNR-ESS (quelle que soit la date de prélèvement). Attention, les effectifs des enregistrements diffèrent des effectifs de surveillance. Ces derniers, présentés dans le paragraphe 4. Activités de surveillance: Shigella/EIEC, s'intéressent aux souches isolées strictement au cours de l'année et excluent les souches transmises en doublon.

CNR-LA

Inventaire des prélèvements reçus au CNR-LA en 2022

En 2022, 1714 échantillons ont été reçus au CNR-LA dont 1457 prélèvements de selles, représentant une hausse de 32,3 % du nombre total d'échantillon reçus comparativement à l'année précédente, augmentation liée à l'épidémie d'infection à EHEC 026-0103 observée en 2022 (Tableau 3).

Tableau 3. Répartition des différents types de prélèvements, origine et nombre reçus au CNR-LA en 2022

Inventaire des prélèvements	1714
Prélèvement humains	
Selles	1 457
Extrait d'ADN /Selles	6
Biopsie intestinale	6
Souches humaines isolées de :	
Selles	144
Hémoculture	35
Urines	21
LCR	20
Biopsie organe	7
Pus profond	1
Prélèvement respiratoire	1
Liquide péritonéal	1
Prélèvement vaginal	1
Souches alimentaires	14
Total général	1714

Activité d'expertise sur les Escherichia coli entéro-hémorragiques

En 2022, le CNR-LA a reçu **1649 échantillons humains** dont 1457 selles et **144 souches** isolées de selles ainsi que **14 souches** alimentaires, soit 1663 échantillons. Le détail des différents échantillons est répertorié dans le **Tableau 4**.

Tableau 4. Les différents types de prélèvements reçus en 2022 pour la recherche de EHEC

Nature des prélèvements	Nbre
Selles	1457
Souche/Selles	144
Souche/Hémoculture	15
Souche/Urines	14
Biopsie digestive + Souche/Biopsie digestive	12
ADN /Selles	6
Souche/Liquide peritonéal	1
Total prélèvements humains	1649
Souches alimentaires	14
Total EHEC	1663

Ces prélèvements concernaient **1521 patients** suivis par 217 services hospitaliers dont 5 hors métropole ou des structures de biologie privées (n = 63). Les souches alimentaires ont été adressées par le LNR VetAgroSup à Lyon.

Activité d'expertise sur les Escherichia coli extra-intestinaux

Le CNR-LA a reçu **61 souches** de *E. coli* responsables de pathologies extra intestinales isolées des prélèvements suivants :

n = 35Sang LCR n = 20Urines n = 7Liquide péritonéal n = 1Prélèvement vaginal n = 1 Selles n = 1Trachée n = 1Abcès ombilical n = 1Biopsie de rate n = 1

Délai de restitution des résultats

Délai de restitution de résultats du CNR-ESS

Le délai moyen de restitution des résultats de typage du CNR-ESS aux laboratoires est de 19 jours, avec une médiane de 18 jours et une mode de 14 jours. La **Figure 4** illustre la répartition des délais de rendu de résultats en 2022.

Le délai de rendu des résultats dépend de deux facteurs : i) de la quantité de souches reçues, avec une capacité du CNR-ESS à gérer 400 souches hebdomadaires (maximum de 800 souches) ; ii) de la vitesse de production des

séquences par la plateforme P2M de l'Institut Pasteur (voir section **Activités de séquençage**). Les séquences WGS sont obtenues majoritairement de 13 à 21 jours après réception des souches par le CNR-ESS.

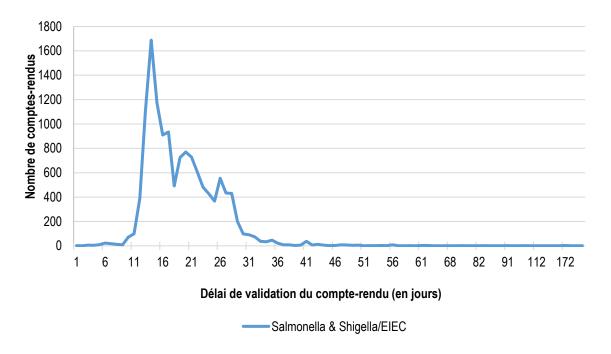


Figure 4. Délai de rendu des résultats du CNR-ESS, 2022

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

Délai de rendu de résultats du CNR-LA

Les résultats des PCR directes sur les selles sont rendus aux cliniciens et/ou aux biologistes dans les 24 à 72 heures. Les résultats de l'isolement et de la caractérisation des souches sont obtenus en 3 à 5 jours et complétés secondairement par l'obtention des résultats WGS.

Tous les phénomènes anormaux (excès de cas liés à un sérogroupe particulier, regroupement temporo-spatial ou à une souche avec un profil de résistance aux antibiotiques inhabituel) sont signalés immédiatement par téléphone à nos interlocuteurs de SpF et les données sont saisies en temps réel sur l'application Osmose de la Direction Interministérielle du Numérique (DINUM).

2.6 Activités de séquençage

En 2022, le CNR-ESS a réalisé le séquençage WGS de **13 157 souches**, dont 11 433 étaient des souches de *Salmonella*, 1286 souches de *Shigella*/EIEC et 438 des EHEC.

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?					
□ NON					
	Externe au CNR-ESS : Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M) de l'Institut Pasteur.				
* OUI	Séquenceurs NextSeq 500 Illumina (utilisation du kit Nextera XT pour la préparation des librairies).				

Le CNR a-t-	Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?						
□ NON							
	Expertise interne au CNR-ESS et externe (plateforme P2M et hub de bioinformatique de l'Institut Pasteur).						
≭ OUI	Trimming des reads et assemblage de novo réalisé par P2M avec le programme fq2dna (A. Criuscolo) Analyse des FASTA, recherche de gènes de résistance, recherche de gènes de virulence, Phylogénie réalisé en interne au CNR-ESS par outils open source (Resfinder, Blast, Snippy, Gubbins, RAxML) et outils maison (pourcentage d'identité de gènes, MLST,). L'analyse des génomes se fait via le site EnteroBase, en particulier pour la clustérisation selon le schéma HierCC-cgMLST.						

Le CNR a-t-il	fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?
□ NON	
≭ OUI	Investigations intervenues dans le cadre de la surveillance pour les cas d'infection à Salmonella, Shigella/EIEC et EHEC sur le territoire français. Seule l'analyse génomique peut confirmer l'appartenance d'une souche à un cluster génomique et donc son inclusion ou non dans les enquêtes épidémiologiques ultérieures nationales et internationales (voir section 6. Alertes).

Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)

Le séquençage pour les activités de surveillance du CNR-ESS se réalise sur la totalité des souches reçues (une par patient dans une période de \leq 2 mois) :

- -Typage : prédiction du sérotype des *Salmonella* avec un script interne ; prédiction du sérotype des *Shigella* avec ShigaPass ; prédiction du sérotype des EHEC avec SerotypeFinder
- -Sous-typage : analyse du cgMLST selon le schéma EnteroBase.
- -Détermination du résistome par un script interne adapté de ResFinder.
- -Détermination du virulome pour *Shigella*/EIEC et EHEC par un script adapté de VirulenceFinder.
- -Clustérisation sur EnteroBase par la réalisation d'arbres cgMLST-grape tree et SNP.
- Voir plus en détail dans l'Annexe 2 paragraphe 2.1. Liste des techniques de référence.

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies :

Toutes les souches séquencées au sein du CNR-ESS peuvent participer à la détection ou à l'investigation d'épidémies. En 2022, **13 157 souches** ont été séquencées par le CNR-ESS, dont 11 433 étaient des souches de *Salmonella*, 1286 souches de *Shigella*/EIEC et 438 des EHEC.

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Les 13 157 souches séquencées par le CNR-ESS le sont dans le cadre de la surveillance.

Séquençage de toutes les souches reçues au CNR-ESS (dans la limite d'une par patient et ce dans un intervalle de deux mois).

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences :génomes assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Les fichiers FASTQ et FASTA sont conservés dans la base de données génomique du CNR-ESS qui est localisée dans Gaïa, un serveur sécurisé et sauvegardé de l'Institut Pasteur.

Également,

- les séquences FASTA de toutes les souches se trouvent sur EnteroBase (protégées du téléchargement pendant un an) et
- les séquences FASTQ de génomes analysés dans des études de recherche sont déposées sur l'European Nucleotide Archive (ENA).

Dans les deux cas, les métadonnées disponibles sont minimales pour assurer l'anonymisation des génomes.

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

Une fois que des publications scientifiques décrivant ces souches sont soumises pour publication, les fichiers FASTQ sont déposés dans l'European Nucleotide Archive (ENA, https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/home) et les fichiers FASTA annotés (pour les plasmides ou les génomes circularisés) dans GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) avec partage immédiat. Les métadonnées pour chaque génome sont présentes dans une table supplémentaire de l'article.

Les génomes non encore publiés peuvent être mis à disposition dans le cadre d'investigations d'épidémies internationales ou lors de collaborations scientifiques après discussion avec les responsables du CNR-ESS.

3. Activités de surveillance : Salmonella

En **2022**, le CNR-ESS a reçu et analysé un nombre exceptionnellement élevé de souches dans le cadre de la surveillance microbiologique des salmonelloses : **11 433 souches** (une par patient). Le séquençage du génome complet (WGS) a été utilisé pour l'analyse de toutes ces souches.

La méthode **cgMLST** (pour core genome MultiLocus Sequence Typing) est utilisée depuis 2017 pour sous-typer les principaux sérotypes de *Salmonella* ou ceux ayant été impliqués dans des épidémies. Depuis 2022, toutes les souches sont désormais sous-typées par cgMLST.

En 2022, le CNR-ESS a participé à l'investigation de **plus de 75 épisodes de cas groupés sur le plan national** et à la réponse à **43 alertes épidémiologiques européennes**.

Le sérotype **Enteritidis** reste le sérotype le plus fréquemment en cause dans les salmonelloses humaines en France en 2022, suivi par le variant monophasique de Typhimurium, puis par le sérotype Typhimurium.

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

Ce réseau de surveillance est unique pour plusieurs raisons :

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

Cette participation des LBM est essentielle à la surveillance des infections dues aux Salmonella et la pérennité de ce réseau dans la durée est une préoccupation de tous les instants pour les biologistes du CNR-ESS : rendu d'un résultat de typage à but épidémiologique pour toute souche clinique reçue, conseils techniques par téléphone ou réponse aux demandes des LBM (bibliographie, données épidémiologiques...).

Il est important de noter que depuis quelques années, un phénomène de regroupement des LBM et de mutualisation des plateaux techniques a induit une diminution du nombre de laboratoires dans le réseau du CNR-ESS. Pour le détail de la répartition de laboratoires du réseau, voir la section **2.5. Activités d'expertises**.

3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à Salmonella

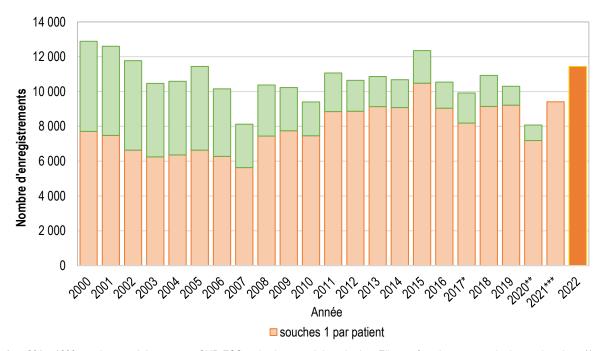
Nombre annuel de Salmonella répertoriées au CNR-ESS

En 2022, le CNR-ESS a reçu **12 217** souches de *Salmonella* de France métropolitaine, d'Outre-mer et de Monaco). Sur ces souches reçues, **11 433** ont été incluses dans l'étude épidémiologique 2022, et donc typées par WGS voire WGS et sérotypage (voir le détail dans le **Tableau 5**).

Tableau 5. Nombre de souches de Salmonella analysées dans le cadre de l'activité de surveillance en 2022

Méthode de typage	Nombre de souches
— Souches typées par WGS seulement	11 156
Souches typées par séro-agglutination et WGS	277
Données totales "une par patient"	11 433

Le nombre d'enregistrements de *Salmonella* au CNR-ESS est stable depuis le début des années 2000, autour de 10 000 chaque année. Cependant, depuis l'arrêt de la réception des « fiches information » (fiches de notification non-accompagnées de souches) en 2021, nous avons observé une forte augmentation du nombre de souches reçues, pour atteindre en 2022 un nombre inédit depuis 20 ans (**Figure 5**).



^{*} en 2017, 1600 souches ont été reçues au CNR-ESS mais n'ont pas été analysées. Elles ne font donc pas partie de ces données ; ** en 2020, la crise sanitaire due au virus SARS-CoV-2 a vraisemblablement affecté le nombre de souches et de « fiches d'information » reçues ; *** en 2021, le CNR-ESS a arrêté la gestion des déclarations d'identification par « fiches d'information ». Le nombre des enregistrements représente depuis lors uniquement les souches reçues et typées au CNR-ESS.

Figure 5. Évolution du nombre annuel de souches de Salmonella d'origine humaine enregistrées par le CNR-ESS

Types de prélèvement d'origine pour les souches de Salmonella

Tableau 6. Répartition des souches reçues et analysées au CNR-ESS par sites de prélèvement, 2017-2022

Citas de puélècement*	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Sites de prélèvement*	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Selles	7079 (86,4)	8041 (88)	8046 (87,3)	6301 (87,7)	8424 (89,5)	10 153 (88,8)
Sang	628 (7,7)1	648 (7,9)2	677 (7,3) ³	490 (6,8) ⁴	568 (6) ⁵	800 (7)6
Urines	325 (4)	348 (3,8)	379 (4,1)	313 (4,4)	312 (3,3)	357 (3,1)
Pus	3 (<0,1)	9 (0,1)	11 (0,1)	7 (0,1)	6 (0,1)	18 (0,2)
Bile	8 (0,1)	5 (<0,1)	6 (<0,1)	11 (0,2)	3 (<0,1)	7 (0,1)
LCR	1 (< 0,1)	2 (<0,1)	6 (<0,1)	3 (0,4)	1 (<0,1)	2 (<0,1)
Autres	98 (1,2)	88 (1)	88 (0,9)	56 (0,8)	94 (1)	87 (0,8)
Inconnu	47 (0,6)	4 (0,4)	2 (<0,1)	0 (0)	0 (0)	9 (0,1)
TOTAL souches de Salmonella	8189	9145	9215	7181	9408	11 433

N: nombre de souches, une par patient

Tableau 7. Distribution des cas de salmonellose rapportés au CNR-ESS par classes d'âge en 2022*

Classes d'âge	2017	2018	2019	2020	2021	2022
	N (%)					
<1 an	525 (6,4)	612 (6,7)	508 (5,5)	444 (6,2)	516 (5,5)	629 (5,5)
1-5 ans	1943 (23,7)	1826 (20,0)	1800 (19,5)	1469 (20,5)	1894 (20,1)	2166 (18,9)
6-14 ans	974 (11,9)	1177 (12,9)	1147 (12,4)	989 (13,8)	1296 (13,8)	1552 (13,6)
15-64 ans	3232 (39,5)	3798 (41,5)	3962 (43,0)	2694 (37,5)	3825 (40,7)	4904 (42,9)
≥65 ans	1512 (18,5)	1731 (18,9)	1797 (19,5)	1584 (22,1)	1877 (20)	2182 (19,1)
Inconnu	1 (< 0,1)	1 (< 0,1)	1 (<0,1)	1 (<0,1)	0 (0)	0 (0)
TOTAL souches de Salmonella	8189	9145	9215	7181	9408	11 433

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

Origine géographique des souches de Salmonella reçues

La donnée « code postal du patient » est présente pour 9 047 souches (soit 79,1 % des cas) de Salmonella reçues et typées au CNR-ESS en 2022. Pour le reste des souches, le code postal du laboratoire expéditeur a été pris par défaut. En 2022, le CNR-ESS a typé 10 690 souches en provenance de France métropolitaine (soit 93,5 % des souches reçues et typées) et 741 de la France d'Outre-mer. En 2022, Monaco, qui collabore à la surveillance épidémiologique des salmonelles en France, a envoyé deux souches de Salmonella spp. Le Tableau 8 et la Figure 6 donnent la répartition géographique des cas de salmonellose en France entre 2017 et 2022.

^{% :} pourcentage de souches, une par patient

Le pourcentage tient compte des souches de (séro)types Typhi et Paratyphi A.

¹ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 6%.

 $^{^2}$ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,4%. 3 Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,4%.

⁴ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,7%. ⁵ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,4%.

⁶ Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage est de 5,1%.

Distribution des Salmonella par classes d'âge

N : nombre de souches, une par patient

^{% :} pourcentage de souches, une par patient

Tableau 8. Répartition des souches de Salmonella par régions d'origine de 2017 à 2022

			e		
					2022
					N (%)
7557	8545	8543	6643	8795	10 638
963 (11.8)	979 (10 7)	1001 (10.9)	975 (13.6)	1666 (17.7)	1912 (16,7)
303 (11,0)	373 (10,7)	1001 (10,5)	373 (13,0)	1000 (17,7)	1312 (10,7)
293 (3.6)	420 (4.6)	408 (4 4)	<i>4</i> 11 (5.7)	492 (5.2)	623 (5,4)
200 (0,0)	420 (4,0)	400 (4,4)	411 (0,1)	432 (0,2)	020 (0,4)
291 (3.5)	348 (3.8)	387 (4 2)	291 (4 1)	422 (4.5)	525 (4,6)
201 (0,0)	040 (0,0)	001 (4,2)	231 (4,1)	422 (4,0)	020 (4,0)
248 (3)	241 (2.6)	288 (3.1)	223 (3.1)	308 (3.3)	383 (3,3)
240 (0)	241 (2,0)	200 (0,1)	223 (0,1)	300 (3,3)	303 (3,3)
<i>11</i> (0.5)	60 (0.7)	58 (0.6)	62 (0.9)	63 (0.7)	78 (0,7)
11 (0,0)	00 (0,1)	00 (0,0)	02 (0,0)	00 (0,1)	10 (0,1)
669 (8 2)	869 (9.5)	872 (9.5)	759 (10.6)	950 (10 1)	1125 (10,1)
000 (0,2)	003 (3,0)	012 (0,0)	700 (10,0)	300 (10,1)	1120 (10,1)
575 (7)	574 (6.3)	556 (6)	445 (6.2)	641 (6.8)	742 (6,5)
010(1)	014 (0,0)	000 (0)	++0 (0,2)	041 (0,0)	142 (0,0)
1540 (18.8)	1562 (17 1)	1528 (16.6)	856 (11 9)	1163 (12 4)	1666 (14,6)
10-10 (10,0)	1502 (17,1)	1320 (10,0)	030 (11,3)	1103 (12,4)	1000 (14,0)
380 (4.6)	205 (3.2)	323 (3.5)	272 (3.8)	306 (3.3)	458 (4)
300 (4,0)	255 (5,2)	020 (0,0)	212 (0,0)	000 (0,0)	430 (4)
7/15 (0 1)	882 (0.7)	957 (10 <i>(</i> 1)	7/16 (10 //)	716 (7.6)	875 (7,7)
740 (3,1)	002 (0,1)	307 (10,4)	740 (10,4)	7 10 (7,0)	010 (1,1)
756 (9.2)	1005 (11)	900 (9.8)	751 (10 5)	989 (10 5)	983 (8,6)
750 (5,2)	1003 (11)	300 (3,0)	731 (10,3)	303 (10,3)	303 (0,0)
550 (6.7)	700 (7.7)	611 (6.6)	470 (6.5)	534 (5.7)	656 (5,7)
000 (0,1)	100 (1,1)	011 (0,0)	470 (0,0)	004 (0,1)	000 (0,1)
503 (6.1)	610 (6.7)	654 (7 1)	382 (5 3)	545 (5.8)	612 (5,4)
000 (0,1)	010 (0,1)	00+(1,1)	002 (0,0)	040 (0,0)	012 (0,4)
620	583	661	525	600	741
103 (1,3)	145 (1,6)	143 (1,6)	127 (1,8)	130 (1,4)	161 (1,4)
243 (3)	151 (1,6)	228 (2,5)	153 (2,1)	193 (2,1)	162 (1,4)
103 (1,3)	93 (1)	117 (1,3)	85 (1,2)	156 (1,7)	141 (1,2)
60 (0,7)	81 (0,9)	92 (1)	83 (1,2)	59 (0,6)	70 (0,6)
77 (0,9)	89 (1)	54 (0,6)	56 (0,8)	39 (0,4)	125 (1,1)
26 (0,3)	21 (0,2)	26 (0,3)	17 (0,2)	20 (0,2)	79 (0,2)
0	0	0	1 (<0,1)	0	0
8 (0,1)	3 (<0,1)	1 (<0,1)	3 (<0,1)	3 (<0,1)	3 (<0,1)
9 (0,1)	9 (0,1)	8 (0,1)	6 (0,1)	11 (0,1)	2 (<0,1)
3 (<0,1)	8 (0,1)	3 (<0,1)	7 (<0,1)	2 (<0,1)	20 (0,2)**
8189	9145	9215	7181	9408	11 433
	963 (11,8) 293 (3,6) 291 (3,5) 248 (3) 44 (0,5) 669 (8,2) 575 (7) 1540 (18,8) 380 (4,6) 745 (9,1) 756 (9,2) 550 (6,7) 503 (6,1) 620 103 (1,3) 243 (3) 103 (1,3) 60 (0,7) 77 (0,9) 26 (0,3) 0 8 (0,1) 9 (0,1)	N (%) N (%) 7557 8545 963 (11,8) 979 (10,7) 293 (3,6) 420 (4,6) 291 (3,5) 348 (3,8) 248 (3) 241 (2,6) 44 (0,5) 60 (0,7) 669 (8,2) 869 (9,5) 575 (7) 574 (6,3) 1540 (18,8) 1562 (17,1) 380 (4,6) 295 (3,2) 745 (9,1) 882 (9,7) 756 (9,2) 1005 (11) 550 (6,7) 700 (7,7) 503 (6,1) 610 (6,7) 620 583 103 (1,3) 145 (1,6) 243 (3) 151 (1,6) 103 (1,3) 93 (1) 60 (0,7) 81 (0,9) 77 (0,9) 89 (1) 26 (0,3) 21 (0,2) 0 0 8 (0,1) 3 (<0,1)	N (%) N (%) N (%) 7557 8545 8543 963 (11,8) 979 (10,7) 1001 (10,9) 293 (3,6) 420 (4,6) 408 (4,4) 291 (3,5) 348 (3,8) 387 (4,2) 248 (3) 241 (2,6) 288 (3,1) 44 (0,5) 60 (0,7) 58 (0,6) 669 (8,2) 869 (9,5) 872 (9,5) 575 (7) 574 (6,3) 556 (6) 1540 (18,8) 1562 (17,1) 1528 (16,6) 380 (4,6) 295 (3,2) 323 (3,5) 745 (9,1) 882 (9,7) 957 (10,4) 756 (9,2) 1005 (11) 900 (9,8) 550 (6,7) 700 (7,7) 611 (6,6) 503 (6,1) 610 (6,7) 654 (7,1) 620 583 661 103 (1,3) 145 (1,6) 143 (1,6) 243 (3) 151 (1,6) 228 (2,5) 103 (1,3) 93 (1) 117 (1,3) 60 (0,7) 81 (0,9) 92 (1) 77 (0,9) 89 (1) 54 (0,6)	N (%) N (%) N (%) N (%) 7557 8545 8543 6643 963 (11,8) 979 (10,7) 1001 (10,9) 975 (13,6) 293 (3,6) 420 (4,6) 408 (4,4) 411 (5,7) 291 (3,5) 348 (3,8) 387 (4,2) 291 (4,1) 248 (3) 241 (2,6) 288 (3,1) 223 (3,1) 44 (0,5) 60 (0,7) 58 (0,6) 62 (0,9) 669 (8,2) 869 (9,5) 872 (9,5) 759 (10,6) 575 (7) 574 (6,3) 556 (6) 445 (6,2) 1540 (18,8) 1562 (17,1) 1528 (16,6) 856 (11,9) 380 (4,6) 295 (3,2) 323 (3,5) 272 (3,8) 745 (9,1) 882 (9,7) 957 (10,4) 746 (10,4) 756 (9,2) 1005 (11) 900 (9,8) 751 (10,5) 550 (6,7) 700 (7,7) 611 (6,6) 470 (6,5) 503 (6,1) 610 (6,7) 654 (7,1) 382 (5,3) 620 583 661 525 103 (1,3) 145 (1,6)	N (%) N (%) N (%) N (%) N (%) 7557 8545 8543 6643 8795 963 (11,8) 979 (10,7) 1001 (10,9) 975 (13,6) 1666 (17,7) 293 (3,6) 420 (4,6) 408 (4,4) 411 (5,7) 492 (5,2) 291 (3,5) 348 (3,8) 387 (4,2) 291 (4,1) 422 (4,5) 248 (3) 241 (2,6) 288 (3,1) 223 (3,1) 308 (3,3) 44 (0,5) 60 (0,7) 58 (0,6) 62 (0,9) 63 (0,7) 669 (8,2) 869 (9,5) 872 (9,5) 759 (10,6) 950 (10,1) 575 (7) 574 (6,3) 556 (6) 445 (6,2) 641 (6,8) 1540 (18,8) 1562 (17,1) 1528 (16,6) 856 (11,9) 1163 (12,4) 380 (4,6) 295 (3,2) 323 (3,5) 272 (3,8) 306 (3,3) 745 (9,1) 882 (9,7) 957 (10,4) 746 (10,4) 716 (7,6) 756 (9,2) 1005 (11) 900 (9,8) 751 (10,5) 989 (10,5) 550 (6,7) 700 (7,7) 6

N : nombre de souches, une par patient

^{% :} pourcentage de souches, une par patient
* 30 souches de Polynésie française isolées en 2021 ont été envoyées au CNR-ESS en avril 2022 ; elles ont été intégrées aux données de ce rapport d'activité 2022.

** 20 souches reçues de laboratoires en France métropolitaine ont été isolées de patients dont la résidence habituelle est à l'étranger.

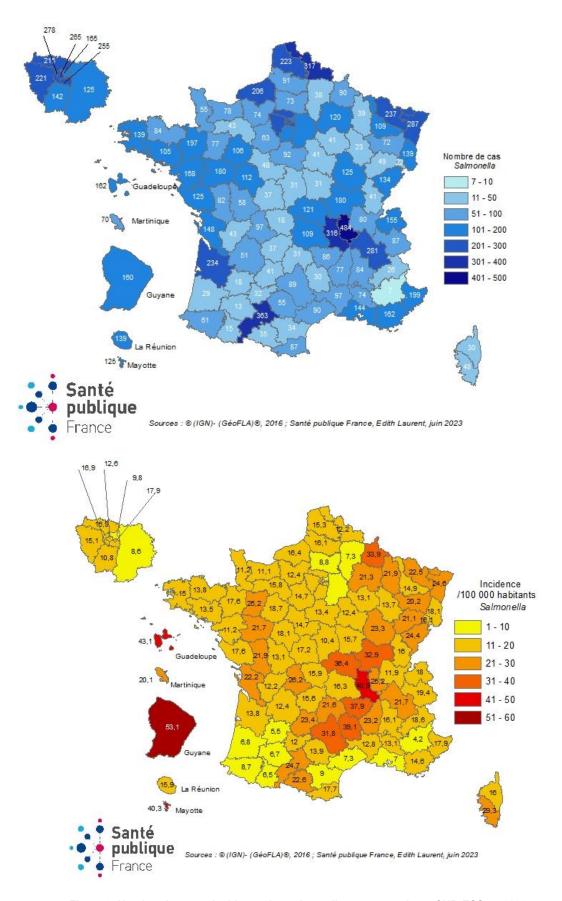


Figure 6. Nombre de cas et incidence des salmonelloses rapportés au CNR-ESS en 2022

Foyers de cas groupés à Salmonella

En 2022, **483** épisodes de cas groupés (**foyers**) ont été rapportés sur les « fiches de renseignements » accompagnant les souches reçues. Ces épisodes concernaient un minimum de **1142 cas** (le nombre de cas n'a pas été rapporté pour **157 foyers** (32,5 %)).

L'obtention des valeurs de cgMLST permet une identification de plus en plus précise des groupements épidémiques. L'utilisation du HierCC (HC2, HC5, HC10) en routine permet d'exclure ou d'inclure des cas dans les cas groupés déclarés. Souvent les souches sont envoyées sans notion de groupement de cas, ou même avec notion de « cas isolé », mais les données génomiques de HC5 permettent l'identification de ces cas groupés. Le signalement de cas groupés par les laboratoires collaborateurs reste néanmoins très important lors des investigations d'épidémies.

En 2022, le nombre de **sérotypes** de *Salmonella* impliqués dans les foyers de cas groupés a été de **58**. Le **Tableau 9** représentent l'évolution des cas groupés rapportés au CNR-ESS, pour les principaux sérotypes et le **Tableau 10**, par type de foyer.

Tableau 9. Foyers de cas groupés par sérotype de Salmonella de 2017 à 2022

	Foyers de cas groupés à Salmonella signalés au CNR-ESS en :							
	2017	2018	2019	2020	2021	2022		
Nombre total de foyers	316	422	434	331	408	483		
Sérotype identifié :								
Enteritidis	92	105	140	142	184	209		
Typhimurium	32	56	82	41	60	71		
1,4,[5],12:i:- (monophasique)	86	113	65	43	90	74		
TOTAL souches de Salmonella	8189	9145	9215	7181	9408	11 433		

Tableau 10. Récapitulatif des différents foyers de cas groupés à Salmonella de 2017 à 2022

Foyers de cas groupés en :	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Nombre de foyers (nombre de cas)	317 (699)	128 (305)	444 (1569)	331 (818)	408 (939)	483 (1 142)
Type de foyers :						
Foyers familiaux	193 (444)	83 (180)	262 (604)	221 (511)	270 (608)	327 (825)
Collectivité	3 (3)	0,0	2 (3)	0,0	3 (16)	10 (23)
Travail	2 (11)	0,0	1 (7)	3 (5)	2 (2)	1 (0)
Écoles	9 (22)	4 (55)	4 (82)	4 (4)	10 (11)	4 (2)
Crèches	9 (17)	2 (9)	3 (3)	2 (2)	4 (4)	2 (2)
Foyers hospitaliers	7 (11)	7 (9)	11 (15)	14 (17)	9 (11)	22 (11)
Autres	93 (191)	32 (52)	161 (855)	87 (279)	111 (287)	117 (279)
Nombre de sérotypes de Salmonella impliqués	56	41	70	49	39	58
TOTAL souches de Salmonella reçues	8189	9145	9215	7181	9408	11 433

Évolution des principaux sérotypes de Salmonella

Depuis 2019, une augmentation importante du nombre de souches identifiées uniquement comme Salmonella spp. ou partiellement sérotypées par les laboratoires collaborateurs a été constatée. Cette tendance est vraisemblablement liée à la difficulté des LBM de poursuivre une activité de sérotypage dans le cadre de l'accréditation ISO-15189. Le sérotype Typhimurium et son variant monophasique représentaient à eux seuls 40 % des 15 « fiches information » reçues au CNR-ESS avec un sérotypage complet en 2020. Ces informations étant insuffisantes pour l'identification des cas groupés de salmonellose, et à la lumière du développement du séquençage WGS ont mené le CNR-ESS à ne plus accepter ces « fiches information » sans envoi de souche depuis 2021. Le **Tableau 11** et le **Tableau 12** ainsi que la **Figure 7** montrent l'évolution des principaux sérotypes identifiés par le CNR-ESS au cours des six dernières années (données basées jusqu'en 2020 sur les « fiches information » et les souches reçues au CNR-ESS, puis exclusivement sur les souches reçues au CNR-ESS depuis 2021).

