



Institut Pasteur

**Centre National de Référence**

***des Salmonella***

**Rapport d'activité annuel 2009**



*Weill François-Xavier*

*Le Hello Simon*

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

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

|   |           |
|---|-----------|
| <b>I. INTRODUCTION .....</b>  | <b>4</b>  |
| I. 1 RAPPEL DES MISSIONS DU CNR .....   | 4         |
| I. 2 RESUME DES ACTIVITES DE L'ANNEE 2009 .....   | 6         |
| I. 3 PERSONNELS DU CNR .....  | 8         |
| <b>I. 3. 1 Les responsables scientifiques .....</b>   | <b>8</b>  |
| <b>I. 3. 2 Le personnel technique et administratif .....</b>  | <b>8</b>  |
| I. 4 LES LOCAUX ET EQUIPEMENTS .....  | 10        |
| I. 5 LA DEMARCHE QUALITE .....  | 11        |
| <b>II. ACTIVITES D'EXPERTISE .....</b>  | <b>13</b> |
| II.1 CAPACITES TECHNIQUES DU CNR .....  | 13        |
| II.1.1 Liste des techniques de référence .....  | 13        |
| II.1.2 Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles .....   | 14        |
| II.1.3 Collection de souches .....  | 14        |
| II.1.4 Liste des techniques recommandées par le CNR .....   | 15        |
| II. 2 ACTIVITES D'EXPERTISE EN 2009 .....   | 15        |
| II. 2.1. 1 Activité de sérotypage, CNR-Salm, 2005 à 2009 .....  | 15        |
| II. 2.1. 2 Activité de typage par électrophorèse en champ pulsé, CNR-Salm, 2003 à 2009 .....  | 15        |
| II. 2.1. 3 Activité de typage par la méthode MLVA, CNR-Salm, 2005 à 2009 .....  | 16        |
| II. 2.1. 4 Activité de typage par la méthode MLST, CNR-Salm, 2009 .....   | 16        |
| <b>III. ACTIVITES DE SURVEILLANCE .....</b>   | <b>17</b> |
| III.1 SURVEILLANCE DE L'EVOLUTION ET DES CARACTERISTIQUES DES INFECTIONS .....  | 17        |
| III.1.1 Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-Salm .....  | 17        |
| III.1.2 Définition de l'échantillon de souches isolées .....  | 17        |
| III.1.3 Analyse de la distribution des différents sérotypes et analyse des tendances .....  | 18        |
| III.1.3.1 Nombre annuel de souches de <i>Salmonella</i> d'origine humaine repertoriées au CNR-Salm, 1988-2009 .....                               | 18        |
| III.1.3.2 Répartition des 20 principaux sérotypes de <i>Salmonella</i> , 2007-2009 .....  | 19        |
| III.1.3.3 Proportion de souches par rapport aux compte-rendus de sérotypage .....   | 20        |
| III.1.3.4 Nombre d'isolements annuels des sérotypes Enteritidis, Typhimurium et variant monophasique<br>1,4,[5],12:i:- en France, 1983-2009 ..... | 21        |
| III.1.3.5 Répartition par sites de prélèvement des souches de <i>Salmonella</i> , CNR-Salm 2005-2009 .....  | 21        |
| III.1.3.6 Distribution par tranches d'âge des patients, CNR-Salm 2005 -2009 .....   | 22        |
| III.1.3.7 Nombre de souches reçues au CNR-Salm par régions, 2005-2009 .....   | 22        |
| III.1.3.8 Couverture régionale et départementale des souches envoyées au CNR-Salm en 2008 et 2009 .....   | 24        |
| III.1.3.9 Le sérotype Typhi en 2009 .....   | 25        |
| III.1.3.10 Le sérotype Paratyphi A en 2009 .....  | 26        |
| III.1.3.11 Le sérotype Paratyphi B en 2009 .....  | 26        |
| III.1.4 Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS .....   | 27        |
| III.1.4.1 Relevés périodiques envoyés à l'InVS : .....  | 27        |
| III.1.4.2 Notifications de foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs entre 2003 et 2009 .....                            | 27        |
| III.1.4.3 Les différents foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs en 2009 .....   | 28        |
| III.1.4.4 Détection des seuils d'alerte .....   | 32        |
| III.1.5 Collaboration avec les réseaux nationaux de surveillance des salmonelles chez l'animal .....  | 32        |
| III. 2 SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES .....  | 32        |
| III.2.1 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium, 1993-2008 .....   | 33        |
| III.2.2 Résistance aux antibiotiques du sérotype 1,4[5],12:i:- (monophasique) en 2007 et 2008 .....   | 35        |
| III.2.3 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis, 1993-2008 .....   | 36        |
| III.2.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar, 1997-2009 .....   | 37        |
| III.2.5 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi, 1997-2009 .....   | 38        |
| III.2.6 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A, 2005-2009 .....   | 39        |
| III.2.7 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B, 2000-2009 .....   | 39        |
| III.2.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype Agona en 2009 .....  | 40        |
| III.2.9 Résistance aux antibiotiques du sérotype Anatum en 2009 .....   | 40        |
| III.2.10 Résistance aux antibiotiques du sérotype Brandenburg, 1997-2009 .....  | 41        |
| III.2.11 Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby, 2000-2009 .....  | 41        |
| III.2.12 Résistance aux antibiotiques du sérotype Heidelberg, 1997-2009 .....   | 43        |
| III.2.13 Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis, 1997-2009 .....   | 44        |
| III.2.14 Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky, 2000-2009 .....   | 45        |
| III.2.15 Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport, 1997-2009 .....  | 46        |

|                |   |           |
|----------------|---|-----------|
| III.2.16       | Résistance aux antibiotiques du sérotype Saintpaul en 2009 .....  | 47        |
| III.2.17       | Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow, 1997-2009 .....   | 48        |
| III.2.18       | Souches présentant une résistance particulière aux antibiotiques, CNR-Salm 2006-2009 .....  | 48        |
| III.2.18.1     | Souches résistantes aux céphalosporines de 3 <sup>ème</sup> génération .....  | 48        |
| III.2.18.1.1   | Souches productrices de β-lactamases à spectre étendu, CNR-Salm, 2006-2009.....   | 48        |
| III.2.18.1.2   | Souches productrices de céphalosporinases plasmidiques, CNR-Salm, 2006-2009 .....   | 51        |
| III.2.18.2     | Souches résistantes à la ciprofloxacine.....  | 51        |
| III.2.18.2.1   | Souches de sérotype Typhimurium et 1,4,[5],12:i:- (monophasique) résistantes à la ciprofloxacine détectées au CNR-Salm entre 2002-2009..... | 52        |
| III.2.18.2.2   | Souches de sérotype Kentucky résistantes à la ciprofloxacine détectées au CNR-Salm entre 2000-2009 .....                                    | 53        |
| III.2.18.3     | Souches présentant une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine ayant le phénotype "qnr" détectées au CNR-Salm en 2009 .....                | 54        |
| III. 3         | DETECTION ET INVESTIGATION DES CAS GROUPES ET DES PHENOMENES ANORMAUX.....  | 54        |
| III. 4         | CONTRIBUTION AUX RESEAUX DE SURVEILLANCE INTERNATIONAUX .....   | 56        |
| III.4.1        | Contribution aux réseaux européens .....  | 56        |
| III.4.2        | Contribution aux réseaux internationaux .....   | 56        |
| III. 5         | ENQUETES OU ETUDES PONCTUELLES CONCOURANT A LA SURVEILLANCE.....  | 57        |
| <b>IV.</b>     | <b>ALERTE .....</b>   | <b>59</b> |
| <b>V.</b>      | <b>ACTIVITES D'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL .....</b>  | <b>60</b> |
| V.1            | REUNIONS ET MISSIONS .....  | 61        |
| V.2            | ENSEIGNEMENT .....  | 61        |
| V.3            | ACCUEIL DE STAGIAIRES.....  | 62        |
| V.4            | CONGRES .....   | 62        |
| V.5            | MODALITES DE DIFFUSION DES DONNEES DE SURVEILLANCE ET PRODUCTION DU CNR.....  | 63        |
| V.6            | CONSEILS AUX PROFESSIONNELS DE SANTE .....  | 63        |
| V.6            | COLLABORATION SPECIFIQUE AVEC LA PF8 .....  | 63        |
| <b>VI.</b>     | <b>TRAVAUX DE RECHERCHE EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR.....</b>  | <b>64</b> |
| VI.1           | CONTRIBUTION AU DEVELOPPEMENT DE NOUVELLES METHODES DE TYPAGE ET SOUS-TYPAGE DES <i>SALMONELLA</i> .....                                    | 64        |
| VI.2           | ETUDE DES MECANISMES DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ <i>SALMONELLA</i> .....   | 66        |
| <b>VII.</b>    | <b>LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS.....</b>  | <b>67</b> |
| VII.1          | PUBLICATIONS NATIONALES .....   | 67        |
| VII.2          | PUBLICATIONS INTERNATIONALES .....  | 67        |
| <b>VIII.</b>   | <b>LE PROGRAMME DE TRAVAIL POUR LES ANNEES 2009-2010 .....</b>  | <b>69</b> |
| <b>ANNEXE:</b> | <b>FICHE-INFORMATION .....</b>  | <b>70</b> |

# I. INTRODUCTION

## I. 1 Rappel des missions du CNR

### *Historique :*

Le Centre National de Référence des *Salmonella* ou CNR-Salm est situé au sein du Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques (LBPE) à l'Institut Pasteur à Paris. Le Laboratoire des Entérobactéries dirigé par Léon Le Minor, a fait office de laboratoire de référence pour les *Salmonella* de 1947 à 1971. Il a été reconnu officiellement Centre National de Référence par l'arrêté du 18 avril 1972. Dirigé de sa création à 1988 par Léon Le Minor (assisté par S. Le Minor de 1972 à 1981, puis par Patrick A.D. Grimont de 1982 à 1988), le CNR des *Salmonella* et *Shigella* a été dirigé par Patrick A.D. Grimont assisté de Philippe J.M. Bouvet de 1989 à 2002. En 2002 (arrêté du 26 avril 2002), le CNR des *Salmonella* et *Shigella*, est redevenu le CNR des *Salmonella*, co-dirigé par Patrick A.D. Grimont et François-Xavier Weill. Le CNR-Salm a été renouvelé pour la période 2006-2009 (arrêté du 30 décembre 2005). L'arrêté du 24 novembre 2009 prolonge le renouvellement du CNR-Salm jusqu'au 31 décembre 2011 (responsables : François-Xavier Weill et Simon Le Hello).

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

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

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

## I. 2 Résumé des activités de l'année 2009

- **9947** isollements de *Salmonella* d'origine humaine (**7464** souches et **2483** fiches d'information), en provenance de France métropolitaine et des DOM-TOM, ont été répertoriés par le CNR-Salm.
- Le sérotype **Typhimurium** est depuis 2005 le premier sérotype de *Salmonella* isolé chez l'homme (3867 isollements contre 1777 pour le sérotype Enteritidis en 2009).
- Le **variant monophasique** de Typhimurium, **1,4,[5],12:i:-** est en nette progression depuis ces dernières années avec 1011 isollements en 2009 contre 410 en 2008 (150 % d'augmentation, 3<sup>ème</sup> sérotype le plus fréquemment isolé peu après Enteritidis). Cette augmentation est un phénomène retrouvé à l'échelle mondiale.
- 170 souches de sérotype **Typhi** isolées chez 162 patients ont été répertoriées au CNR-Salm (5<sup>ème</sup> sérotype le plus fréquemment isolé). 121 souches ont été isolées de laboratoires métropolitains, 5 de laboratoires guadeloupéens, d'un laboratoire martiniquais, 14 de laboratoires guyanais, 3 de la Réunion et 26 de C.H. de Mayotte.
- Le sérotype **Kentucky** reste important avec 131 isollements. Les souches, majoritairement résistantes à la ciprofloxacine (111/131, 84,7%), sont majoritairement contractées dans toute l'Afrique.
- **244 foyers de cas groupés** impliquant 46 sérotypes ont été signalés à l'InVS. Le sérotype Typhimurium représente 35% (85/244) des foyers de cas groupés recensés par le CNR-Salm en 2009.
- Entre 2008 et 2009, **le nombre d'isollements de *Salmonella* répertoriés au CNR-Salm est stable**, avec 7439 et 7464 souches reçues, respectivement.
- Deux signalements d'excès de cas de salmonelloses par le CNR-Salm en 2009 ont concerné les sérotypes Hadar et London. Ces signalements ont été communiqués à l'InVS et **investigués** sur le plan microbiologique **par le CNR-Salm**. Une source alimentaire de type « volaille » a été suspectée pour le sérotype Hadar. En 2009, le CNR-Salm a également apporté son soutien microbiologique aux investigations des cas groupés à Typhi dans le département du Nord et du Rhône, Paratyphi A dans le département du Rhône, Typhimurium dans une pouponnière de la Gironde et Paratyphi B biotype Java dans le département de la Marne (fromage de chèvre).
- **Le sérotype Enteritidis** reste globalement sensible aux antibiotiques les plus couramment utilisés (75% en 2008). Cependant la résistance isolée à l'acide nalidixique est en nette augmentation depuis 1993 (prévalence de 25% en 2008).
- **Le sérotype Typhimurium** reste un sérotype multirésistant aux antibiotiques. Cependant depuis ces dernières années, la multirésistance associée au clone DT104 est en diminution. Environ 60 % de souches appartenaient au lysotype DT104 entre 1997 et 2002, pour se stabiliser autour de 38% depuis 2006.

- En 2009, le pourcentage de résistance à l'acide nalidixique (avec CMI de la ciprofloxacine < à 1 mg/L) des souches **de sérotype Typhi** est d'environ 23%. Ces souches ont été contractées suite à des séjours en Inde ou en Asie du sud-Est. A noter la présence de 19% de souches multi-résistantes de patients revenant d'Inde ou du Bangladesh (type ASuTmpCTeNal) mais aussi, fait nouveau, d'Afrique mais sensible aux quinolones. Le pourcentage de résistance à l'acide nalidixique (CMI > 256 mg/L) des souches **de sérotype Paratyphi A** reste élevé (environ 67%). Ces souches ont été contractées en Inde, au Bangladesh et au Pakistan. Les souches **de sérotype Paratyphi B dtartrate -**, responsables de fièvres paratyphoïdes, restent le plus souvent sensibles aux antibiotiques testés et ont été le plus souvent acquises suite à un séjour en Turquie. En 2009, aucune souche de sérotypes Typhi, Paratyphi A et B n'a présenté de résistance à l'azithromycine.
- **Les souches résistantes aux C3G** (par production de beta-lactamase à spectre élargi [BLSE] ou céphalosporinases), très rarement observées dans le genre *Salmonella* jusqu'à présent, semblent être en nette augmentation. Au cours de l'étude de prévalence de la résistance aux antibiotiques des souches non-typhiques isolées en 2006 (534 souches analysées), elles n'étaient observées que dans le sérotype Virchow (prévalence de 1%, BLSE) et dans le sérotype Newport (prévalence de 8%, céphalosporinase CMY-2). L'augmentation provient en partie de souches épidémiques de sérotypes variés productrices de BLSE ou de céphalosporinases (en relation avec des enfants adoptés du Mali pour les sérotypes Waycross, Teitelkebir, Havana et Nima ou d'Ethiopie pour le sérotype Concord).
- **Les souches résistantes à la ciprofloxacine** restent également exceptionnelles dans le genre *Salmonella* en dehors de celles du sérotype Kentucky (85% en 2009) qui ont été acquises chez des patients à l'occasion d'un séjour en Afrique.
- **Nouvelle méthode de typage validée par le CNR-Salm.** La nouvelle méthode de typage et sous-typage, en une seule étape basée sur le polymorphisme des régions CRISPR, va être testée en routine pour toutes les souches de *Salmonella* sérotype Typhimurium en 2010.

## **I. 3 Personnels du CNR**

### **I. 3. 1 Les responsables scientifiques**

#### **François-Xavier Weill**

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

#### **Simon Le Hello**

Docteur en pharmacie, DES de Biologie Médicale, DEA, ancien interne AP-HP.

### **I. 3. 2 Le personnel technique et administratif**

#### **\* Techniciens effectuant les analyses :**

- **Lucile Sontag**, technicienne supérieure de laboratoire. Expérience : 1 an au CNR (intégration depuis le 20 octobre 2008).
- **Laëtitia Fabre**, technicienne supérieure de laboratoire, Bachelor in Science (Kingston, RU), Master 2 de Microbiologie. Expérience : 8 ans au CNR.
- **Marie Demartin**, technicienne supérieure de laboratoire, Licence en Qualité (IP de Lille). Expérience : 8 ans au CNR.
- **Véronique Guibert**, technicienne de laboratoire qualifié. Expérience : 14 ans au CNR.
- **Adeline Josse**, technicienne de laboratoire qualifié. Expérience : 4 ans au CNR.

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

- **Sylvie Issenhuth-Jeanjean**, technicienne supérieure de laboratoire, niveau 2<sup>ème</sup> année DEUG Sciences de la Nature. Ingénieure depuis décembre 2009. Expérience : 22 ans en Bactériologie et 11 ans au CNR.

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

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

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

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

#### **\* Secrétariat:**

- **Joëlle Lancastre**, employée administrative. CDD 1 an.

**Affectations CNR et structures transversales - postes budgétaires prévisionnels 2009**

**05894 LABORATOIRE BACTERIES PATHOGENES ENTERIQUES / 36140 CNR Salmonella**

| Nom - Prénom                   | Libellé Emploi                      | Qualification - Echelle                                 | % Act. | % Section Bud. | ETP          |
|--------------------------------|-------------------------------------|---|--------|----------------|--------------|
| M. WEILL Francois-Xavier       | Médecin biologiste                  | Cadre confirmé B - Responsable CNR                      | 100,00 | 30,00          | 0,30         |
| M. LE HELLO Simon              | Pharmacien biologiste               | Cadre confirmé A - Adjoint CNR                          | 100,00 | 80,00          | 0,80         |
| Mme GUIBOURDENCHE Martine*     | Ingénieur                           | Ingénieur 2   | 100,00 | 10,00          | 0,10         |
| Mme BERLAND Laétitia           | Technicien supérieur de laboratoire | Technicien supérieur de laboratoire 1er degré Echelle 5 | 100,00 | 100,00         | 1,00         |
| Mme CHAVINIER-JOVE Brigitte    | Technicien supérieur de laboratoire | Technicien supérieur de laboratoire 1er degré Echelle 5 | 100,00 | 90,00          | 0,90         |
| Melle ACCOU-DEMARTIN Marie     | Technicien supérieur de laboratoire | Technicien supérieur de laboratoire 1er degré Echelle 5 | 100,00 | 100,00         | 1,00         |
| Mme SONNTAG Lucille            | Technicien supérieur de laboratoire | Technicien supérieur de laboratoire 1er degré Echelle 5 | 100,00 | 100,00         | 1,00         |
| Mme ISSENHUTH-JEANJEAN Sylvie* | Technicien supérieur de laboratoire | Technicien supérieur de laboratoire 1er degré Echelle 5 | 100,00 | 50,00          | 0,50         |
| Melle GUIBERT Véronique        | Technicien de laboratoire           | Technicien de laboratoire qualifié Echelle 4            | 100,00 | 100,00         | 1,00         |
| Mme JOSSE Adeline              | Technicien de laboratoire           | Technicien de laboratoire qualifié Echelle 4            | 100,00 | 100,00         | 1,00         |
| Melle ROUX Chrystelle          | Technicien de laboratoire           | Technicien de laboratoire Echelle 3                     | 100,00 | 60,00          | 0,60         |
| Mme ABIHSSIRA Marie-Valerie    | Secrétaire                          | Secrétaire 2ème degré Echelle 4                         | 100,00 | 75,00          | 0,75         |
| Melle PRETESAC Annie           | Responsable de préparation          | Responsable de préparation Echelle 3                    | 100,00 | 60,00          | 0,60         |
| Melle MARDI Cartini            | Aide de laboratoire                 | Aide de laboratoire Echelle 2                           | 100,00 | 60,00          | 0,60         |
| M. TOMMASINO Patrice           | Agent de laboratoire                | Agent de laboratoire Echelle 1                          | 100,00 | 60,00          | 0,60         |
| <b>TOTAL ETP</b>               |                                     |   |        |                | <b>10,75</b> |

\* départ en retraite de M. Guibourdenche le 31 mars 2009, remplacée par S. Issenhuth-Jeanjean, dont le poste a été supprimé

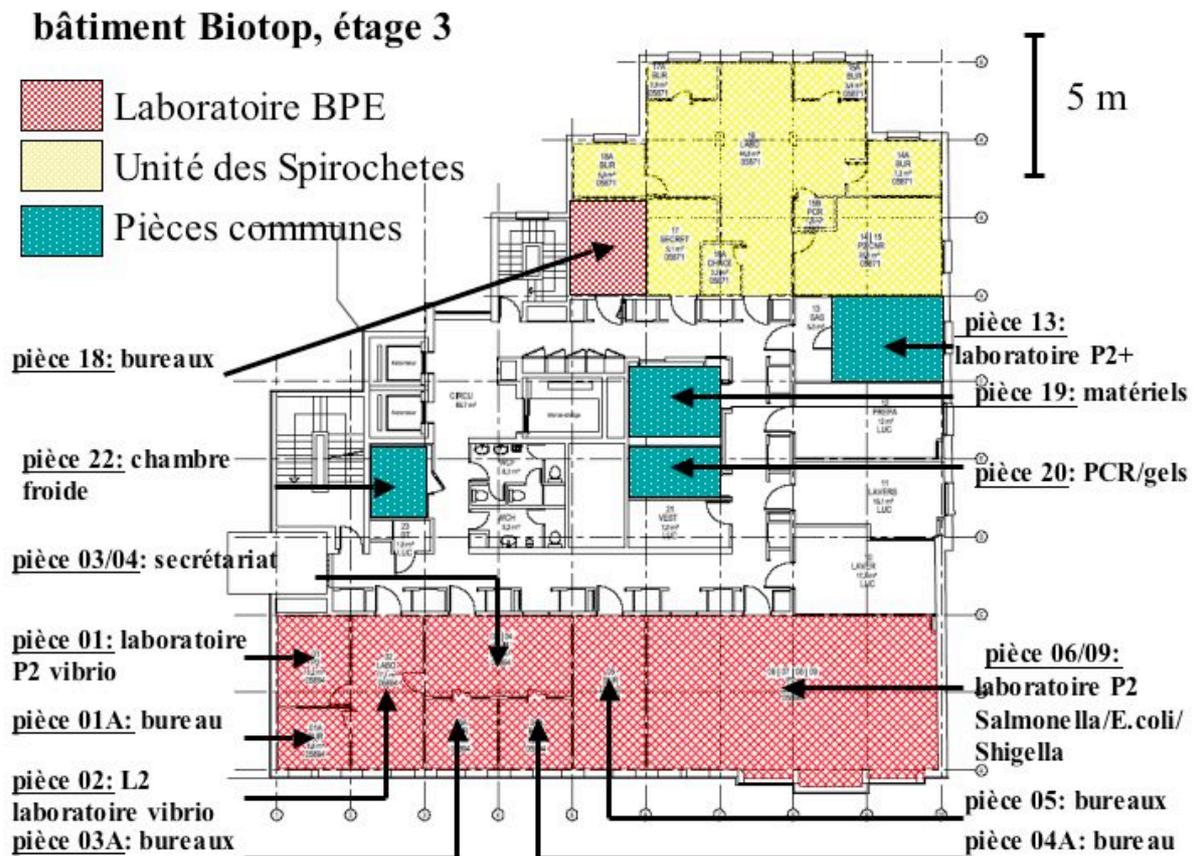
10,75

## I. 4 Les locaux et équipements

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

- Une grande pièce (72.8m<sup>2</sup>) avec 12 paillasse dont 6 sont dédiées au CNR-Salm (5 techniciennes + 1 stagiaire), pour le sérotypage, la détermination de la résistance aux antibiotiques et les amplifications géniques (PCR). Les autres paillasse se répartissent en 4 pour le CNR *E. coli/Shigella* et 2 pour le CCOMS *Salmonella*,
- Trois petites pièces climatisées partagées avec l'unité postulante des Spirochètes et les 3 CNR du Laboratoire BPE : une pièce de 7,7 m<sup>2</sup> avec les électrophorèses en agarose et thermocycleurs, une pièce 13,5 m<sup>2</sup> (P2+) où se trouvent les appareils à champ pulsé et une pièce de 11,6 m<sup>2</sup> où se trouvent les agitateurs Infors, l'appareil d'acquisition d'image de gels Geldoc, les 2 congélateurs à -80°C et l'ultracentrifugeuse
- Des postes informatiques (n=21) pour toute l'équipe dans 3 bureaux.

