



INSTITUT PASTEUR

Centre National de Référence

des *Salmonella*

Rapport d'activité annuel 2006

Grimont Patrick

Weill François-Xavier

**Unité Biodiversité des Bactéries Pathogènes Emergentes
INSTITUT PASTEUR, PARIS**

Téléphone 01 45 68 83 39 (Secrétariat)

01 45 68 83 40 (PG) pgrimont@pasteur.fr

01 45 68 83 45 (FXW) fxweill@pasteur.fr

Télécopie 01 45 68 88 37

I. INTRODUCTION	4
I. 1 RAPPEL DES MISSIONS DU CNR	4
I. 2 RESUME DES ACTIVITES DE L'ANNEE 2006	6
I. 3 PERSONNELS DU CNR	8
I. 3. 1 <i>Les responsables scientifiques</i>	8
I. 3. 2 <i>Le personnel technique et administratif</i>	8
I. 4 DEMARCHE QUALITE	9
II. ACTIVITES D'EXPERTISE	10
II.1 CAPACITES TECHNIQUES DU CNR	10
II.1.1 <i>Liste des techniques de référence</i>	10
II.1.2 <i>Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles</i>	11
II.1.3 <i>Collection de souches</i>	11
II.1.4 <i>Liste des techniques recommandées par le CNR</i>	11
II. 2 ACTIVITES D'EXPERTISE EN 2006	12
II. 2.1. 1 <i>Activité de sérotypage du CNR-Salm, 2002 à 2006</i>	12
II. 2.1. 2 <i>Activité de lysotypage du CNR-Salm, 2002 à 2006</i>	12
II. 2.1. 3 <i>Activité de typage par électrophorèse en champ pulsé du CNR-Salm, 2002 à 2006</i>	12
III. ACTIVITES DE SURVEILLANCE	14
III.1 SURVEILLANCE DE L'EVOLUTION ET DES CARACTERISTIQUES DES INFECTIONS	14
III.1.1 <i>Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-Salm</i>	14
III.1.2 <i>Définition de l'échantillon de souches isolées</i>	14
III.1.3 <i>Analyse de la distribution des différents sérotypes et analyse des tendances</i>	15
III.1.3.1 <i>Nombre annuel de souches de Salmonella d'origine humaine repertoriées au CNR-Salm, 1988-2006</i>	15
III.1.3.2 <i>Répartition des 15 principaux sérotypes de Salmonella, 2002-2006</i>	15
III.1.3.3 <i>Proportion de souches par rapport aux compte-rendus de sérotypage</i>	17
III.1.3.4 <i>Proportion relative des sérotypes Enteritidis et Typhimurium en France, 1991-2006</i>	18
III.1.3.5 <i>Répartition par sites de prélèvement, 2002 et 2005</i>	18
III.1.3.6 <i>Distribution par tranches d'âge des patients entre 2003 et 2006</i>	18
III.1.3.7 <i>Nombre de souches reçues au CNR-Salm par régions, 2002-2006</i>	18
III.1.3.8 <i>Délais moyens de rendu des résultats de sérotypage en 2006</i>	19
III.1.3.9 <i>Le sérotype Typhi en 2006</i>	21
III.1.3.10 <i>Le sérotype Paratyphi A en 2006</i>	22
III.1.4 <i>Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS</i>	23
III.1.4.1 <i>Relevés périodiques envoyés à l'InVS :</i>	23
III.1.4.2 <i>Notifications de foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs du CNR-Salm entre 2002 et 2006</i>	23
III.1.4.3 <i>Les différents foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs du CNR-Salm en 2006</i>	23
III.1.4.4 <i>Détection des seuils d'alerte</i>	28
III.1.5 <i>Collaboration avec les réseaux nationaux de surveillance des salmonelles chez l'animal</i>	28
III. 2 SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES	29
III.2.1 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium, 1993-2005</i>	30
III.2.2 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis, 1993-2005</i>	31
III.2.3 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar, 1997-2003</i>	31
III.2.4 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow, 1997-2005</i>	31
III.2.5 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport, 1997-2005</i>	33
III.2.6 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi, 1997-2006</i>	34
III.2.7 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A en 2005 et 2006</i>	35
III.2.8 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B en 2006</i>	35
III.2.9 <i>Souches présentant une résistance particulière aux antibiotiques détectées au en 2006</i>	36
III.2.9.1 <i>Souches résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération</i>	36
III.2.9.2 <i>Souches résistantes à la ciprofloxacine</i>	38
III. 3 DETECTION ET INVESTIGATION DES CAS GROUPES ET DES PHENOMENES ANORMAUX	42
III. 4 CONTRIBUTION AUX RESEAUX DE SURVEILLANCE INTERNATIONAUX	42
III.4.1 <i>Contribution aux réseaux européens</i>	42
III.4.2 <i>Contribution aux réseaux internationaux</i>	42
III. 5 ENQUETES OU ETUDES PONCTUELLES CONCOURANT A LA SURVEILLANCE	44
IV. ALERTE	45
V. ACTIVITES D'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL	46
V.1 REUNIONS ET MISSIONS	46
V.2 ENSEIGNEMENT	46
V.3 ACCUEIL DE STAGIAIRES	46
V.4 CONGRES	47
V.5 MODALITES DE DIFFUSION DES DONNEES DE SURVEILLANCE ET PRODUCTION DU CNR	47
V.6 CONSEILS AUX PROFESSIONNELS DE SANTE	47