Tableau 11. Les 20 principaux sérotypes de Salmonella de 2017 à 2022

Rang	Distribution des sérotypes (n) par année								
	2017*	2018*	2019*	2020*	2021	2022			
1	Enteritidis (2109)	Enteritidis (2486)	Enteritidis (2212)	Enteritidis (1880)	Enteritidis (3199)	Enteritidis (4115)			
2	I. <u>1,</u> 4,[5],12:i:- (2101)	I. <u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2251)	I. <u>1,</u> 4,[5],12:i:- (1818)	I. <u>1,</u> 4,[5],12:i:- (1820)	I. <u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2086)	I. <u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2077)			
3	Typhimurium (1919)	Typhimurium (1933)	Typhimurium (1083)	Typhimurium (793)	Typhimurium (1044)	Typhimurium (1135)			
4	Infantis (212)	Newport (296)	Infantis (296)	Napoli (169)	Infantis (256)	Typhi (230)			
5	Typhi (159)	Infantis (266)	Typhi (214)	Infantis (162)	Chester (156)	Infantis (216)			
6	Newport (154)	Kentucky (177)	Newport (186)	Newport (144)	Napoli (147)	Newport (186)			
7	Kentucky (136)	Napoli (165)	Napoli (181)	Derby (132)	Derby (126)	Napoli (179)			
8	Derby (130)	Typhi (159)	Derby (138)	Panama (106)	Newport (101)	Chester (149)			
9	Chester (98)	Chester (157)	Panama (133)	Dublin (91)	Coeln (95)	Kentucky (143)			
10	Panama (100)	Derby (135)	Stanley (126)	Typhi (84)	Montevideo (93)	Virchow (135)			
11	Dublin (98)	Panama (117)	Chester (123)	Bovismorbificans (80)	IIIa. 48:z4,z23:- (90)	Derby (118)			
12	Agona (97)	Dublin (94)	Kentucky (120)	IIIa. 48:z4,z23:- (78)	Stanley (80)	Panama (112)			
13	Saintpaul (81)	Virchow (69)	Poona (112)	Chester (73)	Panama (75)	Ajiobo (104)			
14	Weltevreden (78)	Bredeney (64)	Dublin (98)	Stanley (63)	Typhi (74)	IIIa. 48:z4,z23:- (101)			
15	Napoli (76)	IIIa. 48:z ₄ ,z ₂₃ :- (58)	Montevideo (77)	Weltevreden (53)	Braenderup (61)	Hadar (82)			
16	Virchow (64)	Livingstone (57)	Mikawasima (74) Virchow (74)	Veneziana (47)	Virchow (60)	Stanley (72)			
17	Kottbus (54)	Saintpaul (55)		Montevideo (45)	Weltevreden (58)	Coeln (70)			
	Stanley (54)								
18		Agona (53)	IIIa. 48:z ₄ ,z ₂₃ :- (72)	Livingstone (44)	Give (54)	Weltevreden (64)			
19	Javiana (53)	Bovimorbificans (52)	Bredeney (70)	Saintpaul (43)	Dublin (49)	Braenderup (62)			
						Poona (62)			
20	Poona (52)	Stanley (51)	Bovimorbificans (67)	Hadar (40)	Hadar (46)	Agona (55)			
				Kentucky (40)					

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

Tableau 12. Les principaux sérotypes de Salmonella au cours des années 2017-2022

	Tous sérotypes	Enteritidis	Typhimurium	I. <u>1</u> ,4,[5],12:i:-	Typhi
Souches de Salmonella re	eçues au CNR-ESS et (séi	ro)typées en :			
2017	8189	1570	953	2049	149
2018	9145	1950	997	2245	157
2019	9215	2209	1082	1810	214
2020	7181	1880	791	1816	84
2021	9408	3199	1044	2086	74
2022	11 433	4115	1135	2077	230
Total 2017-2022	54 571	14 923	6 002	12 083	908
« Fiches information » reç	ues en :				
2017	1728	539	966	52	10
2018	1781	536	936	6	2
2019	1090	3	1	21	2
2020	895	0	2	4	0
2021	0	0	0	0	0
2022	0	0	0	0	0
Total 2017-2022	5494	1078	1905	83	14
Total souches (séro)typée	es :				
2017	9917	2109	1919	2101	159
2018	10 926	2486	1933	2251	159
2019	10 305	2212	1083	1831	216
2020	8076	1880	793	1820	84
2021	9408	3199	1044	2086	74
2022	11 433	4115	1135	2077	230
Total 2017-2022	60 065	16 001	7907	12 166	922
Proportion « Fiches inform	nation » / total des souche	s (séro)typées (%) e	en :		
2017	17,4%	25,6%	50,3%	2,5%	6,3%
2018	16,3%	21,6%	48,4%	0,3%	1,3%
2019	10,6%	0,1%	0,1%	1,1%	0,9%
2020	11,1%	0%	0,3%	0,2%	0%
2021	0%	0%	0%	0%	0%
2022	0%	0%	0%	0%	0%
Total 2017-2022	9%	7%	24%	1%	2%

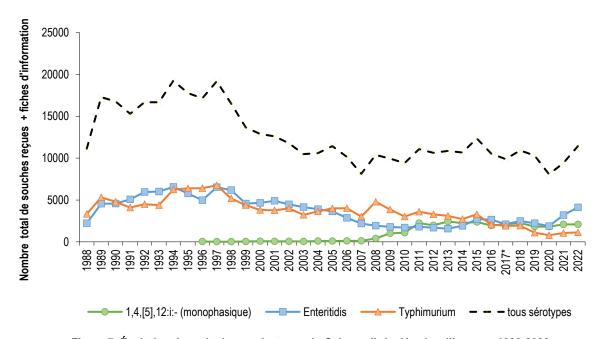
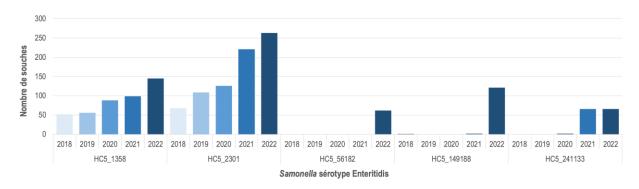
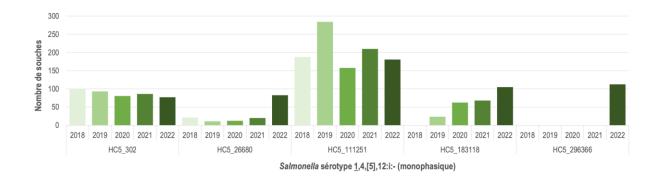


Figure 7. Évolution des principaux sérotypes de Salmonella isolés chez l'homme, 1988-2022

Depuis octobre 2018, le Hierarchical Clustering basé sur le core-genome-MLST (HierCC-cgMLST) (Zhou *et al.* Bioinformatics 2021) disponible sur le site EnteroBase (https://EnteroBase.warwick.ac.uk) est la méthode de soustypage utilisée par le CNR-ESS. La **Figure 8** montre l'évolution des principaux HC5 identifiés pour les trois principaux sérotypes de *Salmonella* isolées chez l'homme en France entre 2018 et 2022. Certains profils HC5 sont endémiques en France. Ainsi, HC5_1538 et HC5_2301 chez le sérotype Enteritidis ou HC5_302, HC5_26680 et HC5_111251 chez le variant monophasique de *S. enterica* sérotype Typhimurium sont identifiés chaque anneé depuis que la méthode est utilisée pour la surveillance. En revanche, d'autres profils HC5 sont émergents en 2022, comme HC5_56182 chez le sérotype Enteritidis ou HC5_306556 chez le sérotype Typhimurium. Cette approche est désormais utilisée par la France, ainsi que par le réseau européen EpiPulse-FWD du ECDC pour l'analyse des alertes épidémiologiques (Pardos de la Gandara *et al.* EuroSurveillance 2023).





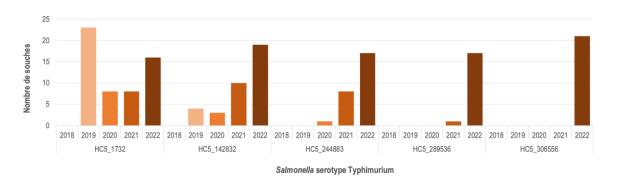


Figure 8. Évolution des principaux HC5 des sérotypes prévalents de Salmonella isolés chez l'homme, 2018-2022

Depuis 2013, le sérotype **Enteritidis** est le principal sérotype responsable des salmonelloses humaines en France et tout particulièrement en 2022, où son nombre de souches est le double de celui du second sérotype le plus fréquemment isolé, le variant monophasique de Typhimurium (<u>1,4,[5],12:i:-</u>). Une étude internationale a été menée entre 2020 et 2022, pour analyser cette augmentation de *S. enterica* sérotype Enteritidis chez l'homme mais aussi chez la volaille (<u>EJP-OH-ADONIS</u>), et ses conclusions ont fait objet d'une publication scientifique en 2023 (Chanamé Pinedo *et* al. One Health 2023).

Le nombre de cas d'infection à *S. enterica* sérotype **Typhi** a connu une forte diminution en 2020 (n = 84) et 2021 (n = 74), très probablement en lien avec la réduction des voyages internationaux suite aux mesures de santé publique prises dans le cadre de la lutte contre la pandémie à SARS-CoV-2. En **2022**, le nombre de souches reçues au CNR-ESS (une par patient) a été le plus élevé (**n = 230**) depuis ces 6 dernières années, cependant 111 (48,3 %) de ces souches provenaient de Mayotte (16 et 39 en 2021 et 2020, respectivement).

Le sérotype **Kentucky** est aussi un sérotype important, avec des souches résistantes aux fluoroquinolones. D'autres sérotypes sont liés à des sources connues mais pour lesquelles les mesures de contrôle ne sont pas encore efficaces, comme **Chester** (filière aviaire au Maroc), **Dublin** (filière bovine) et **Derby** (filière porcine).

Napoli reste un sérotype fréquent (n = 179), mais il n'a causé aucune épidémie en 2022.

Le sérotype **Hadar** a été responsable d'une épidémie, concernant 45 patients en France, et a fait l'objet d'une alerte internationale (alerte 2022-FWD-00065-FR) émise par la France sur le portail EpiPulse du ECDC. Un sérotype habituellement rare, **Ajiobo**, a été responsable d'une épidémie en France, avec plus de 40 cas. Il a également fait l'objet d'une alerte internationale (2022-FWD-00073-FR).

Pour une liste exhaustive des alertes épidémiologiques, voir la section 6.1. Alertes : Salmonella.

Le sérotype Typhi

En 2022, **248** souches de *S. enterica* sérotype Typhi isolées chez **230 patients** ont été reçues au CNR-ESS. Le **Tableau 13** précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignements, le lieu de la contamination probable des cas. La France d'Outre-mer a été considérée comme lieu de contamination quand elle était le lieu d'isolement de la souche et qu'il n'y avait pas d'indication de voyage.

La lutte contre la pandémie à SARS-CoV-2 a imposé des restrictions aux voyages internationaux, ce qui a joué un rôle primordial sur la diminution du nombre de cas de fièvres typhoïdes importées en France en **2020** et encore en **2021**. En **2022**, 111 souches (une par patient) sur les 230 provenaient de **Mayotte.** Le nombre de souches issues de ce DOM était bien plus faible les années précédentes (16 souches en 2021 et 39 en 2020). **En 2022**, le **Sénégal** a été le pays le plus fréquemment associé aux cas importés de fièvre typhoïde en France métropolitaine.

Tableau 13. Origine géographique des souches de sérotype Typhi (une par patient), 2017-2022

Dave de contemination	Nombre de cas						
Pays de contamination	2017	2018	2019	2020	2021	2022	
Afrique	22	23	19	2	12	56	
Afrique (sans précision)		2					
Afrique du Sud		1					
Algérie		1				1	
Angola						1	
Bénin	1						
Burkina Faso		1				1	
Cameroun					1	1	
Cap-Vert						1	
Comores		3		1	3		
Congo						1	
Côte d'Ivoire		1	1		1	3	
Égypte		1					
Guinée	2	3				1	
Kenya						1	
Madagascar	3	2	1			1	
Mali	3	3	3		1	2	
Maroc	6	4	7			1	
Mauritanie			1		1	1	
(suite page suivante)						•	

Pays de contamination			Nombre de cas			
	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Niger					1	
République Centrafricaine		1				
Sénégal	4		3	1	4	37
Sierra Leone	1					
Soudan			2			
Tanzanie						1
Tchad	1		1			1
Togo						1
Tunisie	1					
Amériques	7	11	12	0	2	6
Amériques (sans précision)		1				
Brésil		3				1
El Salvador						1
Haïti	2		1			1
Mexique	5	7	11		2	3
Asie	30	40	55	6	9	16
Asie (sans précision)	2	1				
Bali						
Bangladesh	5	2	6			3
Cambodge	······································		1	1		
Chine	1					
Inde	17	14	13	3	2	6
Indonésie	11	17	2			
Irak			1			
Japon			I		1	
Laos			3		I	
Liban			J		1	
Malaisie					I	1
			<i>a</i>			I
Maldives			1			
Myanmar			4			
Népal	1					
Pakistan	2	20	24	2	4	6
Qatar		1				
Syrie	1	1				
Sri Lanka		1				
Thailande	1					
Turquie					1	
Europe	2	1	3	1	0	0
Bulgarie	1					
Espagne			1			
Hongrie			1			
Italie	1					
Pays-Bas			1			
Royaume-Uni		1				
Suisse				1		
France d'Outre-mer	49	52	69	49	24	119
Guadeloupe					1	
Guyane	8	2	30	10	6	6
Martinique		1				
Mayotte	40	47	36	39	16	111
La Réunion	1	2	3			2
Polynésie française		<u></u>			1	<i>_</i>
Pays de destination non précisé	27	19	23	5	28	26
France métropolitaine (pas de voyage)	<u> </u>	3	13	21	21	7
TOTAL	137	149	194	84	96	230
IUIAL	19/	149	134	04	30	230

Le sérotype Paratyphi A

En 2020 et 2021, dans le contexte de la pandémie à SARS-CoV-2 et des restrictions aux voyages internationaux, le nombre de cas de *S. enterica* sérotype Paratyphi A avait diminué drastiquement en France par rapport aux années précédentes. En **2022**, comme pour le sérotype Typhi, le nombre de souches de sérotype Paratyphi A identifiés au CNR-ESS a augmenté et le **Sénégal** a été le pays plus fréquemment associé aux cas d'importation (**Tableau 14**).

Tableau 14. Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi A (une par patient), 2017-2022

Davis de contamination			Nombre	e de cas		
Pays de contamination	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Afrique	3	4	3	0	2	13
Guinée			1			
Mali	1	2				
Maroc	1					
Maurice		1				
Sénégal	1	1	2		2	12
Sierra Léone						1
Asie	16	23	33	16	3	6
Asie (sans précision)		1				
Afghanistan			1			
Bangladesh	1	1			2	
Cambodge	3	9	8	8		
Hong-Kong	1					
Inde	9	10	19	4		4
Myanmar			1			
Népal			1			
Pakistan		1	3	2	1	2
Sri Lanka	1	1				
Thaïlande	1			2		
Europe	0	0	1	0	0	0
Espagne			1			
Pays de contamination non précisé	7	8	3	2	2	6
France métropolitaine (pas de voyage)			1	1	2	1
TOTAL	26	35	41	19	9	26

Le sérotype Paratyphi B

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

En **2022**, **dix** souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi B (dt-) ont été répertoriées au CNR-ESS pour **huit** patients.

Le **Tableau 15** précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignements, le lieu de la contamination pour les cas de Paratyphi B (dt-) identifiés entre 2017 et 2022.

Le nombre d'isolats de *S. enterica* sérotype Paratyphi B (dt-) n'a pas varié depuis 2021. Comme pour les années précédentes, le continent américain reste l'origine géographique prépondérante pour ce sérotype.

Tableau 15. Origine géographique des souches de sérotype Paratyphi B (dt-) (une par patient), 2017-2022

Dave de contemination			Nombr	e de cas		
Pays de contamination	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Afrique	1	1	2	0	0	0
Maroc		1	2			
Tunisie	1					
Asie	2	3	1	0	0	0
Irak		1				
Bangladesh		1				
Turquie	2	1	1			
Amérique	4	4	4	1	2	5
Amérique (sans précision)			1			
Argentine	1			1	1	3
Bolivie	3	1	2		1	1
Mexique						1
Pérou		3	1			
Europe	0	0	1	0	0	0
Espagne			1			
Pays de contamination non précisé	7	6	4		3	2
France métropolitaine (pas de voyage)			2	3	3	1
TOTAL	14	14	14	4	8	8

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

Cette activité régulière permet de suivre les profils de résistance aux antibiotiques parmi une sélection d'isolats cliniques de *Salmonella*. En 2022, **1507 souches** (soit 10,9 % des souches reçues au CNR-ESS, en considérant une seule souche par patient), ont été analysées par microdilution en plaque (CMI-Sensititre, Trek) suivant les recommandations de la SFM/EUCAST (V1.0-Juin-2023). La sélection a été réalisée par tirage au sort pour les sérotypes non étudiés exhaustivement. Une analyse a été effectuée chez :

- 10 % des souches des sérotypes les plus fréquents :
 - Enteritidis (n = 410)
 - 1,4,[5],12:i:- (n = 218)
 - Typhimurium (n = 116)
 - Derby (n = 17)
 - Dublin (n = 5)
 - Hadar (n = 9)
 - Infantis (n = 17)
 - Newport (n = 15)
 - Virchow (n = 14)
 - Paratyphi B biotype Java (dt+) (n = 6)
 - Autres sérotypes (n = 273)
- 100 % des souches de sérotype Kentucky (n = 142), connues pour leur multirésistance aux antibiotiques

L'étude de la résistance aux antibiotiques par antibiogrammes par diffusion sur milieu gélosé (disques de chez BioRad, Marnes-la-Coquette, France) a été réalisée pour toutes les souches (une par patient) des sérotypes Typhi (n = 230), Paratyphi A (n = 26) et Paratyphi B (dt-) (n = 8). Pour les quinolones et fluoroquinolones (acide nalidixique et ciprofloxacine), ainsi que pour l'azithromycine, des bandelettes E-test sont réalisées, également.

Les abréviations utilisées dans ce rapport sont : AMP, ampicilline ; CTX, céfotaxime ; CAZ, ceftazidime ; FEP, céfépime ; FOX, céfoxitine ; IMI, imipénème ; EPM, ertapénème ; MER, méropénème ; STR, streptomycine ; GEN, gentamicine ; NAL, acide nalidixique ; CIP, ciprofloxacine ; SMX, sulfamides ; TMP, triméthoprime ; CHL, chloramphénicol ; TET, tétracycline ; AZM, azithromycine ; COL, colistine.

Les données globales de la résistance sont indiquées dans le **Tableau 16**. Il est à noter que ce tableau regroupe les résultats obtenus par microdilution pour les sérotypes mineurs, et par antibiogramme sur milieu gélosé pour les sérotypes majeurs.

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

Concernant la résistance à la **colistine** (CMI \geq 4 mg/L), elle a été observée en 2022 principalement chez le sérotype Dublin (100% des cinq souches analysées), Enteritidis (9,5% des 410 analysées), mais aussi chez quelques souches d'autres sérotypes : $\underline{1}$,4,[5],12:i :- (deux souches sur les 218 analysées), Typhimurium (une sur 116) et Bredeney (deux sur 40). Cependant, le gène *mcr*-1 n'a été identifié que chez les sérotypes Typhimurium et

Bredeney. Des variations génétiques au niveau de la synthèse du lipopolysaccharide (LPS), pourraient rendre certains sérotypes, notamment ceux du groupe D (Enteritidis, Dublin) intrinsèquement moins sensibles à la colistine (Ricci *et al.* mBio 2020).

Tableau 16. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de Salmonella en 2022

	% de souches résistantes en :							
A4!L! - 4!	2017	2018	2019	2020	2021	2022		
Antibiotique	(n = 986)	(n = 1210)	(n = 1183)	(n = 861)	(n = 974)	(n = 1507)		
	(N = 8189)	(N = 9145)	(N = 9215)	(N = 7181)	(N = 9408)	(N = 11 433)		
Ampicilline	34	26,3	21	19,5	18,2	24,4		
Céfotaxime	1,1	1,4	1,9	0,7	1	1,1		
Méropénème	0	0	0	0	0	0		
Gentamicine	2,1	9	5,1	2,8	1,5	3,8		
Acide nalidixique	12,3	25,8	23,9	14,6	14,7	22,6		
Ciprofloxacine	2,4 (14,6)*	8,3 (27,5)*	13,9 (25,9)*	5,6 (9,4)*	5,5 (16,3)*	8,1 (15,1)*		
Azithromycine	0,5	0,6	0,3	0,3	1,2	1,3		
Chloramphénicol	7,3	5,5	6,1	7	5,4	4,6		
Sulfamides	38,7	30	20,6	23,9	22	24,8		
Triméthoprime	6,3	6	5,2	3,4	7	9,8		
Tétracycline	36,8	31	23,6	24,4	22,3	25,5		
Colistine**	4,9	8,5	5,7	6,2	4,5	3,1		

n : Nombre de souches étudiées

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

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

^{**:} La colistine ne fait pas partie des antibiogrammes pour les salmonelles majeures ; les chiffres correspondent exclusivement aux salmonelles mineures.

Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis

En 2022, le nombre de souches testées a été supérieur à celui des années précédentes. Le niveau de la résistance aux antibiotiques était pour le sérotype Enteritidis le plus élevé en 2017, mais depuis il n'y a pas eu d'augmentation (**Tableau 17**). Une seule souche de 2022 codait pour une bêta-lactamase de spectre étendu (**BLSE**) via le gène $bla_{CTX-M-9}$. La souche n'était résistante à aucun autre antibiotique et aucune information de voyage n'était rapportée par le patient. Des 87 souches résistantes aux quinolones, 46 (52,9 %) présentaient une mutation **QRDR** dans le gène gyrA (D87Y). Pour les autres, d'autres mutations QRDR dans gyrA (D87G, D87N, S83F, S83Y) ou un gène gyrB ont été identifiés.

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

	% de souches résistantes en :							
A 4! l. ! . 4!	2017	2018	2019	2020	2021	2022		
Antibiotique	(n = 196)	(n = 95)	(n = 109)	(n = 100)	(n = 160)	(n = 410)		
	(N = 1578)	(N = 1917)	(N = 2148)	(N = 1880)	(N = 3199)	(N = 4115)		
Ampicilline	5,6	7,4	5,5	1	1,3	2,4		
Céfotaxime	1,5	0	0	0	0	0,2		
Méropénème	0	0	0	0	0	0		
Gentamicine	0,5	0	0	0	0	0,2		
Acide nalidixique	28,6	18,9	21,1	10	11,3	21,2		
Ciprofloxacine	1 (29,6)*	1,1 (22,1)*	0,9 (16,5)*	0 (10)*	0 (11,3)*	0,5 (20,7)*		
Sulfamides	3,1	5,3	1,8	1	0	0,5		
Triméthoprime	0,5	1,1	1,8	1	0,6	0		
Chloramphénicol	3,1	1,1	1,8	1	0	0,7		
Tétracycline	4,1	6	3,7	1	0,6	2,2		
Azithromycine	0	0	0	0	0	0		
Colistine**	14,3	26,3	24,8	8	7,5	9,5		

n : Nombre de souches étudiées

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

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

^{** :} Pour les sérotypes du groupe D, une CMI ≥ 4 mg/L peut être observée en absence de gènes mcr.

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

En 2022, **182** souches de sérotype <u>1</u>,4,[5],12:i:- sur les **218** analysées (83,5 %) étaient résistantes à l'ampicilline, et parmi elles, 146 avaient le profil de multirésistance AMP-SMX-TET (présence des gènes *bla*_{TEM-1B}, *sul*2 et *tet(B)* ; **Tableau 18**).

Trois souches étaient résistantes aux **C3G** (gènes de BLSE : *bla*_{CTX-M-14}, *bla*_{CTX-M-55} ou *bla*_{SHV-12}). La première de ces souches avait le profil AMP-CTX-SMX-TMP-CHL-TET-AZM-COL-CIP_{SD}. Elle possédait le gène *mcr-1*. Le patient rapportait un voyage récent au **Mexique**. Pour la seconde souche, de profil AMP-CTX-SMX-TET-AZM-CIP_{SD}, un voyage au **Cambodge** a été rapporté par le patient. Pour la troisième souche de profil AMP-CTX-SMX-TET-CIP_{SD}, aucun voyage récent n'a été rapporté (il s'agissait d'un nourrisson).

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

Trois souches ont montré une CMI \geq 32 mg/L à l'azithromycine ; deux des résistantes aux C3G décrites cidessus, qui contenaient le gène mph(A) et une troisième souche sans aucun gène de résistance connu.

Tableau 18. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du variant 1,4,[5],12:i:- (monophasique)

			% de souches	résistantes en :		
A4!L.! 4!	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Antibiotique	(n = 260)	(n = 112)	(n = 87)	(n = 101)	(n = 105)	(n = 218)
	(N = 2062)	(N = 2196)	(N = 1748)	(N = 1816)	(N = 2086)	(N = 2077)
Ampicilline	83,8	87,5	78,2	78,2	88,6	83,5
Céfotaxime	0,4	0	0	0	1,9	1,4
Méropénème	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	2,3	2	1,1	2	2,9	4,6
Acide nalidixique	2,3	2,7	0	2	6,7	4,1
Ciprofloxacine	1,5 (3,8)*	0,9 (2,7)*	0 (0)*	0 (2)*	1 (10,5)*	1,4 (4,1)*
Sulfamides	89,2	86,6	73,6	75,2	83,8	79,8
Triméthoprime	8,5	5,4	5,7	2	10,5	11,5
Chloramphénicol	5	3,6	2,3	0	6,7	8,7
Tétracycline	91,2	91	75,9	76,2	81,5	78,4
Azithromycine	0,4	0	0	0	2,9	1,4
Colistine	0,8	3,6	0	0	1	0,5

n : Nombre de souches étudiées

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

^{* :} CMI > 0.5 mg/L (CMI > 0.06 mg/L)

Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium

En 2022, la diminution du niveau de la résistance aux antibiotiques observée au cours des cinq dernières années se confirme chez les souches de sérotype Typhimurium (**Tableau 19**). Aucune souche n'était résistante aux carbapénèmes, à l'azithromycine ou à la colistine.

Une souche du sérotype Typhimurium contenait le gène de BLSE *bla*_{CTX-M-15} (profil AMP-CTX-GEN-CHL-SMX-TMP-TET-CIP_{HN}). Le patient était ressortissant d'Afrique centrale.

Trois souches résistantes à la ciprofloxacine portaient des gènes du type qnrB19 (n = 2) et qnrS1 (n = 1).

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

	% de souches résistantes en :							
A matibal a stance	2017	2018	2019	2020	2021	2022		
Antibiotique	(n = 118)	(n = 95)	(n = 103)	(n = 101)	(n = 116)	(n = 116)		
	(N = 958)	(N = 978)	(N = 1043)	(N = 791)	(N = 1044)	(N = 1135)		
Ampicilline	56,8	87,5	43,7	34,7	23,6	19,8		
Céfotaxime	3,4	4,2	3,9	1	0,9	0,9		
Méropénème	0	0	0	0	0	0		
Gentamicine	1,7	3,2	4,9	0	1,9	0,9		
Acide nalidixique	9,3	9,5	7,8	11,9	10,4	9,5		
Ciprofloxacine	0 (12,7)*	1,1 (13,7)*	1,9 (11,7)*	0 (11,9)*	0 (11,3)*	1,7 (8,6)*		
Sulfamides	60,2	59	36,9	41,6	28,3	25,9		
Triméthoprime	15,3	10,5	11,7	2	3,8	4,3		
Chloramphénicol	40,7	27,4	23,3	24,8	20,8	17,2		
Tétracycline	54,2	52,6	32	38,6	31,1	24,1		
Azithromycine	0	1,1	0	0	0	0		
Colistine	0,8	4,2	1	2	6,6	0		

n : Nombre de souches étudiées

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

^{* :} CMI > 0.5 mg/L (CMI > 0.06 mg/L)

Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky

Le sérotype Kentucky a été étudié en détail au CNR-ESS depuis plus de 17 ans du fait de l'identification au début des années 2000 d'un clone (ST198-X1) multirésistant aux antibiotiques (Weill *et al.* Emerging Infectious Diseases 2006 ; Le Hello *et al.* Journal of Infectious Diseases 2011 ; Le Hello *et al.* Lancet Infectious Diseases 2013 ; Hawkey *et al.* Microbial Genomics 2019). En **2022**, seules 34 sur les 142 souches analysées (23,9 %) étaient sensibles à l'ensemble des antibiotiques testés.

Sur les 142 souches analysées, 37 avaient un profil de résistance de type AMP-GEN-SMX-TET-CIP_{HN} (**Tableau 20**). Elles avaient toutes **trois mutations dans le QRDR**: deux dans *gyrA* (S83F et D87N) et une mutation dans *parC* (S80I). Pour ces 37 souches, les fiches de recueil indiquaient une notion de voyage en **Algérie** pour cinq d'entre-elles, au **Maroc** pour trois et en **Tanzanie** pour une.

Six souches étaient productrices de BLSE :

- Une souche de profil AMP-CTX-GEN-SMX-TMP-TET-CHL-AZM-CIP_{SD} contenait le gène de BLSE **bla**_{CTX-M-14} et le gène **mph(A)** codant la résistance à l'azithromycine. Aucune information de voyage n'était disponible pour cette souche.
- Quatre souches de profil AMP-CTX-TET-CIP_{HN} contenaient le gène de BLSE **bla**CTX-M-55. Une notion de voyage en Inde était indiquée pour une seule de ces souches.
- La sixième souche productrice de BLSE contenait le gène **bla**_{SHV-12}. Elle était également résistante aux tétracyclines (gène **tet(A)**) et de sensibilité diminuée à la CIP (**qnrB19**). Un voyage au **Maroc** était rapporté.

Aucune souche de sérotype Kentucky n'était résistante aux carbapénèmes ou à la colistine.

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

			% de souches	résistantes en :		
A Alb. ! Al	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Antibiotique	(n = 16)	(n= 163)	(n = 110)	(n = 40)	(n = 42)	(n = 142)
	(N = 137)	(N = 166)	(N = 112)	(N = 40)	(N = 42)	(N = 143)
Ampicilline	100	70,6	60,9	77,5	61,9	57,7
Céfotaxime	6,3	3,7	0,9	7,5	2,4	4,2
Méropénème	0	1,2	0	0	0	0
Gentamicine	56,3	56,4	46,4	47,5	19	28,9
Acide nalidixique	93,8	69,9	78,2	90	76,2	71,8
Ciprofloxacine	93,8 (93,8)*	88,3 (89)*	78,2 (0)*	2,5 (87,5)*	76,2 (76,2)*	2,8 (69)*
Sulfamides	75	73	68,2	77,5	50	61,3
Triméthoprime	12,5	14,1	13,6	22,5	28,6	29,6
Chloramphénicol	12,5	6,1	7,3	27,5	9,5	6,3
Tétracycline	75	80,4	71,8	85	57,1	68,3
Azithromycine	100	2,5	0,9	5	4,8	8,5
Colistine	6,3	1,2	0,9	2,5	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

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

Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby

Les souches du sérotype Derby sont généralement sensibles aux antibiotiques (**Tableau 21**). Seulement deux sur les 17 souches analysées en 2022 ont présenté un profil SMX-TET (*sul1* et *tet(A)*) et deux souches présentaient une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (*gyrA* _S83F) pour l'une et présence du gène *qnrB19* pour l'autre.

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

	% de souches résistantes en :							
A (1) - (1)	2017	2018	2019	2020	2021	2022		
Antibiotique	(n = 15)	(n = 66)	(n = 65)	(n = 67)	(n = 65)	(n = 17)		
	(N = 126)	(N = 131)	(N = 130)	(N = 132)	(N = 126)	(N = 118)		
Ampicilline	6,7	3	6,2	6	10,8	0		
Céfotaxime	0	1,5	0	1,5	0	0		
Méropénème	0	0	0	0	0	0		
Gentamicine	0	3	0	0	0	0		
Acide nalidixique	0	1,5	0,5	1,5	1,5	11,8		
Ciprofloxacine	0 (0)*	1,5 (4,5)*	0 (7,7)*	0 (3)*	0 (1,5)*	0 (11,8)*		
Sulfamides	46,7	42,4	47,7	49,3	43,1	11,8		
Triméthoprime	6,7	1,5	9,2	4,5	9,2	0		
Chloramphénicol	0	6,1	4,6	16,4	1,5	0		
Tétracycline	33,3	42,4	49,2	38,8	32,3	11,8		
Azithromycine	0	0	0	0	3,1	0		
Colistine	0	0	1,5	0	0	0		

n : Nombre de souches étudiées

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

^{* :} CMI > 0.5 mg/L (CMI > 0.06 mg/L)

Résistance aux antibiotiques du sérotype Dublin

Le CNR-ESS analyse les souches de sérotype Dublin du fait de la sévérité des infections causées par ce sérotype. Seulement 15 (28,3 %) des 53 souches reçues étaient issues des selles. A noter également que 71,7 % des patients étaient âgés de 60 ans et plus.

Les souches de sérotype Dublin sont généralement très sensibles aux antibiotiques (**Tableau 22**). Une seule souche a présenté un profil AMP-SMX-CHL-TET-CIP_{SD}; sans notion de voyage pour le patient.

Comme décrit précédemment, les souches de sérotype Dublin, apparaissent fréquemment résistante (ou de sensibilité diminuée) à la colistine en l'absence de gène *mcr*. Les cinq souches de sérotype Dublin analysées en 2022 présentaient une CMI à la colistine de 48 mg/L, mais aucun gène de type *mcr* n'avait été identifié chez elles.

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

	% de souches résistantes en :							
A (11 t)	2017	2018	2019	2020	2021	2022		
Antibiotique	(n = 12)	(n = 44)	(n = 41)	(n = 42)	(n = 26)	(n = 5)		
	(N = 83)	(N = 94)	(N = 90)	(N = 89)	(N = 49)	(N = 53)		
Ampicilline	0	4,5	2,4	2,4	0	20		
Céfotaxime	0	0	0	0	0	0		
Méropénème	0	0	0	0	0	0		
Gentamicine	0	0	0	2,4	0	20		
Acide nalidixique	0	0	4,9	2,4	3,8	20		
Ciprofloxacine	0 (0)*	0 (2,3)*	2,4 (2,4)*	2,4 (0)*	0 (3,8)*	0 (20)*		
Sulfamides	0	0	2,4	4,8	0	20		
Triméthoprime	0	0	2,4	0	0	0		
Chloramphénicol	0	0	0	4,8	3,8	20		
Tétracycline	0	6,8	2,4	2,4	0	20		
Azithromycine	8,3	0	0	2,4	0	0		
Colistine**	91,7	100	85,4	88,1	80,8	100		

n : Nombre de souches étudiées

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

^{*:} CMI > 0.5 mg/L (CMI > 0.06 mg/L)

^{** :} Pour les sérotypes du groupe D, une CMI ≥ 4 mg/L peut être observée, en absence de gènes mcr.

Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar

Les souches du sérotype Hadar présentent peu de résistances, à l'exception des quinolones et de la tétracycline (Tableau 23).

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

	% de souches résistantes en :							
A4!b.! - 4!	2017	2018	2019	2020	2021	2022		
Antibiotique	(n = 6)	(n = 25)	(n = 22)	(n = 21)	(n = 25)	(n = 9)		
	(N = 50)	(N = 49)	(N = 44)	(N = 40)	(N = 46)	(N = 82)		
Ampicilline	0	12	9,1	9,5	0	11,1		
Céfotaxime	0	0	4,5	0	0	0		
Méropénème	0	0	0	0	0	0		
Gentamicine	16,7	0	0	0	0	0		
Acide nalidixique	66,7	80	86,4	81	48	0		
Ciprofloxacine	0 (66,7)*	4 (80)*	4,5 (86,4)*	9,5 (71,4)*	8 (60)*	0 (77,8)*		
Sulfamides	0	4	9,1	0	0	0		
Triméthoprime	0	4	9,1	0	0	0		
Chloramphénicol	0	0	0	0	0	0		
Tétracycline	50	72	95,5	81	60	77,8		
Azithromycine	0	0	0	0	0	0		
Colistine	0	0	0	0	0	0		

n : Nombre de souches étudiées

N : Nombre de souches reçues au CNR-ESS (une seule par patient).
* : CMI > 0,5 mg/L (CMI > 0,06 mg/L)

Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis

Une souche, isolée d'un patient de retour du Viêt-Nam, présentait le profil AMP-CTX-GEN-SMX-TMP-TET-CIP_{SD} (**Tableau 24**). La résistance aux C3G était due au gène de BLSE *bla*_{CTX-M-65}.

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

	% de souches résistantes en :							
A (1) (2017	2018	2019	2020	2021	2022		
Antibiotique	(n = 20)	(n = 127)	(n = 140)	(n = 82)	(n = 129)	(n = 17)		
	(N = 208)	(N = 259)	(N = 285)	(N = 160)	(N = 256)	(N = 216)		
Ampicilline	5	3,1	5,7	7,3	4,7	5,9		
Céfotaxime	0	0,8	1,4	0	0,8	5,9		
Méropénème	0	0	0	0	0	0		
Gentamicine	0	0	0	2,4	0,8	5,9		
Acide nalidixique	25	11	10,7	15,9	16,3	23,5		
Ciprofloxacine	0 (30)*	0 (11)*	2,9 (10,7)*	9,8 (7,3)*	7 (16,3)*	11,8 (11,8)*		
Sulfamides	35	12,6	10,7	14,6	18,6	23,5		
Triméthoprime	10	1,6	5	7,3	9,3	17,6		
Chloramphénicol	5	3,1	0,7	4,9	3,1	0		
Tétracycline	25	12,6	12,1	12,2	14,7	23,5		
Azithromycine	0	1,6	0	0	1,6	0		
Colistine	0	0	0	0	0	0		

n : Nombre de souches étudiées

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

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

Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport

Toutes les souches du sérotype Newport analysées en 2022 (n = 15) étaient sensibles à tous les antibiotiques (**Tableau 25**).

L'analyse du résistome de toutes les 186 souches de sérotype Newport reçues au CNR-ESS en 2022 a permis également d'identifier cinq souches, dont deux étaient associées à un voyage en **Mexique**, possédant les gènes suivants : *bla*_{CARB-2}, *sul*1, *dfrA*1, *tet*(*A*), *floR*, *mph*(*A*) et *qnrA*1.