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



### Matériel, équipement de la structure actuelle :

- Équipement normal de laboratoires de bactériologie : enceintes climatiques (+4°C, 30°C, 37°C, réfrigérée de 4° à 30°C), microscope...
- Poste de sécurité microbiologique de type II
- Matériel d'électrophorèse en agarose et d'hybridation, capture électronique des images<sup>§</sup>  
Thermocycler (x 5)<sup>\*</sup>
- 3 appareils d'électrophorèse en champ pulsé CHEF-DRIII (BioRad), en pièce climatisée<sup>\*</sup>
- Système automatisé de lecture et d'interprétation d'antibiogrammes OSIRIS (Bio-Rad) avec logiciel d'épidémiologie<sup>\*</sup>
- Équipement informatique : 5 ordinateurs Macintosh en réseau protégé, sauvegardes des données assurées sur disque dur externe, 1 PC
- Congélateurs à -80°C (x4)<sup>\*</sup>
- Laverie et autoclaves.<sup>§</sup>

\*Partagé avec les autres CNR du Laboratoire

§Partagé avec les autres CNR et l'unité des Spirochètes

### Moyens extérieurs à la structure :

- Centre Collaborateur OMS pour les *Salmonella*.
- Structures transversales, notamment la PF8 (Plate-forme de génotypage des pathogènes et de Santé Publique) pour le génotypage, les Puces à ADN et la coordination des CNR et des CCOMS (voir paragraphe V.7 page 62) et l'Université d'Orsay pour la mise au point de la technique Luminex.
- Service informatique.

## I. 5 La démarche qualité

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

Ces actions s'inscrivent dans le cadre de la **Démarche qualité** de l'Institut Pasteur qui a pris son essor en Février 1998 par la mise en place de la **Mission Qualité**, mission transformée en **Service Qualité** en janvier 2000. Ce service a notamment la charge de coordonner les démarches des différents services de l'Institut Pasteur parmi lesquels les Centres Nationaux de Référence. Un laboratoire de métrologie a également été créé à l'Institut Pasteur pour répondre aux besoins des laboratoires en contrôle de température et de volume.

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

En 2009, du fait de notre déménagement en mars et sous l'impulsion du service Qualité, devenue direction déléguée à l'hygiène, la sécurité, la qualité, l'environnement (HSQE) et au

développement durable, une révision de la démarche qualité a été ré-amorçée avec normalisation des procédures et mise à jour organisationnelle de l'entité. Une remise à jour de son matériel actif et des produits chimiques utiles a été effectuée en 2008. Simon Le Hello a été également nommé correspondant HSQE pour le LBPE, et à ce titre, a mise en œuvre l'évaluation des risques du laboratoire depuis 2008.

Le CNR-Salm participe chaque année au **contrôle de qualité** externe proposé par le laboratoire de référence communautaire des *Salmonella*, **CRL Salmonella**, Pays-Bas. Les résultats du CNR-Salm au sérotypage et à l'étude de sensibilité aux antibiotiques de 20 souches étaient 100% conformes aux résultats attendus.

En décembre 2009, le CNR Salm a changé de système d'exploitation des données de laboratoire passant du logiciel BactériCentre (1992, Patrick Grimont) vers Lagon (Epiconcept). Les bases de données BactériCentre1992-2009 seront transférées courant 2010 dans une base plus adaptée pour l'utilisation des algorithmes de détection des dépassements de seuil. L'informaticien recruté temporairement pour l'accompagnement vers ce nouveau logiciel a également la charge de développer un site web « Voozаноо » pour la déclaration en ligne des souches sérotypées localement (de façon à remplacer les fiches d'information reçues par courrier postal). L'algorithme de détection des épidémies va être réécrit afin d'ajouter dans la surveillance les nouveaux sérotypes ou variants de *Salmonella* ainsi que l'analyse spécifique pour la classe d'âge < 1 an.

## II. ACTIVITES D'EXPERTISE

### II.1 Capacités techniques du CNR

#### II.1.1 Liste des techniques de référence

Les techniques disponibles au CNR-Salm sont :

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

##### ***Bactériologie classique***

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

- tests biochimiques réalisés en macro-galerie :

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

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

- **99 tests d'utilisation de sources carbonées avec la galerie Biotype-100** (BioMérieux) pour la caractérisation phénotypique, aidée du logiciel d'identification Recognizer (Taxotron package, IP) .

- **séquençage du gène *rrs*** (codant pour l'ARN 16S) **ou du gène *rpoB*** (codant pour la sous-unité bêta de l'ARN polymérase) permet de vérifier l'appartenance des souches au genre *Salmonella* (*rrs*) et aux différentes espèces et sous-espèces de *Salmonella* (*rpoB*) grâce à la comparaison des séquences obtenues à celles contenues dans la base de données du Laboratoire.

#### **\*des techniques d'identification des sérotypes**

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

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

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

- **électrophorèse en champ pulsé** à l'aide de différentes endonucléases (méthode standardisée PulseNet),
- **profil d'hybridation à l'aide d'une sonde IS200** pour le sérotype Paratyphi B,
- **analyse MLVA** (Multi Locus VNTR (variable numbers of tandem repeats) Analysis) pour les sérotype Typhimurium et Enteritidis,
- **analyse CRISPR** (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) sur l'ensemble des sérotypes de Salmonelles,
- **sous-typage à haut débit** de *S. enterica* sérotype Typhimurium et monophasiques **basée sur** le polymorphisme des régions CRISPR à l'aide de **la technologie xMAP de Luminex**,
- **recherche par PCR de la présence de prophages** pour le sérotype Typhimurium,

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

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

### II.1.2 Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles

Le sérotypage est la méthode de référence du typage des *Salmonella*. Il permet de différencier 2579 sérotypes (FX Weill et PAD Grimont « formules antigéniques des sérovars de *Salmonella* » 9<sup>ième</sup> édition, 2007). Un sérotypage complet est réalisé systématiquement sur toutes les souches adressées au CNR-Salm. Pour les sérotypes les plus fréquents (trois sérotypes, Typhimurium et son variant monophasique, et Enteritidis représentent 65% des *Salmonella* isolées chez l'homme en France en 2009), une ou plusieurs techniques de sous-typage pré-citées et adaptées au sérotype en cause seront réalisées lors des investigations de cas groupés pour apprécier la clonalité des souches. Parfois le profil de résistance aux antibiotiques peut être un marqueur épidémiologique utile.

### II.1.3 Collection de souches

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

## II.1.4 Liste des techniques recommandées par le CNR

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

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

## II. 2 Activités d'expertise en 2009

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

En 2009, le CNR-Salm a enregistré **9947** isollements humains de *Salmonella* en France, dont 9486 en France métropolitaine et 461 dans les départements et territoires d'outre-mer et à Monaco. Parmi ces isollements, **7464** (7439 en 2008) ont été des souches sérotypées par le CNR-Salm et 2483 (contre 2939 en 2007) provenaient de fiches d'information adressées au CNR-Salm par les laboratoires collaborateurs.

Le CNR-Salm a également réalisé le sérotypage de **319** souches non humaine de *Salmonella* isolées chez l'animal, dans des aliments ou dans l'environnement et **41** souches de *Salmonella* isolées chez l'homme dans des pays étrangers (Belgique, Italie, Madagascar, Sénégal et Tunisie).

### II. 2.1. 1 Activité de sérotypage, CNR-Salm, 2005 à 2009

|   | <b>2005</b> | <b>2006</b> | <b>2007</b> | <b>2008</b> | <b>2009</b> |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Souches d'origine humaine reçues au CNR-Salm  | 6629        | 6274        | 5628        | 7439        | 7464        |
| Fiches-informations sur les souches d'origine humaine sérotypées par les laboratoires | 4810        | 3880        | 2496        | 2939        | 2483        |
| Total souches d'origine humaine   | 11439       | 10154       | 8124        | 10378       | 9947        |

### II. 2.1. 2 Activité de typage par électrophorèse en champ pulsé, CNR-Salm, 2003 à 2009

| Année                    | <b>2003</b> | <b>2004</b> | <b>2005</b> | <b>2006</b> | <b>2007</b> | <b>2008</b> | <b>2009</b> |
|--------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Nombre de typage par ECP | 176         | 421         | 448         | 326         | 287         | 352         | 564         |

Cette activité, initiée en 2003, est variable d'une année sur l'autre en fonction des investigations d'épidémies et des travaux de recherche. Le CNR-Salm utilise les conditions de migration et le marqueur préconisés par le protocole PulseNet ce qui permet de comparer les profils entre les laboratoires sur le plan national (notamment avec l'AFSSA dans le cadre de la comparaison des souches humaines et alimentaires) et international.

### II. 2.1. 3 Activité de typage par la méthode MLVA, CNR-Salm, 2005 à 2009

| Année                     | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 |
|---------------------------|------|------|------|------|------|
| Nombre de typage par MLVA | 127  | 135  | 266  | 308  | 138  |

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

### II. 2.1. 4 Activité de typage par la méthode MLST, CNR-Salm, 2009

La technique de Multi-Locus Sequence Typing qui consiste en l'analyse de séquences de 7 gènes de ménage est utilisée en méthode alternative par le CCOMS dans la description du répertoire des sérotypes tels que décrits par le schéma de WKL. Cette technique peut décrire plusieurs sequençotypes au sein même de certains sérotypes. Dans ce cadre, le CNR a effectué 66 typages par MLST en 2009 comme méthode de sous-typage mais aussi une dizaine de typages comme méthode de confirmation de sérotype (principalement pour la distinction entre le biotype Gallinarum et le biotype Pullorum de *S. enterica* sérotype Gallinarum).

Le CCOMS a effectué en 2009 168 typages pour décrire 83 sérotypes différents (voir p. 65-66).

## III. ACTIVITES DE SURVEILLANCE

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

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

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

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

- son ancienneté (depuis l'après-guerre),
- le nombre très important de LABM participants (environ 35 % des laboratoires d'analyses médicales français),
- l'adhésion volontaire des LABM au système de surveillance des infections dues aux *Salmonella*, soit par l'envoi de souches pour sérotypage, soit par l'envoi de compte rendu de sérotypage si celui-ci a été fait dans le laboratoire expéditeur.

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

**En 2009, 1542 laboratoires d'analyses médicales (381 laboratoires de centres hospitaliers et 1161 LABM privés)** de France métropolitaine et des départements d'Outre-Mer ont adressé des souches au CNR-Salm. Le nombre de laboratoires du réseau est en augmentation, + 14%, par rapport à la dernière évaluation faite en 2006. En 2009, le réseau correspondait à environ 35 % des laboratoires d'analyses médicales recensés en France métropolitaine et dans les D.O.M en 2007 (soit 30% des LABM et 70 % des laboratoires de centre hospitalier).

L'arrêt de l'activité de sérotypage en juillet 2008, du laboratoire Biomnis (ex Marcel Mérieux) et son transfert au CNR-Salm a permis d'améliorer la couverture géographique du réseau, notamment dans certaines régions comme Rhone-Alpes et Provence-Alpes-Côte-d'Azur.

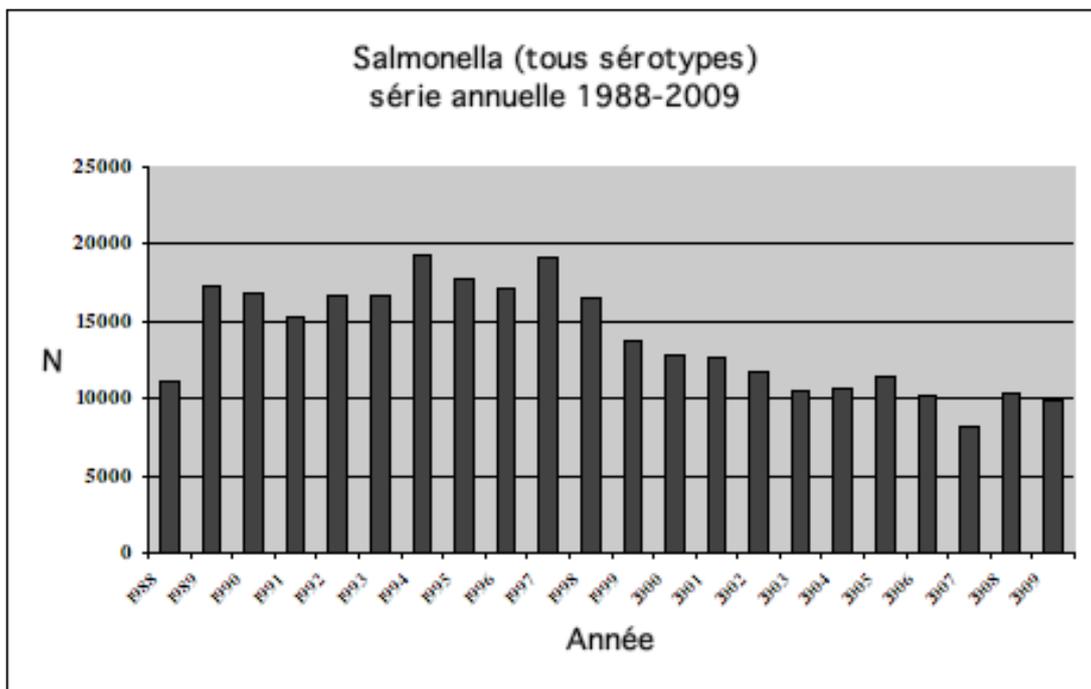
#### III.1.2 Définition de l'échantillon de souches isolées

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

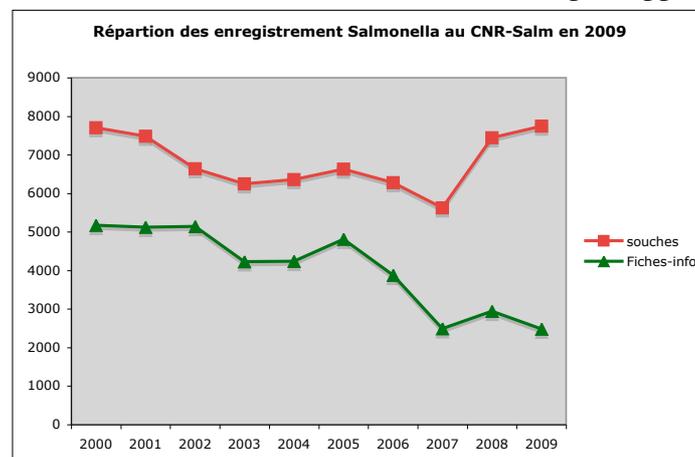
### III.1.3 Analyse de la distribution des différents sérotypes et analyse des tendances

En **2009**, le CNR-Salm a enregistré **9947** isollements humains de *Salmonella* en France métropolitaine, dans les départements et territoires d'outre-mer et à Monaco. Parmi ces **9947** isollements, **7464** ont été des souches sérotypées par le CNR-Salm et **2483** provenaient de fiches d'information adressées au CNR-Salm par les laboratoires collaborateurs.

#### III.1.3.1 Nombre annuel de souches de *Salmonella* d'origine humaine répertoriées au CNR-Salm, 1988-2009



Entre 2008 et 2009, le nombre d'isollements de *Salmonella* reçus au CNR-Salm reste stable (7464 contre 7439 souches reçues) mais est remarquablement plus élevé qu'en 2007 (5628). Cette augmentation est à mettre au crédit de l'envoi systématique des souches du laboratoire spécialisé Biomnis (ex Marcel Mérieux) de façon continue depuis juillet 2008. Ce laboratoire représente 1044 isollements en 2009. Le nombre de fiches d'information reçues au CNR-salm est quant à lui en constante diminution avec 2483 fiches (-15% par rapport à 2008).



### III.1.3.2 Répartition des 20 principaux sérotypes de *Salmonella*, 2007-2009

| Rang | Distribution des sérotypes (n) par année* |                                |                                 |
|------|---|--------------------------------|---------------------------------|
|      | 2007                                      | 2008                           | 2009                            |
| 1    | Typhimurium (2978)                        | Typhimurium (4787)             | Typhimurium (3867)              |
| 2    | Enteritidis (2148)                        | Enteritidis (1941)             | Enteritidis (1777)              |
| 3    | Derby (127)                               | <u>1</u> , 4, [5],12:i:- (410) | <u>1</u> , 4, [5],12:i:- (1011) |
| 4    | Hadar (123)                               | Derby (177)                    | Hadar (177)                     |
| 5    | <u>1</u> , 4, [5],12:i:- (122)            | Kentucky (139)                 | Typhi (170)                     |
| 6    | Typhi (120)                               | Typhi (138)                    | Derby (160)                     |
| 7    | Newport (118)                             | Newport (126)                  | Newport (139)                   |
| 8    | Kentucky (113)                            | Panama, Hadar (105)            | Infantis (134)                  |
| 9    | Infantis (108)                            | -                              | Kentucky (130)                  |
| 10   | Panama (89)                               | Brandenburg (101)              | Panama (107)                    |
| 11   | Virchow (87)                              | Infantis (100)                 | Virchow (85)                    |
| 12   | Napoli (71)                               | Give (90)                      | Napoli (81)                     |
| 13   | Bredeney (59)                             | Virchow (77)                   | Saintpaul (77)                  |
| 14   | Agona (55)                                | Corvallis (71)                 | Dublin (74)                     |
| 15   | Montevideo (54)                           | Bovismorbificans (69)          | Montevideo (57)                 |
| 16   | Paratyphi A (52)                          | Muenster (68)                  | Agona (56)                      |
| 17   | Saintpaul (50)                            | Dublin (62)                    | Bredeney, Rissen (52)           |
| 18   | Bovismorbificans (43)                     | Montevideo (55)                | -                               |
| 19   | Dublin (42)                               | Napoli (55)                    | Paratyphi A (49)                |
| 20   | Indiana (41)                              | Agona (53)                     | Brandenburg (47)                |

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

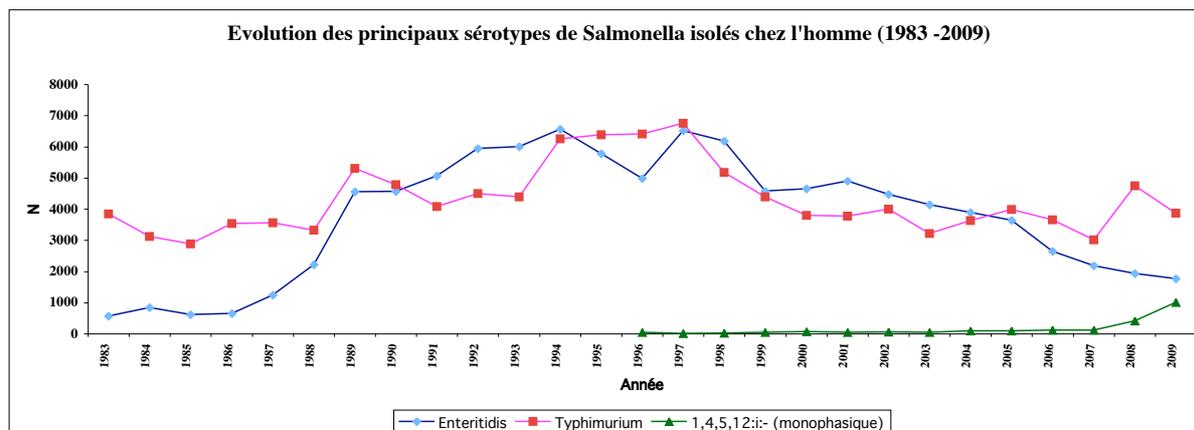
Depuis 2005, le sérotype prédominant est Typhimurium alors que le sérotype Enteritidis est en baisse constante. Le sérotype de formule antigénique 1,4,[5],12:i:- (variant monophasique de Typhimurium) prend une place prépondérante parmi les isollements de salmonelles en France. Le sérotype Kentucky est un sérotype émergent, associé à des souches acquises en Afrique et hautement résistantes aux fluoroquinolones. Le nombre d'isollements de sérotype Hadar est particulièrement élevé en 2009 dû à un excès de cas dont la source de contamination suspectée était la consommation de volaille (cf paragraphe III.3, p.54).