VI. TRAVAUX DE RECHERCHE EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR	48
VI.1 CONTRIBUTION AU DEVELOPPEMENT DE NOUVELLES METHODES DE TYPAGE ET SOUS-TYPAGE DES <i>SALMONELLA</i>	48
VI.2 ETUDE DES MECANISMES DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ <i>SALMONELLA</i>	50
VII. LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS	50
VII.1 PUBLICATIONS NATIONALES	50
VII.2 PUBLICATIONS INTERNATIONALES	51

I. INTRODUCTION

I. 1 Rappel des missions du CNR

Historique :

Le Centre National de Référence des *Salmonella* ou CNR-Salm est situé dans l'Unité de Biodiversité des Bactéries Pathogènes Emergentes (BBPE) à l'Institut Pasteur à Paris. Le Laboratoire des Entérobactéries dirigé par L. 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).

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

- contribuer au développement des méthodes de typage,
- suivre des tendances évolutives temporelles des différents sérotypes de *Salmonella*, en s'appuyant sur un réseau de laboratoires d'analyse de biologie médicale sur tout le territoire,
- contribuer à la surveillance et à l'investigation des toxi-infections alimentaires collectives à *Salmonella* en signalant à l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) les foyers de cas groupés notifiés au CNR-Salm,
- suivre l'évolution de la résistance aux antibiotiques de *Salmonella* et d'étudier les mécanismes de résistance notamment en collaboration avec le CNR des mécanismes de résistance aux antibiotiques,
- détecter précocement les épisodes épidémiques, par la caractérisation des souches de *Salmonella* par la méthode de typage la plus adaptée au sérotype en cause et par le développement de seuils d'alerte,
- développer la capacité, lors de la survenue d'une épidémie, de réaliser rapidement un typage le plus discriminant possible (adapté en fonction du sérotype en cause) des souches de *Salmonella* concernées afin de différencier les cas épidémiques et non épidémiques et de comparer des souches isolées chez les malades et dans d'autres sources en particulier alimentaire,
- collaborer avec les réseaux nationaux de surveillance des salmonelles chez l'animal, dans les aliments et l'environnement,
- participer avec l'InVS au réseau européen des surveillance des *Salmonella* Enter-Net (envoi trimestriel des données de surveillance, collaboration en cas d'alerte européenne, ...)
- collaborer aux réseaux de surveillance internationaux et en particulier européens notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonoses 2003/99/CE,

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

I. 2 Résumé des activités de l'année 2006

En 2006, **10 154** isollements de *Salmonella* d'origine humaine (**6274** souches et **3880** fiches d'information) ont été répertoriés par le CNR-Salm.