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

	% de souches résistantes en :							
A (1) (2017	2018	2019	2020	2021	2022		
Antibiotique	(n = 18)	(n = 142)	(n = 88)	(n = 73)	(n = 51)	(n = 15)		
	(N = 153)	(N = 290)	(N = 179)	(N = 144)	(N = 101)	(N = 186)		
Ampicilline	5,6	2,8	8	9,6	7,8	0		
Céfotaxime	0	0,7	1,1	1,4	0	0		
Méropénème	0	0	0	0	0	0		
Gentamicine	0	1,4	0	0	0	0		
Acide nalidixique	0	1,4	2,3	0	5,9	0		
Ciprofloxacine	0 (0)*	2,1 (4,2)*	1,1 (8)*	0 (0)*	2 (9,8)*	0 (0)*		
Sulfamides	27,8	2,1	5,7	2,7	7,8	0		
Triméthoprime	0	1,4	2,3	1,4	5,9	0		
Chloramphénicol	0	0,7	3,4	1,4	5,9	0		
Tétracycline	5,6	2,1	6,8	2,7	7,8	0		
Azithromycine	0	0	1,1	0	3,9	0		
Colistine	0	2,8	2,3	2,7	0	0		

n : Nombre de souches étudiées

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

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

Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow

Les souches de sérotype Virchow sont généralement sensibles à tous les antibiotiques (Tableau 26).

En 2022, une souche, avec notion de voyage en **Tunisie**, présentait une sensibilité diminuée à la **ciprofloxacine**, associée à la présence du gène *qnrB19*.

Tableau 26. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques de sérotype Virchow

	% de souches résistantes en :					
A 411. 1 - 41	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Antibiotique	(n = 10)	(n = 32)	(n = 36)	(n = 16)	(n = 32)	(n = 14)
	(N = 60)	(N = 67)	(N = 71)	(N = 29)	(N = 60)	(N = 135)
Ampicilline	20	18,8	5,6	0	3,1	0
Céfotaxime	0	0	2,8	0	0	0
Méropénème	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	10	18,8	2,8	0	0	0
Acide nalidixique	30	50	41,7	1	16,5	7,1
Ciprofloxacine	0 (40)*	6,3 (50)*	5,6 (44,4)*	0 (6,3)*	3,1 (18,8)*	0 (7,1)*
Sulfamides	20	0	0	0	6,3	0
Triméthoprime	20	21,9	0	0	6,3	0
Chloramphénicol	10	0	0	0	0	0
Tétracycline	20	25	2,8	0	9,4	0
Azithromycine	0	0	0	0	0	0
Colistine	0	12,5	0	0	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

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

Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi

En **2022**, **trois** souches de profil dit XDR (AMP CTX CHL SUL TMP CIP_{HN}) ont été identifiées au CNR-ESS (**Tableau 27**). Ces souches XDR, de génotype 4.3.1.1.P1, résistantes aux C3G (gène de BLSE *bla*_{CTX-M-15}) et à la ciprofloxacine (*gyr*A S83F et *qnrS1*) ont été décrites pour la première fois au Pakistan en 2016 (Klemm *et al.* mBio 2018). Pour deux des trois souches analysées au CNR-ESS en 2022, un séjour au **Pakistan** était indiqué.

En 2022, **44 souches** de sérotype Typhi présentaient un profil AMP-SMX-TMP-TET-CIP_{SD} et contenaient les gènes *bla*_{TEM-1B}, *sul*1, *sul*2, *dfrA*1, *tet*(*B*) et *gyr*A_S83F. Toutes ces souches étaient de génotype 2.3.1. Pour 36 d'entre elles, une notion de séjour au **Sénégal** était rapportée.

Les 111 souches originaires de Mayotte étaient sensibles à tous les antibiotiques testés.

Tableau 27. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Typhi

			% de souches	résistantes en :		
A4!b.! - 4!	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Antibiotique	(n = 130)	(n = 135)	(n = 192)	(n = 83)	(n = 74)	(n = 230)
	(N = 149)	(N = 149)	(N = 194)	(N = 84)	(N = 74)	(N = 230)
Ampicilline	3,8	6,7	12,5	1,2	12,2	24,3
Céfotaxime	0	2,2	5,7	0	5,4	1,3
Méropénème	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	31,5	38,5	37	13,3	24,3	31,7
Ciprofloxacine	10 (31,5)*	5,9 (38,5)*	10,4 (34,4)*	1,2 (13,3)*	6,8 (28,4)*	1,7 (30,9)*
Cotrimoxazole	5,4	8,1	14,1	2,4	12,2	24,3
Chloramphénicol	5,4	8,1	13,5	2,4	9,5	5,7
Tétracycline	0,8	0,7	2,1	0	4,1	19,6
Azithromycine	0	0	0	0	0	0

n : Nombre de souches étudiées

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

^{* :} CMI > 0.5 mg/L (CMI > 0.06 mg/L)

Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A

En **2022**, 24 des 26 (92,3 %) souches de sérotype Paratyphi A analysées par le CNR-ESS présentaient une résistance à l'acide nalidixique (**Tableau 28**), en lien avec des mutations dans la région **QRDR** de *gyrA* : *gyrA*_S83F, *gyrA*_S83F, ou *gyrA*_S83F + *gyrA*_D87G. Une de ces souches présentait une résistance à la ciprofloxacine ; cette souche est toujours en cours d'étude. Pour 12 patients une notion de voyage au Sénégal était rapportée, tandis que pour quatre patients il s'agissait de l'Inde, pour deux patients du Pakistan et pour un patient de la Sierra-Leone.

Une des souches d'origine au Sénégal présentait également une résistance à l'azithromycine, associée à une mutation du gène *acrB* (pompe d'efflux) de type R717Q (Alay *et al.* Chemistry Reviews 2021 ; Hooda *et al.* PLoS Neglected Tropical Diseases 2019).

Tableau 28. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi A

			% de souches	résistantes en :		
Austibiations	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Antibiotique	(n = 3)	(n = 33)	(n = 40)	(n = 19)	(n = 9)	(n = 26)
	(N = 27)	(N = 34)	(N = 41)	(N = 19)	(N = 9)	(N = 26)
Ampicilline	0	0	0	0	0	0
Céfotaxime	0	0	0	0	0	0
Méropénème	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	66,7	78,8	95	89,5	88,9	92,3
Ciprofloxacine	66,7 (66,7)*	0 (78,8)*	7,5 (87,5)*	0 (89,5)*	0 (88,9)*	3,8 (92,3)*
Cotrimoxazole**	0**	0	0	0	0	0
Chloramphénicol	33,3	0	0	0	0	0
Tétracycline	0	0	0	0	0	0
Azithromycine	33,3	0	0	0	0	3,8

n : Nombre de souches étudiées

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

^{* :} CMI > 0.5 mg/L (CMI > 0.06 mg/L)

Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B

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

En 2022, toutes les souches de sérotype Paratyphi B biotype dt- et biotype Java (dt+) étaient sensibles aux antibiotiques testés (**Tableau 29** et **Tableau 30**).

Tableau 29. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi B (dt-)

			% de souches i	résistantes en :		
	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Antibiotique	(dt-)	(dt-)	(dt-)	(dt-)	(dt-)	(dt-)
•	(n = 7)	(n = 14)	(n = 14)	(n = 5)	(n = 8)	(n = 8)
	(N = 20)	(N = 14)	(N = 14)	(N = 5)	(N = 8)	(N = 8)
Ampicilline	0	0	0	0	0	0
Céfotaxime	0	0	0	0	0	0
Méropénème	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	0	42,9	7,1	20	12,5	0
Ciprofloxacine	0 (0)*	0 (42,9)*	0 (7,7)*	0 (20)*	0 (12,5)*	0 (0)*
Sulfamides**	14,3***	O /	0	o ´	0 /	ò´
Chloramphénicol	0	0	0	0	0	0
Tétracycline	0	0	0	0	0	0
Azithromycine	0	0	0	0	0	0

n : Nombre de souches étudiées

Tableau 30. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques du sérotype Paratyphi B biotype Java

			% de souches re	ésistantes en :		
	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Antibiotique	Java (dt+)	Java (dt+)	Java (dt+)	Java (dt+)	Java (dt+)	Java (dt+)
	(n = 2)	(n = 27)	(n = 51)	(n = 13)	(n = 27)	(n = 6)
	(N = 34)	(N = 35)	(N = 51)	(N = 14)	(N = 27)	(N = 40)
Ampicilline	0	22,2	3,9	7,7	3,7	0
Céfotaxime	0	0	0	0	0	0
Méropénème	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	0	0	0	1	3,7	0
Ciprofloxacine	0 (0)*	0 (3,7)*	0 (0)*	0 (7,7)*	0 (3,7)*	0 (0)*
Sulfamides**	Ò	3,7	5,9	7,7	7,4	ò
Chloramphénicol	0	11,1	2	Ó	3,7	0
Tétracycline	0	14,8	7,8	0	3,7	0
Azithromycine	0	Ó	2	0	Ó	0

n : Nombre de souches étudiées

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

^{* :} CMI > 0.5 mg/L (CMI > 0.06 mg/L)

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

^{* :} CMI > 0.5 mg/L (CMI > 0.06 mg/L)

Résistance aux antibiotiques des autres sérotypes

En 2022, un tirage au sort sur les sérotypes non analysés habituellement a été réalisé dans le but d'analyser 10 % des souches appartenant à ces sérotypes (273 souches de 107 sérotypes; Tableau 31).

Une souche de sérotype **Cerro**, productrice de **BLSE** ($bla_{CTX-M-15}$) et de **carbapénèmase** (bla_{NDM-5}) avait un profil AMP-CTX-MEM-GEN-SMX-TMP-TET-CHL-CIP_{HN}. La résistance à la **ciprofloxacine** était due à une combinaison de deux gènes : aac(6')-lb-cr et qnrB1. Le patient habitait en **Espagne**.

Une souche de sérotype **Reading**, avec notion de voyage à **Côte d'Ivoire**, présentait une résistance à l'azithromycine (mph(A)), avec un profil complet SMX-TMP-TET-AZM. Une autre souche, contenant également mph(A), appartenait au sérotype **Indiana** et avait un profil complet AMP-SXM-TMP-TET-AZM. Il s'agissait d'une souche associée à une TIAC familiale, pour laquelle aucune autre souche n'avait été envoyée au CNR-ESS.

Tableau 31. Résistance aux antibiotiques des souches cliniques des autres sérotypes

			% de souches	résistantes en :		
	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Antibiotique	111 sérotypes	7 sérotypes	57 sérotypes	48 sérotypes	58 sérotypes	106 sérotypes
	(n = 286)	(n = 99)	(n = 136)	(n = 94)	(n = 115)	(n = 273)
	(N = 2544)	(N = 204)	(N = 2697)	(N = 1938)	(N = 2281)	(N = 2868)
Ampicilline	5,9	4	5,1	0	2,6	4
Céfotaxime	0,7	1	1,5	0	0,9	0,4
Méropénème	0	0	0	0	0	0
Gentamicine	0,7	1	0,7	0	0,9	0,7
Acide nalidixique	5,2	3	1,5	3,2	4,3	7,3
Ciprofloxacine	0,3 (8,7)*	1 (4)*	1,5 (6,6)*	0 (3,2)*	2,6 (6,1)*	1,8 (6,2)*
Sulfamides	16,4	7,1	5,9	3,2	5,2	5,9
Triméthoprime	4,9	0	6,6	2,1	6,1	5,5
Chloramphénicol	2,1	2	1,5	1,1	2,6	1,8
Tétracycline	8,4	4	8,1	3,2	7,8	7
Azithromycine	0	1	0	0	0,9	1,1
Colistine	0,3	5,1	0	3,2	1,7	0,7

n : Nombre de souches étu iées

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

^{* :} CMI > 0.5 mg/L (CMI > 0.06 mg/L)

Détection de gènes de résistance par séquençage du génome complet

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

Dans les pages suivantes, les tableaux suivants (**Tableau 32** à **Tableau 36**) indiquent les gènes de résistance aux bêta-lactamines (codant pour des BLSE, céphamycinases ou carbapénèmases), à l'azithromycine et à la colistine, retrouvés chez les *Salmonella* en 2022.

Tableau 32. Salmonella contenant des gènes de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE)

Gènes		Sérotypes (n)								
Genes	2017	2018	2019	2020	2021	2022				
	1,4,[5],12:i:- (1)	London (1)	Bredeney (1)	Derby (1)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (7)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)				
	Corvallis (1)	Typhimurium (1)	Hadar (1)	Typhimurium (2)	Typhimurium (2)	Enteritidis (1)				
bla _{CTX-M-1}	Derby (1)		Infantis (1)			Typhimurium (2)				
	Goldcoast (1)		Livingstone (1)			Paratyphi B biotype Java (1)				
	Infantis (1)		Typhimurium (4)							
<i>bla</i> _{CTX-M-3}	Agbeni (1) Derby (1)	Agama (1) Telelkebir (1)	0	0	0	Saintpaul (1)				
	Mbandaka (1)									
	Rissen (1)	Typhimurium (13)	Typhimurium (15)	Typhimurium (4)	<u>1,</u> 4,[5],12:i:- (1)	<u>1,</u> 4,[5],12:i:- (1)				
<i>bla</i> стх-м-9	Typhimurium (24)				Kedougou (1) Typhimurium (2)	Typhimurium (2)				
	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (3)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)	Kentucky (1)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)				
bla _{CTX-M-14}	Kottbus (1)	Derby (1)	Alachua (1)	Kentucky (1)	Rissen (1)	Cannstatt (1)				
DIAC X-M-14	Strathcona (1)	Livingstone (1)	Kentucky (1)			Kentucky (1)				
		Typhimurium (1)	Rissen (1)			Typhimurium (2)				
	0	Agona (1)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2)	London (1)	Arechavaleta (1)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)				
		Hessarek (1)	Cerro (1)	Typhimurium (2)	Saintpaul (1)	Cerro (1)				
		Typhi (3)	Derby (1)		Typhi (4)	Typhi (3)				
bla _{CTX-M-15}		Typhimurium (3)	Dublin (1)		Typhimurium (5)	Typhimurium (4)				
		Rissen (2)	Rissen (1)		Virchow (1)					
			Typhi (11)							
			Typhimurium (3)							
bla _{CTX-M-27}						Enteritidis (1)				
<i>bla</i> стх-м-32	0	Infantis (1) Newport (1)	0	0	0	0				
	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2)	Schwarzengrund (1)	0	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)				
blo	Give (1)	Meleagridis (1)	Bovismorbificans (1)	Typhimurium (1)		Kentucky (5)				
bla _{CTX-M-55}	Kentucky (1)		Schwarzengrund (1)			Schwarzengrund (1)				
	Newport (2)		Uganda (2)			Uganda (2)				
blactx-M-65	Infantis (2)	Infantis (3)	Indiana (1)	Indiana (1)	Infantis (2)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)				
DIACTX-M-65			Infantis (7)	Infantis (2)		Infantis (1)				
	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)	Kentucky (1)	Virchow (1)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)				
hlasını		Napoli (1)				Goldcoast (2)				
<i>bla</i> SHV-12						Kentucky (1)				
						Weltevreden (1)				
bla _{тем-52}	Derby (1)	0	0	0	Coeln (1)	Coeln (1)				

Tableau 33. Salmonella contenant des gènes de céphamycinase

O}			Sérotyp	es (n)		
Gènes	2017	2018	2019	2020	2021	2022
bla _{AAC-3}	Enteritidis (1)	Typhimurium (1)	0	0	0	0
bla _{ACT-7}	0	0	Dublin (1)	0	0	0
<i>bla</i> _{ACT-12}	0	0	IIIa. 48:z4,z23:- (1)	0	0	0
	Typhimurium (2)	Typhimurium (2)	Minnesota (2)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)
	Derby (1)	63:-:- (1)	Typhimurium (2)	Newport (2)	Bovismorbificans (1)	Minnesota (1)
	Kentucky (2)		Agona (1)	Kentucky (1)	Enteritidis (1)	
<i>bla</i> _{CMY-2}	Miami (1)		Bovismorbificans (1)		Heidelberg (1)	
	Minnesota (1)		Haifa (1)		Infantis (1)	
	Stanley (1)		Newport (1)		Minnesota (1)	
					Rissen (1)	
bla _{CMY-4}	Typhimurium (2)	Typhimurium (1)	0	Kentucky (1)	0	0
bla _{CMY-48}	0	Typhimurium (1)	0	0	0	0
bla _{CMY-66}	0	0	Zanzibar (1)	0	0	0
	Derby (1)	0	0	0	0	0
<i>bla</i> смy-74	Typhimurium (1)				0	0
bla _{CMY-78}	0	0	Newport (1)	0	0	0
<i>bla</i> сму-83	0	0	Enteritidis (1)	0	0	0
<i>bla</i> сму-110	0	0	Schwarzengrund (1)	0	0	0
	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)	<u>1,</u> 4,[5],12:i:- (1)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (3)	Typhimurium (1)	Coeln (1)	Typhimurium (2)
<i>bla</i> _{DHA-1}	Kentucky (1)	Anatum (2)	Anatum (1)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)		
		Chester (1)		Rubislaw (1)		
<i>bla</i> _{DHA-2}	0	Weltevreden (1)	0	0	0	0
	0	Sandiego (1)	Colorado (1)	0	0	0
<i>bla</i> _{DHA-4}			Montevideo (1)		0	0
<i>bla</i> _{DHA-13}	0	Kentucky (1)	Enteritidis (1)	0	0	0
bla _{DHA-16}	0	0	Napoli (1)	0	0	0
bla _{DHA-22}	0	0	<u>1,</u> 4,[5],12:i:- (1)	0	0	0

Tableau 34. Salmonella contenant des gènes de carbapénèmase

Cànas	Sérotypes (n)						
Gènes	2017	2018	2019	2020	2021	2022	
	Kentucky (3)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)	Baidon (1)	0	0	Bredeney (1)	
	Poona (1)	IIIa. 48:z ₄ ,z ₂₃ :- (1)	Enteritidis (1)				
	Postdam (1)	Derby (1)	Virchow (1)				
bla _{OXA-48}	Saintpaul (1)	Enteritidis (2)					
		Kentucky (1)					
		Napoli (1)					
		Typhi (1)					
bla∨ıм-1	0	Typhimurium (1)	0	0	0	0	
bla∨ıм-2	Kentucky (5)	0	0	0	0	0	
<i>bla</i> _{NDM-1}	Westhampton (1)	0	0	0	0	0	
<i>bla</i> _{NDM-2}	Kentucky (1)	0	<u>1,</u> 4,[5],12:i:- (1)	0	0	0	
<i>bla</i> _{NDM-5}	0	0	0	0	0	Cerro (1)	

Tableau 35. Salmonella contenant des gènes de résistance à l'azithromycine

0)			Séroty	pes (n)		
Gènes	2017	2018	2019	2020	2021	2021
	<u>1,</u> 4,[5],12:i:- (5)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (3)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (5)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2)
	Bareilly (1)	Blockley (1)	Blockley (5)	Blockley (1)	Albany (1)	Enteritidis (1)
	Blockley (2)	Bovismorbificans (1)	Enteritidis (2)	Kentucky (2)	Ampeyeme (1)	Indiana (2)
	Bredeney (1)	Brancaster (1)	Indiana (2)	Muenster (1)	Arechavaleta (1)	Kentucky (12)
	Enteritidis (2)	Derby (1)	Java (1)	Rubislaw (1)	Bovismorbificans (1)	Muenchen (1)
	Indiana (1)	Goldcoast (8)	Kentucky (1)	Schwarzengrund (1)	Indiana (1)	Newport (9)
mm h (A)	Kentucky (2)	Indiana (2)	Napoli (2)	Typhimurium (1)	Kentucky (1)	Reading (1)
mph(A)	Newport (2)	Infantis (1)	Newport (1)		Newport (2)	Schwarzengrund (1)
	Rissen (2)	Kentucky (5)	Rissen (4)		Rissen (1)	Senftenberg (1)
	Saintpaul (1)	London (1)	Schwarzengrund (1)		Sheffield (2)	Typhimurium (2)
	Typhimurium (1)	Panama (1)	Typhimurium (1)		Typhimurium (1)	
		Rissen (3)				
		Stanley (1)				
		Typhimurium (4)				
	0	0	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (3)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (4)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)
(D)			Saintpaul (1)	Kentucky (1)	Saintpaul (5)	Saintpaul (1)
mph(B)			Typhimurium (2)	Saintpaul (3)	Typhimurium (2)	Typhimurium (2)
				Typhimurium (1)		
mph(E)	0	0	Ohio (1)	0	0	0
	0	0	0	0	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)	0
mnh(C)					Derby (1)	
mph(G)					Infantis (1)	
					Stanley (1)	
mef(B)	0	0	0	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (4)	0	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (1)
msr(E)	0	0	0	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2)	0	0
erm(B)	0	0	0	0	Infantis (1)	Infantis (1)
						Typhimurium (1)
erm(42)					Minnesota (1)	
mutation acrB	0	0	0	0	0	Paratyphi A (1)

Tableau 36. Salmonella contenant des gènes de résistance à la colistine

Cànas	Sérotypes (n)							
Gènes	2017	2018	2019	2020	2021	2022		
	<u>1,</u> 4,[5],12:i:- (14)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (7)	1,4,[5],12:i:- (3)	<u>1,</u> 4,[5],12:i:- (4)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (5)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (3)		
		Kentucky (1)	Kentucky (1)	Kentucky (1)	Typhimurium (1)	Bredeney (2)		
mcr-1		Typhimurium (1)			Chester (1)	Typhimurium (1)		
					Enteritidis (1)			
					Stanleyville (1)			
	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (4)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (2)	<u>1</u> ,4,[5],12:i:- (3)	0	0	0		
mcr-3	Typhimurium (1)							
mcr-5	0	Typhimurium (1)	0	0	0	0		

3.3 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France

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

Relevés périodiques envoyés à Santé publique France

Les événements signalés sur les relevés hebdomadaires et déclaration obligatoire en 2022 ont concerné :

- 483 foyers de cas groupés d'infections à *Salmonella* signalés par les laboratoires correspondants (1142 cas minimum),
- des informations épidémiologiques et microbiologiques diverses sur les souches étudiées au laboratoire pour les sérotypes de Salmonella responsables des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes ou sur les souches impliquées dans des épidémies,
- -des comptes-rendus hebdomadaires suite aux analyses à l'aide d'un algorithme R permettant la détection d'événements épidémiques sur l'ensemble des sérotypes (maintenant inférés in silico) identifiés.

Relevés annuels

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

Relevés ponctuels

Réponses du CNR-ESS à des demandes d'information émanant de SpF (extraction par sérotype, classe d'âge, localisation géographique...).

Notifications de la part du CNR-ESS suite à l'identification d'un groupement génomique émergent (cgMLST).

Au cours d'une épidémie, expertise microbiologique, notamment pour l'inclusion de cas dans le groupement épidémique.

Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

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

L'Unité des Bactéries pathogènes entériques a été désignée le 17 novembre 2022 comme **Centre Collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé** (CCOMS— FRA-131) pour les Salmonella, pour une période de 5 ans, sous la responsabilité de FX Weill. Toutes les souches étudiées au CNR-ESS dont les formules antigéniques ne figurent pas dans le schéma de White-Kauffmann-Le Minor sont transmises pour validation au CCOMS. En **2022**, le CNR-ESS a adressé au CCOMS le nouveau sérotype putatif suivant : S. enterica sous-espèce enterica de formule antigénique 9,12:z35:-

Le CNR-ESS fait partie du réseau européen « Epidemic Intelligence Information System for the Food- and Waterborne Diseases Network » (**EpiPulse-FWD**) du Centre Européen pour la Prévention et le Contrôle des Maladies (ECDC). En coordination avec SpF, le CNR-ESS a lancé ou répondu à **47 alertes** sur EpiPulse-FWD relatives à des épidémies à *Salmonella* en 2022 (voir section **6. Alertes**).

Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

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

4. Activités de surveillance: Shigella/EIEC

En **2022**, le nombre de souches de *Shigella/*EIEC reçues et analysées par le CNR-ESS est revenu aux niveaux pré-pandémiques : **1302 souches** (une par patient), dont **1286 étaient des** *Shigella* **spp. et 16 des EIEC**.

Un **nouvel outil de typage** basé sur les données de séquençage, « ShigaPass », a été développé et mis en place au CNR-ESS pour le typage des *Shigella*/EIEC.

Le clone épidémique international de S. sonnei de génotype 3.6.1.1.2 hautement résistant aux antibiotiques (ou XDR pour extensively drug-resistant), identifié en 2021, continue de circuler en métropole et un deuxième clone de S. sonnei de génotype 3.6.3, qui présente une résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G) et à l'azithromycine ainsi qu'une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine, a émergé. Les infections par ce deuxième clone étaient en lien avec des séjours en Tunisie.

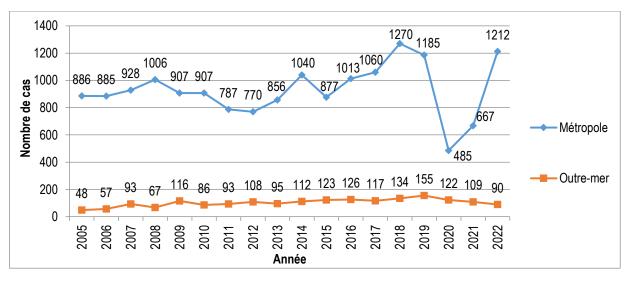
4.1 Description du réseau de partenaires

Le CNR-ESS collabore depuis de nombreuses années avec un réseau d'environ 1000 laboratoires (laboratoires privés ou laboratoires hospitaliers), adressant sur la base du volontariat les souches bactériennes et les informations nécessaires à la surveillance nationale de ces infections. Pour plus de détails, voir le paragraphe 2.5. Activités d'expertises.

4.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

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

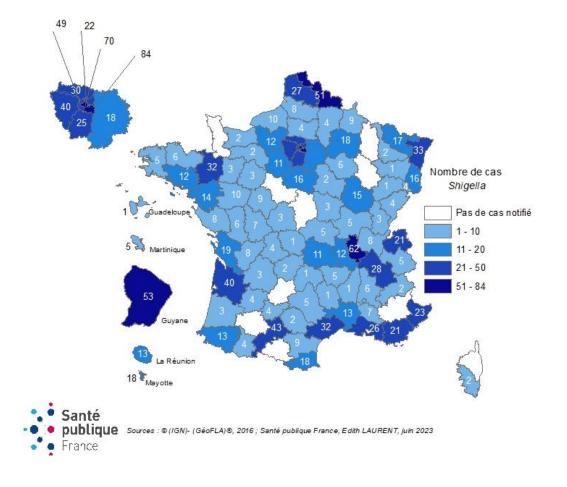
Le nombre total de cas enregistrés en France métropolitaine était inhabituellement faible en 2020 et 2021 lors de la pandémie à SARS-CoV-2. En 2022, le nombre de cas enregistrés est revenu au niveau pré-pandémique (**Figure 9**) avec 1302 cas d'infection à *Shigella*/EIEC (1212 cas en France métropolitaine et 90 en Outre-mer). Sur les 1302 cas, 1286 était causés par des *Shigella* spp. et 16 par des EIEC.

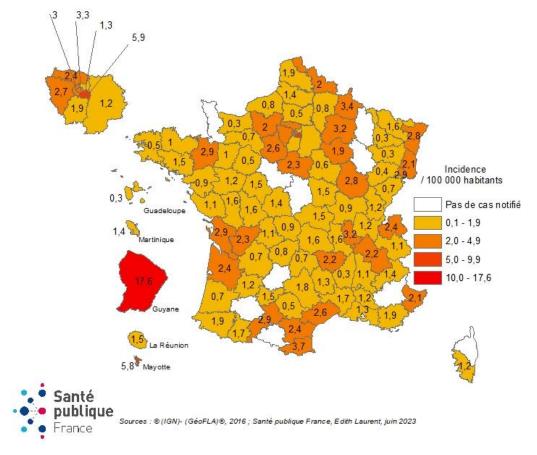


^{*}fin des « fiches information » au 31 décembre 2020.

Figure 9. Nombre de cas d'infections à Shigella/EIEC (souches et « fiches information »*, France métropolitaine et Outre-mer, 2005-2022)

La **Figure 10** présente quant à elle la répartition par département du nombre de cas d'infection à *Shigella*/EIEC enregistrés en 2022, ainsi que leur incidence pour 100 000 habitants. Pour déterminer le département d'origine des souches de Shigella/EIEC reçues au CNR-ESS, le « code postal du patient » est utilisé par défaut. La donnée « code postal du laboratoire expéditeur » est utilisée dans deux situations particulières : lorsque la donnée « code postal du patient » n'est pas renseignée ou lorsqu'il s'agit d'un patient résidant à l'étranger mais ayant acquis une infection à Shigella lors d'un séjour en France.





(Cartes réalisées par Santé publique France à partir des données du CNR-ESS)

Figure 10. Cartes du nombre de cas et de l'incidence des infections à *Shigella*/EIEC par département (souches, France métropolitaine et Outre-mer, 2022)

Origine des prélèvements

La répartition en fonction du site de prélèvement, de la totalité des 1286 isolements de **Shigella** spp. enregistrés au CNR-ESS en 2022, est présentée dans le **Tableau 37**. Comme chaque année, la très grande majorité de ces prélèvements (1270/1286, 99 %) étaient d'origine intestinale. Les bactériémies ainsi que les infections urinaires à *Shigella* spp. restent exceptionnelles.

Tableau 37. Répartition des sites de prélèvement des Shigella spp. (France métropolitaine et Outre-mer, 2022)

	Total
Selles / écouvillon rectal	1270
Sang	12
Biopsie anale / intestinale	4
Total	1286

Les 16 souches de **EIEC** ont été isolées de prélèvements de selles.

Analyse de la distribution de cas de shigellose en <u>France métropolitaine</u> et analyse de tendances

Répartition par sérogroupes et par sérotypes

L'évolution de la répartition des différents **sérogroupes et sérotypes** des souches de *Shigella* spp. enregistrées en **France métropolitaine entre 2018 et 2022** est présentée dans le **Tableau 38**.La **Figure 11** montre également l'évolution de la fréquence des différents sérotypes depuis 2005.

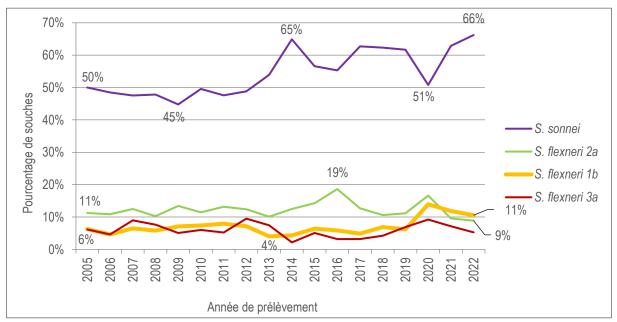


Figure 11. Évolution des principaux sérotypes de Shigella (France métropolitaine, 2005-2022).

En 2022, de façon habituelle, S. sonnei (792/1196, 66 %) et S. flexneri (375/1196, 31 %) ont été les sérogroupes les plus fréquemment isolés en métropole. S. boydii (18/1196, 2 %) et S. dysenteriae (11/1196, 1 %) sont restés très faiblement représentés.

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

Depuis 2021, *S. flexneri* 1b (126/1196, 11 %) est le 2ème sérotype le plus représenté, suivi par *S. flexneri* 2a (106/1196, 9 %).

Tableau 38. Distribution annuelle des différents sérotypes de Shigella (France métropolitaine, 2018-2022)

Année de prélèvement	2018	2019	2020	2021	2022
Sérotype*					
Shigella boydii	42 [50]	20 [20]	4 [6]	10	18
1	1	3	_	2	1
2	20	4	2	1	8
4	5	4	-	1	3
5	1	1	-	-	-
8	-	1	1	1	1
9	-	1	-	-	-
10	3	1	1	-	-
11	3	-	-	1	1
13	1	-	-	-	-
14	1	1	-	1	2
18	1	3	-	-	2
19	3	1	-	1	-
20	3	-	-	1	-
22** (ancien sérotype provisoire E1621-54)	- 44 [45]	- 44 [45]	- 0.101	1	- 44
Shigella dysenteriae 2	14 [15]	14 [15]	3 [3]	8 2	11
3	2	5 2	1	2	1
4	4		-		<u>3</u>
6	-	-	-	1	
12	<u>-</u> 1	3	-	ı	-
14	<u> </u>	-	-	1	2
16** (ancien sérotype provisoire 97-10607/96-204)	7	4	1	1	3
17** (ancien serotype provisoire 93-119)	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	-	1	1	1
Shigella flexneri	328 [354]	355 [373]	212 [215]	227	375
1a	3	3	1	2	-
1b	70	63	62	78	126
2a	108	113	74	63	106
2b	10	10	7	1	5
3a	43	70	41	47	63
3b	3	3	8	6	5
4a	4	1	-	-	-
4av	8	12	2	8	12
6	39	46	8	9	22
X	1	-	-	1	1
Xv (ancien sérotype 4v)	4	6	1	2	8
Y	4	4	1	3	6
Yv	4	2	2	1	-
7a et 7b (ancien sérotype provisoire 1c)	27	22	5	6	20
Shigella sonnei	635 [842]	626 [763]	226 [260]	415	792
Shigella spp.	– [5]	-[3]	-[1]	-	-
Total Shigella	1019 [1266]	1015 [1177]	445 [485]	660	1196

^{*} le sérotypage *in silico* a remplacé le sérotypage par agglutination au CNR-ESS en octobre 2021. Depuis octobre 2021, le biotype des *S. sonnei* n'est plus réalisé, mais a été remplacé par un génotypage plus discriminant (Hawkey *et al.* Nature Communications 2021). De 2018 à 2020, les chiffres entre crochets [] totalisent le nombre de souches reçues et les «fiches information». La déclaration par fiche information sans envoi de souches a été arrêtée au 31 décembre 2020; *** nouveaux sérotypes décrits dans Yassine *et al.* Nature Communications 2022.

Le **Tableau 39** montre la répartition des souches de *S. sonnei* selon le schéma de génotypage proposé par Hawkey *et al.* (https://doi.org/10.1038/s41467-021-22700-4) et qui a remplacé le biotypage au CNR-ESS en 2021.