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

La part représentée par les comptes-rendus de sérotypage (ou fiches d'information) dans le total des isollements enregistrés au CNR-Salm est en constante diminution et ne représente en 2009 plus qu'un quart des isollements enregistrés (tous sérotypes confondus) alors qu'elle était supérieure à 40% avant 2005. Les sérotypes Typhimurium et Enteritidis représentent à eux seuls 95% des fiches d'information reçues au CNR-Salm. Cette tendance est vraisemblablement liée aux coûts et à la gestion des antisérums dans le cadre d'une assurance-qualité engagée. En contre partie, l'analyse épidémiologique en temps réel des sérotypes sur souches reçues au CNR-Salm permet d'augmenter la rapidité de détection des phénomènes anormaux.

|   | Tous sérotypes | Enteritidis | Hadar | Typhi | Typhimurium | Virchow |
|---|----------------|-------------|-------|-------|-------------|---------|
| Souches de <i>Salmonella</i> reçues en :              |                |             |       |       |             |         |
| 2004  | 6355           | 2062        | 113   | 143   | 1667        | 88      |
| 2005  | 6629           | 1525        | 119   | 187   | 1829        | 121     |
| 2006  | 6274           | 1502        | 124   | 148   | 1852        | 102     |
| 2007  | 5628           | 1264        | 114   | 120   | 1632        | 81      |
| 2008  | 7439           | 1183        | 97    | 138   | 2714        | 71      |
| 2009  | 7464           | 1185        | 169   | 165   | 2101        | 79      |
| Compte-rendus reçus en:                               |                |             |       |       |             |         |
| 2004  | 4234           | 1835        | 18    | 6     | 1968        | 34      |
| 2005  | 4810           | 2113        | 28    | 0     | 2163        | 21      |
| 2006  | 3880           | 1376        | 16    | 0     | 2161        | 16      |
| 2007  | 2496           | 923         | 9     | 0     | 1387        | 6       |
| 2008  | 2939           | 758         | 8     | 0     | 2073        | 6       |
| 2009  | 2483           | 592         | 8     | 5     | 1766        | 6       |
| Total :   |                |             |       |       |             |         |
| 2004  | 10589          | 3897        | 131   | 149   | 3635        | 122     |
| 2005  | 11439          | 3638        | 147   | 187   | 3992        | 142     |
| 2006  | 10154          | 2878        | 140   | 148   | 4013        | 118     |
| 2007  | 8124           | 2187        | 123   | 120   | 3019        | 87      |
| 2008  | 10378          | 1941        | 105   | 138   | 4787        | 77      |
| 2009  | 9947           | 1777        | 177   | 170   | 3867        | 85      |
| Proportion compte-rendus de sérotypage/total (%) en : |                |             |       |       |             |         |
| 2004  | 40             | 47,1        | 13,7  | 4     | 54,1        | 27,9    |
| 2005  | 42             | 58,1        | 19    | 0     | 54,2        | 14,8    |
| 2006  | 38,2           | 47,8        | 11,4  | 0     | 53,8        | 13,6    |
| 2007  | 30,7           | 42,2        | 7,3   | 0     | 45,9        | 6,9     |
| 2008  | 28,3           | 39          | 7,6   | 0     | 43,3        | 7,8     |
| 2009  | 25             | 33,3        | 4,5   | 2,9   | 45,7        | 7       |

### III.1.3.4 Nombre d'isollements annuels des sérotypes Enteritidis, Typhimurium et variant monophasique 1,4,[5],12:i:- en France, 1983-2009



### III.1.3.5 Répartition par sites de prélèvement des souches de *Salmonella* reçues au CNR-Salm entre 2005 et 2009

| Sites de prélèvement | 2005                   | 2006                   | 2007                   | 2008                   | 2009                   |
|----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
|                      | N (%)                  | N (%)                  | N (%)                  | N (%)                  | N(%)                   |
| Selles               | 5659 (86,4)            | 5362 (85,5)            | 4699 (83,7)            | 6221 (83,6)            | 5957 (79,8)            |
| Sang                 | 435 (6,5) <sup>1</sup> | 430 (6,9) <sup>2</sup> | 397 (7,1) <sup>3</sup> | 453 (6,1) <sup>4</sup> | 461 (6,2) <sup>5</sup> |
| Urines               | 204 (3,1)              | 190 (3)                | 202 (3,6)              | 209 (2,8)              | 248 (3,3)              |
| Pus                  | 16 (0,2)               | 5 (<0,1)               | 10 (0,2)               | 10 (0,1)               | 7 (<0,1)               |
| Bile                 | 5 (0,1)                | 6 (0,1)                | 4 (<0,1)               | 1 (<0,1)               | 3 (<0,1)               |
| LCR                  | 1 (<0,1)               | 2 (<0,1)               | 2 (<0,1)               | 0                      | 1 (<0,1)               |
| Autres               | 83 (1,2)               | 26 (0,4)               | 15 (0,3)               | 81 (1,1)               | 95 (1,3)               |
| Inconnu              | 151 (2,3)              | 253 (4)                | 285 (5,1)              | 464 (6,2)              | 692 (9,3)              |

<sup>1,2,3,4</sup> Le % tient compte des souches de sérotypes Typhi et Paratyphi A.

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

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

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

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

<sup>5</sup>Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, B(dt-) et C le pourcentage est de 4,1%.

### III.1.3.6 Distribution par tranches d'âge des patients dont les souches de *Salmonella* ont été reçues au CNR-Salm entre 2005 et 2008

|               | <b>2005<sup>1</sup></b> | <b>2006</b> | <b>2007</b> | <b>2008<sup>2</sup></b> | <b>2009</b> |
|---------------|-------------------------|-------------|-------------|-------------------------|-------------|
| Classes d'âge | N (%)                   | N (%)       | N (%)       | N (%)                   | N (%)       |
| <1 an*        | 586 (9)                 | 426 (6,8)   | 357 (6,3)   | 407 (5,5)               | 455 (6,1)   |
| 1-5 ans*      | 1616 (24,7)             | 1625 (25,9) | 1404 (24,9) | 1979 (26,6)             | 2090 (28)   |
| 6-14 ans      | 913 (13,9)              | 910 (14,5)  | 791 (14,1)  | 1221 (16,4)             | 1189 (15,9) |
| 15-64 ans     | 2306 (34,7)             | 2307 (36,8) | 2158 (38,3) | 2711 (36,4)             | 2632 (35,3) |
| >65 ans       | 937 (14,3)              | 870 (13,9)  | 809 (14,4)  | 1005 (13,5)             | 1026 (13,7) |
| Inconnu       | 188 (2,9)               | 136 (2,1)   | 109 (1,9)   | 116 (1,6)               | 72 (1,0)    |

\*Les classes d'âge <1 an et 1-5 ans ont fait l'objet de reclassement en 2009. Ainsi, les données générées pour 2005-2009 pour ces classes d'âge annulent et remplacent les données des rapports précédents.

<sup>1</sup>Une épidémie nationale à *Salmonella enterica* sérotype Agona a été décrite en 2005 chez les enfants de moins de 1 an par consommation de poudre de lait infantile contaminée (154 cas).

<sup>2</sup>Une épidémie nationale à *Salmonella enterica* sérotype Give a été décrite en 2008 chez les enfants de moins de 1 an par consommation de poudre de lait infantile contaminée (58 cas).

### III.1.3.7 Nombre de souches reçues au CNR-Salm par régions, 2005-2009

|   | <b>2005</b> | <b>2006</b> | <b>2007</b> | <b>2008*</b> | <b>2009*</b> |
|---|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|
| <b>Alsace</b><br>67-68                          | 135         | 155         | 116         | 179 (12)     | 255 (30)     |
| <b>Aquitaine</b><br>24-33-40-47-64              | 387         | 328         | 295         | 352 (2)      | 366 (1)      |
| <b>Auvergne</b><br>03-15-43-63                  | 135         | 123         | 125         | 149 (17)     | 161 (34)     |
| <b>Bourgogne</b><br>21-58-71-89                 | 148         | 126         | 158         | 174 (38)     | 178 (50)     |
| <b>Bretagne</b><br>22-29-35-56                  | 200         | 185         | 149         | 225 (16)     | 216 (27)     |
| <b>Centre</b><br>18-28-36-37-41-45              | 230         | 207         | 145         | 270 (0)      | 276 (51)     |
| <b>Champagne-Ardenne</b><br>08-10-51-52         | 83          | 97          | 89          | 116 (4)      | 119 (8)      |
| <b>Corse</b><br>2A-2B                           | 26          | 26          | 40          | 51 (13)      | 37 (4)       |
| <b>Franche-Comté</b><br>25-39-70-90             | 121         | 104         | 87          | 173 (21)     | 150 (27)     |
| <b>Ile-de-France</b><br>75-77-78-91-92-93-94-95 | 1702        | 1500        | 1313        | 1567 (5)     | 1452 (12)    |
| <b>Languedoc-Roussillon</b><br>11-30-34-48-66   | 248         | 249         | 252         | 421 (48)     | 482 (73)     |
| <b>Limousin</b><br>19-23-87                     | 71          | 100         | 52          | 90 (1)       | 96 (0)       |
| <b>Lorraine</b><br>54-55-57-88                  | 146         | 168         | 129         | 188 (5)      | 172 (2)      |
| <b>Midi-Pyrénées</b><br>09-12-31-32-46-65-81-82 | 428         | 323         | 257         | 412 (7)      | 360 (20)     |
| <b>Nord-Pas-de-Calais</b><br>59-62              | 238         | 325         | 209         | 309 (5)      | 310 (4)      |
| <b>Basse-Normandie</b><br>14-50-61              | 123         | 144         | 77          | 132 (0)      | 128 (0)      |

|  |             |             |             |             |             |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Haute-Normandie</b><br>27-76                            | 184         | 133         | 130         | 159 (0)     | 96 (1)      |
| <b>Pays de la Loire</b><br>44-49-53-72-85                  | 270         | 325         | 252         | 412 (41)    | 354 (17)    |
| <b>Picardie</b><br>02-60-80                                | 130         | 136         | 127         | 189 (0)     | 142 (2)     |
| <b>Poitou-Charentes</b><br>16-17-79-86                     | 209         | 218         | 156         | 187 (0)     | 190 (0)     |
| <b>Provence-Alpes-Côte<br/>d'Azur</b><br>04-05-06-13-83-84 | 360         | 423         | 329         | 481 (100)   | 538 (143)   |
| <b>Rhône-Alpes</b><br>01-07-26-38-42-69-73-74              | 562         | 514         | 693         | 809 (371)   | 901 (481)   |
| <b>TOTAL Métropole</b>                                     | <b>6136</b> | <b>5909</b> | <b>5233</b> | <b>7045</b> | <b>6979</b> |
| Monaco   | 7           | 13          | 12          | 6 (0)       | 9 (0)       |
| Guadeloupe   | 75          | 51          | 59          | 50 (10)     | 102 (8)     |
| Martinique   | 91          | 113         | 53          | 63 (4)      | 58 (8)      |
| Guyane   | 116         | 68          | 128         | 123 (0)     | 200 (0)     |
| La Réunion   | 65          | 76          | 71          | 42 (5)      | 58 (8)      |
| Mayotte  | 62          | 30          | 53          | 45 (0)      | 42 (0)      |
| Polynésie Française  | 0           | 3           | 16          | 21 (0)      | 13 (0)      |
| St Pierre et Miquelon                                      | 0           | 0           | 1           | 0           | 0           |
| Nouvelle Calédonie   | 0           | 0           | 2           | 5 (0)       | 3 (0)       |

\*total des souches reçues (souches envoyées par Biomnis)

Depuis juillet 2008, le laboratoire Biomnis envoie systématiquement toutes les souches de salmonelles au CNR-Salm (soit 1044 souches envoyées en 2009). Ce laboratoire spécialisé collecte les souches sur le plan national et dans les DOM-TOM avec toutefois une dominance forte pour la Région Rhône-Alpes (53% des isollements de cette région) et Provence-Alpes-Côte d'Azur (27%).

### III.1.3.8 Couverture régionale et départementale des souches envoyées au CNR-Salm en 2008-2009

Figure 1. Nombre de souches reçues au CNR-Salm par région en 2008-2009

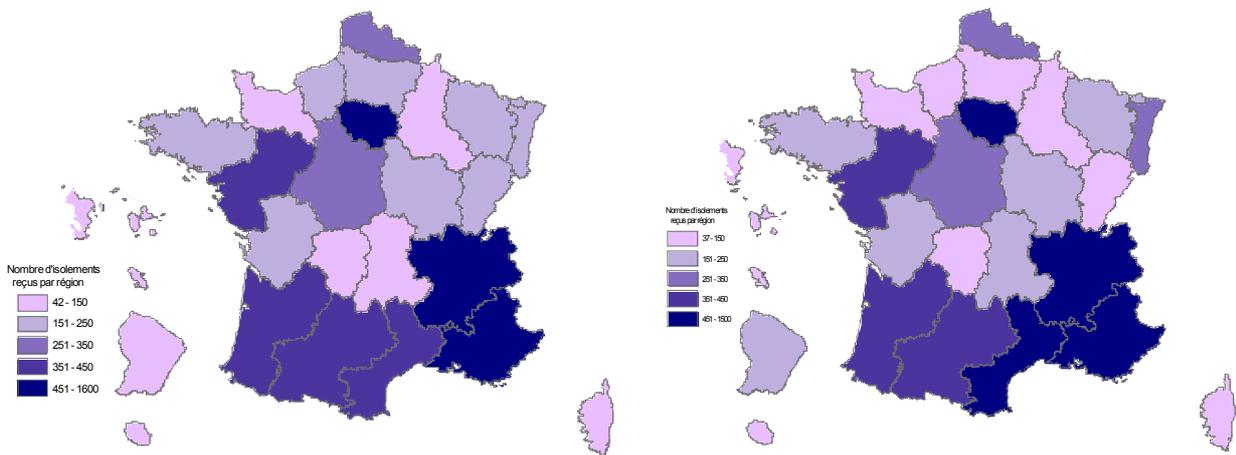
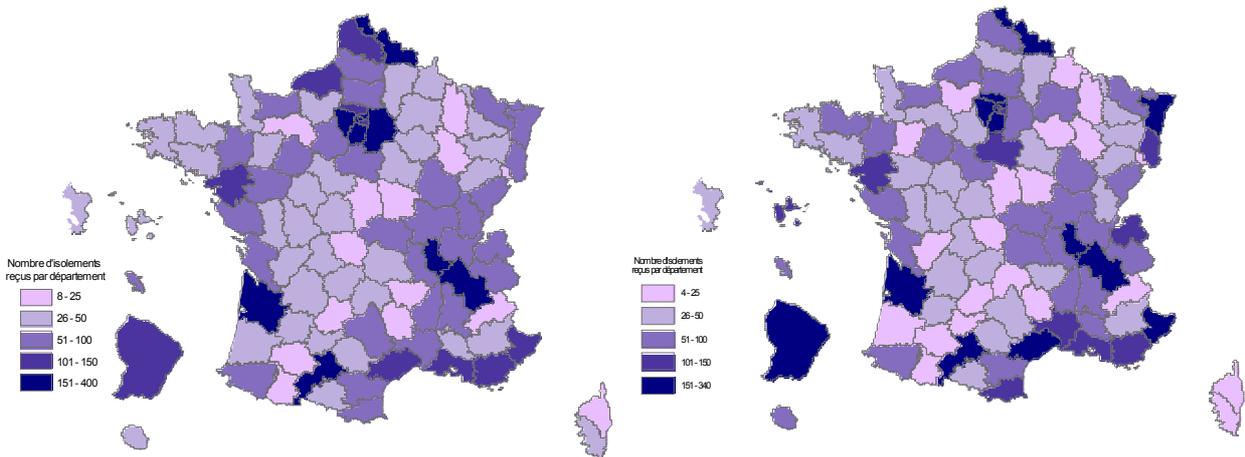


Figure 2. Nombre de souches reçues au CNR-Salm par département en 2008-2009



### III.1.3.9 Le sérotype Typhi en 2009

En 2009, 170 souches de *S. enterica* sérotype Typhi isolées chez 162 patients ont été répertoriées au CNR-Salm. Cent vingt et une souches ont été isolées de laboratoires métropolitains, cinq de laboratoires guadeloupéens, une d'un laboratoire martiniquais, quatorze de laboratoires guyanais, trois de la Réunion et vingt-six de Mayotte. Le tableau ci-dessous précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignement, le lieu de la contamination pour les souches métropolitaines :

| <b>Pays de contamination</b> | <b>Nombre de souches</b> |
|------------------------------|--------------------------|
| <b>Afrique (26 souches)</b>  |                          |
| Maroc                        | 9                        |
| Congo                        | 3                        |
| Algérie                      | 2                        |
| Comores                      | 2                        |
| Afrique (sans précision)     | 1                        |
| Angola                       | 1                        |
| Benin                        | 1                        |
| Cameroun                     | 1                        |
| Centrafrique                 | 1                        |
| Egypte                       | 1                        |
| Mali                         | 1                        |
| Nigeria                      | 1                        |
| Sénégal                      | 1                        |
| Tchad                        | 1                        |
| <b>Asie (24 souches)</b>     |                          |
| Inde                         | 9                        |
| Pakistan                     | 9                        |
| Bengladesh                   | 2                        |
| Indonésie                    | 2                        |
| Asie (sans précision)        | 1                        |
| Cambodge                     | 1                        |
| <b>Amérique (4 souches)</b>  |                          |
| Mexique                      | 3                        |
| Haïti                        | 1                        |
| <b>Europe (23 souches)</b>   |                          |
| France <sup>1</sup>          | 23                       |
| <b>TOTAL</b>                 | <b>77</b>                |

<sup>1</sup> En 2009, deux épidémies à *S. enterica* sérotype Typhi sont survenues dans les départements du Nord et du Rhône lors de repas familiaux préparés par un porteur du bacille et qui ont nécessité l'hospitalisation de 18 et 5 personnes, respectivement. A noter que lors du repas du Rhône, il y avait une coinfection à sérotype Typhi et sérotype Paratyphi A (cf paragraphe III.3, page 54)

### III.1.3.10 Le sérotype Paratyphi A en 2009

En 2009, 42 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi A ont été répertoriées au CNR-Salm. Le tableau ci-dessous précise, quand il a été indiqué sur la fiche de renseignement, le lieu de la contamination.

| <b>Pays de contamination</b> | <b>Nombre de souches</b> |
|------------------------------|--------------------------|
| <b>Afrique (7 souches)</b>   |                          |
| Sénégal <sup>1</sup>         | 6                        |
| Benin                        | 1                        |
| <b>Asie (17 souches)</b>     |                          |
| Inde                         | 13                       |
| Bengladesh                   | 2                        |
| Pakistan                     | 1                        |
| Indonésie                    | 1                        |
| <b>Europe (5 souches)</b>    |                          |
| France <sup>2</sup>          | 5                        |
| <b>TOTAL</b>                 | <b>29</b>                |

<sup>1</sup> Une épidémie de *S. enterica* Paratyphi A a été notifiée en Bretagne dans une équipe de coureurs cyclistes (n=5) ayant participé au Tour du Sénégal 2009.

<sup>2</sup> Un repas contaminant est survenu chez 5 personnes dans le département 69 (contamination concomitante avec *S. enterica* Typhi, voir page 54).

### III.1.3.11 Le sérotype Paratyphi B en 2009

Le sérotype Paratyphi B est associé à des fièvres paratyphoïdes ou à des diarrhées fébriles. Historiquement, les souches se différencient en fonction de leur capacité à fermenter le d-tartrate. Ainsi d'un point de vue phénotypique, on peut subdiviser les souches de sérotype Paratyphi B en biotype dt- associées à une pathologie de type fièvre typhoïde et en biotype dt+ (ou Java) associées à de simples diarrhées.

En 2009, 27 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi B de biotype dt- ont été répertoriées au CNR-Salm et qui provenaient, lorsque c'était indiqué, de Turquie (n=10), d'Egypte (n=1), du Maroc (n=1), de Tunisie (n=1) ou du Pérou (n=1).

En 2009, 28 souches sont de biotype Java (dt+). Parmi elles, 4 souches étaient liées à une toxi-infection collective par du fromage de chèvre déclarée dans le département de la Marne en septembre 2009 (voir p. 53).

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

#### III.1.4.1 Relevés périodiques envoyés à l'InVS :

##### Relevés hebdomadaires :

- **foyers de cas groupés** d'infections à *Salmonella* signalés par les laboratoires correspondants (244 messages en 2009),
- informations épidémiologiques diverses sur les souches étudiées au laboratoire pour les sérotypes de *Salmonella* responsables des **fièvres typhoïdes et paratyphoïdes** ou sur les souches impliquées dans des épidémies.