- ◆ Les **6274** souches ont été adressées par **1028** laboratoires d'analyses de biologie médicale privés et **329** laboratoires de biologie de centres hospitaliers.
- ◆ Le sérotype **Typhimurium** est depuis 2005 le premier sérotype de *Salmonella* isolé chez l'homme (4013 isollements contre 2878 au sérotype Enteritidis).
- ◆ En 2006, 148 souches de **sérotype Typhi** isolées chez 138 patients ont été répertoriées au CNR-Salm (4^{ème} sérotype le plus fréquemment isolé). Cent vingt-deux souches ont été isolées de laboratoires métropolitains, une d'un laboratoire réunionnais, quatre de laboratoires guyanais et 21 du centre hospitalier de Mamoudzou (Mayotte).
- ◆ Le sérotype **Napoli** est en nette progression depuis ces dernières années et en 2006, il est le 5^{ème} sérotype le plus fréquemment isolé (144 isollements).
- ◆ **286 foyers de cas groupés** impliquant 43 sérotypes ont été signalés à l'InVS en 2006
- ◆ Entre 2005 et 2006, **le nombre d'isollements de *Salmonella* répertoriés au CNR-Salm a diminué de 11,2% (-1285 isollements)**. Cette baisse est surtout due à la diminution des fiches d'information (-930 fiches, -19,3%) alors que le nombre de souches reçues au CNR n'a diminué que de 5,4% (-355 souches).
- ◆ Entre 2005 et 2006, 255 laboratoires n'ayant pas adressé de souches en 2005 en ont adressé en 2006 et inversement 345 laboratoires ayant adressé des souches en 2005 n'en ont pas adressé en 2006, ce qui représente une perte de 90 laboratoires par rapport à 2005 (soit 6,2%).
- ◆ En 2006, le CNR-Salm a participé à la détection et/ou à l'investigation sur le plan microbiologique de **deux épidémies** : une épidémie nationale de vingt-trois cas liés à de la consommation de fromage Reblochon (sérotype Montevideo) et une épidémie de onze cas de fièvre typhoïde (avec une souche résistante à l'acide nalidixique) liés à la fréquentation d'un restaurant Parisien. Un porteur sain de *S. enterica* sérotype Typhi ayant préparé des aliments a pu être identifié.
- ◆ **Le sérotype Enteritidis** reste globalement sensible aux antibiotiques. Cependant la résistance à l'acide nalidixique est en nette augmentation depuis 1993 (prévalence de 28 % en 2003, 14 % en 2004 et 21 % en 2005). La CMI à la ciprofloxacine reste toutefois assez basse (0,125 mg/L).
- ◆ **Le sérotype Typhimurium** reste un sérotype multirésistant aux antibiotiques. Cependant depuis ces dernières années, la multirésistance associée au clone DT104 semble diminuer en France. Environ 60 % de souches multirésistantes appartenaient au lysotype DT104 entre 1997 et 2002, 51 % en 2003 et 41 % en 2005.
- ◆ En 2006, le phénomène le plus marquant chez **le sérotype Typhi** est l'augmentation nette de la résistance aux quinolones (CMI de la ciprofloxacine < à 1 mg/L). Ces souches ont été contractées suite à des séjours en Inde, Pakistan ou en Asie du sud-Est. Une étude retrospective a mis en évidence une souche résistante à la ciprofloxacine (CMI de 8 mg/L) isolée en 2004 chez un patient revenant d'Inde.

- ◆ **Les souches résistantes aux C3G** sont très rarement observées dans le genre *Salmonella*. En 2005, lors de l'étude de prévalence de la résistance aux antibiotiques, elles n'étaient observées que dans le sérotype Virchow (prévalence de 3% dans ce sérotype) et Typhimurium (prévalence de 1 % dans ce sérotype). Il s'agissait de souches productrices de beta-lactamases à spectre étendu (BLSE) en cours de typage. En dehors des études de prévalence, entre 2005 et 2006, d'autres souches de sérotypes rares productrices de BLSE ont été identifiées au CNR-Salm. Il s'agissait de 43 souches du sérotype Concord productrices de CTX-M-15 (en relation avec des enfants adoptés d'Éthiopie), de 16 souches de sérotype Waycross productrices de CTX-M-15 (en relation avec des enfants adoptés du Mali), et de deux souches de sérotype Gambia productrices de CTX-M-3 (en relation avec un enfant venant du Sénégal). Quatre autres souches sporadiques productrices de BLSE (typage de la BLSE en cours) et cinq productrices de céphalosporinase plasmidique (une souche produisant ACC-1, deux souches produisant CMY-2 et deux souches produisant une céphalosporinase en cours de typage) ont également été identifiées en 2005-2006.

- ◆ **Les souches résistantes à la ciprofloxacine (CiproR)** sont également exceptionnelles dans le genre *Salmonella*. En 2005, lors de l'étude de prévalence de la résistance aux antibiotiques, une seule souche de sérotype Virchow (prévalence de 1% dans ce sérotype) a été identifiée. En dehors des études de prévalence, entre 2005 et 2006, d'autres souches CiproR ont été identifiées au CNR-Salm. Il s'agissait de trois souches de sérotype Typhimurium (contact avec des reptiles) et de plus de 30 souches de sérotype Kentucky (après séjour en Afrique du Nord ou de l'Est).