Tableau 39. Distribution annuelle des différents génotypes de S. sonnei (France métropolitaine, 2018-2022)

Année de prélèvement Génotype	2018	2019	2020	2021	2022
3.6.3 (Central Asia III)	7	9	-	3	198
3.6.1.1.2 (CipR.MSM5)	140	125	108	186	137
3.6.2 (Central Asia III)	105	90	4	105	116
3.7.25 (MSM4)	43	43	5	20	93
3.7.16	56	62	12	19	57
3.6.1 (CipR parent)	53	45	22	31	51
3.7.17	3	8	11	12	36
3.7.18	17	16	3	4	21
3.6.1.1 (CipR)	57	23	6	1	20
3.7.26	1	-	1	9	11
3.7.21	5	2	-	-	9
3.7.29.1.4.1 (VN2.KH1.Aus)	10	22	5	_	8
3.7.10	-	2	1	5	7
3.6	_	-	13	-	7
3.7	5	4	1	4	4
3.7.7		7	-	3	4
2.10.1 (Latin America IIa)	22	6	1	-	2
1.5	-	1	-	_	2
1.1	3	-	_	_	2
2.7.4		-	_	_	2
3.7.3	3	6	2	1	1
2.5.1	1	4	-	1	1
3.6.1.1.1 (CipR.SEA)	6	6	2	_	1
3.7.30.1 (Middle East III)	4	6	2	-	1
New genotype from Lineage I	-	-	-	-	1
2.5	12	17	6	7	_
3.7.8	-	- 17	-	3	_
3.4.1 (Latin America III)	22	37	18	1	-
2.1			1	1	
3	2	-	!	1	-
	4	91	29		-
3.7.30.4.1 (OJC)	4 19			-	-
3.7.28		4	9	-	-
3.7.15	1	-	2	-	-
2.3	-	6	1	-	-
2.4.3	-	2	1 1	-	-
2.6.1	-	-	1 4	-	-
3.6.13.6.1	- 47	- 47	1	-	-
3.6.0 (Central Asia III)	17	17	-	-	-
3.7.4	2	4	-	-	-
2.7.3	-	4	-	-	-
3.6.4 (Central Asia III)	-	4	-	-	-
3.7.9	-	3	-	-	-
3.7.29.1.2 (VN2.MSM2)	5	2	-	-	-
3.7.6	1	2	-	-	-
3.7.22	3	1 1	-	-	-
2.11.5 (Latin America IIb)	-	1 1	-	-	-
2.11.4 (Latin America IIb)	11	-	-	-	-
2.4.2	1	-	-	-	-
2.6.2	1	-	-	-	-
3.7.11	1	-	_	-	-

Pour quelques génotypes, un « alias » est proposé par les auteurs et est présenté entre parenthèses (par exemple Central Asia III).

Jusqu'en 2021, le génotype majoritaire était le **3.6.1.1.2** (CipR.MSM5). Ce génotype associé à la souche épidémique internationale XDR reste fréquemment isolé en 2022 mais il est maintenant devancé par le **génotype 3.6.3** (Central Asia III), en raison de l'émergence d'un **nouveau clone épidémique**, décrit avec plus de détails dans le paragraphe **6.2.** Alertes : *Shigella*/EIEC.

Répartition par sexe

Depuis 2013, le nombre de cas masculins de shigellose est systématiquement supérieur à celui des femmes. Cette tendance se confirme en 2022 avec un **sex-ratio**_{H/F} **= 1,3**. Après une forte augmentation en 2020 et 2021 (2,9 et 2,2, respectivement), la valeur du ratio est revenue à celle observée avant la pandémie à SARS-CoV-2 (sex-ratio_{H/F}_2019 = 1,5) (**Figure 12**).

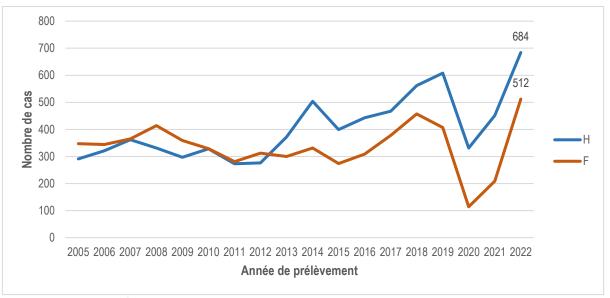


Figure 12. Évolution des cas de shigellose par sexe (France métropolitaine, 2005-2022).

Répartition par âge

La **Figure 13** montre le détail de la répartition des cas de shigellose par classe d'âge en France métropolitaine en 2022. Comme les années précédentes, deux pics d'incidence chez les 0–9 ans et chez les 20–54 ans ont été observés. L'incidence la plus basse était retrouvée de façon habituelle dans la population des 60 ans et plus.

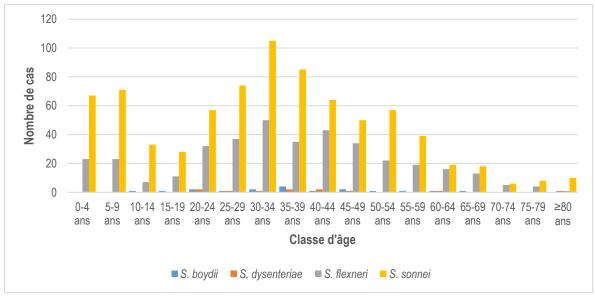


Figure 13. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches, France métropolitaine, 2022)

Notion de voyage

Le **Tableau 40** présente les notions sur d'éventuels voyages internationaux associées aux 1196 cas d'infection à *Shigella* en France métropolitaine en 2022. **En 2022**, le nombre de souches de *Shigella* associées à un **voyage** à **l'étranger a augmenté** par rapport à 2021 (30 % vs 19 %). Il est cependant revenu à des valeurs proches de celles **observées avant la pandémie à SARS-CoV-2** (31 % en 2019 et 36 % en 2018). Parallèlement, le nombre de souches avec déclaration d'acquisition autochtone (« aucun voyage » explicitement mentionné dans la fiche épidémiologique) a diminué comparèrent aux cinq années précédentes (11 % en 2022, 18 % en 2021, 22 % en 2020, 18 % en 2019 et 15 % en 2018). Enfin, le nombre de fiches non renseignées pour cette notion de voyage reste élevé (706/1196, 59 % en 2022).

Tableau 40. Notion de voyage associée aux cas de shigellose (France métropolitaine, 2022)

Sérogroupe / sérotype	Nbre de cas	Notion de voyage	Aucun voyage
Shigella boydii	18	11 (61 %)	0
1	1	-	-
2	8	1 Algérie ; 1 Bénin ; 1 Egypte ; 3 Maroc	-
4	3	1 Mexique	-
8	1	-	-
11	1	1 Kenya	-
14	2	1 Cameroun ; 1 Jordanie	-
18	2	1 Nigeria	-
Shigella dysenteriae	11	6 (55 %)	0
2	1	<u>-</u>	-
3	3	1 Afrique ; 1 Cameroun	-
4	1	4047	-
14	2	1 Cameroun ; 1 Togo	-
16	3	1 Egypte	-
17	1	1 Maroc	-
Shigella flexneri	375	78 (21 %)	54 (14 %)
1b	126	1 Afrique du Sud ; 2 Belgique ; 1 Burkina Faso ; 2 Côte d'Ivoire ; 3 Espagne ; 1 Inde ; 1 Italie ; 1 Kenya ; 5 Maroc ; 2 Sénégal ; 1 Togo	15
2a	106	2 Afrique ; 3 Algérie ; 1 Cap Vert ; 1 Cuba ; 1 Egypte ; 1 Equateur ; 1 Jordanie ; 1 Madagascar ; 5 Maroc ; 1 Nigeria ; 1 Pakistan ; 1 Sénégal	19
2b	5	-	2
3a	63	1 Bénin ; 1 Congo ; 1 Comores ; 1 Guyana ; 1 Mexique ; 1 Tanzanie ; 2 Turquie	15
3b	5	-	-
4av	12	1 Afghanistan ; 1 Congo ; 1 Côte d'Ivoire ; 1 Mali ; 2 Maroc ; 1 Sénégal	1
6	22	1 Burkina Faso ; 1 Mali ; 8 Maroc ; 1 Rwanda	-
7a	20	1 Algérie ; 1 Madagascar ; 3 Maroc ; 3 Mexique	-
X	1	-	-
Xv	9	1 Afrique ; 1 Congo ; 1 Tanzanie	2
Υ	6	-	-
Shigella sonnei	792	259 (33 %)	82 (10 %)
	792	3 Afrique; 3 Afrique du Sud; 21 Algérie; 1 Antilles; 1 Belgique; 2 Bénin; 1 Cameroun; 10 Cap Vert; 2 Colombie; 1 Congo; 2 Costa Rica; 1 Côte d'Ivoire; 3 Cuba; 23 Egypte; 5 Espagne; 1 Gambie; 1 Grèce; 2 Guatémala; 5 Inde; 3 Indonésie; 1 Irak; 3 Jordanie; 2 Kenya; 1 Liban; 4 Madagascar; 3 Mali; 1 Malte; 45 Maroc; 1 Maurice; 1 Mauritanie; 8 Mexique; 1 Namibie; 1 Pays du Maghreb; 1 Pérou; 1 République Centrafricaine; 9 République Dominicaine; 4 Sénégal; 3 Tanzanie; 1 Thaïlande; 1 Togo; 75 Tunisie; 1 Turquie	82
Total Shigella	1196	354 (30 %)	136 (11 %)

Analyse de la distribution de cas de shigellose en <u>France d'Outre-mer</u> et analyse de tendances

Répartition par sérogroupes et par sérotypes

La répartition des différents sérogroupes et sérotypes des 90 *Shigella* enregistrés en Outre-mer en 2022 est présentée dans le **Tableau 41**.

Tableau 41. Distribution des différents sérogroupes et sérotypes de Shigella spp. (Outre-mer, 2022)

Sérotype	Guadeloupe (971)	Martinique (972)	Guyane française (973)	La Réunion (974)	Mayotte (976)	Total
Shigella flexneri	-	5	36	4	9	54
1b	-	-	5	1	2	8
2a	-	1	2	1	4	8
3a	-	4	22	-	2	28
3b	-	-	4	-	_	4
4av	-	-	1	-	1	2
6	-	-	-	1	-	1
7a	-	-	-	1	-	1
Χ	-	-	1	-	-	1
Υ	-	-	1	-	_	1
Shigella sonnei	1	-	17	9	9	36
Total Shigella	1	5	53	13	18	90

Comme chaque année, **S.** *flexneri* est le sérogroupe prédominant (suivi par **S.** *sonnei*) chezi les souches en provenance de **Guyane française et de Mayotte**. Il est important de noter que cette répartition est **inversement proportionnelle** à celle observée en **France métropolitaine ainsi qu'à La Réunion**.

En 2022, aucune souche des sérogroupes S. boydii et S. dysenteriae n'a été reçue d'Outre-mer.

Répartition par sexe

Contrairement à ce qui a été observé au cours des années précédents, **le déséquilibre F>H** n'est plus observé parmi les cas de shigellose en Outre-mer (sex-ratio_{H/F} = 43/47 = 0,91). La seule exception reste **Mayotte**, **avec un sex-ratio**_{H/F} = **0,29**. Parmi les cas d'infection à *S. flexneri* 2a, 1b, 3a et *S. sonnei*, aucun déséquilibre H>F chez les 16-60 ans (comme en métropole) n'a été observé.

Répartition par âge

La **Figure 14** présent la répartition par classe d'âge des cas de shigellose notifiés en Outre-mer (Guadeloupe, Martinique, Guyane française, Mayotte et La Réunion) en 2022. Comme chaque année une large majorité des cas survenaient chez des enfants de 0-4 ans, particulièrement pour les infections à *S. flexneri*.

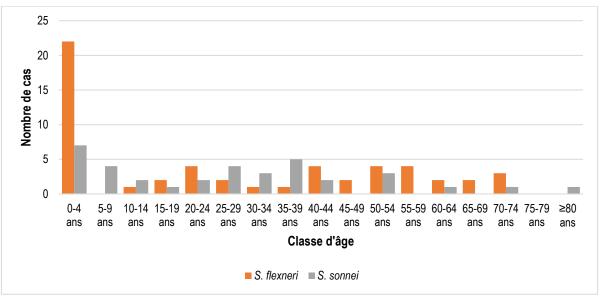


Figure 14. Répartition des cas de shigellose par classe d'âge (souches, Outre-mer, 2022)

Notion de voyage

Parmi les 90 souches de *Shigella* spp. transmises par les laboratoires d'Outre-mer, des renseignements sur d'éventuels **voyages** étaient indiqués pour cinq souches (**quatre S. sonnei** et une **S. flexneri**) en provenance de la **Réunion** avec des séjours à **Madagascar** (**deux patients**), à **Mayotte** (**deux patients**) et à l'Île **Maurice** (un patient).

Analyse de la distribution de cas d'infection par EIEC et analyse de tendances

L'évolution de la répartition des différents sérotypes des souches de EIEC enregistrées en France métropolitaine et d'Outre-mer entre 2018 et 2022 est présentée dans le Tableau 42.

En 2022, une augmentation du nombre de souches de EIEC envoyées au CNR-ESS a été observée par rapport aux années précédentes. Cela peut être lié au changement de méthodologies utilisées par les LBM qui utilisent de plus en plus les méthodes d'amplification génique ciblant plusieurs pathogènes, dont les *Shigella/EIEC* (gène *ipaH* en particulier). Les notions de voyage renseignées pour les cas d'infection par EIEC sont indiquées dans le **Tableau 43**.

Tableau 42. Distribution annuelle des différents sérotypes de EIEC (France métropolitaine et Outre-mer, 2018-2022)

Année de prélèvement	2018	2019	2020	2021	2022
Cluster génomique/sérotype					
Cluster 4					
O20:H7 (ST270)	-	-	-	-	-
O28ac:H7 (ST311)	1	1	-	-	2
O124:H7 (ST270)	1	-	-	1	-
O164:H7 (ST270)	-	-	-	-	1
Cluster 5					
O121:H30 (ST6)	1	3	-	4	6
O124:H30 (ST6)	-	-	1*	-	2
O132:H21 (ST6)	-	1	-	-	2
O132:H21 (ST12764)	-	-	-	1	-
Cluster 6					
O143:H26 (ST280)	-	1	-	-	-
Cluster 8					
O96:H19 (ST99)	-	-	1*	1	1
Cluster 9					
O8:H19 (ST4267)	1	1	-	-	1
TOTAL	4	8	2	7	16

^{*}Outre-mer ; ND, non déterminé ; le sérotype des EIEC a été obtenu par sérotypage *in silico*. Le ST7 est indiqué entre parenthèses. Le cluster a été obtenu par cgMLST (données HC1100 ou HC400).

Tableau 43. Notion de voyage associée aux cas d'infection à EIEC (souches, France métropolitaine, 2022)

Cluster génomique/sérotype	Nombre de cas	Notion de voyage	Aucun voyage
Cluster 4			
O20:H7 (ST270)	1	-	-
O28ac:H7 (ST311)	2	1 République Dominicaine	1
O164:H7 (ST270)	1	1 Maroc	-
Cluster 5			
O121:H30 (ST6)	6	1 Côte d'Ivoire ; 1 Sénégal ; 1 Tanzanie	1
O124:H30 (ST6)	2	-	-
O132:H21 (ST6)	2	1 Algérie ; 1 Maroc	-
Cluster 8			
O96:H19 (ST99)	1	-	-
Cluster 9			
O8:H19 (ST4267)	1	-	-
TOTAL	16	7	2

Le sérotype des EIEC a été obtenu par sérotypage *in silico*. Le ST7 est indiqué entre parenthèses. Le cluster a été obtenu par cgMLST (données HC1100 ou HC400).

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

Surveillance globale

Shigella spp.

Depuis 2018, le séquençage du génome entier est réalisé sur la totalité des souches envoyées au CNR-ESS. En 2022, 1286 souches de *Shigella* spp. (une par patient) ont été séquencées. Cette nouvelle technique nous a permis d'identifier la présence des gènes de résistance aux antibiotiques ainsi que des mutations spécifiques liées à des phénotypes de résistance. Les gènes de résistance aux antibiotiques les plus fréquemment retrouvés dans les génomes de *Shigella* spp. séquencés par le CNR-ESS en 2022 sont indiqués dans le **Tableau** 44:

Tableau 44. Caractérisation des principaux gènes de résistance aux antibiotiques détectés par WGS chez Shigella spp. (France métropolitaine et Outre-mer, 2022)*

Résistance	Gènes de	S. boydii	S. dysenteriae	S. flexneri	S. sonnei	Total
aux/à	résistance	(n = 18)	(n = 11)	(n = 375)	(n = 792)	(n = 1286)
	<i>bla</i> 0XA-1	2 (11%)	4 (36%)	283 (75%)	23 (2,9%)	312 (25%)
ß-lactamines*	<i>bla</i> тем-1в	9 (50%)	3 (27%)	118 (31%)	40 (5,1%)	170 (13%)
	<i>bla</i> тем-35	-	-	-	27 (3,4%)	27 (2,1%)
	strA (aph(3")-lb)	8 (44%)	5 (45%)	100 (27%)	584 (74%)	697 (54%)
A main a aide a	strB (aph(6)-ld)	6 (33%)	5 (45%)	117 (31%)	581 (73%)	709 (55%)
Aminosides	aadA1	-	1 (9,1%)	36 (9,6%)	258 (33%)	295 (23%)
	aadA5	-	-	9 (2,4%)	135 (17%)	144 (11%)
Colistine	mcr-1	-	-	-	1 (0,1%)	1 (<0,1%)
Phénicolés	catA1	3 (17%)	4 (36%)	293 (78%)	24 (3,0%)	324 (25%)
Sulfamides	sul1	-	-	43 (11%)	143 (18%)	186 (14%)
Sullallilides	sul2	12 (67%)	6 (55%)	121 (32%)	635 (80%)	774 (60%)
Tátra ovalina	tet(A)	4 (22%)	1 (9,1%)	1 (0,3%)	531 (67%)	537 (42%)
Tétracycline	tet(B)	4 (22%)	4 (36%)	341 (91%)	35 (4,4%)	384 (30%)
	dfrA1	3 (17%)	4 (36%)	183 (49%)	787 (99%)	977 (76%)
Toine 64h an oine a	dfrA5	-	-	30 (8%)	6 (0,8%)	36 (2,8%)
Triméthoprime	dfrA14	2 (11%)	2 (18%)	13 (3,5%)	14 (1,8%)	31 (2,4%)
	dfrA17	-	-	13 (3,5%)	136 (17%)	149 (12%)

En gras, les gènes de résistance dont la fréquence est ≥50% dans un sérogroupe et/ou dans l'ensemble de la population de Shigella spp.* attention, les gènes de résistance aux céphalosporines de 3ème génération, à l'azithromycine et aux fluoroquinolones sont décrits ci-après dans le paragraphe Résistances émergentes chez Shigella spp..

Certains gènes de résistance, comme **strAB** et **sul2**, sont prévalents dans **l'ensemble de la population de Shigella spp**. Par contre, il y a quelques gènes dont la fréquence est beaucoup plus élevée parmi certains sérogroupes. C'est le cas par exemple des gènes **bla**_{0XA-1}, **catA1** et **tet(B)** chez **S. flexneri** et des gènes **aadA1**, **tet(A)** et **dfrA1** chez **S. sonnei**. L'accumulation de certains gènes de résistance dans une population bactérienne s'explique par la présence des éléments génétiques spécifiques qui les portent, comme l'îlot chromosomique de

résistance (en anglais *Shigella* resistance locus – SRL) trouvée chez *S. flexneri* et un petit plasmide de résistance porté par les *S. sonnei*.

EIEC

Dans le **Tableau 45**, les gènes de résistance aux antibiotiques retrouvés dans les **génomes des EIEC** sont indiqués. Plus de la moitié des génomes présentaient des gènes de résistance à différents antibiotiques, comme la **streptomycine** (*strAB*), **le cotrimoxazole** (*dfrA7*, *dfrA14*, *dfrA17*, *sul1* et *sul2*), **la tétracycline** (*tet(A)*) **et les bêta-lactamines** (*bla*_{TEM-1B} et *bla*_{DHA-1}). Quelques souches sont également porteuses des gènes plasmidiques (*qnrB4* et *qnrS1*) ou des mutations (*gyrA*_S83L) liés à une moindre sensibilité à la ciprofloxacine. Une souche contenait *mph(A)*, le gène de résistance à **l'azithromycine**. Six souches ne contenaient aucun gène de résistance.

Tableau 45. Gènes de résistance aux antibiotiques détectés par WGS chez les EIEC (France métropolitaine et Outre-mer, 2022)

Sérotype de EIEC	Nombre de cas	Gènes de résistance (n)
08:H19 (ST4267_HC1100_4423)	1	- (1)
096:H19 (ST99_HC1100_96)	1	blaтем-1в, strAB, catA1, sul2 (1)
O132:H21 (ST6_HC1100_604)	2	- (2)
O124:H30 (ST6_HC1100_604)	2	<i>bla</i> тем-1в (1) - (1)
O121:H30 (ST6_HC1100_604)	6	blaтем-1B, strAB, sul2, dfrA14, tet(A), qnrS1 (2) blaтем-1B, strAB, sul2, dfrA14, qnrS1 (1) tet(A), qnrS1(1) qnrS1 (1) - (1)
O137:H7 (ST270_HC1100_4305)	1	- (1)
O124:H7 (ST270_HC1100_4305)	1	gyrA_S83L (1)
O28:H7 (ST311_HC1100_4305)	2	bla _{TEM-1B} , strAB, sul2, dfrA7, tet(A) (1) bla _{DHA-1} , sul1, dfrA17, qnrB4, mph(A) (1)
Total EIEC	16	

^{-,} aucun gène de résistance

Résistances émergentes chez Shigella spp.

Parmi les options de traitement des infections par *Shigella* spp., **l'azithromycine**, **les fluoroquinolones et les céphalosporines de troisième génération** restent les plus utilisés. Le CNR-ESS surveille l'évolution de la résistance à ces classes d'antibiotiques par des méthodes génotypiques et phénotypiques.

Résistance à l'azithromycine

Le séquençage du génome entier permet l'identification des gènes liés à la résistance à l'azithromycine. **En 2022, 38% des souches de** *Shigella* **spp. (489/1286)** portaient au moins un gène de résistance à l'azithromycine. Les gènes les plus fréquemment associés à ce phénotype étaient les gènes mph(A) et erm(B). La **Figure 15** montre la fréquence des gènes de résistance à l'azithromycine présents dans les génomes de *S. flexneri* et *S. sonnei* entre 2018 et 2022.

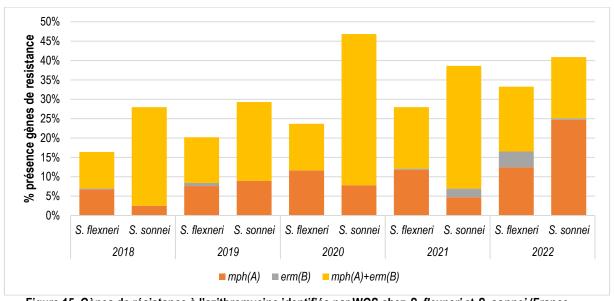


Figure 15. Gènes de résistance à l'azithromycine identifiés par WGS chez *S. flexneri* et *S. sonnei* (France métropolitaine et Outre-mer, 2018-2022).

Chez les **S.** dysenteriae et **S.** boydii, la résistance à l'azithromycine reste rare. **En 2022**, une seule souche de ces sérogroupes était résistante. Il s'agissait d'une **S.** boydii 4 contenant les gènes msr(E), mph(E) et mph(A).

En **Outre-mer**, **cinq souches** (**trois S**. **flexneri 2a et deux S**. **sonnei**) isolées en Guadeloupe (une souche), en Martinique (une souche), en Guyane (deux souches) et à La Réunion (une souche) contenaient mph(A). Quatre d'entre elles contenaient également erm(B).

Résistance aux quinolones

La réduction de sensibilité aux quinolones est le résultat de la présence d'un gène plasmidique de type *qnr* ou de la présence d'une mutation dans la région QRDR (de l'anglais *Quinolone Resistance Determining Region* – QRDR) du gène *gyrA* codant la sous-unité A de l'ADN gyrase. La combinaison de ces deux mécanismes ou la présence de plusieurs mutations dans la région QRDR des gènes *gyrA* et *parC* entraine généralement une résistance aux fluoroquinolones (comme la ciprofloxacine), à l'exception de la combinaison *qnrS1+gyrA_D87Y* qui n'entraine qu'une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine. La **Figure 16** montre la fréquence des différents gènes de résistance aux quinolones en 2022.

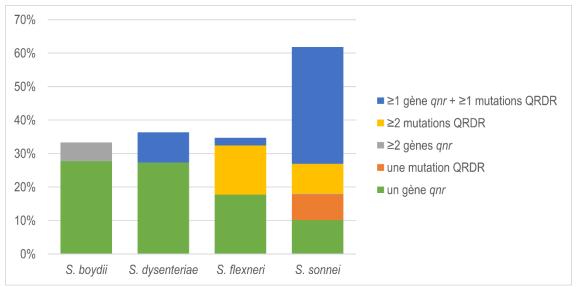


Figure 16. Fréquence des gènes de résistance aux quinolones détectés par WGS chez Shigella spp. (France métropolitaine et Outre-mer, 2022).

En **2022**, la prédiction de la résistance à la ciprofloxacine (présence d'au moins deux gènes de résistance ou de mutations QRDR, à l'exception de *qnrS1* + *gyrA_D87Y*) est de 6 % pour *S. boydii*, 9 % pour *S. dysenteriae* et 17 % pour *S. flexneri*. En **2022**, seulement **11 % des souches de** *S. sonnei* **ont une résistance à la ciprofloxacine** déduite, alors qu'en 2021, 45 % (186/415) des souches *S. sonnei* étaient résistantes à cet antibiotique. Cette diminution relative est liée à l'émergence d'un nouveau clone épidémique de *S. sonnei* (génotype 3.6.3), qui ne présente qu'une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (voir paragraphe **6.2. Alertes**).

Le **Tableau 46** montre le détail des gènes de résistance aux quinolones retrouvés chez les *Shigella* spp. en 2022.

Tableau 46. Profils des gènes de résistance aux quinolones détectés par WGS chez Shigella spp. (France métropolitaine et Outre-mer, 2018-2022).

Année	2018	2019	2020	2021	2022
Gène/mutation					
qnrS1+gyrA_D87Y*	6	8	0	3	198
gnrS1	69	81	25	56	133
gyrA_S83L+gyrA_D87G+parC_S80I	193	144	109	101	80
qnrB19+gyrA_S83L+gyrA_D87G+parC_S80I	2	0	7	79	76
gyrA_S83L	81	81	30	33	64
gyrA_S83L+gyrA_D87N+parC_S80I	23	20	26	26	52
qnrB19	19	21	10	11	26
gyrA_S83L+gyrA_D87N+parC_S80I+parE_S458A	3	7	4	6	12
qnrS13	2	0	2	2	7
qnrS1+gyrA_S83L	0	5	1	1	5
gnrS13+gyrA_S83L	0	0	0	0	4
qnrS1+gyrA_S83L+gyrA_D87G+parC_S80I	9	7	0	2	2
gnrS1+gnrB19+gyrA_S83L	0	0	0	1	2
qnrS1+gyrA_S83L+parC_S80I	0	1	0	0	2
gnrS1+gnrB19	0	1	0	0	1
gnrB4	0	0	0	0	1
gnrB4+gyrA S83L+gyrA D87G+parC S80I	0	0	0	0	1
gnrB4+gnrS1	0	0	0	0	1
qnrS1+gyrA_D87N+parC_S80I	0	0	0	0	1
gnrS1+gyrA S83A	0	0	0	0	1
gnrS1+gyrA_S83L+gyrA_D87N+parC_S80I	0	0	0	0	1
gyrA_S83L+parC_S80I	0	0	0	1	0
gnrB19+gyrA S83L+gyrA D87G+parC S80I+parC E84K	0	0	0	1	0
gyrA_D87G	0	1	1	0	0
gyrA_D87N	0	0	1	0	0
gnrS11	0	0	1	0	0
qnrS13+gyrA_S83L+parC_S80I	0	0	1	0	0
gyrA_D87Y	3	11	0	0	0
aac(6')-lb-cr	0	1	0	0	0
gyrA_S83L+gyrA_D87Y+parC_E84K	0	1	0	0	0
gnrB4+gyrA_S83L	0	1	0	0	0
qnrS13+gyrA_S83L+gyrA_D87G+parC_S80I	0	1	0	0	0
gyrA_S83L+gyrA_D87G+parC_S80I+parC_E84K	0	0	0	0	0
Total	1085	1229	564	795	1286

^{*} Cette combinaison entre gyrA_D87Y et qnrS1 n'entraine qu'une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine

En 2022, une importante augmentation du nombre de souches présentant le gène *qnrS1*, de façon isolée (133 vs 53 en 2021) ou en association avec la mutation *gyrA_D87Y* (198 vs 3 en 2021) a été observée. Cette dernière association n'entraînant toutefois pas un haut niveau de résistance à la ciprofloxacine mais une sensibilité

diminuée. L'augmentation de souches avec cette combinaison de *qnrS1* et *gyrA_D87Y* est due à l'émergence d'un **nouveau clone épidémique en France métropolitaine** depuis juillet 2022 (voir paragraphe **6.2. Alertes**).

En 2022, huit souches (cinq *S. flexneri* et trois *S. sonnei*) isolées en Outre-mer présentaient des gènes de résistance aux quinolones : six portaient la mutation *gyrA_S83L*, deux fois de façon isolée, trois fois en association avec les mutations *gyrA_D87N* et *parC_S80I* et une fois en association avec *qnrS1*. Ce gène plasmidique a été également retrouvé de façon isolée dans le génome de deux autres souches.

Résistance aux céphalosporines de troisième génération

Le développement de la résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G) chez *Shigella* spp. est notablement lié à l'acquisition de gènes codant pour des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) de type bla_{CTX-M} et/ou des céphamycinases de type bla_{CMY} . La **Figure 17** montre la fréquence de ces différents gènes parmi les souches de *Shigella* spp. sequencées au CNR-ESS entre 2018 et 2022.

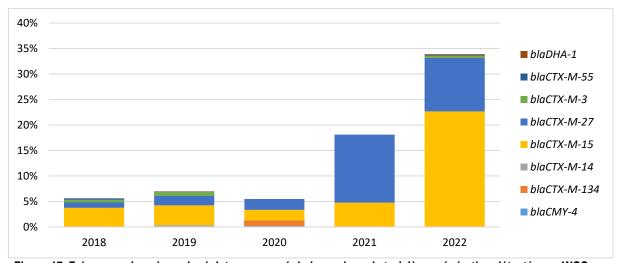


Figure 17. Fréquence des gènes de résistance aux céphalosporines de troisième génération détectés par WGS chez S. flexneri et S. sonnei (France métropolitaine et Outre-mer, 2018-2022).

Depuis 2021, le nombre de souches de *Shigella* contenant des gènes de BLSE (18% en 2021 vs 5% en 2020) a augmenté de façon notable. En 2021, le gène majoritaire était *bla*_{CTX-M-27} (présent dans 13% des souches), alors qu'en en 2022 c'est le gène, *bla*_{CTX-M-15}, qui était majoritaire (présent dans 23% des souches). Les souches contenant ces gènes étaient majoritairement de métropole (445/447, 99%), à l'exception d'une souche de *S. flexneri* de Guyane contenant *bla*_{CTX-M-27}.

La **Figure 18** montre la répartition des gènes de résistance aux C3G chez les différents sérogroupes de *Shigella* spp. en 2022. Seulement deux souches de *S. boydii* (une avec *bla*_{CTX-M-15} et une avec *bla*_{CTX-M-27}) et une de *S. dysenteriae* (*bla*_{CTX-M-15}) portaient ces gènes.

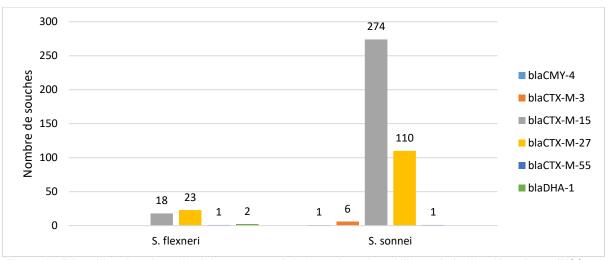


Figure 18. Répartition des gènes de résistance aux céphalosporines de troisième génération détectés par WGS parmi les sérogroupes de *Shigella* spp. (France métropolitaine et Outre-mer, 2018-2022).

Comme pour les années précédentes, **S. sonnei** (392/436, 90 %) est le principal sérogroupe porteur de ces gènes. Cela est en lien avec les deux **clones épidémiques** qui circulent en métropole et qui sont décrits dans le **paragraphe 6.2. Alertes**.

Autres résistances émergentes chez Shigella spp.

En 2022, le gène plasmidique *mcr-1*, entrainant une réduction de sensibilité à la colistine, a été identifié pour la première fois chez les *Shigella* spp. reçues au CNR-ESS. Ce gène a été trouvé dans le génome d'une souche de *S. sonnei* au retour d'un séjour au Maroc. La souche appartenait au **génotype 3.6.2** et portait aussi les gènes de résistance *strAB*, *sul2*, *tet(A)* et *dfrA1*.

Aucun gène de résistance aux carbapénèmes a été trouvé parmi les souches de *Shigella* spp. séquencées en 2022.

Étude de la résistance in vitro aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques *in vitro* a été effectuée sur toutes les souches de *Shigella* spp. transmises au CNR-ESS avec une date d'isolement en 2022 et qui portaient des gènes de résistance aux céphalosporines de 3ème génération (n = 438).

Un antibiogramme par la **méthode de diffusion en milieu gélosé** selon le référentiel CASFM/EUCAST 2018 a été réalisé. Les antibiotiques testés (BioRad, Marnes-la-Coquette, France) étaient ceux détaillés dans le **Tableau 47**.

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

Tableau 47. Antibiotiques utilisés pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de Shigella spp.

Antibiotique	Abréviation
Ampicilline 10 μg	AMP
Pipéracilline 30 μg	PIP
Ticarcilline 75 μg	TIC
Amoxicilline/Ac. clavulanique 20 μg/10 μg	AMC
Ceftazidime 10 μg	CAZ
Céfotaxime 5 μg	CTX
Ceftriaxone 30 µg	CRO
Céfépime 30 µg	FEP
Ertapénème 10 μg	ETP
Streptomycine 10 μg	STR
Amikacine 30 μg	AKN
Gentamicine 10 μg	GEN
Acide nalidixique 30 μg	NAL
Péfloxacine 5 μg	PEF
Ciprofloxacine 5 µg	CIP
Tétracycline 30 μg	TET
Tigécycline 15 μg	TIG
Chloramphénicol 30 µg	CHL
Sulfamides 200 µg	SMX
Triméthoprime 5 μg	TMP
Azithromycine 15 μg	AZM

A l'exception deux souches, toutes les autres (436/438, 99,5 %) étaient résistantes aux aminopénicillines et à au moins une des C3G testées (CTX, CAZ et/ou CRO). Une souche de *S. sonnei* qui portait *bla*_{CTX-M-27} et une qui portait *bla*_{CMY-2}-like étaient restées sensibles aux bêta-lactamines *in vitro*. Il existe plusieurs causes de discordance entre génotype et phénotype. Par exemple, une séquence d'insertion peut s'insérer dans le promoteur du gène *bla*_{CTX-M-27} et empêcher ainsi son expression (Lefèvre et al. Nature Communications 2023).

Vingt-neuf différents profils phénotypiques ont été identifiés. Le **Tableau 48** montre les 10 profils de résistance les plus fréquemment identifiés.

Tableau 48. Profil phénotypique de résistance aux antibiotiques chez les *Shigella* spp. contenant des gènes de résistance aux céphalosporines de troisième génération (France métropolitaine et Outre-mer, 2022).