##### Relevés annuels :

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

##### Relevés ponctuels :

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

#### III.1.4.2 Notifications de foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs du CNR-Salm entre 2003 et 2009

De 2003 à 2009, le CNR a retransmis à l'InVS par télécopie ou par courrier électronique **2101** notifications de foyers de cas groupés.

| Foyers de cas groupés signalés au CNR-Salm en : |            |            |            |            |            |            |            |
|---|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|   | 2003       | 2004       | 2005       | 2006       | 2007       | 2008       | 2009       |
| Nombre total de foyers                          | <b>382</b> | <b>317</b> | <b>311</b> | <b>286</b> | <b>257</b> | <b>304</b> | <b>244</b> |
| Causés par : le sérotype                        |            |            |            |            |            |            |            |
| Enteritidis                                     | 193        | 163        | 104        | 87         | 81         | 69         | 54         |
| Typhimurium                                     | 93         | 79         | 124        | 86         | 102        | 125        | 85         |
| 1,4,[5],12:i:-                                  |            |            |            |            |            |            | 27         |

### III.1.4.3 Les différents foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs du CNR-Salm en 2009

244 épisodes de cas groupés

Nombre de sérotypes de *Salmonella* : 46

Foyers hospitaliers : 17

Infections collectives : 38

Crèches : 4

Foyers familiaux : 179

TIAC : 2

Ecoles : 3

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

- Infection(s) collectives(s) (2) à :

Blagnac, Toulouse.

***Salmonella* sérotype 4,5,12:-:1,2**

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :

Gourdon, Marseille Armées.

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

- Epidémie(s) familiale(s) (24) à :

Bagnols sur Ceze, Belfort, Chateaubriant, Chateauroux, Chauny, Dijon, Dinan, Fontainebleau, Forbach, Guilherand-Granges, Hericourt, Illzach, Langon, Le Mans, Lyon, Mulhouse, Neuilly-Sur-Seine, Papeete, Paris, Perpignan, Reims, Saint-Ouen-l'Aumone, Saint-Pierre-d'Oleron, Vienne.

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

Montbelliard.

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

Maubeuge, Perpignan.

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

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Cahors.

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

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Le Loroux-Bottereau.

***Salmonella* sérotype 9,12:-:-**

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

Roubaix.

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Boulogne.

***Salmonella* sérotype Albany**

- TIAC (1) à :

Cahors.

***Salmonella* sérotype Arechavaleta**

- Infection(s) hospitalière(s) (1) à :

Cayenne.

***Salmonella* sérotype Bredeney**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Saint-Etienne.

***Salmonella* sérotype Chester**

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

La Rochelle.

***Salmonella* sérotype Coeln**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Chateaudun.

***Salmonella* sérotype Derby**

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :

Chambery, Le Rheu.

***Salmonella* sérotype Dublin**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Dijon.

***Salmonella* sérotype Enteritidis**

- Epidémie(s) familiale(s) (44) à :

Aix-Les-Bains, Ambilly, Apt, Arles, Aulnay-Sous-Bois (4), Bordeaux (3), Bry-Sur-Marne, Cannes, Chamonix, Creteil, Doue-La-Fontaine, Dunkerque (2), Flers, Gonesse, Guilhaing-Granges, Hyeres, Lanester, Lavour (2), Le Loroux-Bottreau, Le Mans, Longjumeau, Luynes, Mantes-La-Jolie, Marmande, Montceau-Les-Mines, Morlaas, Mornant, Mourenx, Orleans, Saint-Gaudens, Saint-Girons, Saverne, Saint-Maur-Des-Fosses, Soustons, Talant, Truchtersheim, Vanves.

- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :

La Madeleine.

- Infection(s) collectives(s) (8) à :

Decize, Le Kremlin-Bicetre, Loudeac, Perros-Guirec, Paris, Rive-Sur-Gier, Rochefort (2).

- TIAC (1) à :

Pontivy.

***Salmonella* sérotype Ezra**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Villeneuve-Saint-Georges.

***Salmonella* sérotype Hadar**

- Epidémie(s) familiale(s) (3) à :

Montpellier, Saint-Etienne, Tremblay-Les-Gonesse.

- Infection(s) hospitalière(s) (1) à :

Charenton-Le-Pont.

***Salmonella* sérotype Havana**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Le Chesnay.

***Salmonella* sérotype Heidelberg**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Lomme.

***Salmonella* sérotype Hessarek**

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :

Cernay, La Souterraine.

***Salmonella* sérotype Hull**

- Infection(s) collective(s) (1) à :

Rosny-Sous-Bois.

***Salmonella* sérotype Infantis**

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :

Paris, Pointe-A-Pitre.

***Salmonella* sérotype Javiana**

- Infection(s) familiale(s) (1) à :

Chalon-Sur-Saone.

- Infection(s) collective(s) (1) à :

Brive-La-Gaillarde.

***Salmonella* sérotype Livingstone**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Sorgues.

- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :  
Sens
- Salmonella sérotype Madigan**
  - Epidémie(s) familiale(s) (1) à :  
Bondy.
- Salmonella sérotype Mbaou**
  - Infection(s) collective(s) (1) à :  
Bergerac.
- Salmonella sérotype Miami**
  - Epidémie(s) familiale(s) (1) à :  
Tours.
- Salmonella sérotype Montevideo**
  - Epidémie(s) familiale(s) (1) à :  
Laval.
  - Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :  
Avranches.
  - Infection(s) collective(s) (1) à :  
Dijon.
- Salmonella sérotype Napoli**
  - Epidémie(s) familiale(s) (3) à :  
Boulogne, Saint-Doulchard, Tours.
  - Infection(s) collectives(s) (1) à :  
Issy-Les-Moulineaux.
- Salmonella sérotype Newport**
  - Epidémie(s) familiale(s) (1) à :  
Hyerès.
  - Infection(s) collective(s) (1) à :  
Brive-La-Gaillarde.
- Salmonella sérotype Orion**
  - Epidémie(s) familiale(s) (1) à :  
Paris.
- Salmonella sérotype Panama**
  - Epidémie(s) familiale(s) (4) à :  
Bar-Le-Duc, Montfort-Sur-Meu, Orsay, Le Mans.
- Salmonella sérotype Paratyphi A**
  - Infection(s) collective(s) (2) à :  
Chambery, Quimper.
- Salmonella sérotype Paratyphi B**
  - Epidémie(s) familiale(s) (2) à :  
Epernay, Fresne.
  - Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :  
Sartrouville.
- Salmonella sérotype Poona**
  - Epidémie(s) familiale(s) (1) à :  
Chateaubriant.
  - Epidémie(s) hospitalière(s) (2) à :  
Cayenne (2).
- Salmonella sérotype Postdam**
  - Epidémie(s) familiale(s) (1) à :  
Villeneuve Saint Georges.
- Salmonella sérotype Saarbruecken**
  - Epidémie(s) dans une crèche (1) à :

|  |   |
|--|---|
| <b><i>Salmonella</i> sérotype Saintpaul</b>    | Lille.  |
| - Epidémie(s) familiale(s) (1) à :             |   |
| <b><i>Salmonella</i> sérotype Sandiego</b>     | Chatillon.  |
| - Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :          |   |
| <b><i>Salmonella</i> sérotype Stanleyville</b> | Maubeuge.   |
| - Epidémie(s) familiale(s) (1) à :             |   |
| <b><i>Salmonella</i> sérotype Typhi</b>        | Orleans.  |
| - Epidémie(s) familiale(s) (4) à :             |   |
| - Infection(s) collective(s) (5) à :           | Bron, Clamart, Saint-Denis, Tourcoing.  |
| <b><i>Salmonella</i> sérotype Typhimurium</b>  | Chambery, Roubaix (2), Tourcoing (2).   |
| - Epidémie(s) familiale(s) (63) à :            | Apt, Argenton-Sur-Creuse, Auxerre, Balma, Bellegarde, Bondy, Bordeaux (2), Beaumont-Sur-Oise, Cabestany, Caen, Coutances (2), Eaubonne, Flers, Forbach, Gien, L'Aigle, Le Port-Marly, Les Angles, Longjumeau (2), Manosque, Marly-Le-Roi, Marsillargues, Maubec, Mery-Sur-Oise, Mirecourt, Montpellier (3), Mourenx, Nantes, Neuilly-Sur-Seine, Papeete, Porto-Vecchio, Reze, Riantec, Saint-Alban (2), Saint-Claude, Saint-Gilles, Sainte Marie Aux Chenes, Trebes, Saint-Martin-De-Re, Saint-Maurice (2), Saint-Pierre-D'Oleron, Saint-Vit, Savigny-Sur-Orge, Selestat, Sigean, Toulouse, Vendome (3), Versailles, Villeneuve-Tolosane, Vitry-Le-François (2), Voiron, Voisins-Le-Bretonneux, Uzès. |
| - Epidémie(s) hospitalière(s) (6) à :          | Levallois-Perret, Maubeuge (3), Perpignan, Saint-Palais.  |
| - Infection(s) collectives(s) (12) à :         | Auneau, Belley, Betton, Bordeaux (2), Carrieres-Sur-Seine, Hagueneau, Jonzac, Montbelliard, Saint-Germain-En-Laye, Saint-Gilles, Saint-Lo.  |
| - Epidémie(s) dans une école (3) à :           | Le Chesnay, Luisant, Paris.   |
| - Epidémie(s) dans une crèche (1) à :          | Les Angles.   |
| <b><i>Salmonella</i> sérotype Uganda</b>       |   |
| - Epidémie(s) familiale(s) (2) à :             | Cayenne, Gien.  |
| <b><i>Salmonella</i> sérotype Virchow</b>      |   |
| - Epidémie(s) familiale(s) (1) à :             | Nantes.   |
| <b><i>Salmonella</i> sérotype Weltevreden</b>  |   |
| - Epidémie(s) dans une crèche (1) à :          | Hyerès.   |
| <b><i>Salmonella</i> sérotype Wien</b>         |   |
| - Epidémie(s) familiale (1) à :                | Doue-La-Fontaine.   |

#### III.1.4.4 Détection des seuils d'alerte

L'analyse des tendances évolutives temporo-spatiales des sérotypes de *Salmonella* est réalisée par un programme (Yann Le Strat, InVS) comprenant trois algorithmes. Ce programme est utilisé au CNR-Salm chaque semaine depuis juin 2006 et le rapport d'analyse est envoyé par courrier électronique à l'InVS.

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

Les collaborations entre le CNR-Salm et l'**AFSSA-LERQAP** (Agence française de Sécurité Sanitaire des Aliments - Laboratoire d'Etude et de Recherches sur la Qualité des Aliments et sur les Procédés agroalimentaires) sont très anciennes et étroites. L'AFSSA-LERQAP collecte par l'intermédiaire de laboratoires vétérinaires, d'hygiène alimentaire, ou d'analyses de l'environnement, regroupés en un « Réseau *Salmonella* », des souches de *Salmonella* adressées pour sérotypage. Des comparaisons entre souches humaines et souches non humaines, par les techniques de sous-typage (PFGE, MLVA...), sont effectuées lors d'investigations d'épidémies ou de phénomènes anormaux. Chaque année un responsable du CNR-Salm vient présenter les données du CNR-Salm lors de la réunion annuelle du réseau *Salmonella* de l'AFSSA.

### III. 2 Surveillance de la résistance aux antibiotiques

L'étude de la résistance aux antibiotiques est réalisée sur un échantillon représentatif des principaux sérotypes de *Salmonella*, tous les ans ou les deux ans suivant les tendances. La technique utilisée est l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé (*Enterobacteriaceae*) en suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM; communiqué 2009). De 16 à 32 antibiotiques sont testés. Les résultats dans ce rapport ne mentionnent que les principaux antibiotiques.

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

### III.2.1 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium, 1993-2008

| Antibiotique            | % de souches résistantes en : |                             |                             |                             |                             |                             |                             |                             |
|-------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                         | 1993<br>(n=297)<br>(N=1593)   | 1997<br>(n=250)<br>(N=2801) | 2000<br>(n=320)<br>(N=1613) | 2002<br>(n=320)<br>(N=1756) | 2005<br>(n=100)<br>(N=1767) | 2006<br>(n=100)<br>(N=1852) | 2007<br>(n=100)<br>(N=1632) | 2008<br>(n=102)<br>(N=2714) |
| Amoxicilline            | 55,2                          | 68,4                        | 64,3                        | 64,5                        | 60                          | 48                          | 48                          | 61,8                        |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                             | 0                           | 0                           | <b>0,3</b>                  | <b>1</b>                    | 0                           | <b>1</b>                    | <b>2</b>                    |
| Gentamicine             | 0,3                           | 0,7                         | 0,9                         | 0,3                         | 0                           | 1                           | 0                           | 1                           |
| Acide nalidixique       | 3                             | 3,6                         | 10,3                        | 4                           | 8                           | 3                           | 4                           | 0                           |
| Ciprofloxacine          | 0                             | 0                           | 0                           | <b>0,3</b>                  | 0                           | 0                           | 0                           | 0                           |
| Sulfamides              | 58,9                          | 70                          | 69,6                        | 68                          | 61                          | 48                          | 52                          | 57,8                        |
| Triméthoprime           | 0                             | 6                           | 8,7                         | 5,3                         | 10                          | 5                           | 6                           | 7,8                         |
| Chloramphénicol         | 44,1                          | 61,2                        | 59                          | 57                          | 42                          | 38                          | 37                          | 39,2                        |
| Tétracycline            | 69,6                          | 83,2                        | 81,2                        | 71                          | 65                          | 52                          | 61                          | 60,8                        |

n : nombre de souches étudiées

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

| Principaux profils de résistance | % de souches possédant ce profil en : |      |      |      |      |      |      |      |
|----------------------------------|---------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|
|                                  | 1993                                  | 1997 | 2000 | 2002 | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 |
| AS[Sp]CSuTe*                     | 34,3                                  | 54,6 | 50,9 | 48,8 | 32   | 32   | 32   | 30,4 |
| Multi-sensibles                  | 28,6                                  | 14,1 | 11,3 | 21,5 | 28   | 44   | 34   | 29,4 |
| Te                               | 11,8                                  | 13,7 | 9,4  | 3,8  | 5    | 5    | 11   | 3,9  |
| ASSuTe                           | 8,9                                   | 4,4  | 2,8  | 3,8  | 9    | 6    | 4    | 11,8 |
| AS[Sp]CSuTeNal*                  | 0                                     | 1,5  | 3,8  | 3,8  | 5    | 2    | 2    | 0    |
| AS[Sp]CSuTmpTe*                  | 2,5                                   | 1,5  | 2,8  | 3    | 4    | 1    | 1    | 4,9  |
| S[Sp]Su*                         | 1,1                                   | 0,5  | 0,9  | 2,2  | 0    | 1    | 2    | 2,9  |
| ASu*                             | 0,7                                   | 0    | 0,3  | 1,8  | 0    | 1    | 1    | 0    |
| ASuTmpTe                         | 1,1                                   | 0    | 0    | 0,3  | 3    | 1    | 4    | 0    |

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

\* phénotype associé au clone multirésistant DT104

Depuis ces dernières années, la prévalence du clone DT104 (\*), classiquement penta-résistant avec le profil AS[Sp]CSuTe, diminue en France. Environ 60% de souches multi-résistantes appartenait au lysotype DT104 entre 1997 et 2002, 51% en 2003, 41% en 2005 et se stabilise autour des 38% depuis 2006.

Lors de cette enquête de prévalence, deux souches ont été trouvées résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G), de type BLSE avec le profil « ACazSSuTe » et « ACazTe », auxquelles il faut rajouter celles découvertes par les biologistes expéditeurs et vérifiées par le CNR. Au total, dix souches de *S. enterica* sérotype Typhimurium présentaient une résistance aux C3G en 2008 (cf paragraphe III.2.18.1 de ce présent rapport).

### III.2.2 Résistance aux antibiotiques du sérotype 1,4,[5],12:i:- (monophasique) en 2007 et 2008

| Antibiotique            | % de souches résistantes en : |                           |
|-------------------------|-------------------------------|---------------------------|
|                         | 2007<br>(n=50)<br>(N=121)     | 2008<br>(n=55)<br>(N=410) |
| Amoxicilline            | 64                            | 83,6                      |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                             | 1,8                       |
| Gentamicine             | 2                             | 3,6                       |
| Acide nalidixique       | 0                             | 1,8                       |
| Ciprofloxacine          | 0                             | 0                         |
| Sulfamides              | 40                            | 81,8                      |
| Triméthoprime           | 16                            | 25,5                      |
| Chloramphénicol         | 20                            | 10,9                      |
| Tétracycline            | 90                            | 90,9                      |

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype reçues au CNR

Le sérotype 1,4,[5],12:i:- (monophasique) est un sérotype est très nette augmentation ces dernières années passant de 99 à 410 isollements de 2005 à 2008 (1011 en 2009) (du 11ème au 3ème sérotype le plus fréquemment isolé). Ce sérotype présente des niveaux de résistance aux antibiotiques assez comparables avec le sérotype Typhimurium de formule antigénique 1,4,[5],12:i:1,2 et dont il est un probable variant monophasique. Cependant, les profils distribués sont nettement différents et présentés ci-dessous.

#### Profils de résistance comparés entre le sérotype 1,4,[5],12:i:- (monophasique) et Typhimurium, 2007-2008.

| Principaux profils de résistance               | % de souches résistantes en :             |             |   |             |
|--|---|-------------|---|-------------|
|  | 2007                                      |             | 2008                                      |             |
|  | <u>1,4,[5],12 :i :-</u><br>(monophasique) | Typhimurium | <u>1,4,[5],12 :i :-</u><br>(monophasique) | Typhimurium |
| A ( <i>bla</i> <sub>PSE</sub> ) S[Sp]CSuTe*    | 0   | 32          | 0   | 30,4        |
| Multi-sensibles                                | 8   | 34          | 3,6                                       | 29,4        |
| Te   | 20  | 11          | 9,1                                       | 3,9         |
| A ( <i>bla</i> <sub>TEM</sub> )                | 0   | 2           | 0   | 4,9         |
| A ( <i>bla</i> <sub>TEM</sub> ) Te             | 0   | 0           | 5,5                                       | 1           |
| A ( <i>bla</i> <sub>TEM</sub> ) SSuTe          | 62  | 4           | 49,1                                      | 11,8        |
| A ( <i>bla</i> <sub>PSE</sub> ) S[Sp]CSuTeNal* | 0   | 2           | 0   | 0           |
| A ( <i>bla</i> <sub>PSE</sub> ) S[Sp]CSuTmpTe* | 0   | 1           | 0   | 4,9         |
| S[Sp]Su*                                       | 0   | 2           | 0   | 2,9         |
| A ( <i>bla</i> <sub>PSE</sub> ) Su*            | 0   | 1           | 0   | 0           |
| A ( <i>bla</i> <sub>TEM</sub> ) SSu            | 0   | 1           | 3,6                                       | 0           |
| A ( <i>bla</i> <sub>TEM</sub> ) S[Sp]SuTmpTe   | 0   | 0           | 14,5                                      | 1           |
| S[Sp]CSuTmpTe                                  | 16  | 0           | 1   | 0           |
| S[Sp]CSuTe                                     | 2   | 0           | 0   | 0           |

Depuis ces dernières années, la multirésistance du sérotype Typhimurium est liée à la prévalence du clone DT104 (38% en 2008) dont les gènes de résistance sont portés par l'îlot génomique SGI1 (*Salmonella* Genomic Island type 1). Ce profil, principalement pentarésistant de type « AS[Sp]CSuTe » (avec un gène *bla*<sub>PSE-1</sub> de résistance à l'amoxicilline), est inexistant chez le « variant » monophasique 1,4,[5],12:i:- qui présente majoritairement un profil « ASSuTe » (avec un gène *bla*<sub>TEM</sub> de résistance à l'amoxicilline). Ceci est en faveur de l'émergence d'un clone monophasique du sérotype Typhimurium résistant à l'amoxicilline (72,7% en 2008) qui se distingue du clone DT104. La présence de souches monophasiques résistantes aux C3G a été également décrite en 2008 avec deux souches de type BLSE avec le profil « ACazSSpCSuTmpTe » et « ACroSuTmpTe ». Le mécanisme de résistance aux C3G de cette dernière a été identifié par la présence du gène *bla*<sub>CTX-M-1</sub>.

### III.2.3 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis, 1993-2008

| Antibiotique            | % de souches résistantes en : |                             |                            |                            |                             |                             |                             |                             |
|-------------------------|-------------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                         | 1993<br>(n=70)<br>(N=2345)    | 1997<br>(n=380)<br>(N=2585) | 2000<br>(n=82)<br>(N=1992) | 2002<br>(n=99)<br>(N=2054) | 2005<br>(n=100)<br>(N=1495) | 2006<br>(n=100)<br>(N=1502) | 2007<br>(n=100)<br>(N=1264) | 2008<br>(n=102)<br>(N=1183) |
| Amoxicilline            | 0                             | 6,8                         | 7,3                        | 6,1                        | 12                          | 4                           | 5                           | 2                           |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                             | 0                           | 0                          | 0                          | 0                           | 0                           | 0                           | 0                           |
| Gentamicine             | 0                             | 0,5                         | 1,2                        | 0                          | 2                           | 0                           | 1                           | 0                           |
| Acide nalidixique       | 0                             | 2                           | 9,7                        | 11,1                       | 21                          | 22                          | 23                          | 24,5                        |
| Ciprofloxacine          | 0                             | 0                           | 0                          | 0                          | 0                           | 0                           | 0                           | 0                           |
| Sulfamides              | 0                             | 3,9                         | 1,2                        | 0                          | 2                           | 2                           | 3                           | 1                           |
| Triméthoprim            | 0                             | 2,3                         | 2,4                        | 0                          | 2                           | 1                           | 2                           | 0                           |
| Chloramphénicol         | 0                             | 0,7                         | 0                          | 0                          | 0                           | 0                           | 0                           | 0                           |
| Tétracycline            | 2,8                           | 3,4                         | 12,1                       | 3                          | 1                           | 3                           | 11                          | 0                           |

n : nombre de souches étudiées

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

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

### III.2.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar, 1997-2009

| Antibiotique            | % de souches résistantes en : |                           |                           |                           |                          |                            |
|-------------------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|
|                         | 1997<br>(n=200)<br>(N=1067)   | 2000<br>(n=80)<br>(N=651) | 2003<br>(n=40)<br>(N=157) | 2006<br>(n=40)<br>(N=114) | 2008<br>(n=44)<br>(N=97) | 2009<br>(n=168)<br>(N=168) |
| Amoxicilline            | 78                            | 57,5                      | 42,5                      | 50                        | 57,5                     | 68,5                       |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                             | 0                         | 0                         | 0                         | 0                        | 0                          |
| Acide nalidixique       | 84                            | 77,5                      | 65                        | 80                        | 67,5                     | 33,9                       |
| Ciprofloxacine          | 0                             | 0                         | 0                         | 0                         | 0                        | 0                          |
| Sulfamides              | 5                             | 1,2                       | 0                         | 6                         | 2                        | 1,2                        |
| Triméthoprim            | 3,5                           | 2,4                       | 2,5                       | 6                         | 4                        | 0,6                        |
| Chloramphénicol         | 1                             | 0                         | 0                         | 0                         | 0                        | 0                          |
| Tétracycline            | 88                            | 98,7                      | 92,5                      | 94                        | 90                       | 90,5                       |

n : nombre de souches étudiées

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

Ce sérotype, en diminution très nette depuis 1997, reste multi-résistant aux antibiotiques, en particulier par la présence d'un gène *bla<sub>TEM</sub>* de résistance à l'amoxicilline.

#### Profils de résistance observés en 2006-2008-2009

| Profils de résistance<br>%            | 2006 | 2008 | 2009 |
|---------------------------------------|------|------|------|
| AS <sub>Te</sub> Nal                  | 42   | 42,5 | 12,5 |
| S <sub>Te</sub> Nal                   | 28   | 20   | 17,9 |
| S <sub>Te</sub>                       | 10   | 7,5  | 2,4  |
| AS <sub>KTe</sub> Nal                 | 4    | 0    | 0    |
| Nal                                   | 4    | 0    | 2,4  |
| SSu <sub>TmpTe</sub>                  | 4    | 5    | 0,6  |
| AS <sub>K</sub> T <sub>mpTe</sub> Nal | 2    | 0    | 0    |
| Multi-sensibles                       | 2    | 7,5  | 7,1  |
| S <sub>KTe</sub>                      | 2    | 0    | 0    |
| ASS <sub>ulTe</sub>                   | 2    | 0    | 0    |
| A <sub>Te</sub>                       | 0    | 7,5  | 55,4 |
| AS <sub>K</sub> T <sub>mpTe</sub>     | 0    | 5    | 0    |

Une épidémie à *S. enterica* sérotype Hadar de profil de résistance « A<sub>Te</sub> » est survenue en janvier-février 2009. La consommation de volaille contaminée a été hautement suspectée (cf paragraphe III.3 page 54).

### III.2.5 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi, 1997-2009

| Antibiotique            | % de souches résistantes en : |                           |                           |                            |                             |                           |                           |                             |
|-------------------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|
|                         | 1997<br>(n=40)<br>(N=170)     | 2000<br>(n=40)<br>(N=186) | 2002<br>(n=40)<br>(N=133) | 2005*<br>(n=63)<br>(N=116) | 2006*<br>(n=106)<br>(N=111) | 2007*<br>(n=65)<br>(N=65) | 2008*<br>(n=90)<br>(N=90) | 2009*<br>(n=120)<br>(N=120) |
| Amoxicilline            | 0                             | 0                         | 2,5                       | 8,1                        | 12,3                        | 20                        | 12,2                      | 16,7                        |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                             | 0                         | 0                         | 0                          | 0                           | 0                         | 0                         | 0                           |
| Acide nalidixique       | 0                             | 5                         | 7,5                       | 17,8                       | 37,7                        | 33,3                      | 27,8                      | 23,3                        |
| Ciprofloxacine          | 0                             | 0                         | 0                         | 0                          | 0                           | 0                         | 0                         | 0                           |
| Cotrimoxazole           | 5                             | 2,5                       | 7,5                       | 7,9                        | 12,3                        | 22,2                      | 12,2                      | 19,2                        |
| Chloramphénicol         | 7,5                           | 0                         | 7,5                       | 5,9                        | 12,3                        | 15,6                      | 14,4                      | 18,3                        |
| Tétracycline            | 5                             | 0                         | 7,5                       | 5,9                        | 12,3                        | 15,6                      | 8,9                       | 10,8                        |

\*Souches isolées en France métropolitaine (une seule par patient), excluant les souches provenant de Mayotte et des Antilles-Guyane.

n : nombre de souches étudiées

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

En 2009, le pourcentage de résistance à l'acide nalidixique ( $\text{Nal}^R = \text{CMI} > 256 \text{ mg/L}$ ) des souches **de sérotype Typhi** est d'environ 23%. Les CMI modales de la ciprofloxacine et de l'azithromycine de ces souches étaient de 0,23 et 6,5 mg/L, respectivement. Ces souches  $\text{Nal}^R$  étaient acquises suite à des séjours en Inde (n=8), au Pakistan (n=8), au Bangladesh (n=2) ou au Cambodge (n=1). Les souches contractées essentiellement dans le sous-continent indien sont souvent résistantes de façon isolée à l'acide nalidixique alors que précédemment elles étaient multirésistantes, à l'amoxicilline, au chloramphénicol, au cotrimoxazole et à la tétracycline. Cela serait dû à la perte du plasmide InCHI1 en l'absence de pression de sélection par ces anciens antibiotiques.

Depuis ces dernières années de plus en plus de souches multirésistantes  $\text{Nal}^S$  sont acquises en Afrique. En 2009, lorsque le lieu de contamination est indiqué, les souches multirésistantes de profil ASCSuT<sub>mp</sub>Te provenaient du Benin, du Nigeria, du Cameroun, et de République Centrafricaine (1 cas pour chacun).

En 2009, les souches de Typhi contractées dans les DOM-TOM, c'est à dire Mayotte (n=26) et la Guyane Française (n=14) étaient toutes sensibles à l'amoxicilline, à l'acide nalidixique et au cotrimoxazole.

### III.2.6 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A, 2005-2009

| Antibiotique            | % de souches <sup>a</sup> résistantes en : |                          |                          |                          |                          |
|-------------------------|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                         | 2005<br>(n=21)<br>(N=33)                   | 2006<br>(n=44)<br>(N=45) | 2007<br>(n=43)<br>(N=43) | 2008<br>(n=42)<br>(N=42) | 2009<br>(n=43)<br>(N=43) |
| Amoxicilline            | 0  | 0                        | 2,3                      | 2,4                      | 0                        |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0  | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        |
| Acide nalidixique       | 71,4*                                      | 50*                      | 34,9*                    | 61,9*                    | 67,4*                    |
| Ciprofloxacine          | 0  | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        |
| Cotrimoxazole           | 0  | 0                        | 2,3                      | 0                        | 0                        |
| Chloramphénicol         | 0  | 2,3                      | 2,3                      | 2,4                      | 0                        |
| Tétracycline            | 0  | 2,3                      | 2,3                      | 2,4                      | 0                        |

<sup>a</sup> Souches isolées en France métropolitaine (une seule par patient)

\* élévation de la CMI à la ciprofloxacine jusqu'à 0,5-0,75 mg/L

n : nombre de souches étudiées

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

Le pourcentage de résistance à l'acide nalidixique (CMI >256 mg/L) des souches **de sérotype Paratyphi A** reste élevé (presque 70%). En 2009, les CMI modales de ces souches pour la ciprofloxacine et l'azithromycine étaient de 0,5 et 10 mg/L, respectivement. Ces souches ont été contractées en Inde (n=13), au Bangladesh (n=2) et au Pakistan (n=1). Les souches d'origine africaines (Sénégal, n=5 et Bénin, n=1) restaient sensibles à tous les antibiotiques testés.

### III.2.7 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B, 2000-2009

| Antibiotique            | % de souches résistantes en : |                          |                          |                          |                          |                          |                          |
|-------------------------|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                         | 2000<br>(n=68)<br>(N=75)      | 2001<br>(n=69)<br>(N=73) | 2002<br>(n=78)<br>(N=78) | 2006<br>(n=35)<br>(N=51) | 2007<br>(n=40)<br>(N=40) | 2008<br>(n=47)<br>(N=51) | 2009<br>(n=55)<br>(N=55) |
| Amoxicilline            | 5,1                           | 14,5                     | 28,2                     | 8,6                      | 7,5                      | 8,5                      | 5,5                      |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                             | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        |
| Gentamicine             | 0                             | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        |
| Acide nalidixique       | 1,5                           | 2,9                      | 0                        | 2,9                      | 5                        | 4,3                      | 10,9                     |
| Ciprofloxacine          | 0                             | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        |
| Sulfamides              | 5,1                           | 15,9                     | 29,5                     | 8,6                      | 7,5                      | 8,5                      | 5,5                      |
| Triméthoprime           | 0                             | 2,9                      | 7,7                      | 0                        | 2,5                      | 2,1                      | 0                        |
| Chloramphénicol         | 5,1                           | 11,6                     | 24,4                     | 8,6                      | 5                        | 8,5                      | 7,3                      |
| Tétracycline            | 7,4                           | 15,9                     | 25,6                     | 8,6                      | 7,5                      | 12,7                     | 3,6                      |

n : nombre de souches étudiées

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

Aucune souche de Paratyphi B dt- (n=27) n'était résistante à l'amoxicilline et cinq d'entre elles présentaient une résistance à l'acide nalidixique (CMI > 256 mg/L).

### III.2.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype Agona en 2009

| Antibiotique            | % de souches résistantes en 2009 : |        |
|-------------------------|------------------------------------|--------|
|                         | (n=53)                             | (N=55) |
| Amoxicilline            | 13,2                               |        |
| Ceftriaxone/ceftazidime | <b>1,9</b>                         |        |
| Gentamicine             | 1,9                                |        |
| Acide nalidixique       | 3,8                                |        |
| Ciprofloxacine          | 0                                  |        |
| Sulfamides              | 18,9                               |        |
| Triméthoprim            | 15,1                               |        |
| Chloramphénicol         | 1,9                                |        |
| Tétracycline            | 11,3                               |        |

n : nombre de souches étudiées

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

Une souche résistante aux C3G était décrite en 2009 pour le sérotype Agona, de profil ACazFoxSSpGTCSuTmpTe compatible avec la production d'une céphalosporinase (cf paragraphe III.2.18.1.2). Cette souche a été isolée d'un enfant adopté originaire d'Haïti.

### III.2.9 Résistance aux antibiotiques du sérotype Anatum en 2009

| Antibiotique            | % de souches résistantes en 2009 : |        |
|-------------------------|------------------------------------|--------|
|                         | (n=32)                             | (N=34) |
| Amoxicilline            | 15,6                               |        |
| Ceftriaxone/ceftazidime | <b>6,3</b>                         |        |
| Gentamicine             | 3,1                                |        |
| Acide nalidixique       | 3,1                                |        |
| Ciprofloxacine          | 0                                  |        |
| Sulfamides              | 6,2                                |        |
| Triméthoprim            | 3,1                                |        |
| Chloramphénicol         | 6,2                                |        |
| Tétracycline            | 21,9                               |        |

n : nombre de souches étudiées

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

Deux souches résistantes aux C3G, compatibles avec la production d'une BLSE, étaient pour la première fois décrites en 2009 pour le sérotype Anatum, de profil ACazSSpKGTCSuTmpTeNal et ACroCaz.

### III.2.10 Résistance aux antibiotiques du sérotype Brandenburg entre 1997 et 2009.

| Antibiotique            | % de souches résistantes en : |                           |                           |                          |                          |
|-------------------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                         | 1997<br>(n=40)<br>(N=170)     | 2000<br>(n=40)<br>(N=148) | 2002<br>(n=39)<br>(N=110) | 2008<br>(n=50)<br>(N=98) | 2009<br>(n=43)<br>(N=43) |
| Amoxicilline            | 15                            | 5                         | 7,5                       | 24                       | 4,6                      |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                             | 0                         | 0                         | 0                        | 0                        |
| Acide nalidixique       | 12                            | 0                         | 10,3                      | 0                        | 0                        |
| Ciprofloxacine          | 0                             | 0                         | 0                         | 0                        | 0                        |
| Sulfamides              | 17,5                          | 5                         | 15                        | 46                       | 16,3                     |
| Triméthoprim            | 20                            | 5                         | 15                        | 28                       | 4,6                      |
| Chloramphénicol         | 10                            | 0                         | 10,3                      | 22                       | 2,3                      |
| Tétracycline            | 75                            | 67,5                      | 74,5                      | 72                       | 69,8                     |

n : nombre de souches étudiées

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

### III.2.11 Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby, 2000-2009.

| Antibiotique            | % de souches résistantes en : |                           |                           |                           |
|-------------------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                         | 2000<br>(n=40)<br>(N=142)     | 2002<br>(n=39)<br>(N=128) | 2006<br>(n=50)<br>(N=137) | 2009<br>(n=53)<br>(N=158) |
| Amoxicilline            | 2,5                           | 5                         | 2                         | 13,2                      |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                             | 0                         | 0                         | <b>11,3</b>               |
| Gentamicine             | 0                             | 2,6                       | 2                         | 3,8                       |
| Acide nalidixique       | 0                             | 2,5                       | 2                         | 3,8                       |
| Ciprofloxacine          | 0                             | 0                         | 0                         | 0                         |
| Sulfamides              | 57,5                          | 51,3                      | 76                        | 58,5                      |
| Triméthoprim            | 5                             | 3                         | 8                         | 22,6                      |
| Chloramphénicol         | 2,5                           | 0                         | 0                         | 5,7                       |
| Tétracycline            | 55                            | 61,5                      | 80                        | 58,5                      |

n : nombre de souches étudiées

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

| % Profils de résistance  | 2006<br>n=50 | 2009<br>n=53 |
|--------------------------|--------------|--------------|
| SSpSuTe                  | 64           | 34           |
| Multi-sensibles          | 18           | 30,2         |
| ACroCazSSpKGTANICSuTmpTe | 0            | 5,7          |
| ACroSuTmp                | 0            | 1,9          |
| ACroSuTmpTeNal           | 0            | 1,9          |
| ACro                     | 0            | 1,9          |

En 2009, six souches résistantes aux C3G par production de BLSE ont été décrites chez le sérotype Derby. L'analyse des mécanismes moléculaires du profil ACroCazSSpKGTANICSuTmpTe chez trois souches a mis en évidence une BLSE CTX-M-3. Ce profil a été retrouvé chez deux enfants adoptés revenant du Vietnam et chez un enfant contaminé à l'hôpital à partir d'un cas importé (cf paragraphe III.2.18.1.1).

### III.2.12 Résistance aux antibiotiques du sérotype Heidelberg entre 1997 et 2009.

| Antibiotique            | % de souches résistantes en : |                           |                          |                          |                          |                          |
|-------------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                         | 1997<br>(n=50)<br>(N=269)     | 2000<br>(n=50)<br>(N=157) | 2002<br>(n=67)<br>(N=84) | 2007<br>(n=32)<br>(N=35) | 2008<br>(n=28)<br>(N=28) | 2009<br>(n=20)<br>(N=21) |
| Amoxicilline            | 26                            | 36                        | 31,5                     | 6,3                      | 28,6                     | 20                       |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                             | 0                         | 0                        | 0                        | <b>10,7</b>              | <b>15</b>                |
| Acide nalidixique       | 0                             | 2                         | 13,5                     | 31,3                     | 50                       | 55                       |
| Ciprofloxacine          | 0                             | 0                         | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        |
| Sulfamides              | 20                            | 40                        | 27                       | 9,3                      | 10,7                     | 20                       |
| Triméthoprim            | 18                            | 38                        | 28,5                     | 9,3                      | 7,1                      | 5                        |
| Chloramphénicol         | 6                             | 0                         | 0                        | 0                        | 7,1                      | 0                        |
| Tétracycline            | 22                            | 48                        | 27                       | 3,1                      | 14,2                     | 30                       |

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype reçues au CNR

Depuis 2000, la résistance à l'acide nalidixique est en nette augmentation. Depuis 2008, trois souches productrices de BLSE ont été identifiées annuellement.

#### Profils de résistance observés de 2007 à 2009

| effectifs des profils de résistance | 2007<br>n=32 | 2008<br>n=28 | 2009<br>n=20 |
|-------------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Multi sensibles                     | 17           | 9            | 6            |
| Nal                                 | 10           | 9            | 6            |
| ACro                                | 0            | 0            | 1            |
| ACroNal                             | 0            | 2            | 0            |
| ACroSuTeNal                         | 0            | 0            | 2            |
| ACroSSpGTSuTeNal                    | 0            | 1            | 0            |

### III.2.13 Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis, 1997-2009.

| Antibiotique            | % de souches résistantes en : |                           |                           |                           |                           |                          |                           |
|-------------------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
|                         | 1997<br>(n=40)<br>(N=179)     | 2000<br>(n=40)<br>(N=151) | 2002<br>(n=51)<br>(N=133) | 2003<br>(n=45)<br>(N=108) | 2006<br>(n=58)<br>(N=105) | 2008<br>(n=50)<br>(N=92) | 2009<br>(n=57)<br>(N=126) |
| Amoxicilline            | 2,5                           | 2,5                       | 2                         | 0                         | 0                         | 10                       | 1,8                       |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                             | 0                         | 0                         | 0                         | 0                         | 0                        | 0                         |
| Acide nalidixique       | 0                             | 2,5                       | 2                         | 0                         | 1,7                       | 8                        | 7                         |
| Ciprofloxacine          | 0                             | 0                         | 0                         | 0                         | 0                         | 2                        | 0                         |
| Sulfamides              | 5                             | 5                         | 4                         | 4,4                       | 0                         | 12                       | 8,8                       |
| Triméthoprim            | 5                             | 2,5                       | 0                         | 4,4                       | 0                         | 14                       | 1,8                       |
| Chloramphénicol         | 2,5                           | 2,5                       | 2                         | 0                         | 1,7                       | 2                        | 0                         |
| Tétracycline            | 35                            | 2,5                       | 4                         | 0                         | 5,2                       | 20                       | 7                         |

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype reçues au CNR

Ce sérotype est en diminution depuis 1997 mais la prévalence de souches multirésistantes aux antibiotiques a connu un pic en 2008. Une souche (n° 08-5424) isolée en 2008 présentait une CMI à la ciprofloxacine de 1 mg/L. En 2009, les souches résistantes à l'acide nalidixique présentait une CMI modale à la ciprofloxacine de 0,38 mg/L.

#### Profils de résistance observés en 2008-2009

| Profils de résistance<br>% | 2008<br>n=50 | 2009<br>n=57 |
|----------------------------|--------------|--------------|
| Multi-sensible             | 72           | 91,2         |
| Te                         | 10           | 0            |
| A(S)SuTmp                  | 6            | 1,8          |
| SSpSuTmpTeNal              | 4            | 7            |
| SuTmpTe                    | 2            | 0            |
| A                          | 2            | 0            |
| ASuTmpCTeNalCip            | 2            | 0            |
| CTeNal                     | 2            | 0            |

### III.2.14 Résistance aux antibiotiques du sérotype Kentucky, 2000-2009.

| Antibiotique            | % de souches résistantes en : |                          |                          |                          |                          |                          |                          |                            |                            |                            |
|-------------------------|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                         | 2000<br>(n=22)<br>(N=24)      | 2001<br>(n=28)<br>(N=29) | 2002<br>(n=31)<br>(N=31) | 2003<br>(n=27)<br>(N=36) | 2004<br>(n=32)<br>(N=34) | 2005<br>(n=46)<br>(N=47) | 2006<br>(n=55)<br>(N=56) | 2007<br>(n=112)<br>(N=112) | 2008<br>(n=126)<br>(N=126) | 2009<br>(n=131)<br>(N=131) |
| Amoxicilline            | 18,2                          | 21,4                     | 22,6                     | 7,4                      | 21,9                     | 17,4                     | 25,5                     | 50,9                       | 57,1                       | 74                         |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                             | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                          | 0                          | <b>1,5</b>                 |
| Gentamicine             | 18,2                          | 21,4                     | 25,8                     | 3,7                      | 18,8                     | 13                       | 16,4                     | 41,9                       | 47,3                       | 53,4                       |
| Acide nalidixique       | 18,2                          | 21,4                     | 25,8                     | 7,4                      | 25                       | 26,1                     | 32,7                     | 66,1                       | 77,7                       | 90,1                       |
| Ciprofloxacine          | 0                             | 0                        | <b>3,2</b>               | 0                        | <b>15,6</b>              | <b>26,1</b>              | <b>30,9</b>              | <b>63,4</b>                | <b>74,6</b>                | <b>84,7</b>                |
| Sulfamides              | 27,3                          | 31,8                     | 29                       | 18,5                     | 28,1                     | 17,4                     | 20                       | 49,1                       | 51,6                       | 66,4                       |
| Triméthoprim            | 9,1                           | 3,6                      | 3,2                      | 11,1                     | 15,6                     | 2,2                      | 3,6                      | 3,6                        | 4                          | 9,2                        |
| Chloramphénicol         | 0                             | 0                        | 3,2                      | 0                        | 9,4                      | 2,2                      | 1,8                      | 0,9                        | 9,5                        | 7,6                        |
| Tétracycline            | 22,7                          | 31,8                     | 35,5                     | 18,5                     | 25                       | 17,4                     | 23,6                     | 52,7                       | 53,2                       | 64,1                       |

n : nombre de souches étudiées

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

#### Evolution des profils de résistance majoritaires observés en 2000-2009

| Profils de résistance<br>%     | 2000<br>n=22 | 2001<br>n=28 | 2002<br>n=31 | 2003<br>n=27 | 2004<br>n=32 | 2005<br>n=46 | 2006<br>n=55 | 2007<br>n=112 | 2008<br>n=126 | 2009<br>n=131 |
|--------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|
| Multi-sensible                 | 59           | 75           | 53,1         | 74,1         | 59,4         | 63           | 63,6         | 26,8          | 19,8          | 9,1           |
| ASSpGSuTeNal*                  | 13,6         | 21,4         | 9,7          | 3,7          | 3,1          |              |              |               |               | 0,8           |
| ANal*                          | 4,5          |              |              |              |              |              |              |               |               |               |
| ASSpKGSuTeNal*                 |              |              | 6,4          |              |              |              | 1,8          |               |               |               |
| SSpGSuTeNal*                   |              |              | 3,2          |              |              |              |              |               | 0,8           |               |
| ASSpGSuTeNalCip*               |              |              | 3,2          |              |              | 4,3          | 12,7         | 38,4          | 27,8          | 43,5          |
| NalCip*                        |              |              |              |              | 3,1          | 2,2          | 7,2          | 11,6          | 8,7           | 6,1           |
| SSpGSuNalCip*                  |              |              |              |              | 6,3          |              |              | 0,9           |               |               |
| ASSpGSuTmpCTeNalCip*           |              |              |              |              | 6,3          |              |              |               | 1,6           | 1,5           |
| ASSpKGSuTmpCTeNal*             |              |              |              |              | 3,1          |              |              |               |               |               |
| ANalCip*                       |              |              |              |              |              | 10,8         | 3,6          | 4,5           | 14,3          | 13,7          |
| ASSpGSuCTeNalCip*              |              |              |              |              |              | 2,2          |              |               | 5,6           | 4,6           |
| SSpGSuTeNalCip*                |              |              |              |              |              | 4,3          |              | 1,8           | 4,7           | 1,5           |
| SSpGSuTmpTeNalCip*             |              |              |              |              |              | 2,2          | 1,8          |               |               |               |
| ASSuTeNalCip*                  |              |              |              |              |              |              | 1,8          | 1,8           | 4,7           |               |
| ATeNalCip*                     |              |              |              |              |              |              | 3,6          | 1,8           | 0,8           | 0,8           |
| ASSpKGSuTeNalCip*              |              |              |              |              |              |              |              |               | 1,6           | 3,8           |
| TeNalCip*                      |              |              |              |              |              |              |              |               | 4             | 4,6           |
| ACroCazFoxNalCip*              |              |              |              |              |              |              |              |               |               | 0,8           |
| ACroCazFoxSSpKTNASuTmpCNalCip* |              |              |              |              |              |              |              |               |               | 0,8           |

\* en rapport avec le clone ST198

Depuis 2002, nous assistons à l'émergence de souches hautement résistantes à la ciprofloxacine au sein du sérotype Kentucky lié à l'émergence d'un clone ST198 (plus de 90% en 2009). Les profils majoritaires rencontrés sont « ASSpGSuTeCip », « ACip » et « Cip ». A noter que des souches résistantes aux C3G ont été isolées en 2009 (Cf paragraphe III.2.18.2.2 de ce rapport).