Phénotype	S. boydii	S. dysenteriae	S. flexneri	S. sonnei	Total
C3G STR NAL TET SMX TMP AZM	1	0	0	185	186
C3G STR NAL CIP TET SMX TMP AZM	0	0	0	79	79
C3G STR NAL TET SMX TMP	1	0	3	65	69
C3G STR NAL CIP SMX TMP AZM	0	0	0	24	24
C3G STR NAL CIP TET CHL TMP AZM	0	0	19	0	19
C3G STR NAL CIP TET SMX TMP	0	0	1	11	12
C3G STR NAL TMP	0	0	3	5	8
C3G STR NAL TET CHL SMX TMP AZM	0	0	4	0	4
C3G NAL TMP AZM	0	0	0	3	3
C3G STR NAL CIP TET CHL SMX TMP AZM	0	0	2	1	3
Autres (n = 19)	0	1	12	18	31

Il est à noter que 34 % (149/438) et 75 % (328/438) des souches résistantes aux cephalosporines de 3ème génération (C3G) étaient également résistantes à la ciprofloxacine (CIP) et à l'azithromycine (AZM), respectivement. Au total, 10 % (129/1286) des souches de *Shigella* spp. étaient résistantes simultanément aux C3G, à la CIP et à l'AZM, ce qui caractérise le profil hautement résistant aux antibiotiques ou XDR. Ce profil est plus fréquent chez *S. sonnei* (84 %, 108/129) et était associé à un clone épidémique ayant émergé en 2021 (décrit ci-après dans le paragraphe 6.2. Alertes : *Shigella*/EIEC). Toutes ces souches provenaient de France métropolitaine, sauf une provenant de Guadeloupe, pour laquelle aucune notion de voyage n'a été renseignée.

4.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France (SpF)

L'échange des données s'effectue historiquement via une fiche de renseignements spécifique au CNR-ESS qui accompagne chaque souche en provenance des LBM. Dans cette fiche, il doit être indiqué : le nom et l'adresse du laboratoire expéditeur, la demande d'examen, les renseignements sur le patient, les symptômes cliniques, le type de prélèvement ainsi que des renseignements épidémiologiques permettant de mettre en évidence des épidémies potentielles et leurs origines. Ces fiches et les résultats d'analyse obtenus permettent l'interface avec SpF à différents niveaux. La surveillance se fait lors de la validation des résultats par le CNR-ESS avec un signalement par téléphone ou par courrier électronique de toute augmentation inhabituelle du nombre de souches de shigelles. De plus, dans le cadre d'une épidémie, la surveillance de la résistance aux antibiotiques par rapport aux données génomiques est accrue de façon à signaler rapidement l'apparition d'une résistance.

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

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

4.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Comparaison génomique des souches de *S. sonnei* XDR de génotype 3.6.1.1.2 isolées en France depuis 2019 (Lefèvre et al. Nature Communications 2023) avec celles isolées au Royaume-Uni et dans d'autres pays (Mason et al. Nature Communications 2023).

5. Activités de surveillance: E. coli

5.1 Description du réseau de partenaires

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

5.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

Activité de surveillance sur les Escherichia coli entéro-hémorragiques

Les symptômes ayant motivé la recherche de *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC) sont répertoriés dans le **Tableau 49**.

Tableau 49. Symptômes donnant lieu à une recherche de EHEC (souches ou selles) en 2022

Symptômes	N	%
SHU / MAT	559	33,9
Diarrhée	495	30,0
Diarrhée glairo-sanglante (DGS)	444	26,9
Entourage SHU	59	3,6
Don de selles	28	1,7
SHU Contrôle post azithromycine	21	1,3
Non renseigné	9	0,5
Diarrhée chronique	7	0,4
Urosepsis	5	0,3
Vomissements	4	0,2
Choc septique	4	0,2
Insuffisance rénale aîgue	3	0,2
Asymptomatique	2	0,1
Colite	2	0,1
Convulsions	2	0,1
Douleurs abdominales isolées	2	0,1
Péritonite	2	0,1
Myocardite	1	0,1
Total général	1649	

Résultats obtenus sur les prélèvements de selles en 2022

Au CNR-LA, la présence des gènes stx1 et stx2 codant respectivement les Shiga-toxines STX1 et STX2 a été recherchée dans tous les prélèvements et/ou souches reçus. Le gène eae, codant l'attachement et l'effacement aux cellules épithéliales présents chez les EHEC et les EPEC, a également été recherché, ainsi que le gène ehxA

codant l'enterohémolysine et le gène saa codant une adhésine. Le sérogroupage moléculaire a également été réalisé sur toutes les souches de EHEC isolées ou reçues.

Sur les 1457 prélèvements de selles reçus, la **recherche directe des gènes** de Shiga-toxines par amplification génique *in vitro* (PCR) a été **positive pour 729 patients**, soit 50,3 % des patients pour lesquels des selles ont été reçues. Ce taux de positivité a augmenté par rapport à l'année précédente (43% en 2021) en rapport avec l'importante épidémie qui a eu lieu en 2022 (voir la section **Alertes** : **E. coli**).

Pour les patients positifs (n = 729), dans 59,6 % des cas, les résultats de la PCR directe sur les selles après enrichissement ont été corrélés aux résultats obtenus après culture de celles-ci (n = 435 patients). Ainsi, **438 souches** ont été isolées pour 435 patients (dont 2 patients avec 2 souches isolées et 3 patients avec une souche identique isolée au cours d'un épisode de récidive de MAT).

Pour les 294 autres patients (40,3 %), la recherche directe des gènes de Shiga-toxines sur les selles était positive sans qu'aucune souche EHEC n'ait pu être isolée.

Les principaux symptômes observés pour les patients ayant une recherche EHEC positive sont repertoriés dans le **Tableau 50**.

Tableau 50. Principal symptôme observé chez les patients ayant une recherche de EHEC positive (isolement d'une souche ou PCR positive) en 2022

Symptômes	Total	%
SHU / MAT	283	38,8
Diarrhée simple	246	33,7
DGS	168	23,0
Entourage SHU	16	2,2
Diarrhée chronique	3	0,4
Convulsions	2	0,3
Don de selles	2	0,3
Douleurs abdominables	2	0,3
Urosepsis	2	0,3
Colite	1	0,1
Myocardite	1	0,1
Vomissements	1	0,1
Asymptomatique	1	0,1
Non renseigné	1	0,1
Total général	729	

La **prévalence** des EHEC la plus importante est retrouvée chez les enfants de moins de 15 ans (442 cas soit 60,6 %) et principalement dans la tranche d'âge de 1 à 5 ans (264 cas, soit 36 ,2 %) et les moins de 1 an (n = 66 soit 9 %). Au total 45,2 % des patients avec recherche de EHEC positive ont 5 ans ou moins. Le sex-ratio (H/F) est de 0,97 tout âge confondu et de 0,96 pour les moins de 5 ans (**Figure 19**).

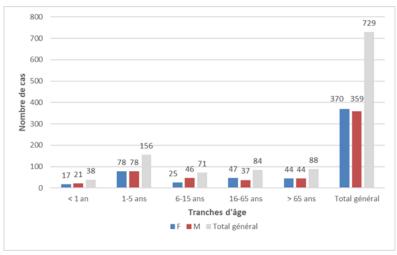


Figure 19. Classe d'âge et sexe des patients ayant une recherche de EHEC positive en 2022

5.3 Souches de *E. coli* d'origine humaine productrices de Shiga-toxines isolées en 2022

En 2022, **438 souches** de EHEC ont été isolées et caractérisées par le CNR-LA puis séquencées par le CNR-ESS. Les analyses mises en place permettent d'identifier le sérotype, le MLST- 7 gènes, un panel de gènes de virulence et de gènes de résistance à l'aide du site public du Center for Genomic Epidemiology-CGE.(https://www.genomicepidemiology.org/) et le cgMLST des souches O26, O80 et O157 à l'aide d'Enterobase (https://enterobase.warwick.ac.uk/).

Ces souches ont été isolées chez 435 patients présentant les symptômes répertoriés dans le **Tableau 51**.

Tableau 51. Symptômes des patients avec souches isolées en 2022

Symptômes	N	%
SHU/ MAT	208	47,5
Diarrhée simple	114	26,0
DGS	94	21,5
Entourage SHU	13	3,0
Non renseigné	4	0,9
Colite	1	0,2
Diarrhée chronique	1	0,2
Douleurs abdominales	1	0,2
Don de selles	1	0,2
Urosepsis	1	0,2
Total	438	

Toutes pathologies confondues, les **438** souches de EHEC isolées se répartissent en **47 sérogroupes** dont trois sont majoritaires :

O26 (n = 177): 40,4 %

O157 (n = 61): 13,9 %

O80 (n = 41): 9,4 %

Après la baisse observée pour le sérogroupe O157 en 2020, on assite à une augmentation des isolements de O157 (n = 19 en 2020, n = 45 en 2021), ce sérogroupe est le second le plus fréquemment isolé en 2022, toutes pathologies confondues (**Figure 20**).

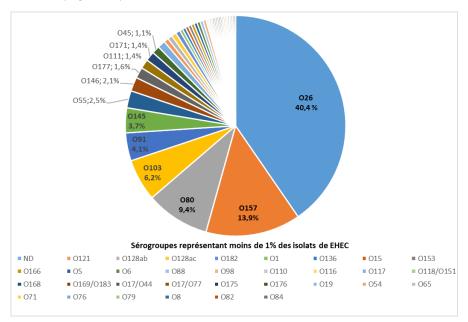


Figure 20. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés toutes pathologies confondues en 2022 (n=438)

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

- O26 : 34 souches isolées soit 56,7 %

- O80 : 28 souches isolées soit 10,1 %

Parmi les cas de SHU/MAT, le sérogroupe O157 représente 5,3% des souches isolées (n = 11), le plaçant ainsi, à nouveau, en 3ème position pour cette catégorie clinique en France en 2022 (**Figure 21**).

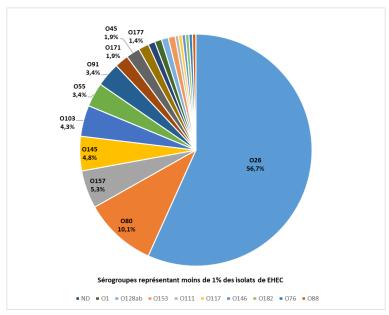


Figure 21. Répartition des sérogroupes de EHEC isolés au cours des SHU/MAT tous âges confondus en 2022 (n=208)

En 2022, la prévalence des différents sérogroupes de EHEC dans les SHU/MAT est superposable à celle des années précédentes et confirme la place prépondérante du sérogroupe EHEC 026 en France, suivi des sérogroupes EHEC 080 et 0157.

La répartition géographique des souches isolées en 2022 est indiquée sur la figure 33 ci-dessous. Parmi les 438 souches, une seule a été isolée chez un patient venant de Belgique). Aucune souche n'a été isolée des prélèvements reçus des DOM-TOM. La répartition géographique des principaux sérogroupes confirme ce qui avait été observé depuis 2016 concernant le sérogroupe O80. Ce sérogroupe s'étend à d'autres départements et perd sa spécificité régionale observée jusqu'en 2015 où il était essentiellement isolé dans les départements de l'Est de la France et plus particulièrement ceux de la région Rhône –Alpes Le sérogroupe O26 semble réparti sur tout le territoire ; le sérogroupe O157 semble plus important au Nord de la Loire et dans le Sud-Ouest (**Figure 22**).

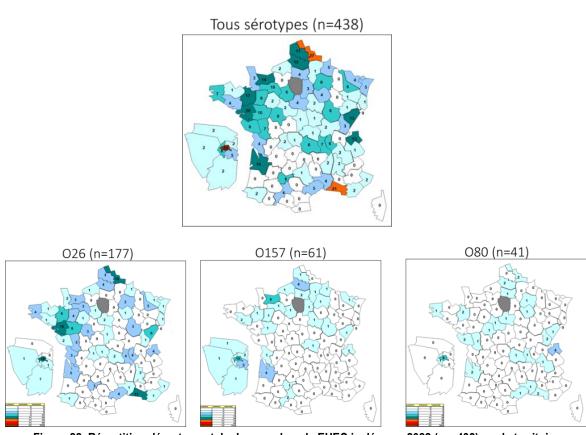


Figure 22. Répartition départementale des souches de EHEC isolées en 2022 (n = 438) sur le territoire

Les résultats du **sérotypage moléculaire par WGS** pour l'ensemble des souches isolées (n = 438) est représenté dans le Tableau 52.

Tableau 52. Sérotypage moléculaire par WGS des souches isolées en 2022

											WG	SH										
		H1	H10	H11	H12	H14	H16	H18	H19	H2	H20	-	H25	H28	H31	Н4	H45	H5	H7	Н8	Н9	Total
	O26			177																		177
	0157																		61			61
	O80									41												41
	O103									27												27
	091		8			7						3										18
	0145		l –			<u> </u>							2	14								16
	O55				2								_								9	
	0146											8		1								9
	0177									1		0	6	_								7
	0111												U							6		6
	ND						2			2									1			5
																			1			-
	0171	_								_			6									6
	045								_	5												5
	0121								3													3
	O128ab									3												3
	O128ac									3												3
	O182												3									3
	01										2											2
	O136										2											2
	015	1						1														2
	O153									2												2
0	O166													2								2
WGS O	O5																				2	2
≥	O6		2																			2
	O88												2									2
	O98											2										2
	0110														1							1
	O116													1								1
	0117																		1			1
	0118/0151									1												1
	O168																			1		1
	0169/0183							1												_		1
	017/044							1														1
	017/077																1					1
	017/077						1															1
	0176						-									1						1
	0176		 	 		-										1				-	-	1
																1	1					
	054						- 1										1					1
	065						1												-	<u> </u>		1
	071								<u> </u>											1		1
	076	-	-	<u> </u>	-	-	-		1	-					-	-	-		\vdash	-	-	1
	079			<u> </u>		1																1
	08																	1				1
	O82																			1		1
	O84									1												1
	Total	1	10	177	2	8	4	3	4	86	4	13	19	18	1	2	2	1	63	9	11	438

En 2022, le profil de virulence le plus souvent retrouvé est le profil **stx2+eae+ehxA** avec 56,8 % des souches, tous sérotypes confondus et toutes pathologies confondues. Il est retrouvé dans 76,9 % des souches isolées au cours des SHU/MAT. Le gène *stx2* seul est plus largement associé à un SHU/MAT que le gène *stx1* seul (89,4 % et 5,8 % des souches respectivement).

Le gène saa et le gène de la subtilase subA sont retrouvés chez six et 27 souches respectivement, et étaient associés chez 21 souches. Ces deux gènes ne sont retrouvés que chez les souches dépourvues du gène eae. Le gène aggR n'a été retrouvé chez aucune souche.

La distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2022 est indiquée dans le Tableau 53.

Tableau 53. Distribution des différents profils de virulence des souches de EHEC isolées en 2022

Profil de virulence	Toutes pathologies	SHU/MAT
stx2+eae+ehxA	249	160
stx1+eae+ehxA	59	9
stx1+stx2+eae+ehxA	37	9
stx2	16	7
stx2+eae	12	8
stx2+ehxA+saa+subA	10	6
stx1	9	1
stx1+stx2+ehxA+subA	7	1
stx2+ehxA+subA	6	2
stx1+ehxA+subA	5	1
stx1+eae	4	0
stx1+stx2+ehxA+saa+subA	4	1
stx1+stx2+subA	4	0
stx2+subA	4	0
stx2+ehxA+saa	3	1
stx1+ehxA	2	0
stx2+ehxA	2	0
stx1+ehxA+saa	1	0
stx1+saa	1	1
stx1+stx2+eae	1	0
stx1+stx2+ehxA+saa	1	1
stx1+subA	1	0
Total général	438	208

La répartition des profils de virulence des souches de EHEC (n = 438) en fonction du sérogroupe est représentée respectivement dans :

- le **Tableau 54**: souches de EHEC appartenant aux sérogroupes les plus fréquemment incriminés dans les infections à EHEC (> trois souches isolées en 2022) et regroupant un total de 396 souches.
- le **Tableau 55**: souches de EHEC appartenant aux sérogroupes les moins fréquemment rencontrés (< trois souches isolées en 2022) et regroupant un total de 37 souches.
- le **Tableau 56**: souches de EHEC non sérogroupables par méthode moléculaire WGS (5 souches) ; deux de ces souches ont été responsables de SHU, appartenaient au même ST et avaient le même profil de virulence : stx2a+ehxA+saa+subA

Le **profil de virulence majoritaire** *stx2*+*eae*+*ehxA* est retrouvé chez 95 % des souches de sérogroupe O80, 72,3 % des souches de sérogroupe O26, et chez la moitié des souches de sérogroupe O157 (63,9 % des souches).

Tableau 54. Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les plus fréquemment isolés en 2022

								S	érogroup	es d'EHE	C							
		026	0157	080	0103	091	0145	055	0146	0177	0111	0171	045	0121	O128ab	O128ac	0182	Total
	stx2+eae+ehxA	128	39	39			16	9		7			5	3				246
	stx1+eae+ehxA	28			22						3						3	56
	stx1+stx2+eae+ehxA	7	22		4						1							34
	stx2					8												8
	stx2+eae	10		2														12
	stx2+ehxA+saa+subA											5						5
	stx1					1		1										2
	stx1+stx2+ehxA+subA					2			5									7
nce	stx2+ehxA+subA														2	3		5
virulence	stx1+ehxA+subA								3									3
	stx1+eae	4																4
qe	stx1+stx2+ehxA+saa+subA											1						1
Profil	stx1+stx2+subA					2									1			3
Pro	stx2+subA					1			1									2
	stx2+ehxA+saa					3												3
	stx1+ehxA				1						1							2
	stx2+ehxA																	0
	stx1+ehxA+saa																	0
	stx1+saa							1										1
	stx1+stx2+eae										1							1
	stx1+stx2+ehxA+saa																	0
	stx1+subA					1												1
	Total général	177	61	41	27	18	16	11	9	7	6	6	5	3	3	3	3	396

Tableau 55. Profil de virulence des sérogroupes de EHEC les moins fréquemment isolés en 2022

														Sérogro																
		01	0136	015	0153	0166	05	06	088	098	0110	0116	0117	0118/ 0151	0168	0169 /018	017/ 044	017/ 077	0175	0176	019	054	065	071	076	079	08	082	084	Total
	stx2+eae+ehxA				2									1																3
	stx1+eae+ehxA						1			2																				3
	stx1+stx2+eae+ehxA						1																	1					1	3
	stx2	1		2													1				1	1	1							7
	stx2+eae																													0
	stx2+ehxA+saa+subA	1																	1											2
	stx1		2					2	1				1													1				7
	stx1+stx2+ehxA+subA																													0
virulence	stx2+ehxA+subA																			1										1
<u>a</u>	stx1+ehxA+subA					1																			1					2
Ξ	stx1+eae																													0
de	stx1+stx2+ehxA+saa+subA															1												1		2
	stx1+stx2+subA					1																								1
Profil	stx2+subA										1																1			2
	stx2+ehxA+saa																													0
	stx1+ehxA																													0
	stx2+ehxA											1			1															2
	stx1+ehxA+saa																	1												1
	stx1+saa																													0
	stx1+stx2+eae																													0
	stx1+stx2+ehxA+saa								1																					1
	stx1+subA																													0
	Total général	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	37

Tableau 56. Profil de virulence des EHEC non sérogroupables par méthode moléculaire WGS en 2022

WGS_O	WGS_H	WGS_MLST	WGS_stx1	WGS_stx2	WGS_eae	WGS_ehxA	WGS_saa	WGS_aggR	WGS_subA
ND	H16	ST295	-	stx2a	-	-	-	-	-
ND	H16	ST295	stx1a	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
ND	H2	ST847	-	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
ND	H7	ST2165	-	stx2d	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
ND	H2	ST847	-	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA

La détermination des **sous-types des gènes** *stx* par méthode moléculaire WGS a été réalisée sur les 438 souches isolées en 2022 et leur répartition globale est représentée sur le **Tableau 57**. Un focus sur les souches

responsables de SHU/MAT est disponible sur le **Tableau 58**. Le **sous-type** *stx2a* **seul ou en association** est retrouvé dans 52,9 % des souches toutes pathologies confondues et dans 74 % des souches responsables de SHU/MAT.

Tableau 57. Profil de virulence des EHEC non sérogroupables par méthode moléculaire WGS en 2022

	Sous type de stx	N	%
	stx2a	199	45,4
	stx1a	71	16,2
	stx2d	58	13,2
	stx1a+stx2a	21	4,8
	stx1a+stx2c	17	3,9
	stx2c	17	3,9
	stx1c	10	2,3
	stx2b	10	2,3
	stx1c+stx2b	7	1,6
9	stx2a + stx2c	6	1,4
Profil de virulence	stx1a+stx2b	3	0,7
vir	stx1a+stx2d	3	0,7
de	stx1a+stx2a + stx2c	2	0,5
ofiil	stx2 Non determiné	2	0,5
<u> </u>	stx2a + stx2d	2	0,5
	Δstx2d	2	0,5
	stx1c+stx2a + stx2b	1	0,2
	stx1d	1	0,2
	stx2_NewVariant	1	0,2
	stx2a + stx2g	1	0,2
	stx2c + stx2d	1	0,2
	stx2d + stx2f	1	0,2
	stx2f	1	0,2
	stx2g	1	0,2
	Total général	438	

Tableau 58. Répartition globale des sous-types de Stx en 2022 (souches responsables de SHU/MAT)

	Sous type de stx	N	%
	stx2a	140	67,3
	stx2d	30	14,4
	stx1a	11	5,3
	stx1a+stx2a	9	4,3
	stx2a+stx2c	3	1,4
8	stx2c	3	1,4
Profil de virulence	stx2a +stx2d	2	1,0
vir.	stx2b	2	1,0
de	stx1a+stx2c	1	0,5
ofil	stx1a+stx2d	1	0,5
جّ	stx1c	1	0,5
	stx1c+stx2b	1	0,5
	stx2c + stx2d	1	0,5
	stx2d + stx2f	1	0,5
	stx2 Non déterminé	1	0,5
	Δstx2d	1	0,5
	Total général	208	

Les répartitions des profils des variants en tenant compte des sérogroupes les plus fréquents et les plus rares sont présentées respectivement dans le **Tableau 59** et dans le **Tableau 60**.

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

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

Tableau 59. Répartition des profils des sous-types de Stx en fonction des sérogroupes de EHEC les plus fréquents des souches isolées en 2022 (toutes pathologies)

										Pro	fil de	virulenc	е								
		stx2a	stx1a	stx2d	stx1a+ stx2c	stx1a+ stx2a	stx2c	stx2b	stx1c+ stx2b	stx2a + stx2c	stx1c	stx1a+	stx1a+ stx2a +stx2c	stx1a+ stx2d	stx2ND	∆stx2d	st2c	stx1c+ stx2a + stx2b	stx2c + stx2d	stx2d+ stx2f	Total
0	26	136	32			7									2						177
0	157	23			17	3	10			5			2				1				61
0	80	2		36												2				1	41
O	103		23			2								2							27
0	91	1	2	10				1	1			3									18
O	145	13		2			1														16
S O	55	5	2	4																	11
Sérogroupes O O O O	146							1	4		3							1			9
9 O	177			1			4			1									1		7
Sé.	111		4			2															6
O	171	4		1		1															6
0	45	5																			5
O	121	3																			3
0	128ab							2	1												3
0	128ac							3													3
0	182		3																		3
To	otal général	192	66	54	17	15	15	7	6	6	3	3	2	2	2	2	1	1	1	1	396

Tableau 60. Répartition des profils de sous-types de Stx en fonction des sérogroupes de EHEC les plus rares isolés en 2022 (toutes pathologies)

									Profil	de virul	ence						
		stx1c	stx2a	stx1a	stx1a+ stx2a	stx2d	stx2b	stx2a + stx2d	stx2c	stx1c+ stx2b	stx1a +stx2d	stx1d	stx2_New Variant	stx2a+ stx2g	stx2f	stx2g	Total
	01		2														2
	0136	2															2
	015					1			1								2
	0153							2									2
	O166	1								1							2
	05			1	1												2
	06	2															2
	O88				1							1					2
	O98			2													2
	0110						1										1
	0116													1			1
	0117			1													1
es	0118/0151					1											1
Sérogroupes	O168															1	1
ogu	O169/O183				1												1
Sér	017/044												1				1
	017/077			1													1
	0175		1														1
	0176					1											1
	019														1		1
	O54						1										1
	O65		1														1
	071				1												1
	076	1															1
	079	1															1
	08						1										1
	O82										1						1
	O84				1												1
	Total général	7	4	5	5	3	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	37

Pour les **souches non sérogroupables** isolées en 2022 (N = 5), le profil de virulence par méthode moléculaire WGS était le suivant :

- stx2a: 3 souches

- stx2d: 1 souche

stx1a+stx2a: 1 souche

L'analyse des sous-types des gènes eae par WGS a montré que parmi les 438 souches, 362 souches possédaient le gène eae (74,9 %), dont les principaux sous-types sont les suivants:

- eae-β: 51,4% des souches et majoritairement des EHEC O26 (100 %)

- eae-y: 20,4% des souches et exclusivement des EHEC O157 (100 %).

- eae-ξ: 15,2% des souches et dans 100 % des EHEC 080, 055 et 045.

La répartition des sous-types d'intimine en fonction du sérogroupe est représentée dans le **Tableau 61**.

Tableau 61. Répartition des profils des sous-types de eae en fonction des sérogroupes de EHEC les plus fréquents des souches isolées en 2022

				Sous 1	types d'ir	ntimine			
		eae-β	еае -ү	eae-ξ	eae - ε	eae - ζ	eae - θ2	eae - ND	Total
	O26	177							177
	0157		61						61
	O80			41					41
	0103				26				26
	0145	2	14						16
	055			9					9
Š	0177	5			1			1	7
nbe	0111						5		5
Sérogroupes	O45			5					5
éro	0121				3				3
Š	0182					3			3
	0153				2				2
	05	2							2
	O98					2			2
	0118/0151				1				1
	071		·	·			1		1
	O84		·	·		1			1
	Total	186	75	55	33	6	7	1	362

D'autres facteurs de virulence ont été mis en evidence par PCR et/ou WGS : les gènes codant pour les facteurs de virulence des *E. coli* enteroaggrégants (*aggR*), le gène *saa* et le gène codant la subtilase (*subA*) (**Tableau 62**).

- Le gène **aggR** n'a été identifié sur aucune souche.
- Sur les 20 souches porteuses du gène saa, aucune ne portait le gène eae. Quatorze souches portaient également le gène subA, dont 10 responsables de SHU associés au gène stx2 dans 9 cas sur 10 (8 adultes et 2 enfants)
- Le gène subA a été retrouvé chez 27 souches responsables, en particulier, de 14 cas de SHU, et de 6 cas de DGS Aucune souche ne possédait le gène eae. Le sérogroupe O91 est le sérogroupe prédominant (9

souches) suivi des groupes O146 et O171. A noter, de plus, que 64 % des patients étaient des adultes ce qui constitue une autre particularité des souches *subA*+et/ou *saa* +.

Tableau 62. Détails cliniques, sérogroupe et profil de virulence des souches porteuses du gène saa et /ou du gène subA en fonction de l'âge en 2022

Enfants < 15 ans

Age	Code âge J,M,A	Clinique	Serogroupe O	WGS_stx1	WGS_stx2	WGS_eae	WGS_ehxA	WGS_saa	WGS_aggR	WGS_subA
1	M	DIARRHEE	O91	stx1a	stx2b	-	-	-	-	subA
2	M	DIARRHEE	O146	stx1c	-	-	ehxA	-	-	subA
6	М	DIARRHEE	08	-	stx2b	-	-	-	-	subA
9	М	DIARRHEE	O146	stx1c	-	-	ehxA	-	-	subA
10	М	SHU	076	stx1c	-	-	ehxA	-	-	subA
1	Α	SHU	O55	stx1a	-	-	-	PCRsaa	-	-
2	Α	DIARRHEE	O128ac	-	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
3	Α	SHU	0171	-	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
3	Α	DGS	O169/O183	stx1a	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
4	Α	DGS	O146	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
4	Α	SHU	O128ab	-	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
4	Α	DIARRHEE	O128ac	-	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
4	Α	DGS	0176	-	stx2d	-	ehxA	-	-	subA
5	Α	SHU	O146	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
7	Α	DIARRHEE	091	stx1a	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
9	Α	DIARRHEE	091	-	stx2b	-	-	-	-	subA
9	Α	DIARRHEE CHRONIQUE	017/077	stx1a	-	-	ehxA	PCRsaa	-	-

Adultes

Age	Code âge J,M,A	Clinique	Serogroupe O	WGS_stx1	WGS_stx2	WGS_eae	WGS_ehxA	WGS_saa	WGS_aggR	WGS_subA
19	Α	DGS	O82	stx1a	stx2d	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
25	Α	DIARRHEE	O166	stx1c	stx2b	-	-	-	=	subA
26	Α	DIARRHEE	0171	-	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
28	Α	DIARRHEE	O166	stx1c	-	-	ehxA	-	=	subA
30	Α	DGS	O146	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
35	Α	DON DE SELLES	O146	stx1c	-	-	ehxA	-	=	subA
37	Α	SHU	O128ab	-	stx2b	-	ehxA	-	=	subA
39	Α	ENTOURAGE SHU	O128ac	-	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
40	Α	DGS	0175	-	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
47	Α	SHU	0171	stx1a	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
49	Α	DIARRHEE	O128ab	stx1c	stx2b	-	-	-	-	subA
56	Α	DGS	ND	stx1a	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
59	Α	SHU	0171	-	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
59	Α	SHU	01	-	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
62	Α	DOULEURS ABDOMINALES	0110	-	stx2b	-	-	-	-	subA
66	Α	DIARRHEE	091	stx1a	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
67	Α	SHU	091	-	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	-
70	Α	DGS	091	stx1c	stx2b	-	-	-	=	subA
71	Α	DIARRHEE	0171	-	stx2d	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
71	Α	SHU	O88	stx1a	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	=	-
75	Α	SHU	ND	-	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
76	Α	DGS	ND	-	stx2d	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
78	Α	DGS	O146	stx1c	stx2a et stx2b	-	ehxA	-	-	subA
83	Α	Non renseigné	091	stx1a	-	-	-	-	-	subA
83	Α	DIARRHEE	O146	-	stx2b	-	-	-	-	subA
87	Α	DGS	O146	stx1c	stx2b	-	ehxA	-	-	subA
88	Α	SHU	ND	-	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
90	Α	SHU	0171	-	stx2a	-	ehxA	PCRsaa	-	subA
91	Α	DIARRHEE	091	-	stx2d	-	ehxA	PCRsaa	-	-
94	Α	DIARRHEE	091	-	stx2d	-	ehxA	PCRsaa	-	-

L'analyse MLST des 438 souches a permis de mettre en évidence 56 ST dont 15 représentent 86,7 % des souches (n = 378) (Tableau 63).

En 2022, les souches appartenant aux sérogroupes O26, O157, O80, O103, O145, O146 et O55 se distribuent dans un ST majoritaire (ST21, ST11, ST301, ST17, ST32, ST442 et ST301 respectivement).

Tableau 63. La répartition des ST en fonction du sérogroupe (≥ 3 souches par ST)

								Sároar	oupes							
	026	0157	000	0102	001	0145					0171	045	0121	012000	0102	Total général
			080	0103	091	0145	U55	0146	01//	0111	01/1	045	0121	O128ac	0182	-
ST21	165															165
ST11		58														58
ST301			40				9					5				54
ST17				25					1							26
ST32						13										13
ST442					3			8								11
ST641					8											8
ST33					7											7
ST342						2			3							5
ST297											6					6
ST16										5						5
ST25														3		3
ST29	5															5
ST300															3	3
ST655													3			3
ST659									3							3
ST7006		3														3
Total général	170	61	40	25	18	15	9	8	7	5	6	5	3	3	3	378

L'analyse des cgMLST-HC5 a été réalisée uniquement pour les sérogroupes les plus fréquents (O26, O157, O80) et permet de préciser de façon plus fine la relation génétique entre les souches et donc l'existence d'un cluster possible.

Pour les **177 souches de EHEC O26**, on observe 92 cgMLST-HC5 différents parmi lesquels 77 ne sont représentés que par une seule souche (**Tableau 64_A**). Quinze clusters génomiques ont été identifiés en 2022 dont le plus important regroupe 58 souches HC5_190514 (50 SHU). Ce cluster a été identifié en 2022 au cours de l'épidémie de SHU liée à la consommation de pizzas surgelées.

Pour les **61 souches EHEC O157**, on observe 42 cgMLST-HC5 différents, parmi lesquels 37 ne sont représentés que par une souche (**Tableau 64_B**). Cinq clusters génomiques comprenant 24 souches soit 39 % des souches de sérogroupe O157 ont été identifiés dont le plus important regroupait 9 souches HC5_116498. Ce cluster a été identifié au cours d'une épidémie dont l'origine n'a pas pu être déterminée

Pour les **41 souches EHEC 080**, on observe 31 cgMLST-HC5 différents parmi lesquels 23 ne sont représentés que par une seule souche (**Tableau 64_C**). Huit clusters avec plus d'une souche ont été identifiés et contiennent 18 souches soit 43,9 % des souches de O80. Aucune source de contamination n'a été identifiée pour ces clusters.

Tableau 64. Analyse des cgMLST-HC5 des sérogroupes O26 (A), O157 (B) et O80 (C) en 2022

A) Sérogroupe O26

		Syr	mptômes		
	SHU	DIARRHEE	ENTOURAGE SHU	DGS	Total
190514	49	4	4	1	58
75047	9	0			9
83580	3	0		1	4
204885	4	0			4
83592	1	2			3
139918	3	0			3
193130	2	0	1		3
141220	2	0			2
188848	0	1		1	2
189909	0	2			2
190805	1	0		1	2
197241	0	0	1	1	2
212608	1	1			2
214191	1	0	1		2
219539	2	0			2
Total: 15 clusters*	78	10	7	5	100
Autres cgMLST_HC5 (n=77 HC5 ≠)	40	22	0	15	77
	Tota	al EHEC O26		•	177

*Cluster : cgWGS-HC5 > 1 souche

B) Sérogroupe O157

				Symptômes		
		SHU	DIARRHEE	ENTOURAGE SHU	DGS	Total
HC5	116498	5	1	3	7	16
Ĭ,	51608				2	2
cgMLST_	52358		1		1	2
βM	149195		1		1	2
3	195414		1		1	2
	Total:5 clusters*	5	4	3	12	24
	Autres cgMLST_HC5 (n=37 HC5 ≠)	6	11	0	20	37
•				Total EHEC 0157		61

*Cluster: cgWGS-HC5 > 1 souche

C) Sérogroupe O80

			Sy	mptômes							
		SHU	DIARRHEE	ENTOURAGE SHU	DGS	Total					
	35179	1	2			3					
	80832		2		1	3					
E.	14702	1	1			2					
	181227	1	1			2					
cgMLST_	182660	2				2					
<u>8</u>	194835	1	1			2					
	218266	1		1		2					
	219542		2			2					
	Total: 8 clusters*	7	9	1	1	18					
	Autres cgMLST_HC5	14	8	1	0	23					
	(n=23 HC5 ≠)	17	14 8 1 0								
			Tota	al EHEC O80		41					

*Cluster : cgWGS-HC5 > 1 souche

La mise en évidence des EHEC a été réalisée dans l'entourage de patients présentant un SHU, soit 59 personnes prélevées (symptomatique ou non) dans l'entourage familial. Parmi elles, 16 (27 %) étaient positives (13 souches isolées). Les souches isolées présentaient le même profil que celle du cas index de SHU.

Pour 294 patients (40,3 %) la **recherche directe des gènes de Shiga-toxines sur les selles ou à partir de cultures** sur gélose d'isolement étaient positives sans qu'aucune souche n'ait pu être isolée ; La PCR temps réel avait un CT très tardif (> 30).

Pour 157 de ces 294 patients, le gène stx2 est retrouvé dans 121 cas et l'association stx1+stx2 dans 36 cas, la prédominance du gène stx2 représente donc 54,1%. Le profil stx2+eae+ehxA est largement majoritaire. Parmi ces patients 69 présentaient un SHU/MAT et 42 une DGS et le gène stx2 était prédominant dans les 2 cas avec 98% des cas de SHU et 71% des cas de DGS.

Parmi les 69 patients atteints de SHU/MAT, les données suivantes ont été observées :

- pour les 40 enfants < 15 ans, la PCR était positive dans les selles sans isolement de souche avec une PCR sérogroupage positive dans les selles permettant pour 9 cas d'incriminer possiblement les sérogroupes suivants : EHEC O145 (n = 3), EHEC O26 (n = 2), EHEC O80 (n = 2), EHEC O121 (n = 1) et O55 (n = 1)
- pour les 29 patients adultes, la PCR était positive dans les selles sans isolement de souche avec une PCR sérogroupage positive dans les selles permettant pour 3 cas d'incriminer possiblement les sérogroupes suivants : O91 (n = 2), O55 (n = 1).

5.4 Activité de surveillance sur Escherichia coli extra-intestinaux (ExPEC) en 2022

E. coli responsables de méningites de 2022

Le CNR-LA a reçu 20 souches de *E. coli* isolées du LCR de 18 enfants et de deux adultes. Parmi ces 18 enfants (14 filles et quatre garçons), 13 étaient des nouveau-nés de moins de 28 jours. Quatre d'entre eux sont nés prématurément (< 35 SA).

Les résultats de l'étude des facteurs de virulence sont présentés dans le **Tableau 65** et permettent d'incrémenter la base de données française des méningites à *E. coli*.

Tableau 65. Facteurs de virulence des E. coli responsables de méningites en 2022 (CNR-LA)

N°Souche	Sexe	age (j) /PL	Groupe phylogénétique	PCR nonaplex wzy	PCRK1	ChuA	Hra	yjaA	TSPE4.C2	fyuA	HIY	sfa/foc	PAPC	Aer	PAPG	cnf1	ibeA	iroN
525	М	5 jours	B21	neg	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
526	М	57 ans	B2	04	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	Ш	+	-	+
527	F	51 ans	B2	02	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Ш	+	-	+
528	F	9 jours	B2	016	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	-
529	F	3 jours	B21		+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	II	-	+	+
530	F	1 mois	B21	O18	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	II	-	+	+
531	F	7 jours	B2	neg	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
532	F	5 jours	B2	neg	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
533	F	1 mois	B2	neg	+	+	-	+	+	+	-	•	•	-	-	-	+	+
534	М	8 jours	B2	neg	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
535	F	8 jours	F	07	+	+	-	-	-	+	-		+	+	II	-		
536	F	1 mois	Α	neg	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
537	М	10 jours	D	neg	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	II	-	-	-
538	F	13 jours	B21	01	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
539	М	9 jours	F	01	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
540	F	2 mois	B21	01	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	Ш	-	-	+
541	F	9 jours	B21	01	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	II	-	-	+
542	F	22 jours	B2	neg	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
543	F	4 mois	B2	neg	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
544	F	23 jours	B2	neg	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-

E. coli extra-intestinales responsables de pathologies autres que les méningites

Le CNR-LA a reçu 48 souches de ExPEC hors méningites isolées des prélèvements suivants :

Hémoculture : n = 35Urines: n = 7 Liquide péritonéal : n = 1 Prélèvement vaginal : n = 1 Selles: n = 1 - Trachée : n = 1Abcès ombilical: n = 1 Biopsie de rate : n = 1

Ces souches ont été isolées chez 48 patients présentant :

Choc septique : n = 7 (dont un à point de départ digestif)

Pyélonéphrite (PNA): n = 11SHU/MAT: n = 13

- Méningite : n = 5 (décapitées)

Chorioamniotite: n = 1
 IMF: n = 8
 Péricardite: n = 1
 TIAC: n = 1
 Non renseigné: n = 1

Les caractéristiques des souches ExPEC sont indiquées dans le Tableau 66.

Tableau 66. Caractéristiques des souches de ExPEC hors méningites en 2022 CNR-LA

				ICHES DE LAF LO HOIS IIIEN	J														
n° RDB	Sexe	age	origine du prélevement	Symptômes	gr quadruplex	capsule K1	ChuA	Hra	yjaA	TSPE4.C2	fyuA	HIy	sfa/foc	PAPC	Aer	PAP G	cnf1	ibeA	iroN
RDEx812	F	44 ans	hémoculture	Chorioamniotite	B21	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+
RDEx813	M	47 ans	ecbu	MAT	B1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx814	F	34 ans	hémoculture 	IMF	D	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx815	M	58 ans	selles	SHU?	B2	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
RDEx816	F	7 mois	abcès ombilical	SHU?	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Ш	+	+	+
RDEx817	F	34 ans	PV	IMF	D	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
RDEx818	M	2 ans	hémoculture	PNA	D	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	Ш	-	-	-
RDEx819	F	4 jours	hémoculture	PNA	F	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	Ш	-	-	-
RDEx820	F	44 ans	hémoculture	MAT	Α	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx821	М	88 ans	hémoculture	PNA	B2	d	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Ш	+	-	+
RDEx822	М	66 ans	ecbu	PNA	B21	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
RDEx823	F	74 ans	hémoculture	choc septique	B2	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
RDEx824	М	7 jours	hémoculture	choc septique	Α	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx825	М		hémoculture	PNA	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
RDEx826	М	15 jours	ecbu	PNA	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
RDEx827	М	5 mois	hémoculture	Pericardite DCD	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx828	F		hémoculture	IMF	B21	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
RDEx829	F	3 ans	ecbu	SHU	B1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx830	F	90 ans	hémoculture	SHU	B1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx831	F	6 jours	hémoculture	Meningite?	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RDEx832	М	1 mois	hémoculture	IMF	B2	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	Ш	-	-	+
RDEx833	М	27 ans		choc septique sur péritonite	Α	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx834	F	38 ans	hémoculture	MAT	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
RDEx835	М	76 ans	hémoculture	TIAC	B2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Ш	+	-	+
RDEx836	F	1 an	hémoculture	MAT	B1	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
RDEx837	F	1 an	ecbu	MAT	B1	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
RDEx838	F	1 mois	hémoculture	Meningite ?	E	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx839	F	1 mois	trachée	Meningite?	E	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx840	М	75 ans	hémoculture	Meningite ?	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
RDEx841	F	38 ans	hémoculture	MAT	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	Ш	-	-	+
RDEx842	М	38 ans	hémoculture	PNA	B2	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
RDEx843	М	1 mois	hémoculture	PNA	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	Ш	-	-	+
RDEx844	М	9 jours	hémoculture	IMF	B2	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
RDEx847		61 ans		Choc septique	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Ш	+	-	+
RDEx848	М	61 ans	biopsie de rate	Choc septique	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Ш	+	-	+
RDEx849	F		hémoculture	IMF	B21	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
RDEx850	F		hémoculture	IMF	B1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx851	М	54 ans	hémoculture	PNA	B2	d	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Ш	+	+	+
RDEx852	М		ecbu	PNA	B2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
RDEx853	M	10 ans	hémoculture	NR	F	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RDEx854	F	_	hémoculture	Meningite?	B21	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	_	+	+
RDEx856	М	1 mois	hémoculture	IMF	B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Ш	+		+
RDEx857	М	33 ans	hémoculture	MAT	D	-	+	-	-	-	+	_	<u> </u>	+	+	Ш	_	<u> </u>	ᆜ
RDEx858	F	1 an	hémoculture	PNA	D	<u> </u>	+	-	-	-	+	-	<u> </u>	<u> </u>	+	-	_		ᆜ
RDEx859		73 ans	hémoculture	choc septique	D	_	+	-	-	_	+	-	_	_	+	-	-	<u> </u>	ᆸ
RDEx861	M	13 ans	hémoculture	choc septique	B1	-	<u> -</u>	+	-	+	+	_	-	<u> </u>	+	-	<u> </u>		+
RDEx862	F	73 ans	hémoculture	SHU	B2	-	+	-	+	+	+	-	<u> </u>	<u> </u>	-	-	_	+	-
RDEx863	F	73 ans	ecbu	SHU?	B2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-

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

Sensibilité aux antibiotiques des souches de EHEC en 2022

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

Le CNR-LA a étudié la sensibilité des 438 souches de EHEC isolées en 2022 vis-à-vis des antibiotiques suivants :

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

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

Comme les années précédentes, les souches de EHEC appartenant au sérogroupe O157 sont globalement plus sensibles aux antibiotiques que les souches de EHEC non O157 (**Tableau 67**). La résistance combinée à l'amoxicilline, au cotrimoxazole, à la tétracycline et au chloramphénicol est en grande partie expliquée par les souches de EHEC O80:H2 porteuses d'un plasmide de résistance aux antibiotiques. Deux souches présentant une beta-lactamase à spectre étendu ont été isolées en 2022 (une souche EHEC O26 et une souche EHEC O80).

Tableau 67. Résistances aux antibiotiques observées chez les EHEC en 2022 CNR-LA

% de Résistance	AMX	CTX	Aminosides	SXT	NAL	CIP
O157 (n = 61)	3,2 %	0%	0%	3,2%	0%	0%
Non O157 (n = 377)	14,8 %	0,8%	2,3%	11,7%	10,5%	0,4%

En raison des fortes concentrations intraluminales de l'azithromycine (AZM), les CMI AZM ont été déterminées vis-à-vis des souches isolées en 2022 par la méthode de l'E-test et figurent dans le **Tableau 68**. Trois souches ont présenté des CMI à l'azithromycine > 16 mg/L (O80, O91 et O15).

Tableau 68. CMI à l'azithromycine des souches EHEC isolées en 2022 au CNR-LA

	CMI 50 (mg/L)	CMI 90 (mg/L)	Intervalle (mg/L)
O157 (n = 61)	4	6	2 – 6
Non O157 (n = 377)	4	6	1,5 – 96

Sensibilité aux antibiotiques des souches de ExPEC en 2022

La sensibilité des souches aux principales familles d'antibiotiques en particulier AMX, CFM, CTX, Nal et CIP a été étudiée par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA-SFM (**Tableau 69**).

Tableau 69. Prévalence de la résistance aux antibiotiques des souches EXPEC reçues en 2022 au CNR-LA

	AMX	CFM	СТХ	SXT	Nal	CIP
ExpEC méningites (n=20)	40%	5%	5%	20	10 %	10%
ExpEC hors méningites (n=48)	40,7%	4,2%	4,2%	25%	14,5%	6,2%

En 2022, 3 souches productrices de BLSE ont été isolées dont une responsable d'une méningite chez un enfant de sept jours.

5.6 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Les résultats concernant le diagnostic d'infection à EHEC, et en particulier des SHU des enfants de moins de 15 ans (selles et souches) mais aussi des adultes, sont communiqués dès leur positivité à SpF par téléphone, par mail sécurisé et depuis juin 2022 par l'application Osmose.

Tous les phénomènes anormaux (excès de cas liés à un sérogroupe particulier, regroupement temporo-spatial ou à une souche avec un profil de résistance aux antibiotiques inhabituel) sont signalés immédiatement par téléphone à nos interlocuteurs de SpF.

Les rapports d'activité complets du CNR-ESS-LA (depuis celui de 2006) sont consultables (fichiers pdf) sur le site web de l'Institut Pasteur à l'adresse suivante :

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

Le CNR-ESS-LA participe à la rédaction annuelle du BEH concernant la surveillance du SHU des enfants de moins de 15 ans en France.

5.7 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Aucune enquête à renseigner.

6. Alertes

6.1 Alertes: Salmonella

Depuis la mise en route du typage et sous-typage des *Salmonella* par WGS en routine en 2018, la détection de groupements génomiques (clusters épidémiques) a augmenté de façon notable (**Figure 23**).

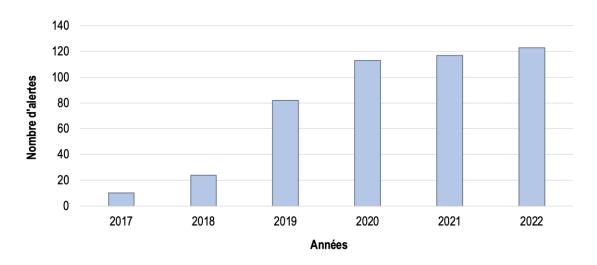


Figure 23. Évolution du nombre d'alertes à Salmonella analysées par le CNR-ESS

En 2022, le CNR-ESS a participé à l'investigation de **75** épisodes de cas groupés en France. Le **Tableau 70** donne les informations relatives à ces alertes. De plus, en 2022, le CNR-ESS en collaboration avec SpF, a créé ou répondu à **43** alertes européennes, via le système EpiPulse-FWD. Le **Tableau 71** indique les détails de ces alertes.

Une importante épidémie à deux souches différentes du variant monophasique 1,4,[5],12:i:-, ST34, HC5_296366 et HC5_298160, a été identifiée fin mars 2022, au Royaume-Uni. Elle a fait objet d'une alerte sur le portail EpiPulse (2022-FWD-00014-UK), puis d'une investigation internationale (ECDC-EFSA ROA 12 avril 2022; ECDC-EFSA ROA 18 mai 2022; WHO Disease Outbreak News 26 avril 2022; Larkin *et al.* EuroSurveillance 2022). Plus de 120 cas ont été identifiés en France et plusieurs pays ont également déclaré des cas : Allemagne, Autriche, Belgique, Danemark, Espagne, Irlande, Italie, Luxembourg, Norvège, Pays-Bas, Royaume-Uni, Suède et Suisse, mais aussi le Canada et les États-Unis. L'épidémie était associée à la consommation de chocolats contaminés, issus d'une usine en Belgique et distribués globalement.

Une épidémie s'est produite en France, avec plus de **40 cas**, causée par une souche de *S. enterica* sérotype **Ball**, ST3502, **HC5_275794**. Cette épidémie a fait objet d'une alerte épidémiologique européenne (**2022-FWD-00072-FR**) (ECDC-EFSA JNS 12 décembre 2022). D'autres pays en Europe ont aussi rapporté des cas : Allemagne, Belgique, Danemark, Finlande, Grèce, Norvège, Pays-Bas, Royaume-Uni et République tchèque, mais aussi aux États-Unis (des patients avec des informations de voyage en France). Aucun aliment n'a pu être incriminé.

Tableau 70. Alertes épidémiques à Salmonella en France, 2022

Alerte	Sérotype	ST	HC5	Création	N	Aliment
	Enteritidis	11	181274	17/01/2022	1	
ΓIAC 722861	Enteritidis	11	297179	17/01/2022	4	Rillettes d'oie
	Infantis	32	285324	21/01/2022	10	
	Typhimurium	19	286664	21/01/2022	0	Crêpes / gaufres
	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	34	183118	25/01/2022	107	
	Enteritidis	11	263859	18/02/2022	23	
TIAC 410142	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	34	299153	16/03/2022	3	Lait en poudre
TIAC 723099	Enteritidis	11	287885	16/03/2022	3	Œufs / pintade
TIAC 723549	Derby	40	174966	25/03/2022	1	Gratin dauphinois
TIAC 723604	Typhimurium	568	301501	25/03/2022	1	Œufs
	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	34	206590	30/03/2022	24	
TIAC 723729	Typhimurium	19	227975	05/04/2022	7	Brochette de viande caramélisée
ΓΙΑC 723614	Stanley	29	266554	07/04/2022	32	Nuggets / cordon bleu
ΓΙΑC 723759 ΓΙΑC 418709	Enteritidis	11	197509	12/04/2022	7	Œufs
	Kottbus	212	303220	26/04/2022	5	
	Virchow	841	303205	27/04/2022	3	
	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	34	298565	29/04/2022	1	
	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	34	150470	03/05/2022	19	
	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	34	242001	16/05/2022	13	
	Weltevreden	365	304606	16/05/2022	4	
	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	34	298570	24/05/2022	15	
	Enteritidis	11	302148	24/05/2022	9	
	Rubislaw	94	-	24/05/2022	32	
	Enteritidis	11	241133	31/05/2022	66	Tiramisu
	Enteritidis	11	1545	08/06/2022	34	
TIAC 723954 SIVSS 421150	Munster	321	303941	08/06/2022	10	Animaux de basse-cour
31700 121100	Typhimurium	568	312152	08/06/2022	3	Œufs
	Enteritidis	11	305649	09/06/2022	11	
ΓIAC 724588	Enteritidis	11	305868	09/06/2022	3	Œufs production familiale
	Enteritidis	11	307121	09/06/2022	1	Poulet en sauce
	Typhimurium	19	305831	09/06/2022	1	Œufs production familiale
	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	34	304057	14/06/2022	18	·
	Poona	308	307073	15/06/2022	2	
	Enteritidis	11	305815	17/06/2022	37	
TIAC 724848	Enteritidis	7634	2301	28/06/2022	271	Tiramisu
TIAC 725066	Enteritidis	11	149274	28/06/2022	49	
TIAC 725039	Enteritidis	183	312435	28/06/2022	3	Poulet
TIAC 149274 TIAC 725067	Typhimurium	19	244883	28/06/2022	17	Œufs
0 1 20001	Veneziana	2207	312479	29/06/2022	7	Pouponnière
ΓΙΑC 725062	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	34	302	30/06/2022	78	Viande de porc farcie
	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	34	111251	30/06/2022	184	•
	Enteritidis	11	2301	30/06/2022	271	
SIVSS 425925	Enteritidis	11	305652	30/06/2022	27	Jambon
TIAC 725634	Typhimurium	19	306556	30/06/2022	21	Burger
TIAC 725461	Enteritidis	11	21472	20/07/2022	4	Fruits de mer
TIAC 725384	Enteritidis	11	27169	20/07/2022	5	Tiramisu
continue sur la pag		•			•	

(suite)

Alerte	Sérotype	ST	HC5	Création	N	Aliment
TIAC 725705	Enteritidis	11	166929	27/07/2022	6	Pizza
TIAC 725839	Enteritidis	11	316421	27/07/2022	4	Œufs
	Enteritidis	11	75749	28/07/2022	29	
	Mikawasima	1815	315736	28/07/2022	4	Assiette poisson et taboulé
TIAC 723363	Enteritidis	11	299180	29/07/2022	23	
	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	34	28911	03/08/2022	26	
	Enteritidis	11	56641	03/08/2022	19	
	Kottbus	212	316673	03/08/2022	12	
	Enteritidis	11	3522	09/08/2022	22	
	Mikawasima	1815	126053	09/08/2022	10	
	Braenderup	22	316932	12/08/2022	3	
	Typhimurium	19	317242	12/08/2022	15	
	Typhimurium	19	287668	17/08/2022	8	
	Agona	13	279396	17/08/2022	20	
	II. 48:z:1,5	1083	-	08/09/2022	5	
	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	34	26680	13/09/2022	85	
	Chester	1954	1316	13/09/2022	39	
	Enteritidis	11	317199	20/09/2022	11	
	Ajiobo	4349	325433	04/10/2022	11	
	Enteritidis		1998	06/10/2022	22	
	Enteritidis	11	56182	11/10/2022	64	Salades
	Enteritidis	11	60237	11/10/2022	18	
	Enteritidis	11	304571	11/10/2022	14	
	Agona	13	319110	15/10/2022	7	
	Enteritidis	11	60478	20/10/2022	36	
	Enteritidis	11	27017	04/11/2022	34	
	1,4,[5],12:i:- (monophasique)	34	198102	29/11/2022	25	
	Litchfield	214	337530	08/12/2022	6	Crustacés
	Typhimurium	19	142832	15/12/2022	20	
	Enteritidis	3406	338016	27/12/2022	7	

Tableau 71. Alertes épidémiques internationales à Salmonella, 2022

Alerte	Sérotype	ST	HC5	Creation	N	Aliment
2022-FWD-00002-NO	Blockley	52	1345	05/01/2022	0	
2022-FWD-00003-NO	Typhimurium	36	220037	10/01/2022	1	
2022-FWD-00004-DK	<u>1,</u> 4,[5],12:i:-	34	295627	10/01/2022	1	
2022-FWD-00007-BE	Pomona	-	-	11/01/2022	1	
2022 EMD 00044 HK	4.4.151.40.;	24	298160	08/04/2022	10	Chocolat
2022-FWD-00014-UK	<u>1</u> ,4,[5],12:i:-	34	296366	17/02/2022	115	Chocolat
2022-FWD-00015-BE	Newport	46	297787	18/02/2022	0	
2022-FWD-00016-SE	Enteritidis	11	1358	23/02/2022	148	
2022-FWD-00019-DE	<u>1,</u> 4,[5],12:i:-	34	297104	09/03/2022	1	
2022-FWD-00021-SE	Enteritidis	11	300360	18/03/2022	0	
2022-FWD-00025-AT	Typhimurium	19	299429	14/04/2022	2	
2022-FWD-00026-NL	Typhi		6578	21/04/2022	3	
2022-FWD-00028-DE	<u>1</u> ,4,[5],12:i:-	34	301553	08/04/2022	0	
2022-FWD-00033-UK		440	000450	00/00/0000	40	
2022-FWD-00042-FI	Mbandaka	413	286156	03/06/2022	13	
2022-FWD-00041-IE	Typhimurium	19	373	14/06/2022	2	
2022-FWD-00044-DK	Jukestown	5005	-	20/06/2022	2	
2022-FWD-00045-BE	Tennessee	319	321356	05/07/2022	0	Chocolat
2022-FWD-00046-US	Stanley	4856	-	07/07/2022	0	
2022-FWD-00048-DK	Enteritidis	11	2301	26/07/2022	271	
2022-FWD-00050-UK	Gueuletapee	284	311631	20/07/2022	0	
2022-FWD-00052-DK	Mikawasima	1815	316671	28/07/2022	0	
2022-FWD-00056-DE	<u>1</u> ,4,[5],12:i:-	34	317063	03/08/2022	0	
2022-FWD-00057-NO	<u>1</u> ,4,[5],12:i:-	34	315776	03/08/2022	10	
2022-FWD-00060-DK	Enteritidis	11	129197	09/08/2022	23	
2022-FWD-00065-FR	Hadar	33	61953	02/08/2022	45	Viande de cheva
2022-FWD-00066-IE	Enteritidis	11	320938	29/08/2022	1	
2022-FWD-00068-ES	Mishmarhaemek	2666	208410	12/10/2022	1	
2022-FWD-00069-FR	Enteritidis	11	149188	14/09/2023	125	
2022-FWD-00072-FR	Ball	3502	275794	22/09/2022	41	
2022-FWD-00073-FR	Ajiobo	4349	323464	22/09/2022	43	
2022-FWD-00075-DK	Typhimurium	36	322326	03/10/2022	4	
2022-FWD-00080-DE	<u>1,</u> 4,[5],12:i:-	34	206596	18/10/2022	0	
2022-FWD-00082-SE	Typhimurium	19	286497	18/10/2022	0	
2022-FWD-00084-FI	Schwarzengrund	96	339217	20/10/2022	0	
2022-FWD-00086-FR	Menston	9090	297161	27/10/2022	26	
2022-FWD-00091-LU	Corvallis	1541	312425	11/11/2022	0	
2022-FWD-00095-NO	Agona	13	336666	25/11/2022	0	Concombre
2022-FWD-00096-SI	Enteritidis	11	343122	01/12/2022	0	
2023-FWD-00004-FR	Virchow	16	82819	22/11/2022	67	
2023-FWD-00005-FR	Enteritidis	11	332638	21/11/2022	20	
Consultation Allemagne	Durham	-	-	18/02/2022	0	
Consultation Royaume- Uni	Typhimurium	19	272623	09/08/2022	2	

6.2 Alertes: Shigella/EIEC

En 2022, un nouveau clone épidémique de *S. sonnei* a été détecté par le CNR-ESS et a été notifié à SpF. Cent-quatre-vingt-dix-huit souches de génotype 3.6.3_Central Asia III en lien avec des séjours en Tunisie ont été identifiées. Elles appartenaient au HC10_20662 et portaient les gènes de résistance *bla*_{CTX-M-15} (résistance aux C3G), *mph(A)* (résistance à l'AZM) et la combinaison *gyrA*_D87Y+ *qnrS1* (sensibilité diminuée à la CIP). Une alerte au niveau européen a été lancé en décembre 2022 (Alerte EpiPulse 2022-FWD-00092) et plusieurs pays (République tchèque, Allemagne, Estonie, Norvège et Royaume-Uni) ont confirmé la présence de souches similaires.

Le clone de *S. sonnei* de **génotype 3.6.1.1.2_CipR.MSM5**, qui avait émergé en 2021, a poursuivi sa circulation en métropole. Il s'agit d'un clone XDR (résistant au C3G du fait de la présence du gène *bla*_{CTX-M-27}, résistant à l'AZM du fait des gènes *mph(A)* et *erm(B)*, et résistant à la CIP du fait d'une triple mutation *gyrA_S83L + gyrA_D87G + parC_S80I*) et en 2022, **101 souches** de ce profil ont été recensées au CNR-ESS. Il s'agissait dans 92 % (93/101) des cas des hommes de 19 à 58 ans résidant en métropole.

En 2022, le CNR-ESS a répondu à deux alertes européennes :

- réponse à une demande de Rapid Risk Assessment de l'ECDC (2022-ARH-00002 "Increase in extensively-drug resistant *Shigella sonnei* infections in men who have sex with men in the EU/EEA and the UK"). Rapport accessible à l'adresse suivante: https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-increase-extensively-drug-resistant-shigella-sonnei. Le CNR-ESS avait reporté 106 cas causés par *S. sonnei* de génotype 3.6.1.1.2_CipR.MSM5 XDR entre septembre 2020 et février 2022.
- réponse à l'alerte **2022-FWD-00088** (Pays-Bas, 3 novembre **2022**). Les autorités des Pays-Bas déclaraient une épidémie de 34 cas infectés par *S. sonnei* en lien avec des voyages au Cap-Vert. Les souches appartenaient au HC5_181425 et portaient les gènes de résistance *dfrA1* (résistance au triméthoprime) et *aadA1* (résistance à la streptomycine). Nous avons rapporté 31 cas liés à cette alerte, avec 27 identifiés en 2022. Parmi eux, 10 cas avaient une notion de voyage au Cap-Vert.

6.3 Alertes : E. coli

Investigation des cas groupés des EHEC

En 2022, 11 investigations épidémiologiques ont été menées dont 5 portant sur plus de 4 cas.

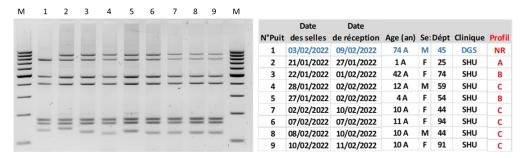
- Deux investigations ont permis de confirmer une origine alimentaire et ont abouti à des mesures de retraitrappel.
- Pour une investigation, un type d'aliment commun a été suspecté sans avoir été confirmé.
- Pour deux investigations, aucune origine n'a pu être identifiée

Epidémie nationale à STEC 026 et 0103 liée à la consommation de pizzas surgelées

Début février 2022, un excès de notifications de SHU pédiatriques a été identifié par Santé publique France (SpF) et le CNR-LA *E. coli*. Les souches incriminées ont été isolées et initialement caractérisées au CNR-LA. Il s'agissait de souches EHEC O26 (stx2+eae+ehx) et EHEC O103 (stx1+eae+ehx) adressées rapidement au CNR-ESS pour séguençage WGS.

Le CNR-LA a effectué un typage MLVA sur toutes les souches isolées pendant la période épidémique soit 57 souches O26 et également deux souches EHEC O103. La **Figure 24** montre un exemple de résultat de typage MLVA

EHEC O26 – MLVA du 15/02/2022 Souches isolées du 21/01/2022 au 11/02/2022



Résultats du MLVA sur 8 souches de EHEC de serogroupe O26 isolées entre le 21/01/2022 et le 11/02/2022 mettant en évidence 3 profils : A, B, C. Deux éléments à prendre en compte dans l'interprétation :

- une différence de profil suggère une absence de relation génétique entre les souches
- un profil identique ne préjuge pas d'un lien génétique étroit entre les souches

Figure 24. Résultat de typage MLVA liée à une épidémie par EHEC

Au total:

- Cinquante-sept cas confirmés par l'isolement d'une souche épidémique de EHEC O26:H11 stx2a+eaeβ+ehx,
 de profil MLVA C avec un cgMLST HC5_190514
- Deux patients ont été infectés par une souche épidémique de EHEC O103:H2, stx1a +eaeε+ehx, cgMLST HC5_192142 de profil MLVA 1
- Deux cas probables (sans souche isolée, mais ayant un lien épidémiologique étroit avec un cas confirmé) ont été identifiés.

Les enfants concernés étaient plus âgés que ceux habituellement affectés et résidaient pour la majorité dans la moitié nord de la France. Les dates de début des signes s'étalaient entre le 18 janvier et le 5 mars 2022. L'âge médian était de six ans (extrêmes : <1 - 40 ans). Parmi les 58 cas pédiatriques, 50 (86 %) ont présentés un SHU dont deux sont décédés.

Les investigations initiales de SpF ont identifié plusieurs aliments suspects consommés par une majorité de cas et l'analyse des données des cartes de fidélité a identifié l'achat fréquent de pizzas surgelées de marque A-gamme B, confirmé par un second questionnaire auprès des familles. Ces pizzas de marque A-gamme B étaient fabriquées en France sur une unique ligne de production en France, à partir d'une pâte levée non pré-cuite avant commercialisation. Des prélèvements de pâte de pizza de marque A-gamme B disponible au domicile d'un cas confirmé se sont révélés positifs pour les souches épidémiques de STEC O26:H11 et O103:H2. Le typage MLVA et le séquençage WGS ont permis de conclure à **l'identité des souches humaines et alimentaires**. Le 18 mars, l'entreprise A a procédé à un retrait-rappel national de l'ensemble des pizzas de gamme B.

Epidémie à STEC O26 liée à des produits laitiers d'une ferme - PACA

Entre le 17 et le 23 juin 2022, cinq cas de SHU pédiatrique ont été signalés par le service de néphrologie pédiatrique d'un hôpital dans les Bouches-du-Rhône. Au total, 13 cas de SHU ont été observés jusqu'au 17 juillet 2022. Les cas sont survenus majoritairement en PACA (11 cas), mais aussi en Occitanie (deux cas). Trois cas possibles ont été identifiés en lien avec cette épidémie.

Pour tous ces patients, une souche EHEC O26:H11 a été isolée au CNR_LA ayant le même profil de virulence stx2+eae+ehx et le même profil MLVA

Par typage WGS, il s'agit de souches EHEC O26:H11, ST21, *stx2a+eaeβ+ehxA* appartenant à un même cluster génomique cgMLST HC5|75047.

Les investigations épidémiologiques ont permis d'identifier un lien avec des produits laitiers issus d'une même production dans une ferme dans les Bouches du Rhône. Une souche de STEC O26 isolée d'un produit au sein de cette production appartenait au même cluster génomique que les souches isolées des malades.

Des mesures de <u>retrait-rappel</u> ont été mises en œuvre pour l'ensemble des produits commercialisés ou produits par cette ferme.

Cas groupés d'infections à O145 en lien possible avec la consommation de végétaux

En septembre 2022, SpF a initié des investigations suite à la détection d'un excès de cas de SHU (4 enfants) dans plusieurs régions de l'ouest de la France ainsi que deux enfants ayant présenté des diarrhées sanglantes. Les souches EHEC O145 ont été isolées et caractérisées au CNR-LA par typage MLVA puis le séquençage WGS a permis de confirmer l'appartenance des souches isolées au même cluster cgMLST HC5_213227.Les dates de début des signes s'étalaient du 6 au 19 septembre 2022. Les investigations épidémiologiques ont permis d'orienter vers la consommation de végétaux, mais la confirmation d'une origine commune n'a pas été possible.

Cas groupés d'infections à O157 d'origine non-identifiée

Début mai 2022, SpF en lien avec le CNR-LA a identifié un nombre inhabituel de souches de EHEC O157 porteuses de gènes de virulence *stx2 eae ehx* isolées de prélèvements reçus en avril. Il s'agissait de **neuf souches** isolées majoritairement d'enfants principalement en région Ile-de-France. Le typage MLVA et le séquençage WGS ont permis d'identifier une souche de même profil cgMLST HC5_116498 isolée chez trois enfants résidant en Ile de France. Des investigations ont été menés par SpF sur l'ensemble des souches EHEC O157 isolées entre le 9 avril et le 16 mai 2022 pour des cas résidant en Ile-de-France. Au total, 16 cas confirmés d'infection à EHEC O157:H7 *stx2a+eaey+ehx* appartenant à un même cluster génomique (cgMLST HC5_116498 ont été identifiés. Il s'agissait de 14 cas chez des enfants de un à 13 ans et deux adultes. Six enfants ont été atteints de SHU et huit cas de diarrhées dont sept sanglantes. Pour un cas, la présentation clinique n'a pas pu être documentée et un cas était asymptomatique. Les investigations épidémiologiques ont permis de documenter la consommation de divers produits carnés (viande hachée de bœuf, steaks hachés de boeuf, charcuterie de volaille) pour plus de 50% des cas. Cependant, il n'a pas été possible d'identifier un produit commun, ou un lien entre les matières premières ou les lieux de production qui pourraient expliquer la survenue de ces infections.

Cas groupés d'infections à EHEC O26, région Pays de Loire d'origine non-identifiée

Le 23/07/2022, le CNR-LA alerte SpF sur trois cas de SHU hospitalisés à Nantes avec une souche de EHEC O26 stx2+eae+ehx présentant le même profil MLVA. Au total, **11 cas de SHU** ont été signalés dans le Grand Ouest, avec des débuts de symptômes entre le 14/06 et le 22/07, dont deux enfants décédés. Les cas résident en PdL (six cas), Nouvelle Aquitaine (deux cas), Bretagne (deux cas), Normandie (un cas après un séjour en Vendée). Pour un cas, aucun prélèvement de selles n'a été reçu au CNR.

Parmi les 10 cas avec des résultats disponibles :

- 7 cas (dont un décès) sont confirmés avec isolement d'une souche EHEC O26 stx2a+eae β+ehx dont :
 - 4 cas avec souches confirmés par séquençage appartenant à un même cluster génomique HC5| 204885 et présentant le même profil MLVA.
 - 3 cas avec des souches avec un profil génomique différent du cluster HC5 204885 et différentes entre elles
- 1 cas avec un sérogroupe O145 stx2a+eae β+ehx chez un des patients décédés ;
- 1 cas avec un sérogroupe O121 stx2a+eae ε +ehx
- 1 cas sans caractérisation du sérogroupe possible (absence de souche isolée).

Les investigations épidémiologiques menées par SpF n'ont pas permis de détecter une origine commune

7. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil

7.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

CNR-ESS

Diffusion des données de surveillance et des productions du CNR

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

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

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

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

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

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

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

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

Enseignements et formations aux professionnels de la santé

En 2022, le CNR-ESS a participé au **Cours RESER-ABR** orgranisé par Réseau International de l'Institut Pasteur à Casablanca, Maroc (9-13 mai 2022) :

- María Pardos de la Gándara : « Diagnostic et surveillance des infections humaines à Salmonella »
- Sophie Lefèvre : « Diagnostic et surveillance des infections humaines à E. coli »
- María Pardos de la Gándara, Sophie Lefèvre et Laetitia Fabre : travaux dirigés sur l'utilisation de la base de données EnteroBase pour la surveillance.