### III.2.15 Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport, 1997-2009.

| Antibiotique            | % de souches résistantes en : |                            |                            |                            |                          |                          |                            |                            |                            |
|-------------------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                         | 1997<br>(n=40)<br>(N=170)     | 2000<br>(n=100)<br>(N=109) | 2001<br>(n=124)<br>(N=134) | 2003<br>(n=126)<br>(N=138) | 2004<br>(n=91)<br>(N=94) | 2006<br>(n=88)<br>(N=91) | 2007<br>(n=105)<br>(N=109) | 2008<br>(n=118)<br>(N=120) | 2009<br>(n=137)<br>(N=137) |
| Amoxicilline            | 27,5                          | 27                         | 9,7                        | 19,8                       | 8,8                      | 10,2                     | 10,4                       | 6,8                        | 3,6                        |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                             | <b>15</b>                  | <b>4</b>                   | <b>17,5</b>                | <b>2,2</b>               | <b>8</b>                 | <b>0,9</b>                 | <b>4,2</b>                 | <b>0,7</b>                 |
| Gentamicine             | 2,5                           | 4                          | 1,6                        | 1,6                        | 2,2                      | 0                        | 0,9                        | 0,8                        | 0                          |
| Acide nalidixique       | 15                            | 23                         | 7,3                        | 1,6                        | 4,4                      | 1,1                      | 4,7                        | 3,4                        | 2,9                        |
| Ciprofloxacine          | 0                             | 0                          | 0                          | 0                          | 0                        | 0                        | 0                          | 0                          | 0                          |
| Sulfamides              | 27,5                          | 29                         | 10,5                       | 19,8                       | 8,8                      | 11,4                     | 12,3                       | 7,6                        | 4,4                        |
| Triméthoprim            | 27,5                          | 10                         | 4                          | 1,6                        | 4,4                      | 3,4                      | 8,5                        | 1,7                        | 2,2                        |
| Chloramphénicol         | 25                            | 25                         | 9,7                        | 15,9                       | 8,8                      | 9,1                      | 1,8                        | 5,9                        | 2,2                        |
| Tétracycline            | 45                            | 27                         | 11,3                       | 19                         | 9,9                      | 12,5                     | 11,3                       | 9,3                        | 7,3                        |

n : nombre de souches étudiées

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

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

Depuis 2005, 13 nouvelles souches de phénotype ACazSSuCTe, ACazSSuTe ou ACazSKSuCTe ont été confirmées comme productrices de CMY-2.

En 2009, deux souches, acquises en Egypte, présentaient le profil ASSpCSulTmptTeNal (avec un gène *bla*<sub>PSE-1</sub> de résistance à l'amoxicilline). Excepté pour la résistance à l'acide nalidixique qui correspond à une mutation dans le gène *gyrA*, les gènes de résistance de ces 2 souches étaient liés à présence dans le chromosome d'un variant de l'îlot génomique SGI1.

### III.2.16 Résistance aux antibiotiques du sérotype Saintpaul en 2009.

| Antibiotique            | % de souches résistantes en 2009 : |
|-------------------------|------------------------------------|
|                         | (n=77)                             |
|                         | (N=77)                             |
| Amoxicilline            | 14,3                               |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                                  |
| Imipénème               | <b>1,3</b>                         |
| Gentamicine             | 0                                  |
| Acide nalidixique       | 1,3                                |
| Ciprofloxacine          | 0                                  |
| Sulfamides              | 9,1                                |
| Triméthoprime           | 5,2                                |
| Chloramphénicol         | 2,6                                |
| Tétracycline            | 20,8                               |

n : nombre de souches étudiées

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

Nous décrivons pour la première fois en France, une souche de *Salmonella* ayant une sensibilité diminuée à l'imipénème (CMI=3 mg/L), de profil A-IMP. Celle-ci était due à la présence du porté par gène bla<sub>OXA-48</sub> dont le support était plasmidique. Cette souche a été acquise suite à un voyage en Egypte chez une patiente n'ayant pas été hospitalisée dans les 4 dernières années.

### III.2.17 Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow, 1997-2009

| Antibiotique            | % de souches résistantes en* : |                           |                            |                          |                            |                           |                          |                          |
|-------------------------|--------------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                         | 1997<br>(n=50)<br>(N=501)      | 2000<br>(n=50)<br>(N=239) | 2003<br>(n=100)<br>(N=157) | 2004<br>(n=77)<br>(N=88) | 2005<br>(n=100)<br>(N=114) | 2006<br>(n=98)<br>(N=101) | 2007<br>(n=74)<br>(N=79) | 2009<br>(n=81)<br>(N=81) |
| Amoxicilline            | 26                             | 6                         | 14                         | 20,8                     | 11                         | 6,1                       | 20,3                     | 11,1                     |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0                              | 0                         | <b>3</b>                   | <b>6,5</b>               | <b>3</b>                   | <b>1</b>                  | <b>4</b>                 | <b>4,9</b>               |
| Gentamicine             | 0                              | 0                         | 1                          | 2,6                      | 1                          | 3                         | 1,4                      | 4,9                      |
| Acide nalidixique       | 24                             | 48                        | 35                         | 41,6                     | 51                         | 32,7                      | 43,2                     | 35,8                     |
| Ciprofloxacine          | 0                              | 0                         | 0                          | 0                        | <b>1</b>                   | 0                         | 0                        | 0                        |
| Sulfamides              | 12                             | 4                         | 17                         | 31,2                     | 16                         | 13,3                      | 29,7                     | 18,5                     |
| Triméthoprim            | 20                             | 2,4                       | 18                         | 29,9                     | 15                         | 13,3                      | 29,7                     | 12,3                     |
| Chloramphénicol         | 6                              | 6                         | 2                          | 5,2                      | 0                          | 3                         | 16,2                     | 3,7                      |
| Tétracycline            | 24                             | 10                        | 16                         | 23,4                     | 16                         | 9,2                       | 25,7                     | 12,3                     |

n : nombre de souches étudiées

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

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

A partir de 2003, des souches résistantes aux C3G ont été détectées chez le sérotype Virchow. L'analyse des mécanismes moléculaires de résistance des souches isolées entre 2003 et 2005 (Weill et al, J Clin Microb 2004 et Bertrand S, Weill et al, J Clin Microbiol 2006) ont permis d'identifier les BLSE CTX-M-2 (phénotype ACroSuTmpTeNal, prévalence de 2 % en 2003, de 6,5 % en 2004 et de 1% en 2005), CTX-M-9 (phénotype ACroSSpKSuTmpTeNal, prévalence de 1 % en 2003), TEM-52 (phénotype ACazNal, prévalence de 1 % en 2005) et SHV-12 (phénotype ACazSSpKGSuTmpCTeNal, prévalence de 1 % en 2005).

Les 3 souches résistantes aux C3G en 2007 avaient le profil « ACazNal » (n=2) et « ACroSSpKSuTmpTeNal » (n=1) et les 4 souches en 2009 avaient pour phénotype « ACazNal » (n=3) et « ACroSSpSuTmpNal » (n=1).

## III.2.18 Souches présentant une résistance particulière aux antibiotiques, détectées au CNR-Salm entre 2006 et 2009

### III.2.18.1 Souches résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération

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

#### III.2.18.1.1 Souches productrices de $\beta$ -lactamases à spectre étendu, CNR-Salm 2006-2009

| Sérotype                                   | Année     | N <sup>1</sup> | Lieu de l'isolement       | Type de la BLSE    | Résistance associée <sup>2</sup>  | Souche     | Renseignements épidémiologiques                         |                    |          |             |                    |                     |
|--|-----------|----------------|---------------------------|--------------------|---|------------|---|--------------------|----------|-------------|--------------------|---------------------|
| 1,4,[5],12:i:-                             | 2008      | 1              | Aurillac                  | CTX-M-1            | SuTmpTe   | 08-2712    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
|  |           | 1              | Le Mans                   | En cours           | SSpSuTmpCTe   | 08-8899    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
|  | 2009      | 1              | Narbonne                  | En cours           | SSpSuTmpTe  | 09-1987    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
|  |           | 1              | Flers                     | En cours           | SSuTmpTe  | 09-4406    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
|  |           | 1              | Foix                      | En cours           | Te  | 2009/09061 | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
| Anatum                                     | 2009      | 1              | Boulogne-Billancourt      | En cours           | SSpKTGSuTmpCTeNal   | 09-3120    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
|  |           | 1              | St Claude (39)            | En cours           | Aucune  | 09-4683    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
| Bovis-morbificans Brandenburg <sup>3</sup> | 2009      | 1              | Louviers                  | En cours           | SuTmp   | 09-0202    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
| Bredeney                                   | 2008      | 1              | Fougères                  | CTX-M-14           | SuTmpTe   | 08-1650    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
| Concord et 6,7:l,v :-                      | 2007      | 1              | Carcassonne               | CTX-M-9            | SSpSu   | 07-3397    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
| Derby                                      | 2006-2009 | 49             | France entière            | CTX-M-15           | SSpGSuC<br>SGSuTmpCTeNal <sup>5</sup><br>SGSuTmpCTe<br>SKTGSuCTe  |            | Enfants adoptés d'Ethiopie.<br>Quelques cas autochtones |                    |          |             |                    |                     |
|  |           | 1              | Strasbourg                | CTX-M <sup>4</sup> | Aucune  | 09-0863    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
|  |           | 1              | Caen                      | CTX-M <sup>4</sup> | SuTmpTeNal  | 09-2219    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
|  |           | 1              | Chartres                  | CTX-M <sup>4</sup> | SuTmp   | 09-4445    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
| Enteritidis                                | 2009      | 3              | Clermont-Ferrand Moivrons | CTX-M-3            | SSpKToGAKNISuTmpCTe   | 09-4482    | 2 Enfants adoptés Vietnam<br>+ 1 transmission           |                    |          |             |                    |                     |
|  |           |                |                           |                    |   | 09-7917    |   |                    |          |             |                    |                     |
| Fyris                                      | 2009      | 1              | Aulnay-ss-bois            | En cours           | SuTmp   | 09-8225    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
|  |           |                |                           |                    |   | 2009/09082 |   |                    |          |             |                    |                     |
| Havana                                     | 2008      |                | Villeneuve St Georges     | CTX-M-15 SHV-12    | SGSuTmpCTe  | 08-2400    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
| Heidelberg                                 | 2007-2009 | 17             | France entière            | CTX-M-15           | SSpKToGSuTmpCTeNal <sup>6</sup><br>SSpToGSuTmpCTeNal <sup>6</sup><br>SSpKToSuTmpCTeNal <sup>6</sup><br>SSpToGSuTmpCTe |            | Enfants adoptés du Mali                                 |                    |          |             |                    |                     |
|  |           |                |                           |                    |   | 3          |   | Clamart            | CTX-M-15 | Nal         | 08-2380            | Contexte inconnu    |
|  |           |                |                           |                    |   |            |   | Grenoble           | CTX-M-2  | SSpToGSuNal | 08-6304            | Contexte inconnu    |
|  |           |                |                           |                    |   |            |   | Bordeaux           | CTX-M-8  | Nal         | 08-7519            | Voyage à la Réunion |
|  | 2009      | 1              | Montauban                 | En cours           | Aucune  | 09-4948    | Contexte inconnu  |                    |          |             |                    |                     |
|  |           |                |                           |                    |   | 2          |   | Roanne Aulnay/bois | En cours | SuTeNal     | 09-6695<br>09-7338 | Séjour en Algérie   |
| Kisangani                                  | 2009      | 1              | St Genevieve              | En cours           | SuTe  | 09-1318    | Séjour à l'île Maurice                                  |                    |          |             |                    |                     |

|             |                |            |                   |            |  |                    |  |
|-------------|----------------|------------|-------------------|------------|--|--------------------|--|
| London      | 2007           | 1          | St-Affrique       | CTX-M-1    | SuTmp  | 07-0819            | Contexte inconnu                           |
| Nima        | 2009           | 9          | France entière    | En cours   | SSpKTGSuTmpCTeNalCip <sup>7</sup>                  |                    | Enfants adoptés du Mali                    |
| Senftenberg | 2006           | 1          | Paris             | CTX-M-3    | Tmp  | 06-8933            | Séjour en Turquie                          |
| Stanley     | 2007           | 1          | St-Brieuc         | CTX-M-15   | SSpKSuTmpTeNal                                     | 07-1884            | Séjour au Pakistan                         |
| Telelkebir  | 2007-2009      | 17         | France entière    | CTX-M-15   | SSpKToGSuTmpCTeNal <sup>6</sup><br>SSpKToGSuTmpCTe |                    | Enfants adoptés du Mali                    |
| Typhimurium | 2006           | 1          | St-Girons         | CTX-M-1    | SuTmpTe  | 06-6550            | Contexte inconnu                           |
|             | 2007           | 1          | Steenvoorde       | En cours   | SSpSuCTe   | 07-3847            | Contexte inconnu                           |
|             |                | 2          | Cahors            | CTX-M-15   | SKToGSuTmpCTeNal                                   | 07-3206<br>07-3207 | Séjour en Afghanistan                      |
|             | 2008           | 1          | Belley            | CTX-M-1    | SSpSuTmpCTe  | 08-0843            | Contexte inconnu                           |
|             |                | 3          | Grenade           | CTX-M-1    | SuTmp  | 08-1537            | Contexte inconnu                           |
|             |                |            | Metz<br>Castres   |            |  | 08-1745<br>08-2211 | Séjour au Burkina Faso<br>Contexte inconnu |
|             | 2009           | 1          | Aurillac          | CTX-M-14   | Aucune   | 08-2711            | Contexte inconnu                           |
|             |                | 1          | Aurillac          | CTX-M-14   | SSpSuCTe   | 08-3712            | Contexte inconnu                           |
|             |                | 1          | Bordeaux          | CTX-M-3    | SSpGSuTmp  | 08-8519            | Séjour en Algérie                          |
|             |                | 1          |                   | En cours   | SSpKSuCTe  | 09-0611            | Contexte inconnu                           |
|             |                | 3          | St Martin Re (17) | En cours   | SSpSuCTe   | 09-2375            | Contexte inconnu                           |
|             |                |            | St Pol (62)       |            |  | 09-2540            | Contexte inconnu                           |
|             |                | 1          | Paris (75)        | En cours   |  | 09-3040            | Prél. catheter                             |
|             |                | 1          | Cornebarrieu (31) | En cours   | SSpSuTmpCTe  | 09-5997            | Contexte inconnu                           |
|             |                | 1          | Orleans (45)      | En cours   | TG   | 09-6209            | Contexte inconnu                           |
|             |                | 1          | Lagny (77)        | En cours   | SSuCTeNal <sup>7</sup>                             | 09-7129            | Séjour en Thaïlande                        |
|             | 1              | Laon (02)  | En cours          | SSuTe      | 09-7622  | Contexte inconnu   |  |
| 1           | Mulhouse (68)  | En cours   | SSpKGSuTmpCTe     | 2009/09382 | Contexte inconnu                                   |                    |  |
| Virchow     | 2006           | 1          | Nimes (30)        | TEM-52     | Aucune   | 06-8083            | Contexte inconnu                           |
|             | 2007           | 3          | Dinan (22)        | CTX-M-9    | SSpKSuTmpTeNal                                     | 07-2762            | Contexte inconnu                           |
|             |                |            | Meaux (77)        | TEM-52     | Nal  | 07-3700            | Contexte inconnu                           |
|             |                |            | Riom (63)         | CTX-M-32   | Nal  | 07-4662            | Contexte inconnu                           |
|             | 2008           | 1          | Arcachon (33)     | CTX-M-9    | SSpKSuTmpTeNal                                     | 08-8672            | Contexte inconnu                           |
|             | 2009           | 1          | Nîmes (30)        | En cours   | SSpSuTmpNal  | 09-6736            | Contexte inconnu                           |
|             |                | 3          | Douai (59)        | En cours   | Nal  | 09-3420            | Contexte inconnu                           |
|             | Abbeville (80) |            |                   |            | 09-3785  | Contexte inconnu   |  |
|             |                | Paris (75) |                   |            | 09-4037  | Contexte inconnu   |  |
| Waycross    | 2006-2008      | 17         | France entière    | CTX-M-15   | Aucune<br>G<br>SuTmp<br>GSuTmp                     |                    | Enfants adoptés du Mali                    |

<sup>1</sup>Nombre de souches (une souche par patient).

<sup>1</sup>Abréviations utilisées: S, streptomycine; Sp, spectinomycine; K, kanamycine; To, tobramycine; G, gentamicine; Ak, amikacine; N, netilmicine; I, isepamicine ; Su, sulfamides; Tmp, triméthoprim; C, chloramphénicol; Te, tétracycline; Nal, acide nalidixique.

<sup>3</sup>Souche possédant à la fois une BLSE et une céphalosporinase.

<sup>4</sup>Groupage par PCR. Séquençage en cours pour détermination précise de l'allèle.

<sup>5</sup>Présence du gène de résistance aux quinolones *qnrA1*.

<sup>6</sup>Présence du gène de résistance aux quinolones *qnrB1*.

<sup>7</sup>Présence probable des gènes variant *aac-6'* et/ou *qnr*

### III.2.18.1.2 Souches productrices de céphalosporinases plasmidiques, CNR-Salm 2006-2009

| Sérotype                 | Année     | N <sup>1</sup> | Lieu de l'isolement | Type de la céphalosporinase | Résistance associée <sup>2</sup> | Souche                | Renseignements épidémiologiques |
|--------------------------|-----------|----------------|---------------------|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------|---------------------------------|
| Agona                    | 2006      | 2              | Sannois (95)        | CMY-2                       | SKSuTmpCTe                       | 06-6634               | Contexte inconnu                |
|                          |           |                | Paris               | CMY-2                       | SKSuTmpCTeNal                    | 06-7675               | Contexte inconnu                |
|                          | 2009      | 1              | Lannion (22)        | En cours                    | SSpTGSuTmpCTeNal                 | 09-3314               | Enfant Haïtien adopté           |
| Anatum                   | 2006      | 1              | Paris               | CMY-2                       | Aucune                           | 06-4966               | Porteur asymptomatique          |
| Brandenburg <sup>3</sup> | 2008      | 1              | Fougères (35)       | ACC-1                       | SuTmpTe                          | 08-1650               | Contexte inconnu                |
| Corvallis                | 2008      | 1              | Nancy (54)          | CMY-2                       | SSpGSuCTe                        | 08-3705               | Abcès du sein                   |
| Goldcoast                | 2008      | 1              | Lisieux (14)        | CMY-2                       | Aucune                           | 08-5062               | Contexte inconnu                |
| Kentucky                 | 2009      | 2              | Nancy<br>Nantes     | En cours                    | NalCIP<br>SSpKTNASuTmpCTeNalCip  | 09-8391<br>2009/09322 | Contexte inconnu                |
| Newport                  | 2006-2008 | 13             | France entière      | CMY-2                       | SSuCTe<br>SKSuCTe<br>SSuTe       |                       | Non investigué                  |
| Reading                  | 2006      | 1              | Villecresnes (94)   | CMY-2                       | SSpSuCTe                         | 06-0179               | Infection urinaire              |
| Stanley                  | 2006      | 2              | Amiens (80)         | CMY-2                       | SSpGSuCTe                        | 06-8122               | Séjour en Thaïlande             |
|                          |           |                | Cenon (33)          | CMY-2                       | SSpSuCTe                         | 06-7118               | Contexte inconnu                |
| Stanleyville             | 2009      | 1              | Paris (75)          | En cours                    | Aucune                           | 09-5208               | Séjour Cameroun/Mali            |
| Typhimurium              | 2008      | 1              | Valence (26)        | CMY <sup>4</sup>            | Aucune                           | 08-1532               | Contexte inconnu                |
|                          | 2009      | 1              | Dinan (22)          | En cours                    | SKTGSuTmpCTe                     | 2009/09466            | Contexte inconnu                |

<sup>1</sup>Nombre de souches (une souche par patient).