Accueil de stagiaires

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

En 2022, le CNR-ESS a accueilli :

- Carolina SILVA NODARI, post-doctorante, qui étudie la structure des populations et la résistance aux antibiotiques des EPEC qui circulaient en Europe après la deuxième guerre mondiale. 2 novembre 2020 - 30 avril 2025. Encadrée par François-Xavier Weill.
- **Iman YASSINE**, doctorante (cotutelle entre l'Université Paris Cité et l'Université Libanaise), qui analyse la structure des populations de *Shigella* par approche génomique. 2 novembre 2021 31 juillet 2022. Thèse soutenue le 6 juillet 2022. Encadrée par François-Xavier Weill.
- Angelo MARZELLA, doctorant à l'université de Bari, en Italie, qui a réalisé un stage de cinq mois au CNR-ESS pour étudier la génomique des populations de Salmonella multi-résistantes. 7 février - 7 juillet 2022. Encadré par María Pardos de la Gándara.
- **Lac KIM PHAN** et **Maïté BOUTRY**, techniciennes du CNR belge des *Salmonella*, Sciensano, Bruxelles, Belgique. 26 septembre 7 octobre 2022. Encadrés par María Pardos de la Gándara.
- Marguerite Édith NIKIEMA, scientifique de l'Université Joseph Ki-Zerbo à Ouagadougou, Burkina Faso, venue pour compléter une étude observationnelle (génomique et phénotypique) sur les salmonelles au Burkina Faso, chez l'homme et chez des aliments vendus dans les rues de Ouagadougou. 7 novembre 2022 2 février 2023. Encadrée par María Pardos de la Gándara et François-Xavier Weill.
- **Tiffany NACITAS**, stagiaire BTS Bioanalyses et Contôles à l'ETSL à Paris, France, pour réaliser la comparaison de deux méthodes d'étude de la résistance aux antibiotiques : méthode phénotypique (antibiogrammes) et méthode génomique (séquençage WGS). 28 novembre 2022 20 janvier 2023. Encadrée par Sophie Lefèvre.

CNR-LA

- Des informations pratiques concernant le CNR-LA (analyses réalisées, fiche de renseignements à compléter, conditions d'envoi, de transport, recommandations et conduites à tenir...) sont accessibles sur le site web (https://cnr-escherichiacoli-robertdebre.aphp.fr/).
- Tout résultat positif non connu par le laboratoire expéditeur est systématiquement transmis par téléphone au clinicien en charge du patient +/- au biologiste du laboratoire. Le compte-rendu final est envoyé au laboratoire expéditeur par courrier postal pour toutes les souches et selles adressées au CNR-LA.
- Les responsables du CNR-ESS et du CNR-LA sont sollicités quotidiennement par voie téléphonique ou électronique (colishig@pasteur.fr ou e.coli@aphp.fr) ou via le réseau de microbiologistes médicaux sur internet (Réseau-microbiologie-medicale@yahoogroupes.fr) pour des conseils microbiologiques ou thérapeutiques à destination de biologistes, cliniciens, épidémiologistes,...
- Un article didactique et deux chapitres d'un ouvrage ont été rédigés par le CNR- LA en 2021 pour publication en 2022. Ils permettent aux laboratoires d'avoir toutes les informations concernant la détection des souches EHEC et de résumer la conduite à tenir face à un résultat positif en Shiga Toxine :
 - Cointe A, Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S. Conduite à tenir et prise en charge d'un patient présentant une gastroentérite à *Escherichia coli* entérohémorragique. Revue de Biologie Médicale N° 364 – 2021, publié dans le numéro de Janv-Fev 2022.
 - Référentiel en Microbiologie Médicale REMIC 2022 : Gastroenterites (S. Bonacorsi), E.coli enterohémorragiques (S. Bonacorsi, A. Cointe, P. Mariani-Kurkdjian)
- Le Pr Bonacorsi a été sollicité par la CNAM comme expert auprès du groupe de travail chargé d'établir la place des PCR mutiplexes dans le diagnostic des gastro-enterites et particulier celle de la PCR Stx.
- Les responsables du CNR-ESS-LA participent à toutes les réunions multidisciplinaires (SPF, DGS, DGAI,...) lors des investigations d'épidémie.

7.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

CNR-ESS

Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France (SpF)

L'échange des données s'effectue historiquement via une fiche de renseignements spécifique au CNR-ESS qui accompagne chaque souche en provenance des laboratoires de biologie médicale. Dans cette fiche, il doit être indiqué : le nom et l'adresse du laboratoire expéditeur, la demande d'examen, les renseignements sur le patient, les symptômes cliniques, le type de prélèvement ainsi que des renseignements épidémiologiques permettant de mettre en évidence des épidémies potentielles et leurs origines. Ces fiches et les résultats d'analyse obtenus permettent l'interface avec SpF à différents niveaux. La surveillance se fait lors de la validation des résultats par le CNR-ESS avec un signalement par téléphone ou par courrier électronique de toute augmentation inhabituelle du nombre de souches. De plus, dans le cadre d'une épidémie, la surveillance de l'antibiogramme est accrue de façon à signaler rapidement l'apparition d'une résistance.

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

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

Réunions scientifiques avec autorités sanitaires

Une réunion s'est produite entre SpF, le CNR-ESS et des représentants du CDC (États-Unis) le 24 juin 2022.

- Sophie Lefèvre a présenté l'émergence en France des souches de *Shigella* hautement résistantes aux antibiotiques.
- Maria Pardos de la Gandara a présenté les investigations microbiologiques de l'épidémie au variant monophasique de Salmonella

CNR-LA

En 2022, le CNR-LA a été sollicité pour participer au groupe de travail suite à la saisine de l'ANSES relatif à « la définition des souches pathogènes de *Escherichia coli* productrices de Shigatoxines» visant à actualiser voire compléter la définition des souches pathogènes proposée dans l'avis de mai 2017 au vu de l'avis de l'EFSA de 2020, du rapport FAO/OMS publié en 2018 et des autres données et publications récentes qui pourraient alimenter la réflexion.

La restitution de l'avis STEC à la DGAL a eu lieu le 22/05/2023 et la publication de l'avis est prévu pour la fin juin 2023.

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

En 2022, les responsables du CNR ont été sollicités pour de nombreuses interviews suite à deux épidémies à fort impact médiatique :

- L'épidémie **2022-FWD-00014-UK** causée par la consommation de produits à base de chocolat contaminés par deux souches de *Salmonella*, du **variant monophasique <u>1</u>,4,[5],12:i:-** (**HC5_296366** et **HC5_298160**).
- L'épidémie 2022-FWD-00017-FR causée par la consommation de pizzas surgelées contaminées par deux souches de EHEC (O26:H11, HC5_190514 et O103:H2, HC5_192142).

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

8.1 Activités de recherche en cours <u>lors de l'année N</u>, concernant <u>uniquement</u> celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

CNR-ESS

Plusieurs études génomiques à grande échelle ont été initiées par les scientifiques du CNR-ESS et étaient dans leur phase finale en 2022.

Les travaux d'Iman Yassine, étudiante en thèse sous la supervision de FX Weill à l'Université Paris Cité / Université Libanaise (thèse soutenue le 6 juillet 2022) ont permis la mise au point et/ou la validation de nouveaux outils génomiques robustes et discriminants pour le typage et le suivi des populations de *Shigella* spp. Une première méthode était basée sur le schéma cgMLST d'EnteroBase (Yassine et al. Nature Communications 2022). La seconde méthode reposait sur l'analyse de différentes cibles (*rfB*, *fliC*, MLST, CRISPR et prophages) via l'outil ShigaPass (Yassine et al. Microbial Genomics 2023). Les techniques de séro-agglutination ne sont maintenant plus réalisées au CNR-ESS comme typage de première intention des shigelles.

Identification des populations de Shigella par cgMLST

Yassine I, <u>Lefèvre S</u>, Hansen EE, <u>Ruckly C</u>, <u>Carle I</u>, <u>Lejay-Collin M</u>, <u>Fabre L</u>, Rafei R, Clermont D, <u>Pardos de la Gandara M</u>, Dabboussi F, Thomson NR, <u>Weill FX</u>. Population structure analysis and laboratory monitoring of Shigella by core-genome multilocus sequence typing. Nat Commun. 2022 Jan 27;13(1):551.

Abstract de l'article: The laboratory surveillance of bacillary dysentery is based on a standardised *Shigella* typing scheme that classifies *Shigella* strains into four serogroups and more than 50 serotypes on the basis of biochemical tests and lipopolysaccharide O-antigen serotyping. Real-time genomic surveillance of *Shigella* infections has been implemented in several countries, but without the use of a standardised typing scheme. Here, we study over 4000 reference strains and clinical isolates of *Shigella*, covering all serotypes, with both the current serotyping scheme and the standardised EnteroBase core-genome multilocus sequence typing scheme (cgMLST). The *Shigella* genomes are grouped into eight phylogenetically distinct clusters, within the *E. coli* species. The cgMLST hierarchical clustering (HC) analysis at different levels of resolution (HC2000 to HC400) recognises the natural population structure of *Shigella*. By contrast, the serotyping scheme is affected by horizontal gene transfer, leading to a conflation of genetically unrelated *Shigella* strains and a separation of genetically related strains. The use of this cgMLST scheme will facilitate the transition from traditional phenotypic typing to routine whole-genome sequencing for the laboratory surveillance of *Shigella* infections (**Figure 25**).

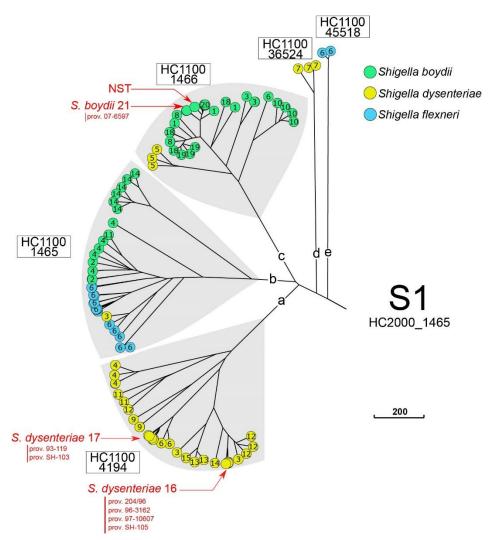


Figure 25. Analyse des Shigella spp. du groupe S1 par la méthode cgMLST

ShigaPass : sérotypage in silico des Shigella

Yassine I, Hansen EE, <u>Lefèvre S</u>, <u>Ruckly C</u>, <u>Carle I</u>, <u>Lejay-Collin M</u>, <u>Fabre L</u>, Rafei R, <u>Pardos de la Gandara M</u>, Daboussi F, Shahin A, <u>Weill FX</u>. ShigaPass: an *in silico* tool predicting *Shigella* serotypes from whole-genome sequencing assemblies. Microb Genom. 2023 Mar;9(3):mgen000961.

Abstract de l'article: Shigella is one of the commonest causes of diarrhoea worldwide and a major public health problem. Shigella serotyping is based on a standardized scheme that splits Shigella strains into four serogroups and 60 serotypes on the basis of biochemical tests and O-antigen structures. This conventional serotyping method is laborious, time-consuming, impossible to automate, and requires a high level of expertise. Whole-genome sequencing (WGS) is becoming more affordable and is now used for routine surveillance, opening up possibilities for the development of much-needed accurate rapid typing methods. Here, we describe ShigaPass, a new in silico tool for predicting Shigella serotypes from WGS assemblies on the basis of rfb gene cluster DNA sequences, phage and plasmid-encoded O-antigen modification genes, seven housekeeping genes (EnteroBase's MLST scheme), fliC alleles and clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) spacers. Using 4879 genomes, including 4716 reference strains and clinical isolates of Shigella characterized with a panel of biochemical tests and serotyped by slide agglutination, we show here that ShigaPass outperforms all existing in silico tools, particularly for the identification of Shigella boydii and Shigella dysenteriae serotypes, with a correct serotype assignment rate of 98.5% and a sensitivity rate (i.e. ability to make any prediction) of 100%.

Analyse génomique de souches de S. sonnei hautement résistantes aux antibiotiques

<u>Lefèvre S</u>, Njamkepo E, Feldman S, <u>Ruckly C</u>, <u>Carle I</u>, <u>Lejay-Collin M</u>, <u>Fabre L</u>, Yassine I, Frézal L, <u>Pardos de la Gandara M</u>, Fontanet A, <u>Weill FX</u>. Rapid emergence of extensively drug-resistant *Shigella sonnei* in France. Nat Commun. 2023 Jan 28;14(1):462.

Abstract de l'article : Shigella sonnei, the main cause of bacillary dysentery in high-income countries, has become increasingly resistant to antibiotics. We monitored the antimicrobial susceptibility of 7121 *S. sonnei* isolates collected in France between 2005 and 2021. We detected a dramatic increase in the proportion of isolates simultaneously resistant to ciprofloxacin (CIP), third-generation cephalosporins (3GCs) and azithromycin (AZM) from 2015. Our genomic analysis of 164 such extensively drug-resistant (XDR) isolates identified 13 different clusters within CIP-resistant sublineage 3.6.1, which was selected in South Asia ~15 years ago (Figure 26). AZM resistance was subsequently acquired, principally through IncFII (pKSR100-like) plasmids. The last step in the development of the XDR phenotype involved various extended-spectrum beta-lactamase genes (blactx-M-3, blactx-M-15, blactx-M-27, blactx-M-55 et blactx-M-134) carried by different plasmids (IncFII, IncI1, IncB/O/K/Z) or even integrated into the chromosome, and encoding resistance to 3GCs. This rapid emergence of XDR *S. sonnei*, including an international epidemic strain, is alarming, and good laboratory-based surveillance of shigellosis will be crucial for informed decision-making and appropriate public health action.

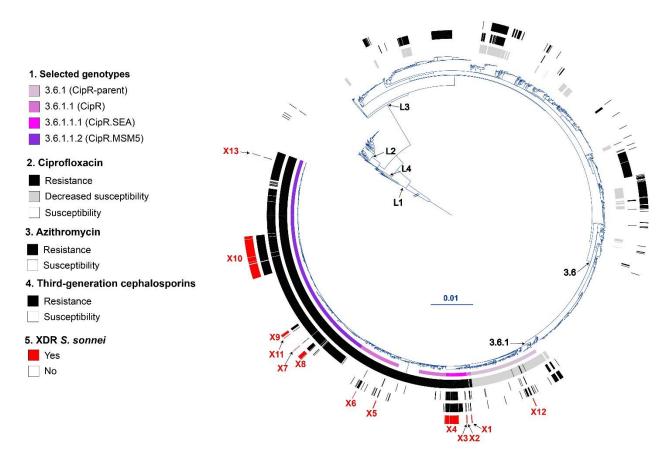


Figure 26. Arbre phylogénétique de 3141 S. sonnei avec mise en évidence des 13 « clusters » de souches XDR

Histoire génomique de S. enterica sérotype Paratyphi B

En collaboration avec de nombreuses institutions au Royaume Uni, Irlande, Allemagne, Etats-Unis, Japon, Chine, Russie et Australie.

S. enterica sérotype Paratyphi B du groupe phylogénétique 1, l'agent de la fièvre paratyphoïde B, est une bactérie peu étudiée. Pour mieux comprendre la phylogéographie et l'évolution génétique de ce pathogène invasif, nous avons étudié 568 génomes issus de souches humaines, animales et environnementales isolées de 42 pays entre 1898 et 2021. Onze lignées génétiques ont été identifiées avec une forte structuration phylogéographique. Un outil de génotypage basé sur des SNP a été mis au point permettant de subdiviser rapidement Paratyphi B en 38 génotypes. Le génotype le plus fréquemment retrouvé en Europe et en Amérique du Nord ces dernières années était le 10.3.6_SouthAmerica associé à des séjours au Pérou, Bolivie et Argentine. Cet outil sera utilisé en routine au CNR-ESS prochainement (**Figure 27**).

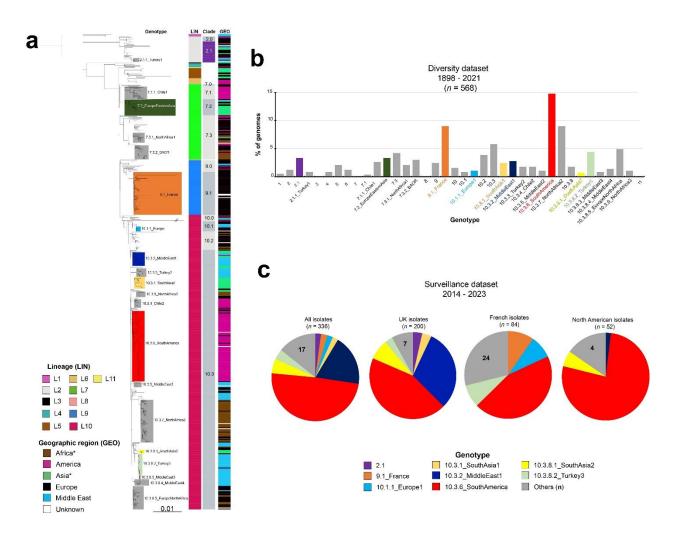


Figure 27. Arbre phylogénétique de *S. enterica* sérotype Paratyphi B et distribution des génotypes (manuscrit en préparation)

Épidémiologie génomique de S. enterica sérotype Napoli

En collaboration avec L. Villa (Istituto Superiore di Sanità, Italie) et R. Stephan (Université de Zurich, Suisse)

Une étude précédente rapportait que 87 % des cas causés par *S. enterica* sérotype Napoli, un sérotype peu fréquent en Europe entre 2000 et 2006, provenaient de trois pays : la France, l'Italie et la Suisse. Le nombre de cas avait augmenté de 140% au cours de cette période, mais aucun facteur unique n'avait été identifié comme responsable de cette augmentation. Les cas français provenaient de deux foyers principaux, situés dans l'ouest et le sud-est du pays, le foyer du sud-est étant situé près de la frontière italienne. La grande diversité génétique de cette population bactérienne (évaluée par électrophorèse en champ pulsé à l'époque), sa sensibilité aux antibiotiques, le fait que les cas ne surviennent qu'en saison estivale, avec des fluctuations interannuelles (par exemple, de 78 à 149 cas par an entre 2015 et 2018 en France) et l'extrême rareté des épidémies d'origine alimentaire suggèrent la possibilité d'une source environnementale ou d'un réservoir reptilien pour *S. enterica* sérotype Napoli. Nous avons appliqué des méthodes phylogénomiques sur 1200 séquences génomiques d'isolats historiques et contemporains de France, d'Italie et de Suisse, afin d'étudier la structure des populations et l'évolution génétique de ce pathogène (**Figure 28**).

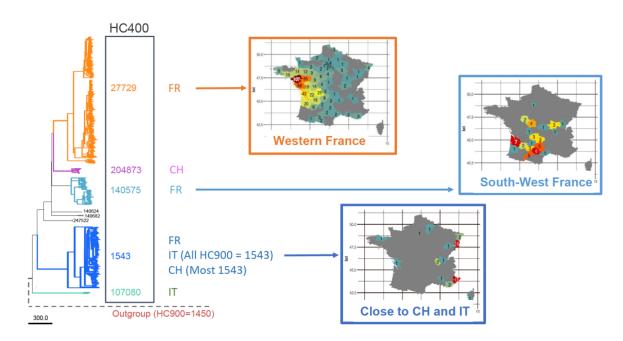


Figure 28. Analyse phylogénétique de S. enterica sérotype Napoli (manuscrit en préparation)

Populations historiques des Escherichia coli entéropathogènes (EPEC) en Europe

Les Escherichia coli entéropathogènes (EPEC) étaient une cause fréquente d'infections diarrhéiques sévères chez les enfants en France, et ailleurs en Europe, avant les années 1980. Nous avons étudié une collection unique de plus de 20 000 EPEC collectés en France et dans d'autres pays européens entre la fin des années 1940 et les années 1970, afin de mieux comprendre la structure des populations de ce pathogène historique, toujours présents dans les pays à faible revenu. De plus, comme les antibiotiques étaient largement utilisés pour traiter ces infections depuis les années 1940, il était intéressant d'étudier la dynamique d'acquisition des déterminants de résistance chez ce pathogène au début de l'ère antibiotique. Pour ce projet, nous avons déjà réalisé un séquençage du génome entier et des tests de sensibilité aux antimicrobiens sur une sélection de 700 EPEC représentatifs des différents sérotypes circulant en France et dans d'autres pays européens entre 1950 et 1979 (Figure 29).

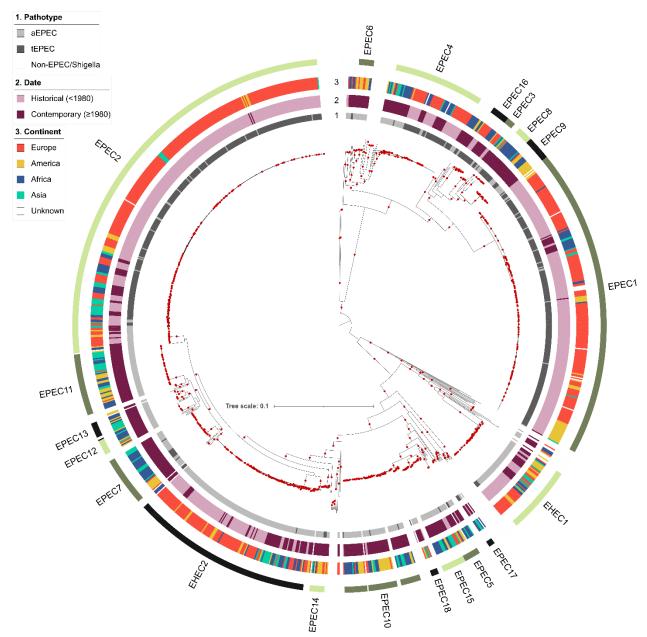


Figure 29. Analyse phylogénétique de 1302 souches historiques et contemporaines de EPEC (manuscrit en préparation)

Phylogéographie de S. enterica sérotype Panama

En collaboration avec J. Hinton et K. Baker (Université de Liverpool, Royaume Uni)

S. enterica sérotype Panama est le sérotype le plus fréquemment isolé chez l'homme aux Antilles et en Guyane française, probablement en raison d'un contact étroit entre l'homme et les reptiles, connus pour héberger cette population bactérienne. Ce sérotype est associé à des infections sévères, notamment des septicémies et des infections du liquide céphalo-rachidien. S. enterica sérotype Panama reste très rare en France métropolitaine, mais a provoqué une épidémie prolongée dans les années 1970. Nous avons séquencé 754 isolats de S. enterica sérotype Panama de diverses sources (humains et reptiles) collectés dans le monde (45 pays) entre 1931 et 2019, pour définir la structure des populations, déterminer la dynamique globale de la population de ce pathogène, détecter les tendances de la résistance aux antibiotiques et étudier ses capacités d'invasion (**Figure 30**).

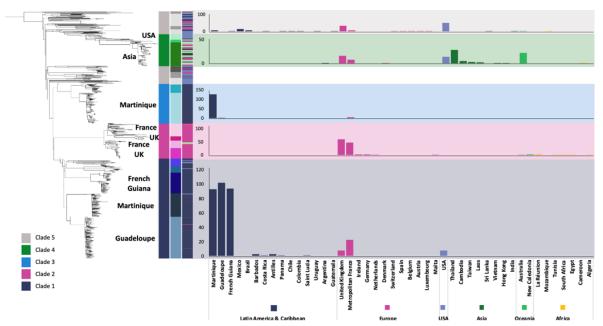


Figure 30. Analyse phylogénétique de S. enterica sérotype Panama (manuscrit en préparation)

CNR-LA

- Accueil depuis Juin 2022 d'un doctorant poste d'accueil INSERM, Dr Guillaume Geslain : « Caractérisation moléculaire des *E.coli* responsables de méningites néonatales et mise en évidence de cibles vaccinales » .
 Financement obtenu dans le cadre d'une ANR en partenariat avec l'équipe de recherche du Dr Skurnik (CHU Necker)
- Novembre 2021- Novembre 2022 : Accueil Master 2, Dr Clotilde Legouge : « Analyse du microbiote de patients infectés par *E.coli* enterohémorragiques et prédictif d'une évolution vers un syndrome hémolytique et urémique »
- Collaboration avec le service de Néphrologie adulte du CHU Necker : Etude multicentrique de 35 SHU adultes transplantés rénaux et mise en évidence du rôle majeur du clone O80 :H2 dans cette population

 Thèse d'exercice du Dr Celie Malaure : « Emergence du clone de E.coli ST1193 hypervirulent et multirésistant responsables d'infections néonatales précoces en lle de France » Soumis pour publication dans Emerging infectious disease.

8.2 Liste des publications et communications <u>de l'année N</u>, concernant <u>uniquement</u> celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

Nombre de publications internationales : 12

Nombre de publications mentionnant les financements de Santé publique France : 1

Nombre de publications avec coauteurs de Santé publique France : 3

Publications nationales

 Cointe A, Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S. Conduite à tenir et prise en charge d'un patient présentant une gastroentérite à Escherichia coli entérohémorragique. Revue de Biologie Médicale /N° 364 – 2021, Janv-Fev 2022.

Publications internationales

- Yassine I, <u>Lefèvre S</u>, Hansen EE, <u>Ruckly C</u>, <u>Carle I</u>, <u>Lejay-Collin M</u>, <u>Fabre L</u>, Rafei R, Clermont D, <u>Pardos de la Gandara M</u>, Dabboussi F, Thomson NR, <u>Weill FX</u>. Population structure analysis and laboratory monitoring of *Shigella* by core-genome multilocus sequence typing. Nat Commun. 2022 Jan 27;13(1):551.
- Bizot E, <u>Cointe A</u>, Smadja N, Sergentet D, <u>Lefèvre S</u>, <u>Weill FX</u>, Levy C, Cohen R, <u>Mariani-Kurkdjian P</u>, <u>Bonacorsi S</u>. Improved Molecular Diagnosis and Culture of the Emerging Heteropathotype Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O80:H2 Using Its Non-Melibiose-Fermenting and Antibiotic-Resistance Properties. J Clin Microbiol. 2022 Jan 19;60(1):e0153021.
- Bizot E, <u>Cointe A</u>, <u>Bidet P</u>, <u>Mariani-Kurkdjian P</u>, Hobson CA, <u>Courroux C</u>, <u>Liguori S</u>, Bridier-Nahmias A, Magnan M, Merimèche M, Caméléna F, Berçot B, <u>Weill FX</u>, <u>Lefèvre S</u>, <u>Bonacorsi S</u>, Birgy A. Azithromycin Resistance in Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in France between 2004 and 2020 and Detection of *mef(C)-mph(G)* Genes. Antimicrob Agents Chemother. 2022 Feb 15;66(2):e0194921.
- 4. Cherchame E, Guillier L, Lailler R, Vignaud ML, Jourdan-Da Silva N, <u>Le Hello S</u>, <u>Weill FX</u>, Cadel-Six S. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Welikade: guideline for phylogenetic analysis of serovars rarely involved in foodborne outbreaks. BMC Genomics. 2022 Mar 19;23(1):217.
- 5. Larkin L, <u>Pardos de la Gandara M</u>, Hoban A, Pulford C, Jourdan-Da Silva N, de Valk H, Browning L, Falkenhorst G, Simon S, Lachmann R, Dryselius R, Karamehmedovic N, Börjesson S, van Cauteren D, Laisnez V, Mattheus W, Pijnacker R, van den Beld M, Mossong J, Ragimbeau C, Vergison A, Thorstensen Brandal L, Lange H, Garvey P, Nielsen CS, Herrera León S, Varela C, Chattaway M, <u>Weill FX</u>, Brown D, McKeown P. Investigation of an international outbreak of multidrug-resistant monophasic *Salmonella* Typhimurium associated with chocolate products, EU/EEA and United Kingdom, February to April 2022. Euro Surveill. 2022 Apr;27(15):2200314.
- 6. Truong J, Cointe A, Le Roux E, Bidet P, Michel M, Boize J, <u>Mariani-Kurkdjian P</u>, Caseris M, Hobson CA, Desmarest M, Titomanlio L, Faye A, <u>Bonacorsi S</u>. Clinical impact of a gastrointestinal PCR panel in children with infectious diarrhoea. Arch Dis Child. 2022 Jun;107(6):601-605.

- 7. De Sousa Violante M, Podeur G, Michel V, Guillier L, Radomski N, Lailler R, <u>Le Hello S, Weill FX</u>, Mistou MY, Mallet L. A retrospective and regional approach assessing the genomic diversity of *Salmonella* Dublin. NAR Genom Bioinform. 2022 Jul 9;4(3):lgac047.
- 8. Minary K, Tanne C, Kwon T, Faudeux C, Clave S, Langevin L, Pietrement C, Enoch C, Parmentier C, Mariani-Kurkdjian P, Weill FX, Jones G, Djouadi N, Morin D, Fila M. Outbreak of hemolytic uremic syndrome with unusually severe clinical presentation caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26:H11 in France. Arch Pediatr. 2022 Aug;29(6):448-452.
- 9. Moussiegt A, Birgy A, Cointe A, Duval X, Bidet P, Bonacorsi S. Escherichia coli community-acquired meningitis in adults: a case series of 29 patients in France. Clin Microbiol Infect. 2022 Sep;28(9):1304-1305.
- 10. Falay D, Hardy L, Tanzito J, Lunguya O, Bonebe E, Peeters M, Mattheus W, Van Geet C, Verheyen E, Akaibe D, Katuala P, Ngbonda D, <u>Weill FX</u>, <u>Pardos de la Gandara M</u>, Jacobs J. Urban rats as carriers of invasive *Salmonella* Typhimurium sequence type 313, Kisangani, Democratic Republic of Congo. PLoS Negl Trop Dis. 2022 Sep 6;16(9):e0010740.
- 11. Li Y, Teng L, Xu X, Li X, Peng X, Zhou X, Du J, Tang Y, Jiang Z, Wang Z, Jia C, Müller A, Kehrenberg C, Wang H, Wu B, Weill FX, Yue M. A nontyphoidal Salmonella serovar domestication accompanying enhanced niche adaptation. EMBO Mol Med. 2022 Nov 8;14(11):e16366.
- 12. Tack B, Phoba MF, Thong P, Lompo P, Hupko C, Desmet S, Martiny D, Mattheus W, <u>Pardos de la Gandara M</u>, Mbuyi-Kalonji L, Kuijpers L, Prevost B, Barbé B, Vandenberg O, Lunguya O, Ruiz J, Jacobs J, Hardy L. Epidemiological cut-off value and antibiotic susceptibility test methods for azithromycin in a collection of multi-country invasive non-typhoidal *Salmonella*. Clin Microbiol Infect. 2022 Dec;28(12):1615-1623.

Communications internationales

- Frézal L, Bloemberg G, Villa L, Bonifait L, Cadel-Six S, <u>Accou-Demartin M</u>, <u>Fabre L</u>, Njamkepo E, Baugé L, Yvon C, Leclerc V, Chemaly M, <u>Pardos de la Gándara M</u>, Stephan R, Carattoli A, <u>Weill FX</u>. Communication orale: The whole-genome based population analysis of *Salmonella enterica* serovar Napoli. I3S International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis (I3S). Saint-Malo, France, 20-22 June 2022.
- 2. Njamkepo E, <u>Ravel M</u>, <u>Pardos de la Gándara M</u>, Stephan R, Carattoli A, <u>Weill FX</u>. Communication orale: Extensively drug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhi isolates in France. I3S International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis (I3S). Saint-Malo, France, 20-22 June 2022.
- 3. Pulford C, Perez-Sepulveda B, Bengtsson R, Bennett R, Wenner N, Ingle D, <u>Pardos de la Gandara M</u>, Stenhouse G, De Silva P. M, Chattaway MA, Williamson D, H, <u>Weill FX</u>, Baker K. Communication orale: The genomic epidemiology of *Salmonella* Panama an understudied serovar responsible for extraintestinal infections globally. I3S International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis (I3S). Saint-Malo, France, 20-22 June 2022.
- 4. Takkinen J, Pardos de la Gandara M, Fabre L, Brown D, Painset A, Herrera-León S, Jacqueline C, Varela Martínez C, Litrup E, Müller L, Thorstensen Brandal L, Lange H, Pijnacker R, Tolar B, Sarno E, Rossi M, Jernberg C, Weill FX, Jourdan Da Silva N and the Study Group (Alm E, Browning L, Chattaway MA, de Valk H, Larkin L, McCormick J, McKeown P, Pulford C, Rizzi V. Communication orale: One-Health approach to tackling endemic Salmonella Enteritidis ST11 circulation in the EU/EEA and the United Kingdom. I3S International Symposium Salmonella and Salmonellosis (I3S). Saint-Malo, France, 20-22 June 2022.
- 5. Yvon C, Douarre PE, Leclerc V, Leblanc JC, Bonifait L, Chemaly M, Bauge L, <u>Weill FX</u>, <u>Pardos de la Gandara M</u>, Cadel-Six, S. Communication orale : Study of the genomic diversity of *Salmonella* Agona in France: a

- persistent serotype? I3S International Symposium Salmonella and Salmonellosis (I3S). Saint-Malo, France, 20-22 June 2022.
- 6. Litrup E, Gymoese P, Holtsmark Nielsen S, <u>Pardos de la Gandara M</u>, on behalf of the Adonis study group. Poster: OH-EJP ADONIS Project: A genomic approach to the assessment of international non-decrease of *S. enterica* serotype Enteritidis in poultry across Europe. I3S International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis (I3S). Saint-Malo, France, 20-22 June 2022
- 7. Vignaud ML, Noel V, Bonifait L, <u>Pardos de la Gandara M</u>, Amat JP, Moury F, Leblanc JC, Lailler R, Danan C, Leclerc V. Poster: Combined approach of time series and genomic analyses to characterize a *Salmonella* Goldcoast increase in the French poultry sector. I3S International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis (I3S). Saint-Malo, France, 20-22 June 2022.
- 8. Krug C, Jourdan-Da Silva N, Tourdjman M, <u>Mariani-Kurkdjian P</u>, <u>Cointe A</u>, <u>Lefevre S</u>, Belichon S, Postic P, Fredriksen N, Bernabe M, Herber H, Sergentet D, Ganet S, Faure-Bondat A, Debin M, Kengne-Kuetche C, Horrigue I, Chereau F, Noel H, de Valk H, <u>Bonacorsi S</u>, <u>Weill FX</u>, Jones G. Poster: Outbreak of STEC-HUS infections associated with frozen pizzas France, 2022. European Scientific Conference on Applied Infectious Disease Epidemiology (ESCAIDE), 23-25 November 2022.

9. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux

9.1 CNR-ESS

Le CNR-ESS collabore avec les laboratoires de l'Anses, en particulier le Laboratoire de sécurité sanitaire des aliments de Maisons-Alfort et le LNR Salmonella à Ploufragan pour ce qui concerne les Salmonella et avec le laboratoire LNR-E. coli de VetAgroSup à Lyon à Lyon pour les E. coli (EHEC) et les Shigella.