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

<sup>3</sup>Souche possédant à la fois une BLSE et une céphalosporinase.

Les souches résistantes aux C3G sont très rarement observées dans le genre *Salmonella*.

Les études de sensibilité aux antibiotiques menées par le CNR-Salm de 1993 à 2007 par échantillonnage des deux sérotypes majeurs, Enteritidis et Typhimurium (2718 souches testées) n'ont mis en évidence que quatre souches résistantes (0,15%), dont trois de sérotype Typhimurium. Un nombre croissant de souches résistantes aux C3G pour Typhimurium et son variant monophasique est observé au CNR-Salm, avec 9 souches en 2008 (7 Typhimurium et 2 monophasiques) et 12 en 2009 (9 Typhimurium et 3 monophasiques).

D'autres sérotypes sont, depuis quelques années, particulièrement affectés par cette résistance comme Virchow avec 15 souches sur 689 testées (2,2%) entre 1997 et 2007 (CTX-M-2, n= 9; CTX-M-9, n= 2; TEM-52, n= 2; SHV-12, n= 1 ; BLSE en cours de typage, n=1) et Newport avec 58 souches sur 936 testées (6,2%) entre 1997 et 2008 qui produisaient la céphalosporinase CMY-2. L'atteinte préférentielle de ces sérotypes est un phénomène observé sur le plan international et serait vraisemblablement consécutif à l'utilisation de C3G dans la filière animale (bovins pour Newport et volailles pour Virchow). A côté de ces sérotypes majeurs, le CNR-Salm détecte des sérotypes rares producteurs de BLSE (Babelsberg, Concord, Waycross, Havana, Teitelkebir et Nima) depuis 2003. Le plus souvent il s'agit de salmonelles sélectionnées par une mauvaise utilisation de C3G chez des enfants candidats à l'adoption dans leur pays d'origine (Mali et Ethiopie).

### III.2.18.2 Souches résistantes à la ciprofloxacine

La résistance à la ciprofloxacine est définie *in vitro* par une concentration minimale inhibitrice (CMI) supérieure à 1 mg/L (communiqué 2009 du CA-SFM). Les mécanismes de résistance aux fluoroquinolones sont principalement des modifications au niveau du site de fixation de ces antibiotiques au niveau de la DNA gyrase et la topoisomérase IV. Ces modifications sont dues à des mutations ponctuelles dans les gènes *gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE*. L'accumulation de mutations et la présence additionnelle d'un mécanisme d'efflux ou de facteurs plasmidiques comme les gènes *qnr* et le gène *aac6'-Ib-cr* augmentent le niveau de résistance de ces souches.

#### III.2.18.2.1 Souches du sérotype Typhimurium et 1,4,[5],12:i:- (monophasique) résistantes à la ciprofloxacine détectées au CNR-Salm entre 2002 et 2009

| Souche               | Date     | Lieu de l'isolement    | Age/sexe  | Lysotype/<br>pulsotype | Résistance associée | Renseignements<br>épidémiologiques           |
|----------------------|----------|------------------------|-----------|------------------------|---------------------|--|
| 02-8213              | Oct 02   | Gisors (27)            | < 1 an/F  | 12 variant/<br>XTYM-13 | ASSpGSuTmpCTe       | Contact possible avec perruches              |
| 03-3976              | Juin 03  | Romilly s/Seine (10)   | 62 ans/F  | 12 variant/<br>XTYM-13 | ASSpGSuTmpCTe       | Contacts avec serpents (pythons)             |
| 03-9373              | Nov 03   | Grenade s/Garonne (31) | 2 ans/F   | 12 variant/<br>XTYM-9  | ASSpSuCTe           | Contacts avec serpent (Boa)                  |
| 04-4301              | Juill 04 | Grenoble (38)          | 7 ans/F   | 12 variant/<br>XTYM-13 | ASSpGSuTmpCTe       | Contacts avec serpent (couleuvre américaine) |
| 04-4415              | Juill 04 | Grenoble (38)          | 18 mois/F | 12 variant/<br>XTYM-13 | ASSpGSuTmpCTe       | Demi-sœur de la précédente                   |
| 03-9825              | Déc 03   | Isle d'Abaut (38)      | Perroquet | 12 variant/<br>XTYM-13 | ASSpGSuTmpCTe       | Infection mortelle                           |
| 04-6374              | Juill 04 | Grenoble (38)          | Serpent   | 12 variant/<br>XTYM-13 | ASSpGSuTmpCTe       | Serpent sain au contact d'un cas             |
| 04-8474              | Nov 04   | Nice (06)              | Perroquet | 12 variant/<br>XTYM-13 | ASSpGSuTmpCTe       | Infection mortelle                           |
| 04-8808              | Nov 04   | Nice (06)              | Perroquet | 12 variant/<br>XTYM-13 | ASSpGSuTmpCTe       | Infection mortelle                           |
| 05-1506              | Mars 05  | Alençon (61)           | 36 mois/F | 12 variant/<br>XTYM-53 | ASSpGSuTmpCTe       | Contacts avec serpent (python royal)         |
| 05-6408              | Sept 05  | St Nazaire (44)        | 8 mois/M  | 12 variant/<br>XTYM-13 | ASSpGSuTmpCTe       | Contacts avec iguane                         |
| 06-6158              | Sept 06  | Jonzac (16)            | 4 ans/F   | 12 variant/<br>XTYM-58 | ASSpGSuTmpCTe       | Voyage en Chine avec consommation de tortue  |
| 08-1846              | Mars 08  | Petit-Quevilly (76)    | 2 mois/M  | XTYM-13                | ASSpSuCTe           | Contact avec couleuvre américaine            |
| 08-3343              | Déc 07   | Lille (59)             | Serpent   | En cours               | ASSpSuCTe           | Serpent sain                                 |
| 09-1581 <sup>2</sup> | Mars 09  | Toulouse (31)          | 36ans/M   | XTYM-118               | ASSpKTNGSuTmpCTe    | Voyage en Chine                              |
| 09-6985              | Sept 09  | Voiron (38)            | 10ans/M   | XTYM-118               | ASSpKTNGSuTmpCTe    | Voyage en Chine                              |

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

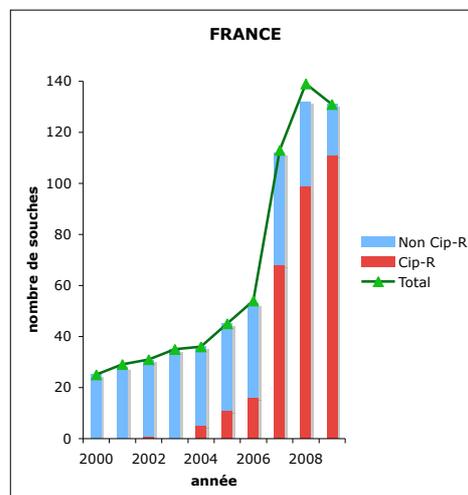
<sup>2</sup>Souche monophasique 4,5,12:i:-.

Ces souches isolées de 2002 à 2008 possédaient une CMI à la ciprofloxacine supérieure à 16 mg/L. Une étude des mécanismes de résistance à la ciprofloxacine réalisée en collaboration avec le Dr Isabelle Casin (Hôpital Saint-Louis, Paris) a montré que ces souches présentaient deux substitutions significatives dans GyrA (Ser83Phe et Asp87Asn), une dans GyrB (Ser464Phe) et une dans ParC (Ser80Arg). Un mécanisme d'efflux était également présent. Une étude par électrophorèse en champ pulsé (*Xba*I et *Bln*I) ainsi qu'une étude par les méthodes MLVA et CRISPR a montré que ces souches étaient clonales, à l'exception des deux souches isolées en 2009 (XTYM-118) et qui présentaient une CMI à 2 mg/L.

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

### III.2.18.2.2 Souches du sérotype Kentucky résistantes à la ciprofloxacine détectées au CNR-Salm, 2000-2009

Nous avons publié en 2006 (Weill et al. *Emerg Infect Dis*) une étude sur des souches de sérotype Kentucky Cip<sup>R</sup> reçues au CNR-Salm entre 2002 et 2005. Entre 2000 et 2005, 197 souches humaines de ce sérotype avaient été analysées au CNR-Salm (sur un total de 69,759 souches de *Salmonella* sérotypées) et 17 étaient résistantes à la ciprofloxacine (CMI comprises entre 4 et 16 mg/L). Nous avons établi une surveillance continue et prospective sur ces souches responsables de l'émergence actuelle de ce sérotype, figure ci-dessous.



La première souche de sérotype Kentucky Cip<sup>R</sup> avait été isolée en décembre 2002 en France chez un touriste français qui avait souffert d'une gastroentérite au cours d'une croisière sur le Nil. Depuis, un nombre croissant de ces souches avait été isolé lors de salmonelloses au cours ou au décours d'un voyage en Egypte ou en Afrique de l'Est (2000-2005) puis Afrique du Nord (Maroc++) et Afrique de l'Ouest (2006-2009).

Le typage moléculaire a révélé que ces souches appartenaient à un seul clone « X1-ST198-SGI1-Ks » défini par le profil PFGE X1, le séquençotype ST198 et la présence de l'îlot génomique SGI1 variant -Ks (et ses dérivés -Ps, -Qs). L'étude des mécanismes de résistance à la ciprofloxacine avait identifié deux substitutions significatives dans GyrA (Ser83Phe et Asp87Gly/Asn ou Tyr) et une dans ParC (Ser80Ile).

Une collaboration internationale a révélé l'émergence, à l'échelon européen, de ce clone et la similarité des souches humaines Cip<sup>R</sup> avec des souches aviaires (poulets++, dindes), aquacoles (fruits de mer) et environnementales (épices) de pays d'Afrique (S. Le Hello et F.X. Weill, en cours de publication).

### III.2.18.3 Souches de sensibilité diminuée à la ciprofloxacine présentant un phénotype de type « qnr » en 2009

La résistance aux fluoroquinolones peut être également le fait de facteurs plasmidiques comme les gènes *qnr A, B, S* et le gène variant *aac6'-Ib-cr* qui augmentent le niveau de résistance de ces souches aux fluoroquinolones. Les études de sensibilité aux antibiotiques menées par le CNR-Salm par échantillonnage en 2009 permettent de suspecter la présence de « qnr » pour les souches suivantes :

| Sérotype    | N | Lieu probable de contamination | CMI (mg/L) |       | Résistance associée   | gène impliqué                 | Souche             |
|-------------|---|--------------------------------|------------|-------|-----------------------|-------------------------------|--------------------|
|             |   |                                | Nal        | CIP   |                       |                               |                    |
| Corvallis   | 1 | Vietnam                        | 24         | 0,5   | SSuTe                 | En cours                      | 2009/09307         |
| Kentucky    | 2 | Inde                           | 32         | 0,5   | aucune                | En cours                      | 09-2151<br>09-5001 |
| Montevideo  | 1 | Vietnam                        | 16         | 0,25  | SSpSuTmp              | En cours                      | 09-5278            |
| Nima        | 9 | Mali                           | 32         | 1,5   | BLSE                  | En cours                      |                    |
| Thompson    | 1 | Inconnu                        | 24         | 0,75  | AKTSuCTe              | En cours                      | 09-4311            |
| Typhimurium | 1 | Inconnu                        | 32         | 1,5   | KT                    | <i>aac-6'</i><br><i>qnrS1</i> | 09-5591            |
|             | 1 | Indonésie                      | 24         | 0,5   | aucune                | En cours                      | 09-5704            |
|             | 1 | Vietnam                        | 16         | 0,125 | ASSpKTNGSuTmpCTe      | En cours                      | 09-4324            |
|             | 1 | Thaïlande                      | 32         | 0,5   | ACroCazSSuCTe<br>BLSE | En cours                      | 09-7129            |

Les souches suspectées comme possédant un plasmide possédant les gènes *qnr* et/ou *aac-6'-Ib-cr* ont été isolées chez des patients qui revenaient majoritairement d'un séjour en Asie.

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

En 2009, le CNR-Salm a participé :

- à l'investigation microbiologique suite au signalement par le C. H. de Tourcoing de cas groupés de fièvres typhoïde autochtones liés à un repas commun associatif organisé le 10 janvier 2009. Au total, 18 cas d'infections à *S. enterica* serotype Typhi (souches reçues au CNR) ont été identifiés et reliés épidémiologiquement à ce repas. Un porteur sain a été mis en évidence parmi les préparateurs des aliments. Les outils de sous-typage n'ont permis de relier qu'un certain nombre de cas entre eux et pouvant faire suspecter une co-infection avec plusieurs sous-types de *S. enterica* sérotype Typhi.
- au signalement d'une augmentation du nombre de souches de *S. enterica* sérotype Hadar reçues au CNR-Salm qui présentaient un profil de résistance « ATe » rarement décrit jusqu'alors dans ce sérotype. Entre le 19 janvier et le 22 mars 2009, notre programme de surveillance a émis des alertes hebdomadaires avec 69 souches isolées lors de cette période qui concordait dans le temps avec des isolements alimentaires de sérotype Hadar, de même profil de résistance aux antibiotiques, dans un établissement fabriquant des produits de volaille à distribution nationale. Suite aux mesures de contrôle, l'épisode a été considéré clos du fait d'un retour de base mi-mars mais une vigilance a été maintenue.
- à l'investigation microbiologique suite au signalement par la DDASS 69 de cas groupés familiaux de syndromes évocateurs de fièvres typhoïdes/paratyphoïdes le 6 mars 2009. Au total 5 cas ont été identifiés et le CNR a permis de révéler la présence concomitante de *S. enterica* serotype Paratyphi A et Typhi pour ces patients. Tous les cas appartenaient à la même famille et ont en commun un repas au domicile des grands parents. L'hypothèse retenue est la transmission alimentaire à partir d'un aliment contaminé par un ou plusieurs préparateur(s) excréant des souches de sérotype Paratyphi A et Typhi.
- à l'investigation microbiologique d'une toxi-infection alimentaire collective suite à la consommation d'un tiramisu lors d'un repas collectif le 30 avril 2009 à Toulouse. Huit malades ont été hospitalisés. L'enquête épidémiologique a permis d'isoler 5 souches de malades, la souche du tiramisu ainsi que 10 souches d'environnements de l'élevage de poules pondeuses (dans le Morbihan) dont les œufs ont servi à préparer le tiramisu. Au total, les 16 souches étaient des *S. enterica* de sérotype I. 4,5,12 :- :- (immobile) qui présentaient un seul profil par PFGE, indistinguable du profil majoritaire de Typhimurium (XTYM-1). Seul le MLVA a permis de différencier les souches de la TIAC des autres souches sporadiques (autres souches de même sérotype isolées les années précédentes). Il s'agit de la première TIAC causé par un variant immobile de Typhimurium.
- au suivi des cas de salmonelloses à *S. enterica* serotype Typhimurium signalées le 10 juin 2009 par l'InVS chez des nourrissons de 3 à 4 mois vivant dans une pouponnière à Eysines (Gironde). Au total, 7 cas ont pu être reliés en l'espace d'un mois et regroupés sur 2 unités de la pouponnière. Un renforcement des mesures d'hygiène et de contrôle a été engagé. Le dernier cas a été identifié le 22 juin 2009.

- au signalement à l'InVS d'une augmentation du nombre de souches de *S. enterica* serotype London en août-septembre 2009 : 14 souches regroupées dans les départements des Alpes-Maritime et du Var. L'investigation mise en œuvre par la Cire Sud n'a pas permis de générer une hypothèse sur une source commune de contamination. Aucun nouvel isolement n'a été notifié au CNR-Salm depuis la semaine 38.
- à l'investigation microbiologique suite au signalement par l'InVS fin septembre 2009 de cas d'infections à *S. enterica* serotype Paratyphi B biotype Java suite à la consommation de fromage de chèvre contaminé. Les mesures de contrôle (arrêt de la production et retrait et rappel des lots au 5 octobre 2009) ont permis de limiter le nombre de cas à 3 personnes.

## III. 4 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

### III.4.1 Contribution aux réseaux européens

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

### III.4.2 Contribution aux réseaux internationaux

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

Les souches étudiées au CNR-Salm dont les formules antigéniques ne figurent pas dans le schéma de White-Kauffmann-Le Minor sont transmises pour validation au Centre Collaborateur **OMS** de Référence et de Recherche sur les *Salmonella* (CCOMS) dont les responsables sont ceux du CNR-Salm. En 2009, le CNR-Salm a adressé au CCOMS les putatifs nouveaux sérotypes ou nouveaux variants suivants:

- \* le nouveau sérotype **Bergerac** de formule I. 44:c:e,n,x
- \* le putatif nouveau sérotype (nom en cours d'homologation) de sous-espèce *salamae* sérotype 6,7:z:e,n,x,z<sub>15</sub>
- \* le putatif nouveau sérotype (nom en cours d'homologation) de sous-espèce *enterica* de formule 21:k:1,6
- \* le putatif nouveau variant RZ<sub>27</sub> du sérotype **Westhampton** (3,15:g,s,t:-:RZ<sub>27</sub>)
- \* le putatif nouveau variant RZ<sub>45</sub> du sérotype **Tilbury** (1,3,19:d:l,w:RZ<sub>45</sub>)
- \* le putatif nouveau variant O:27 - du sérotype **Wagenia** (4,12:b:e,n,z<sub>15</sub>)
- \* le putatif nouveau variant RZ<sub>50</sub> de la sous-espèce *diarizonae* sérotype 48:r:z:RZ<sub>50</sub>)
- \* le putatif nouveau variant RZ<sub>57</sub> de la sous-espèce *diarizonae* sérotype 14:z<sub>10</sub>:z:RZ<sub>57</sub>)
- \* le putatif nouveau variant O:5 + du sérotype **Farsta** (4,5,12:i:e,n,x)

Les responsables du CNR-Salm participent au réseau Global Salm Surv de l'OMS comme enseignants pour la partie microbiologique (cours théoriques et travaux pratiques) lors de formations organisées par ce réseau. L'édition 2007 du schéma de White-Kauffmann-Le Minor par P.A.D. Grimont et F.X. Weill est accessible en version française sous forme d'un

### III. 5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

En 2008, une collaboration entre le CNR-Salm et le Contrôle National de Qualité (CNQ) de l'AFSSAPS a été engagée. Ainsi en 2009, des souches de *Salmonella* sélectionnées par le CNR-Salm ont été adressées à l'ensemble des laboratoires hospitaliers et libéraux de France dans le cadre du CNQ Bactériologie de façon à apprécier leur capacité de sérotypage et d'analyse de la sensibilité aux antibiotiques. Au cours de ce CNQ, une enquête a été également distribuée pour connaître le nombre de souches de *Salmonella* isolées dans chaque laboratoire en 2008 ainsi que leurs procédures quant au sérotypage (absence de sérotypage, sérotypage partiel ou complet, envoi au CNR ou à d'autres laboratoires spécialisés, absence de sérotypage et de transmission...). Le taux de réponse a été supérieur à 90%. Les premiers résultats de cette enquête (en cours d'analyse) ont révélé qu'en 2008, près de 15 000 souches de *Salmonella* ont été isolées en France métropolitaine.

#### Méthode

Deux souches de *S. enterica* ont été proposées. L'une de sérotype Paratyphi A présentait une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (CMI entre 0,5 et 0,75 mg/l), l'autre de sérotype Typhimurium produisait une BLSE (TEM-52). Le choix de ces deux souches a été motivé par l'émergence depuis les années 2000 de souches de *S. enterica* sérotypes Typhi et Paratyphi A de moindre sensibilité à la ciprofloxacine et de souches de salmonelles dites mineures résistantes aux C3G.

#### Résultats

##### *S. enterica* sérotype Paratyphi A

Le sérotypage partiel ou complet de cette souche a été réalisé par 38,8% (688/1774) des laboratoires qui ont obtenu une bonne identification du sérotype dans 85,5% (588/688) des cas. Cependant, du fait des caractéristiques biochimiques propres de la souche, il est difficile de savoir si ces très bons résultats reposaient exclusivement sur le sérotypage. **Le choix de cette souche permet de rappeler que les biologistes ont, depuis 2003, l'obligation de déclarer les cas de fièvres typhoïdes et paratyphoïdes au médecin inspecteur de la DDASS** et en rappelant le site où il est possible de télécharger la feuille de DO ([http://www.invs.sante.fr/surveillance/mdo/fiches/fiche\\_fievre\\_typhoide.pdf](http://www.invs.sante.fr/surveillance/mdo/fiches/fiche_fievre_typhoide.pdf)).

La souche avait une **sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (CMI entre 0,5 et 1 mg/l)**. La détermination de la CMI de la ciprofloxacine était donc souhaitable, ce qui a été bien répondu par 68,4% (1147/1677) des laboratoires. Cependant, celle-ci n'a été déterminée que par 259 laboratoires, dont 210 (81,1%) ont trouvé une CMI comprise entre 0,5 et 1 mg/l ce qui était la valeur attendue. Un traitement du patient par la ciprofloxacine a été déconseillé par 76,7% (1286/1677) des laboratoires mais sur la base de l'antibiogramme seul, c'est-à-dire sans déterminer la CMI, pour 1000 d'entre eux. La souche était sensible aux autres classes d'antibiotiques. Les réponses des laboratoires étaient excellentes aussi bien en lecture brute qu'en résultats transmis.

##### *S. enterica* sérotype Typhimurium

Cette souche ne posait pas de problème sur le plan de l'identification biochimique en raison de son appartenance à l'espèce et à la sous-espèce majoritaire (*S. enterica* subsp. *enterica*). Le sérotypage partiel ou complet de cette souche a été réalisé par 34,3% (518/1508) des laboratoires. Parmi les 518 laboratoires, 47,9% ont trouvé le bon sérotype et 41,1% ont

déterminé le sérotype O:4 (ex groupe B). En l'absence de caractéristiques biochimiques propres à ce sérotype (contrairement à Paratyphi A), seulement 16,4% (n=248) des laboratoires ont pu sérotyper intégralement cette souche appartenant au sérotype le plus prévalent de notre pays. La détection précoce des épidémies à *Salmonella* étant basée sur un typage (sérotypage et éventuellement sous-typage moléculaire) quotidien des souches reçues au CNR, nous avons rappeler aux laboratoires qu'ils pouvaient adresser leurs souches au CNR où le sérotypage est réalisé gratuitement pour **toutes les souches humaines** à condition de pouvoir disposer des renseignements cliniques.

La souche de *S. enterica* sérotype Typhimurium était résistante aux C3G (CMI ceftriaxone 16 mg/l et CMI ceftazidime 32 mg/l) et produisait une BLSE de type TEM-52. Cette souche appartenant au clone DT104 était également productrice d'une pénicillinase PSE-1. Le phénotype BLSE a ainsi été reconnu par 77,8% des laboratoires. Pour les bêta-lactamines, les réponses attendues étaient excellentes aussi bien en lecture brute qu'en résultats transmis. La souche de *S. enterica* sérotype Typhimurium était résistante à la streptomycine (non testé), à la spectinomycine (non testé), au sulfaméthoxazole (non testé), au chloramphénicol et à la tétracycline. Les réponses attendues étaient excellentes aussi bien en lecture brute qu'en résultats transmis. A la question «est-il souhaitable de déterminer la CMI de la ciprofloxacine ?», 76,9% des laboratoires ont répondu convenablement («non») et à la question «conseillerez-vous une utilisation thérapeutique de ciprofloxacine ?» 91,3% des laboratoires ont répondu convenablement («oui»).

## **IV. ALERTE**

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

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

### V.1 Réunions et missions

- S Le Hello. Participation à l'Atelier OMS Global Salm Surv « Level II international training course on foodborne pathogens and disease surveillance for Eastern Africa », 19-24 janvier 2009, Kenya.
- FX Weill. Trésorier des Journées de Biologie Clinique Necker-Pasteur. Paris, 21-23 janvier 2009.
- S Le Hello. Participation au « Second Annual Meeting of the Food- and Waterborne Diseases and Zoonoses surveillance Network in Europe », 24-25 septembre 2009, ECDC, Malta.
- S Le Hello. Conférence «synthèse des données de surveillance du CNR *Salmonella* 2008», 13<sup>ème</sup> réunion annuelle du réseau *Salmonella* de l'AFSSA-LERQAP, Maisons-Alfort, 24 novembre 2009.
- S Le Hello. Réunion surveillance et attribution de zoonoses alimentaires. Institut National de Veille Sanitaire, 11 décembre 2009, Saint-Maurice.

### V.2 Enseignement

- FX Weill. Cours de bactériologie médicale « *Salmonella* », Institut Pasteur, 20 février 2009.
- FX Weill. Conférence « Actualités sur *Salmonella enterica* serotype Typhi l'agent de la fièvre typhoïde ». Service des maladies infectieuses et tropicales, Hôpital Necker, AP-HP, 6 avril 2009.
- FX Weill. Cours Master 2 de Microbiologie Appliquée et Génie Biologique des Universités P7-P11 et AgroParisTech, 12 octobre 2009, « *Salmonella* et Salmonelloses ».
- FX Weill. Cours Master 2 de Microbiologie (Pasteur, Paris 6/7), 8 septembre 2009 « Epidémiologie des salmonelloses mineures : évolution, résistance et facteurs génétiques ».
- FX Weill. Comité de thèse de Zined Boumard (AFSSA/INRA), 27 novembre 2009.
- S Le Hello. Cours Master 2 de Microbiologie (Polytech UPMC, Paris 6), 8 décembre 2009, « Epidémiologie des salmonelloses mineures : surveillance et résistance aux antibiotiques ».

### V.3 Accueil de stagiaires

Le CNR-Salm a reçu en 2009 comme stagiaires:

- Mr le Dr. Benoît Doublet, chargé de recherches à l'INRA. Stage post-doctoral (du 10 mars 08 au 10 mars 09) sur la caractérisation des variants génétiques du *Salmonella* genomic island 1, îlot chromosomique de multirésistance aux antibiotiques.
- Mlle le Dr. Maria Pardos, médecin-microbiologiste de la Faculté de Médecine de Saragosse, Espagne. Stage de recherche (du 01 octobre 2008 au 30 septembre 2009) sur la caractérisation des supports génétiques de la résistance aux C3G et aux beta-lactamines de type OXA chez des souches de *Salmonella* isolées en France et en Espagne.
- Mme le Dr. Muriel Dufour, senior scientist, ESR NCBID, Wallaceville, Nouvelle Zélande. Stage d'observation (du 14 au 20 mai 09) sur l'étude de nouvelles techniques et méthode de typage moléculaire.
- Mlle HARROIS Dorothée, UFR Paris 7. Stage de Master 2 (du 01 décembre 09 au 30 septembre 10) sur l'étude moléculaire des mécanismes émergents de la résistance aux antibiotiques chez les salmonelles non typhiques en Afrique de l'Ouest.

### V.4 Congrès

- FX Weill. « L'actualité sur les salmonelloses ». Journées de Biologie Clinique Necker-Pasteur, 20 janvier 2009.
- FX Weill. « Les infections d'origine alimentaire ». Conférences du cycle des 120 ans de l'Institut Pasteur. Université de Lyon II, 29 avril 2009 et Université Catholique de Lyon, 11 mai 2009.
- FX Weill. « Actualités sur la taxonomie, l'épidémiologie, la virulence et la résistance aux antibiotiques des *Salmonella* ». Conférencier invité de la Société Tunisienne de Biologie Clinique, Sousse, 15 mai 2009.
- S Le Hello. Poster « Dramatic increase of ciprofloxacin-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky isolates, France 2000-2008 ». 3rd ASM International Conference on Salmonella, du 5 au 9 octobre 2009, Aix-en-provence.
- L Fabre. Poster « Improving laboratory surveillance of *Salmonella* infections by fast typing based on CRISPR polymorphism ». 3rd ASM International Conference on Salmonella, du 5 au 9 octobre 2009, Aix-en-provence.
- S Le Hello. Présentation orale, « L'odyssée de *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198 ». Journées départementales Infection et Epidémiologie, 6 novembre 2009, Le Croisic.

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

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

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

## V.6 Conseils aux professionnels de santé

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

## V.7 Collaboration spécifique avec la PF8

La collaboration avec la plateforme Génotypage des Pathogènes et Santé Publique PF8 est essentielle au bon fonctionnement du CNR-Salm :

### ❖ Activité de séquençage

Du fait des coûts extrêmement réduits pour les réactions de séquences, le CNR-Salm peut mener à bien le développement de nouvelles méthodes de typage et de sous-typage basées sur des polymorphismes de l'ADN (MLST, typage CRISPR, séquençage des gènes de flagellines *fliC* et *fliB*, électrophorèse capillaire pour la technique MLVA). Il en est de même pour les études sur les mécanismes moléculaires de la multirésistance aux antibiotiques (caractérisation des types de bêta-lactamases à spectre étendu ou de céphalosporinases, détermination des mutations conférant la résistance aux fluoroquinolones, ...)

### ❖ Analyse bioinformatique et développement d'interfaces web

Le site public MLVA-NET (dédié à la méthode MLVA pour les *Salmonella*) et le site CRISPR database (dédié à la méthode CRISPOL) ont été développés par l'équipe bioinformatique de la PF8.

### ❖ Entretien et mise à disposition de matériels coûteux d'analyses

L'appareil Bioplex nécessaire à la mise en route du sous-typage de *S. enterica* sérotype Typhimurium par la méthode xMAP est mis à disposition par la PF8.

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

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

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

Cette méthode a été testée sur 700 souches appartenant à environ 130 sérotypes des différentes sous-espèces et espèces de *Salmonella* (dont les plus fréquents chez l'homme et dans la filière alimentaire : Enteritidis, Typhimurium, Hadar, Virchow, Infantis, Derby, Agona, Newport, Napoli, Indiana, Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B, Paratyphi C, Bovismorbificans, Panama, Saintpaul, Senftenberg, Anatum, Gallinarum, Brandenburg, Kottbus, Dublin, Napoli, Montevideo...).

Chez ces 700 souches, nous avons identifié plus de 3500 spacers différents (taille moyenne de 32 nucléotides). Pour les sérotypes étudiés, la composition en spacers (de 1 à 30 par locus) était caractéristique d'un sérotype. Quand plusieurs souches d'un même sérotype étaient étudiées, la composition en spacers pouvait varier (perte de certains spacers, acquisition de nouveaux) entre les souches et cette variabilité au sein d'un même sérotype était concordante avec les méthodes traditionnelles de sous-typage (p. ex. bonne identification des souches du clone DT104 de Typhimurium ou des souches d'Enteritidis dites Danysz, toujours utilisées comme souricide dans certains pays).

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

Cette méthode a fait l'objet d'une demande de dépôt de brevet (no. FR07/09188 "Typage et sous-typage moléculaire de *Salmonella* par identification des séquences nucléotidiques variables des loci CRISPR") avec extension internationale (no. PCT/IB200/8004004). Une publication scientifique est en cours de rédaction.

\*Mise au point d'une **méthode originale de sous-typage rapide de *S. enterica* sérotype Typhimurium et de son variant monophasique**.

Au cours du travail précédent, et par séquençage, nous avons étudié 125 souches représentatives de *S. enterica* sérotype Typhimurium et de son variant monophasique, isolées sur plusieurs continents entre 1961 et 2005. Soixante-huit différents spacers topologiques ont été inventoriés (31 pour la région CRISPR1 et 37 pour la région CRISPR2). La combinaison de ces spacers chez les différentes souches étudiées définissaient des allèles (44 pour la région CRISPR1, 47 pour la région CRISPR2 et 61 en combinant les allèles).

Des clones particuliers tels que le clone multirésistant aux antibiotiques DT104, le clone résistant à la ciprofloxacine liés à des contacts avec des reptiles, le clone DT2 adapté aux pigeons, possèdent des allèles particuliers permettant de les identifier facilement.

L'analyse du pouvoir discriminant de la méthode CRISPOL (CRISPr POLymorphisms) à l'aide de l'index de Simpson (IS) a montré qu'elle était plus discriminante que l'électrophorèse en champ pulsé, la méthode de sous-typage de référence sur le plan international (IS 0,90 vs 0,87) et que la lysotypie (IS 0,9 vs 0,74). Même l'étude des souches clonales du lysotype DT104 a permis de mettre en évidence une meilleure discrimination de la méthode CRISPOL (5 allèles combinés avec un index de Simpson de 0,64) par rapport à l'électrophorèse en champ pulsé (5 profils mais avec un index de Simpson de 0,38).

L'approche par séquençage, nécessaire pour faire l'inventaire de la diversité en spacers, n'est toutefois pas envisageable pour une utilisation en routine. En effet la plupart des souches de *Typhimurium* possèdent une trentaine de spacers au niveau des 2 loci, ce qui représente des produits d'amplification de 2 à 3 kb à faire séquencer. Outre la relative difficulté à obtenir en grande quantité avec une PCR classique des amplicons de cette taille et le délai pour obtenir les résultats de séquences dans la pratique quotidienne, la taille de ces amplicons oblige souvent à faire des séquences additionnelles pour obtenir les séquences centrales manquantes.

En collaboration avec l'Université d'Orsay (Professeur C. Sola), nous avons donc mis au point une méthode d'analyse de ce polymorphisme des 68 spacers par la technologie xMAP (Luminex, Austin, TX), une méthode d'hybridation en milieu liquide à haut débit. Cette méthode rapide est basée sur des microsphères de polystyrène (billes) carboxylées, sur lesquelles peuvent être greffées des sondes oligonucléotidiques (possédant un groupement NH<sub>2</sub> en 5' suivi d'un linker en C12) via une liaison covalente entre les groupements COOH et NH<sub>2</sub>. Ces billes sont marquées chacune par 2 fluorochromes en quantité variable. Le dosage précis de ces 2 fluorochromes permet d'avoir une adresse spectrale unique. A l'heure actuelle, il est possible de travailler lors d'une même réaction avec jusqu'à 100 billes (ayant chacune leur propre adresse spectrale). La ou les billes possédant les oligonucléotides qui s'hybrideront avec les échantillons d'ADN à génotyper (marqués par un 3ème fluorophore) seront détectées par 2 lasers dans un système microfluidique à débit rapide (plateforme Luminex 100).

Ce test a nécessité l'emploi de 72 billes greffées avec des sondes complémentaires aux 68 spacers décrits (incluant quatre variants de spacers avec des mutations ponctuelles). Les résultats obtenus sous forme de présence (1) ou d'absence (0) des différentes sondes (par exemple : 11111111000011111011111111000111111110111111110111011111011111000) étaient parfaitement corrélés aux données du séquençage. De plus, les résultats s'expriment sous forme d'un code allélique (de STM0001 à STM4624) facilement comparable entre laboratoires si le codage est centralisé par un centre unique. Enfin, 96 isolats peuvent être typés simultanément en 4 heures, de la colonie au résultat final (en incluant le temps de PCR). Cette technique devrait être réalisée en routine au CNR sur toutes les souches de sérotype *Typhimurium* (et de son variant monophasique) (environ 2500 par an) à partir du 1<sup>er</sup> semestre 2010. La technique sera également transférée à l'AFSSA-LERQAP de façon à typer en parallèle les souches non-humaines (environ 800 par an). Cette surveillance en temps réel et intégrée devrait permettre d'augmenter significativement la sensibilité de la détection des épidémies liées à *S. enterica* sérotype *Typhimurium*, l'agent pathogène responsable de 50% des salmonelloses dans notre pays.

\* Poursuite du développement en collaboration avec S. Brisse (PF8) et M. Achtman (Environmental Research Institute, Cork, Irlande) **d'un système de typage des souches de *S. enterica* par MLST (multi locus sequence typing)**. Cette méthode, facilement automatisable, repose sur la caractérisation par séquençage de sept gènes « de ménage » non soumis à une pression de sélection. Cette approche très prometteuse, quand elle sera validée,

pourrait être une alternative voire une méthode de substitution au sérotypage classique. A l'heure actuelle, 1667 souches (appartenant aux sous-espèces *enterica* [n=1258], *salamae* [n=170], *arizonae* [n=33], *diarizonae* [n=121], *houtenae* [n=42] et *indica* [n=10] de l'espèce *enterica* et à l'espèce *bongori* [n=33]) appartenant à plus de 500 sérotypes ont été analysées. Les résultats sont en cours de transfert sur le site MLST Salmonella du Max-Planck Institute de Berlin. L'ensemble des 2500 sérotypes de *Salmonella* déposés au Centre Collaborateur OMS sera analysé au cours des prochaines années.

\*Poursuite de **l'analyse des séquences des gènes codant pour les flagellines**. Le sérotypage classique étant basé sur l'analyse antigénique des facteurs somatiques O et des facteurs flagellaires H, une analyse extensive des séquences des gènes (*fliC* et *fliB*) codant pour les antigènes H est en cours. A l'heure actuelle, 701 souches ont été analysées simultanément pour leur contenu allélique des gènes *fliC* et *fliB* et pour leur type MLST.

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

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

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

Le CNR-Salm a mené en 2009 plusieurs travaux sur la caractérisation de souches résistantes aux antibiotiques :

\* Epidémiologie moléculaire et caractérisation de souches humaines de *S. enterica* sérotype Typhimurium portant le gène *bla*<sub>OXA-30</sub> isolées en France et en Espagne.

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

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

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

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

## VII. LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

### VII.1 Publications nationales

- Loury P, Guillois-Becel Y, Le Mao A, Briand A, **Le Hello S**, Jourdan-Da-Silva N, Vaillant V. Cas groupés de salmonellose à *Salmonella enterica* serotype Putten. Nord-ouest de la France, juillet-août 2008. **Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire**. 2009;30,329-31.

### VII.2 Publications internationales

- **Bouchrif B, Le Hello S, Pardos M, Karraouan B, Perrier-Gros-Claude JD, Ennaji MM, Timinouni M, Weill FX**. Ceftazidime-resistant *Salmonella enterica*, Morocco. **Emerging Infectious Disease**. 2009;15:1693-5.
- **Van Cauteren D, Jourdan-da Silva N, Weill FX, King L, Brisabois A, Delmas G, Vaillant V, de Valk H**. Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Muenster infections associated with goat's cheese, France, March 2008. **Eurosurveillance**. 2009;14:pii:19290.
- **Hendriksen RS, Mikoleit M, Carlson VP, Karlsmose S, Vieira AR, Jensen AB, Seyfarth AM, DeLong SM, Weill FX, Lo Fo Wong DM, Angulo FJ, Wegener HC, Aarestrup FM**. WHO Global Salm-Surv external quality assurance system for serotyping of *Salmonella* isolates from 2000 to 2007. **Journal of Clinical Microbiology**. 2009;47:2729-36.
- **Fisher IS, Jourdan-Da Silva N, Hächler H, Weill FX, Schmid H, Danan C, Kérouanton A, Lane CR, Dionisi AM, Luzzi I**. Human infections due to *Salmonella* Napoli: a multicountry, emerging enigma recognized by the Enter-net international surveillance network. **Foodborne Pathogens and Disease**. 2009;6:613-9.
- **Fabre L, Delauné A, Espié E, Nygard K, Pardos M, Polomack L, Guesnier F, Galimand M, Lassen J, Weill FX**. Chromosomal integration of the extended-spectrum beta-lactamase gene *bla*<sub>CTX-M-15</sub> in *Salmonella enterica* serotype Concord isolates from internationally adopted children. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2009;53:1808-16.
- **Doublet B, Granier SA, Robin F, Bonnet R, Fabre L, Brisabois A, Cloeckert A, Weill FX**. Novel plasmid-encoded ceftazidime-hydrolyzing CTX-M-53 extended-spectrum beta-lactamase from *Salmonella enterica* serotypes Westhampton and Senftenberg. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2009;53:1944-51.

- **Doublet B, Praud K, Weill FX, Cloeckert A.** Association of IS26-composite transposons and complex In4-type integrons generates novel multidrug resistance loci in *Salmonella* genomic island 1. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy.** 2009;63:282-9.
- **Dominguez M, Jourdan-Da Silva N, Vaillant V, Pihier N, Kermin C, Weill FX, Delmas G, Kerouanton A, Brisabois A, de Valk H.** Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Montevideo infections in France linked to consumption of cheese made from raw milk. **Foodborne Pathogens and Disease.** 2009;6:121-8.
- **Hendriksen RS, Seyfarth AM, Jensen AB, Whichard J, Karlsmose S, Joyce K, Mikoleit M, DeLong SM, Weill FX, Aidara-Kane A, Lo Fo Wong DM, Angulo FJ, Wegener HC, Aarestrup FM.** Results of use of WHO Global Salm-Surv external quality assurance system for antimicrobial susceptibility testing of *Salmonella* isolates from 2000 to 2007. **Journal of Clinical Microbiology.** 2009;47:79-85.

## **VIII. LE PROGRAMME DE TRAVAIL POUR LES ANNEES 2010-2011**

Le programme de travail pour les années 2010-2011 est orienté vers la mise en conformité totale au cahier des charges spécifiques du CNR :

### **Point 1 : contribuer au développement des méthodes de typage**

Le CNR-Salm va poursuivre les différents travaux entrepris dans le développement de nouvelles méthodes de typage et de sous-typage. La méthode CRISPR appliquée déjà à 700 souches de 130 sérotypes va être appliquée à d'autres sérotypes. L'application directe par la méthode à haut débit basée sur la technologie xMAP de Luminex sera mise en place en routine pour le sérotype Typhimurium et variant monophasique au CNR-Salm ainsi qu'à l'AFSSA-LERQAP. Les bases de données concernant les séquences des gènes des flagellines et les séquençotypes (MLST) vont être progressivement complétées.

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

Le réseau du CNR-Salm comprend environ 35% des LABM de France métropolitaine en 2009. Plusieurs études réalisées au cours de ces dernières années ont montré sa stabilité. En 2008, l'arrêt de l'activité de sérotypage par le laboratoire Biomnis (ex Marcel Mérieux) et son transfert au CNR-Salm a permis d'obtenir une couverture géographique optimale.

En décembre 2009, le CNR Salm a changé de système d'exploitation des données de laboratoire passant du logiciel BactériCentre (1992, Patrick Grimont) vers Lagon (Epiconcept). Les bases de données BactériCentre1992-2009 seront transférées dans une base plus adaptée pour l'utilisation des algorithmes de détection des dépassements de seuil. L'informaticien recruté temporairement pour l'accompagnement vers ce nouveau logiciel est en cours de développement d'un site web « Voozаноо » pour la déclaration en ligne des souches sérotypées localement (cela remplacera les fiches information). L'algorithme de détection des épidémies va être réécrit afin d'ajouter dans la surveillance les nouveaux sérotypes ou variants de *Salmonella*, l'analyse spécifique pour la classe d'âge < 1 an.

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

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

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

Le CNR-Salm continuera à utiliser en routine hebdomadaire le programme de détection basé sur les trois algorithmes et développé par l'InVS. En 2010, une étude de comparabilité des algorithmes de détection entre souches humaines (CNR) et non-humaines (AFSSA) va être évaluée.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**ANNEXE-**  
**Fiche Information**