Le CNR-ESS apporte son expertise sur le typage et sur l'utilisation du cgMLST sur EnteroBase à ces laboratoires et participent conjointement aux investigations épidémiologiques.

Le CNR-ESS participe depuis 2022 dans le **Projet SalmoSurv**, lancé par l'Anses (plateformes nationales d'épidémiosurveillance en santé animale —ESA— et de surveillance sanitaire de la chaîne alimentaire —SCA—). Il s'agit d'un groupe pérenne, dédié à l'amélioration de la surveillance des salmonelles en France, et transversal aux maillons de la chaîne alimentaire et aux filières de production porcine, bovine et avicoles, avec la participation de Santé publique France et le CNR-ESS pour compléter le périmètre Santé Globale : https://www.plateforme-esa.fr/fr/salmonelles-volailles-en-elevage

9.2 CNR-LA

Le **CNR-LA**, en collaboration avec SpF contribue à la surveillance internationale et en particulier européenne notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonose 2003/99/CE.

Collaboration avec les structures en charge de la surveillance ou réalisation d'études ponctuelles sur les STEC chez l'animal, dans les aliments et dans l'environnement (échanges de souches, etc.), et notamment le LNR de VetAgroSup et l'Anses de Maisons Alfort. En collaboration avec SpF, les cas de SHU à *E. coli* O80 seront plus particulièrement investigués par un questionnaire exhaustif permettant la recherche d'une source de contamination alimentaire ou environnementale. Les méthodes de diagnostic, développées par le CNR-LA (Milieu de culture et PCR TR spécifiques) permettant d'améliorer la détection des EHEC O80 vont être testées par le LNR de VetAgroSup afin de cribler à grande échelle les matrices alimentaires et d'identifier le réservoir encore inconnu de ce sérogroupe émergent.

10. Programme d'activité pour les années suivantes

10.1 Expertise:

- en contribuant au développement des méthodes de typage, en particulier moléculaire et génomique ;
- en identifiant et typant les souches ;
- en suivant l'évolution de la résistance des shigelles et salmonelles aux antibiotiques et en étudiant les mécanismes de résistance, en collaboration avec le CNR Résistances aux antibiotiques.

10.2 Conseil:

Le CNR-ESS continuera de diffuser ses données ou son expertise par des rapports, cours, ateliers (tels ceux de Santé publique France ou de l'OMS), conférences, bulletins du contrôle national de qualité, publications scientifiques nationales et internationale.

10.3 Contribution à la surveillance épidémiologique et à l'alerte:

- en suivant les tendances évolutives spatio-temporelles des différentes espèces de shigelles et sérotypes de salmonelles, en s'appuyant sur un réseau de laboratoires de biologie médicale sur tout le territoire ;
- en détectant précocement les épisodes épidémiques, par la caractérisation des souches par la méthode de typage la plus adaptée, en particulier génomique, et par le développement de seuils d'alerte ;
- en signalant à l'agence nationale de santé publique les foyers de cas groupés et les suspicions de TIAC notifiés au CNR ;
- en participant à l'investigation des épisodes épidémiques et en réalisant la comparaison des souches isolées chez les malades et dans d'autres sources notamment alimentaires avec des méthodes discriminantes, en particulier génomiques ;
- en développant la capacité, lors de la survenue d'une épidémie, de réaliser rapidement un typage le plus discriminant possible (adapté en fonction du sérotype en cause) des souches concernées afin de rapidement différencier les cas épidémiques et non épidémiques ;
- en collaborant avec les organismes compétents dans le domaine des salmonelles chez l'animal, dans les aliments et l'environnement, en particulier les LNR *Salmonella* spp et Salmonelloses aviaires ;
- en collaborant avec les réseaux de surveillance internationaux et en particulier européens notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonoses 2003/99/CE ;
- en signalant à l'agence nationale de santé publique tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, survenue de cas groupés, modification des profils de résistance, apparition de souches inhabituelles, modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles), etc.

1. Annexe 1: Missions & organisation du CNR

1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Comme il est indiqué sur le site de Santé publique France :

https://www.santepubliquefrance.fr/a-propos/nos-principes-fondateurs/centres-nationaux-de-reference-pour-la-lutte-contre-les-maladies-transmissibles-cnr:

Les Centres nationaux de référence (CNR) ont pour mission (Arrêté du 2 mars 2022) :

L'expertise

• Identification et caractérisation des souches adressées par les laboratoires d'analyse et de biologie médicale

Identification ou confirmation en tant que de besoin d'espèces courantes pour lesquelles les techniques d'identification ne sont pas disponibles. Les CNR effectuent cette identification tant que cette technique n'est pas diffusée aux laboratoires, notamment ceux désignés par les Agences régionales de santé (ARS). Les identifications de souches courantes et les diagnostics sérologiques qui constituent des activités habituelles de diagnostic des laboratoires d'analyse de biologie médicale ne sont confiés aux CNR que de façon exceptionnelle et, dans ce cas, donnent lieu à facturation ;

Caractérisation génotypique et/ou phénotypique des souches des agents pathogènes dont ils ont la charge, en propre ou de manière collaborative dans le cadre d'une approche en réseau. L'expertise des CNR peut être sollicitée en urgence par les autorités sanitaires.

Maintien et détention des techniques de diagnostic et/ou d'identification et de caractérisation

Les CNR assurent la gestion des échantillons biologiques collectés et des bases de données qui leur sont relatives dans les conditions mentionnées à l'article L. 1413-8 du code de la santé publique pendant la durée de leur mandat. Ces échantillons restent la propriété de l'Etat. Si la structure hébergeant un CNR est amenée à changer, notamment lors d'un nouveau mandat, ces collections de souches types, antigènes ou immuns-sérums de référence, marqueurs épidémiologiques, sérologiques et moléculaires et bases de données sont transférées au laboratoire nouvellement nommé CNR.

Développement ou validation de tests diagnostiques

Participation au développement, à l'optimisation, à la validation, à la diffusion et aux recommandations concernant les examens de biologie médicale (techniques de diagnostic, d'identification et/ou de typage) relatifs aux agents pathogènes dont ils ont la charge.

Pour les agents pathogènes émergents nécessitant des mesures urgentes de contrôle des épidémies, les CNR concernés assurent le développement et/ou la validation des techniques diagnostiques, et contribuent à leur diffusion, dans les meilleurs délais et à la demande du ministère en charge de la santé. Dans la mesure du possible, ils contribuent aux procédures d'inscription de ces techniques au référentiel des actes innovants hors nomenclature (RIHN) ou à la nomenclature des actes de biologie médicale (NABM).

Le CNR peut être amené à assurer une distribution des réactifs de référence si ceux-ci ne sont pas disponibles. Dans ce cas, face à un risque pour la santé publique, les autorités sanitaires peuvent s'appuyer sur des opérateurs publics ou privés afin d'assurer une production et une distribution de réactifs en nombre suffisant, en sollicitant l'appui

du CNR en tant que de besoin (expertise, accès à l'échantillothèque, développement et validation d'une technique diagnostique).

Le CNR doit prévoir un plan de montée en charge en cas de situation sanitaire exceptionnelle, notamment pour faire face à un afflux d'échantillons.

Ils participent également aux activités suivantes dont les attendus sont précisés dans les cahiers des charges spécifiques.

- Contribution à l'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux et à la définition des seuils de résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux. Les CNR doivent alimenter les bases de données internationales dans ce domaine.
- Participation à l'évaluation des procédures d'inactivation des agents pathogènes.
- Information, formation et, le cas échéant, élaboration et publication de guides techniques.
- Les CNR pourront être sollicités par les agences sanitaires et partenaires institutionnels pour apporter leur expertise, dans la mesure de leurs moyens, dans le cadre d'évaluation de risque (ex : risque transfusionnel, campagne de vaccination) ou de mesures de gestion en lien avec les partenaires

Le conseil

- aux professionnels de santé;
- auprès du ministère chargé de la santé, des agences régionales de santé, de l'Agence nationale de santé publique, des autres agences de sécurité sanitaire, de la Haute Autorité de santé (HAS), du Haut Conseil pour la santé publique (HCSP);
- participation à l'élaboration de mesures de prévention et de contrôle des maladies infectieuses ;
- réponse aux demandes d'expertise ou à des enquêtes.

La contribution à la surveillance épidémiologique

Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

Les CNR réalisent les analyses nécessaires à la surveillance des agents pathogènes dont ils ont la charge, notamment la caractérisation de souches. Ils animent également un réseau de laboratoires correspondants qui réalisent certaines de ces analyses, et en centralisent les résultats.

Les CNR qui participent à la surveillance d'une infection doivent, au minimum, contribuer à renseigner les données pertinentes sociodémographiques, épidémiologiques (ex : exposition, notion de cas groupés, origine associée aux soins, résistance aux anti-infectieux...) et de prise en charge, en coordination avec l'Agence nationale de santé publique. Les CNR veilleront par ailleurs à la représentativité des cas identifiés selon les critères suivants :

- géographique;
- lieu et mode de prise en charge ;
- sélection de souches particulières présentant des difficultés d'identification ;

Pour les infections peu fréquentes, les CNR doivent inciter activement les laboratoires à leur adresser l'ensemble des souches isolées en France.

Ils participent également aux activités suivantes dont les attendus sont précisés dans les cahiers des charges spécifiques.

- Participation à la surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux via le recueil de données microbiologiques et clinico-épidémiologiques adapté selon les agents pathogènes.
- Contribution à la détection d'infections associées aux soins et à l'analyse/investigation des phénomènes épidémiques en lien avec les Centres d'appui pour la prévention des infections associées aux soins (CPIAS), l'Agence nationale de santé publique et les agences régionales de santé.
- Contribution à l'étude de la couverture immunitaire d'une population protégée ou non par un ou plusieurs vaccins et de son évolution.
- Participation à l'investigation de phénomènes épidémiques (typage de souches, comparaison de souches isolées chez les malades et d'autres sources).
- Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens, et à l'alimentation des bases de données s'y rattachant.
- Contribution à des enquêtes ponctuelles à la demande du ministère chargé de la santé ou de l'Agence nationale de santé publique.

L'alerte

- Signalement sans délai de tout phénomène pouvant engendrer un risque pour la santé publique à l'Agence nationale de santé publique, à la direction générale de la santé (DGS) et, le cas échéant, aux ARS concernées, notamment :
 - o augmentation de la fréquence d'isolement d'un agent pathogène, ou signalement de cas groupés d'une maladie :
 - identification d'un agent pathogène nouveau, rare ou émergent (coronavirus, poliovirus, virus Ebola, etc.) ou d'une variation ou mutation d'un agent pathogène connu pouvant lui conférer un avantage sélectif;
 - o apparition de nouvelles formes cliniques ou de pathologies dans de nouvelles populations ;
 - informations concernant des événements de même nature dans des pays étrangers.

Les missions propres à chaque CNR sont détaillées dans un cahier des charges spécifiques (<u>format.pdf</u>) conforme à un cahier des charges type défini par l'<u>arrêté du 2 mars 2022</u>. Pour assurer certaines de ses missions, un CNR peut s'appuyer sur un ou plusieurs (maximum trois) laboratoires dits « laboratoires associés ». Dans ce cas, le responsable du CNR est chargé de la coordination de l'ensemble des activités des laboratoires associés et rend à Santé publique France un rapport annuel faisant la synthèse des activités réalisées par les différents laboratoires (<u>Décret n° 2022-1770 du 30 décembre 2022</u>).

Les laboratoires exerçant les seules missions mentionnées aux 1° et 2° sont désignés " Centres nationaux de référence-Laboratoires experts » conformément à l'Article D1413-46.

1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

CNR-ESS

Effectif par catégories de fonctions

L'Unité de Recherche et d'Expertise des Bactéries Pathogènes Entériques (UBPE) a été créée en 2010 et a remplacé le laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques. Cette unité est dirigée par le Pr François-Xavier Weill et regroupe le CNR-ESS, le CNR des Vibrions et du choléra et le Centre Collaborateur de l'OMS pour les *Salmonella*. Le personnel du CNR-ESS est réparti de la façon suivante :

ETAT DES EMPLOIS DESTINES DU CNR-ESS

NOM et Prénom	Qualification/Statut	ETP
WEILL François-Xavier	Professeur (Responsable du CNR)	0,10
PARDOS DE LA GÁNDARA María	Ingénieure de recherche experte (Responsable adjointe)	0,50
LEFÈVRE Sophie	Cadre médicale (Responsable adjointe)	0,90
FABRE Laëtitia	Ingénieure de recherche confirmée	0,50
CARLE Isabelle	Technicienne supérieure de recherche	0,75
DEMOËN Chantal puis SELMANI Nabila	Technicienne de recherche	0,75
GUIBERT Véronique	Technicienne supérieure de recherche	0,75
LEJAY-COLLIN Monique	Technicienne supérieure de recherche	0,75
RAVEL Magali	Technicienne supérieure de recherche	0,75
RUCKLY Corinne	Technicienne supérieure de recherche	0,75
SERRE Estelle	Technicienne supérieure de recherche	0,90
GASTON Carole puis BELLENGER Christelle	Technicienne administrative	1,00
JUGLAS Florence puis DUVERNÉ-POLILAT Valérie	Technicienne supérieure administrative	0,30

ETP, équivalent temps plein

Les responsables scientifiques

François-Xavier Weill

Docteur en médecine, DES de Biologie médicale, Doctorat d'université en Microbiologie, ancien Assistant Hospitalier Universitaire (Bordeaux). Habilitation à diriger les recherches (Paris V).

Sophie Lefèvre

Docteur en pharmacie, DES de Pharmacie spécialisée, Doctorat d'université en Microbiologie, ancienne Assistante Hospitalier Universitaire (Strasbourg).

María Pardos de la Gándara

Médecin spécialiste en Microbiologie et Parasitologie (Saragosse, Espagne), Doctorat d'université en Microbiologie, Médecine Préventive et Santé Publique (Saragosse, Espagne), ancienne Assistante Hospitalière (CHU Lozano Blesa, Saragosse, Espagne).

Le personnel technique

- Techniciens effectuant les analyses :
- Laëtitia Fabre, Ingénieure de Recherche, Doctorat d'université en Microbiologie, arrivée au CNR-ESS en juillet 2002.
 - Véronique Guibert, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CNR-ESS en avril 1995.
 - Corinne Ruckly, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CNR-ESS en février 2011.
 - Monique Lejay-Collin, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CNR-ESS en novembre 1987.
 - Isabelle Carle, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CNR-ESS en octobre 1988.
 - Estelle Serre, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CNR-ESS en septembre 2016.
 - Magali Ravel, technicienne supérieure de recherche, arrivée au CNR-ESS en février 2016.
- > Technicien du laboratoire de préparation réalisant les milieux spéciaux pour le CNR-ESS :
- **Chantal Demoën**, technicienne de recherche, arrivée au CNR-ESS en mars 2015 et remplacée en novembre 2022 par **Nabila Selmani**, technicienne de recherche.
- > Technicien du Centre Collaborateur OMS, décrivant les nouveaux sérotypes et développant de nouvelles techniques pour le CNR :
 - Sylvie Issenhuth-Jeanjean, technicienne supérieure de recherche, arrivée en octobre 1987.

Le personnel administratif

- Carole Gaston, secrétaire du CNR-ESS, arrivée au CNR-ESS en novembre 2016 et remplacée en mai 2022 par Christelle Bellenger.
- Florence Juglas, assistante de l'unité BPE, arrivée en mars 2018 et remplacée en mai 2022 par Valérie Duverné-Polilat.

CNR-LA

Effectif par catégories de fonctions

Nom - Prénom	Libellé Emploi	ETP
M. BONACORSI Stéphane	PU-PH	0,2
Mme MARIANI-KURKDJIAN Patricia	Pr associé - PH	0,2
Mr BIDET Philippe	MCU-PH	0,1
Mme COINTE Aurélie	AHU	0,1
Mme LIGUORI Sandrine	ARC	1

ETP, équivalent temps plein

1.3 Locaux et équipements

CNR-ESS

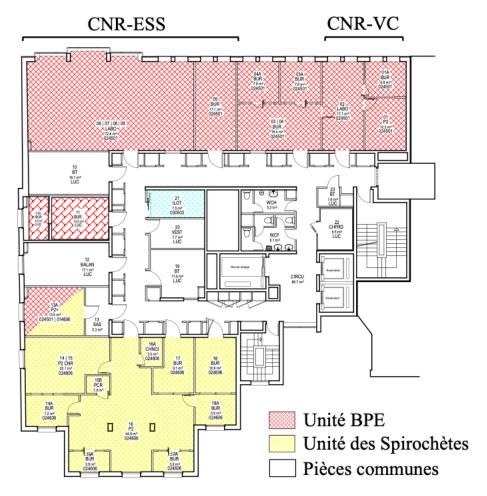
Le CNR-ESS est hébergé dans l'Unité des Bactéries pathogènes entériques, localisée dans le bâtiment BioTop de l'Institut Pasteur.

Les locaux se trouveront principalement au 3ème étage de ce bâtiment (Figure 31) :

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

D'autres locaux sont localisés à différents étages du bâtiment BioTop :

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



Bâtiment BioTop de l'Institut Pasteur, 3ème étage

Figure 31. Plan des locaux du CNR-ESS

Le CNR-ESS dispose dans ses locaux :

- d'un équipement classique de laboratoire de bactériologie : becs Bunsen, étuves (30°C et 37°C), centrifugeuses...,
- de postes de sécurité microbiologique de type II (x4),
- d'un système automatisé de lecture et d'interprétation d'antibiogrammes SIRSCAN (I2A),
- d'un appareil pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques par la micro-méthode en dilution : Sensititre AIM avec le système VIZION (Trek Diagnostics System),

- de hottes pour la préparation des mélanges de PCR (x2), thermocycler (x 6), matériel d'électrophorèse en agarose, matériel pour l'hybridation des acides nucléiques, et d'un système de capture électronique des images de gel (Gel Doc XR+, BioRad),
- d'un appareil d'extraction semi-automatique de l'ADN bactérien (Maxwell 16 Mdx, Promega),
- d'un appareil de PCR en temps réel CFX96 (BioRad),
- d'un séquenceur d'ADN Long Read MinION Mk1C (Oxford Nanopore Technologies),
- d'un équipement informatique : 6 ordinateurs Macintosh, 11 PC et avec un accès au logiciel d'analyse BioNumerics (Applied Maths),
- d'étuves compartimentées avec agitation (Infors),
- d'une ultracentrifugeuse Beckman,
- de congélateurs à –80°C (x2).

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

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

Le CNR-ESS a également accès :

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

CNR-LA

Le CNR-LA est hébergé dans le Service de Microbiologie du CHU Robert-Debré (APHP ; Figure 32). Il comprend :

- Une pièce pour l'étude des selles avec un poste de sécurité microbiologique pour l'isolement et l'identification des *E. coli* (local dédié au Laboratoire Associé),
- Une pièce pré PCR avec poste de sécurité PCR (locaux communs),
- Une pièce PCR et d'extraction des acides nucléiques (locaux communs),
- Une pièce post-PCR dédiée aux électrophorèses en agarose (locaux communs),
- Une chambre froide (locaux communs).

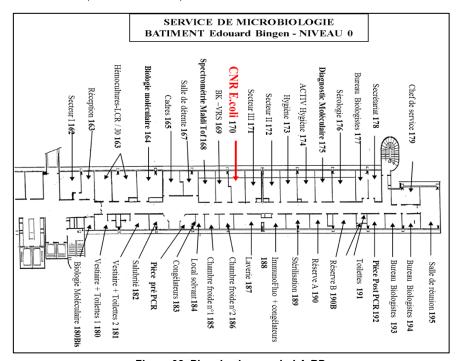


Figure 32. Plan des locaux du LA-RD

Le LA-RD dispose dans ses locaux du matériel suivant :

Matériel appartenant au laboratoire :

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

En commun:

- MALDI-TOF Microflex® de Bruker pour identification bactérienne
- Automates PCR Filmarray (Biofire®) et Qiastat (Qiagen®)
- Pièce pré PCR avec poste de sécurité PCR
- Une pièce climatisée comprenant :
 - o Thermocyclers (x 3)
 - Appareil PCR temps réel (CFX 96 et LC480)

- Pièce post PCR comprenant :
 - Matériel d'électrophorèse en agarose
 - Appareils de capture électronique des images (Gel docXRS /Biorad et Biocapture/Vilbert Lourmat)
- Laverie
- Réserve matériel en verre et matériel plastique à usage unique
- Chambre froide
- Congélateurs à –80°C (x 4)
- Logiciel de gestion des laboratoires (Lab400)
- Équipements informatiques de bureau en réseau protégé avec sauvegarde en salle informatique centrale de l'hôpital
- Bureaux médicaux

Moyens extérieurs à la structure :

Accès à la structure de recherche IAME et au séquenceur miniSeq pour séquençage ponctuel (Université Paris Diderot- Unité INSERM 1137)

1.4 Collections de matériel biologique

Conditions de stockage

CNR-ESS

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

CNR-LA

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

Conditions de mise à disposition

CNR-ESS

- Le CNR-ESS peut être amené à assurer une distribution de certaines souches, utilisées comme souches de référence (souches témoins de PCR par exemple) ou dans le cadre de collaborations scientifiques. L'accès aux souches et données associées collectées dans le cadre de l'activité des CNR se fait après accord des responsables du CNR-ESS. Il est conditionné par la mise en place de documents contractuels spécifiques en fonction de l'utilisation finale du matériel et de la nature industrielle ou académique du partenaire. Par exemple, un accord de transfert de matériel biologique (Material Transfer Agreement ou MTA) et un accord de collaboration peuvent être nécessaires selon la nature des interactions entre les deux parties. Ces accords pourront éventuellement donner lieu à une contrepartie financière limitée au remboursement des coûts induits pour l'obtention et la conservation du matériel biologique transféré, notamment pour objet d'assurer le transfert de la détention physique du matériel au partenaire.

- Il est bien entendu que l'utilisation du matériel biologique par le tiers est strictement limitée au projet initial.
- L'interdiction de l'utilisation du matériel biologique sur l'homme et sur les animaux, le cas échéant, est également stipulée dans l'accord. Le CNR-ESS n'assume aucune responsabilité quant à l'utilisation du matériel biologique par le partenaire.
- En termes de valorisation, l'Institut Pasteur s'assure que le CNR-ESS soit remercié ou associé dans chacune des publications et communications des résultats du projet. L'Institut Pasteur s'assure également dans certaines circonstances de la copropriété des résultats issus des travaux effectués sur le matériel biologique.
- A tout le moins, les résultats du projet sont systématiquement communiqués au CNR-ESS.

CNR-LA

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

1.5 Démarche qualité du laboratoire

CNR-ESS

Le CNR-ESS fait partie intégrante du Laboratoire de Référence et d'Expertise Multisite (LREMS), qui est accrédité selon les exigences de la norme NF EN ISO 15189, sous la section Humaine du COFRAC au numéro 8-2588. Le CNR-ESS possède un correspondant qualité qui anime cette démarche qualité. Des documents transversaux (manuel qualité et organigramme...) ainsi que des procédures générales sont utilisés au sein du LREMS, et donc par le CNR-ESS pour assurer un fonctionnement commun dans le cadre de cette démarche qualité. Les activités qui en relèvent sont conduites selon la norme NF EN ISO 15189.

CNR-LA

Le CNR-LA est engagé dans une démarche qualité pour ses activités spécifiques qui sont réalisées au sein du service de Microbiologie de l'hôpital Robert-Debré. De plus, en raison de l'obligation faite aux laboratoires de biologie de respecter la norme ISO15189, le service de Microbiologie ainsi que le Pôle de Biologie de l'hôpital Robert-Debré sont entrés dans la démarche d'accréditation en 2013. L'accréditation selon la norme ISO15189 a été obtenue en Juin 2014 pour les lignes de portées MG07, MG11 et MG12 (Accréditation COFRAC N°8-3318). En Janvier 2021 une demande d'extension de la ligne de portée BA02 pour l'analyse "LAMP sur Amplex *E coli* entérohémorragique" a été déposée et est en attente de la visite COFRAC prevue au cours du dernier trimester 2023. Toutes les procédures spécifiques à l'activité du laboratoire associé ont été rédigées : procédures générales, procédures pré-analytiques, analytiques, formation et habilitation du personnel.

Le CNR-LA et le CNR-ESS participent également chaque année depuis 2008 aux contrôles de qualité externe européens proposés par l'ECDC via le Statens Serum Institut (Copenhague, Danemark).

2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1 Liste des techniques de référence

Liste des techniques pour les Salmonella (CNR-ESS)

Techniques de culture bactérienne

- Culture sur différents milieux (Drigalski, TSA, BCP, XLT4, Hektoen, Kligler–Hajna, Mannitol-Mobilité).
- Technique phénotypique pour l'identification bactérienne
- Analyse par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF (Microflex, Bruker Daltonics).
- Techniques disponibles pour l'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques
- L'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé (*Enterobacteriaceae*) en suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) et de l'EUCAST, est la technique utilisée pour les *Salmonella* dites majeures (sérotypes Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B d-tartrate- et Paratyphi C). De 16 à 32 antibiotiques (BioRad) sont testés.
- La **détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)** de certains antibiotiques par la méthode **E-test** (BioMérieux). La détermination des CMI de l'acide nalidixique, de la ciprofloxacine et de l'azithromycine est réalisée systémiquement pour toutes les souches de *Salmonella* dites majeures. En fonction des résultats de l'antibiogramme, les CMI des céphalosporines de 3ème génération et des carbapénèmes peuvent être aussi déterminées.
- La **détermination des CMI** de certains antibiotiques par un système semi-automatisé de **microdilution en milieu liquide** (Sensititre, Trek Diagnostics Systems). Elle est réalisée chaque année sur un échantillon représentatif d'un millier de souches de *Salmonella* zoonotiques à l'aide de la plaque EUVSEC3 (contenant des antibiotiques définis comme critiques par l'ECDC et l'EFSA). Une seconde plaque (EUVSEC2) peut être utilisée en cas de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération ou aux carbapénèmes, détectées avec la première plaque.

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

Techniques disponibles pour le typage bactérien

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

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

- La **sous-espèce** de *Salmonella* (y compris les nouvelles, VII et VIII).
- Le **sérotype déduit** à partir de l'analyse de la région *rfb* (codant pour l'antigène O) et des gènes *fliC* et *fljB* codant pour les antigènes flagellaires.
- Le **ST7** (schéma de multilocus sequence typing (MLST) (Achtman et al. PLoS Pathogens 2012).
- Le type **CRISPOL** pour les souches de *S. enterica* sérotype Typhimurium et leur variant monophasique (Fabre *et al.* PLoS One 2012).
- La clusterisation parmi 12 différents groupes (de HC2 à HC2850) par la technique de **core-genome MLST** (schéma *Salmonella* d'EnteroBase, https://enterobase.warwick.ac.uk/) (Zhou *et al.* Bioinformatics 2021).
- Le contenu en **gènes de résistance aux antibiotiques** grâce à l'outil ResFinder du Center for Genomic Epidemiology (https://cge.food.dtu.dk/services/ResFinder/) (Zankari *et al.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2012).

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

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

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

Liste des techniques pour les Shigella/EIEC (CNR-ESS)

Techniques de culture bactérienne

- Culture sur différents milieux (Drigalski, TSA).
- Techniques d'orientation pour identifier les Shigella
- La recherche par **PCR** du gène *iudA*, codant pour la bêta-glucuronidase, la présence de ce gène permet de valider l'identification *E. coli Shigella*.
- La détection par **PCR des gènes codant pour l'invasivité** (*ial* et *ipaH*) et présents sur le chromosome et le plasmide de virulence des *Shigella*. Ces gènes sont aussi présents chez les *E. coli* entéro-invasifs (EIEC), mais ces derniers sont plus rares.
- Techniques pour l'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques
- L'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé (*Enterobacteriaceae*) en suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) et de l'EUCAST, est la technique utilisée pour toutes les souches de *Shigella* reçues au CNR-ESS. De 16 à 32 antibiotiques (BioRad) sont testés.
- La **détermination des CMI** de certains antibiotiques par la méthode **E-test** (BioMérieux). En fonction des résultats de l'antibiogramme, les CMI de l'acide nalidixique, de la ciprofloxacine, de l'azithromycine, des céphalosporines de 3^{ème} génération et des carbapénèmes peuvent être déterminées.

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

Techniques pour l'identification et le typage des Shigella

L'analyse génomique après WGS est la technique de première intention au CNR-ESS depuis octobre 2021.

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

- La **clusterisation** par la technique du **core-genome MLST** (schéma *E. coli/Shigella* d'EnteroBase). Les souches de *Shigella* sont ainsi divisées en clusters S1, S2, S3, SON, SD1, SB12, SD8 et SD10 sur la base du HC2000 (Yassine *et al.* Nature Communications 2022). Les clusters S1 et S2 sont eux même subdivisés en cinq (S1a-S1e) et six (S2a-S2f) sous-clusters sur la base du HC1100. Le cluster S3 (souches de *S. flexneri* 1-5, X et Y) est, quant à lui, subdivisé en sept « phylogroups (PG) » définis par Connor *et al.* (Elife 2015), ce qui est phylogénétiquement plus robuste que distinction basée sur les 18 sérotypes et sous-sérotypes de *S. flexneri* (du fait de l'instabilité des prophages et plasmides modifiant l'antigène O).
- Le **sérotype déduit** à l'aide de l'outil **ShigaPass** (Yassine *et al.* Microbial Genomics 2023) à partir de l'analyse de la région *rfb* (codant pour l'antigène O), du gène *fliC*, du ST7 (schéma MLST de *E. coli/Shigella* d'EnteroBase) et des spacers de la région CRISPR. Pour les souches de *S. flexneri* du cluster S3 (sérotypes 1-5, X et Y), le sérotypage *in silico* repose également sur la détection de différents prophages et plasmides modifiant l'antigène O.
- Un **génotypage de S. sonnei**, le sérotype prévalent en France, par la méthode de Hawkey *et al.* (Nature Communications 2021). Cette méthode repose sur la détection de 147 SNPs et classe les souches en lignées, clades, sous-clades, ... jusqu'à des clones d'intérêt avec une nomenclature informative (par exemple 3.6.1.1.2_CipR.MSM5 ou 3.7.30.4.1_OJC).
- Le contenu en **gènes de résistance aux antibiotiques** grâce à l'outil ResFinder du Center for Genomic Epidemiology (https://cge.food.dtu.dk/services/ResFinder/).

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

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

Liste des techniques pour les EHEC (CNR-ESS)

Depuis 2017, le CNR-ESS réalise l'**analyse génomique après WGS** de toutes les souches de EHEC adressées par le LA-CNR.

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

- Le **sérotype** *in silico* grâce à l'outil SerotypeFinder du Center for Genomic Epidemiology (https://cge.food.dtu.dk/services/SerotypeFinder/) (Joensen *et al.* Journal of Clinical Microbiology 2015)
- Les **gènes de virulence** de *E. coli* grâce à l'outil VirulenceFinder du Center for Genomic Epidemiology (https://cge.food.dtu.dk/services/VirulenceFinder/) (Joensen *et al.* Journal of Clinical Microbiology 2014), les variants du gène *stx* sont également déterminés par VirulenceFinder, ceux du gène *eae* le sont par un script interne.
- Le ST7 (schéma de multilocus sequence typing (MLST) pour E. coli/Shigella d'EnteroBase).
- La clusterisation parmi les groupes HC2, HC5, HC10, HC20 et HC50 par la technique de **core-genome MLST** (schéma *E. coli/Shigella* d'EnteroBase, https://enterobase.warwick.ac.uk/).
- Le contenu en **gènes de résistance aux antibiotiques** grâce à l'outil ResFinder du Center for Genomic Epidemiology (https://cge.food.dtu.dk/services/ResFinder/).

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

Les résultats de cette analyse génomique ne sont rendus qu'à SpF et au CNR-LA.

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

Techniques pour l'identification

- Mise en culture sur milieux spécifiques : Mac Conkey Sorbitol Cefixime Tellurite (BioMérieux), Milieu chromogène pour entérobactéries, milieu de Drigalski, Milieu chromogène STEC
- Identification par spectrométrie de masse MALDI TOF et éventuellement identification biochimique sur galerie API32E (BioMérieux)
- Détection optimisée par concentration des EHEC par Immunocapture
- PCR automatisée sur automates Mobidiag, Easyplex, Qiastat et BioFire en cas d'urgence et le WE.
- PCR conventionnelle et temps réel des gènes de virulence : stx1, stx2, eae, ehxA, saa
- Diagnostic des méningites à E. coli décapitées par une PCR triplex maison
- PCR multiplexes de 9 gènes de virulence caractéristiques des ExPEC
- Typage:
- Sérogroupage par PCR multiplex permettant de détecter les sérotypes les plus fréquemment retrouvés dans les pathologies liées aux EHEC : O157, O26, O111, O55, O91, O103, O145, O80.
- Sérogroupage par PCR multiplex permettant de détecter ceux liés aux ExPEC : O1, O2, O4, O6, O7, O16, O18, O45, O83.
- Typage moléculaire par technique MLVA
- Groupage phylogénétique des ExPEC par PCR multiplexe

Sensibilité aux anti-infectieux

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

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Le **séquençage des génomes entier (WGS)** des *Salmonella* est utilisé en routine au CNR-ESS (Institut Pasteur, Paris). Il permet d'extraire le sérotype moléculaire (MLST + séquence *fliC* et *fljB*), le contenu en gènes de résistance, le contenu en plasmides ainsi que d'en connaître leur groupe d'incompatibilité (Inc). Il permet aussi les analyses microbiologiques les plus fines par cgMLST ou analyse de SNP, en utilisant les méthodologies les plus adaptées à l'investigation.

Pour les laboratoires qui n'ont pas accès au séquençage du génome entier, le CNR-ESS préconise les techniques classiques suivantes :

Salmonella

Le **sérotypage** des souches doit être réalisé conformément au schéma de White-Kauffmann- Le Minor (WKL) (9ème édition 2007), maintenu par le CCOMS (dirigé par les responsables du CNR-ESS). La demande d'un schéma WKL en format pdf se faisant en écrivant à l'adresse whosalm@pasteur.fr (prière de mentionner les coordonnées professionnelles) ou téléchargeable en version française à l'adresse suivante : https://www.pasteur.fr/fr/file/3184/download?token=5-WekyPv .

Shigella/EIEC

La caractérisation biochimique suivie de la séro-agglutination reste la méthode de typage de référence.

E. coli

Concernant le diagnostic des EHEC : un article a été rédigé en 2008 par Santé publique France et le CNR-ESS-LA (Espié E, Mariani-Kurkdjian P, Filliol I, Vaillant V et de Valk H. **Infections humaines à** *E. coli* **producteurs de Shiga-toxines en France : Aspects cliniques, diagnostiques et épidémiologiques**. Revue Francophone des Laboratoires. Mars 2008, n°400, p59-65). Cet article, toujours d'actualité permet aux laboratoires d'avoir toutes les informations et le schéma d'isolement concernant la détection des souches STEC.

Un nouvel article de référence rédigé en 2016 par le CNR-LA est paru dans la Revue française des Laboratoires et a permis de mettre à jour les nouveaux outils diagnostiques dans les infections à STEC : Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S. **Diagnostic des infections à** *Escherichia coli* **entérohémorragique**. Revue française des laboratoires, Novembre 2016, n°486, 45-52