I. 3 Personnels du CNR

I. 3. 1 Les responsables scientifiques

Patrick Grimont

Docteur en médecine, Docteur d'Etat ès Sciences, Professeur à l'Institut Pasteur

François-Xavier Weill

Docteur en médecine, DES de Biologie Médicale, DEA, Ancien Interne et Assistant Hospitalier Universitaire

I. 3. 2 Le personnel technique et administratif

*** Techniciens effectuant les analyses :**

- **Françoise Guesnier**, technicienne supérieure de laboratoire. Expérience : 7 ans au CNR et 26 ans en LABM.
- **Laëtitia Fabre**, technicienne supérieure de laboratoire, Bachelor in Science (Kingston, RU), Master 2 de Microbiologie. Expérience : 5 ans au CNR.
- **Marie Demartin**, technicienne supérieure de laboratoire, Licence en Qualité (IP de Lille). Expérience : 5 ans au CNR.
- **Véronique Guibert**, technicienne de laboratoire qualifié. Expérience : 11 ans au CNR.
- **Adeline Josse**, technicienne de laboratoire qualifié. Expérience : 1 an au CNR.

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

- **Sylvie Issenhuth-Jeanjean**, technicienne supérieure de laboratoire, niveau 2^{ème} année DEUG Sciences de la Nature. Expérience : 20 ans en Bactériologie et 9 ans au CNR.

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

- **Chrystelle Roux**, technicienne de laboratoire. Expérience : 23 ans.

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

- **Brigitte Chavinier**, technicienne supérieure de laboratoire. Expérience : 3 ans

*** Employé administrative :**

- **Valérie Abihssira**, employée administrative. Expérience à ce poste: 7 ans.

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

- **Annie Prêtesac**, Chef de cuisine.
- **Nicolas Goulette** et **Patrice Tomasino**, agents de laboratoire.

I. 4 Démarche qualité

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

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

Des procédures spécifiques à l'activité du CNR ont été rédigées tel qu'un projet Assurance Qualité en 2002 ce qui a conduit à la **rédaction des modes opératoires, des procédures générales** (protocoles de milieux de culture, tampons...) et **spécifiques** (protocoles PCR...) et au **suivi du matériel scientifique**.

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

II. ACTIVITES D'EXPERTISE

II.1 Capacités techniques du CNR

II.1.1 Liste des techniques de référence

Les techniques disponibles au CNR-Salm sont :

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

Bactériologie classique

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

- tests biochimiques réalisés en macro-galerie :

Lactose, o-nitrophenyl-beta-D-galactopyranoside (ONPG), Lysine décarboxylase (LDC), Ornithine décarboxylase (ODC), Gaz/Glucose, Mannitol, Gaz/Mannitol, Dulcitol, Rhamnose, Xylose, Indole, Citrate de Simmons, Citrate de Christensen, Acétate de Trabulsi, Mucate, sulfure d'hydrogène (H₂S), tétrathionate réductase (TTR), Glycérol, beta-glucuronidase. Possibilité de réalisation de micro-galerie (API 20E, BioMérieux).

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

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

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

***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 plus monovalents) polyclonaux absorbés préparés chez le lapin. Une technicienne du CNR-Salm fabrique les sérums non commercialisés (environ les 2/3 des sérums nécessaires).

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

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

- **électrophorèse en champ pulsé** à l'aide de différentes endonucléases (méthode standardisée PulseNet),

- **lysotypie (systèmes Craigie et Ward)** pour les sérotypes Typhi, Paratyphi B, Enteritidis et Typhimurium,
- **ribotypie** (automatisée ou manuelle) pour le sérotype Typhi,
- **profil d'hybridation à l'aide d'une sonde IS200** pour le sérotype Paratyphi B,
- **analyse MLVA** (Multi Locus Variable numbers of tandem repeats Analysis) pour le sérotype Typhimurium,
- **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 (suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie). De 16 à 32 antibiotiques testés,
- **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

Pour *Salmonella*, le sérotypage qui est réalisé sur toutes les souches adressées au CNR-Salm est à la base du typage. Plus de 2500 sérotypes sont décrits actuellement. Pour les sérotypes les plus fréquents (deux sérotypes, Typhimurium et Enteritidis représentent 70% des *Salmonella* isolées chez l'homme en France), une ou plusieurs techniques de sous-typage précitées 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 Recherche sur les *Salmonella* (CC-OMS). Certaines souches possédant des résistances particulières aux antibiotiques sont conservées à -80°C. Les informations relatives aux souches sont disponibles sur des cahiers et sur des fichiers informatiques. La mise à disposition de ces souches se fait avec l'accord du ou des responsables du CNR-Salm.

II.1.4 Liste des techniques recommandées par le CNR

Le **sérotypage** des souches doit être réalisé conformément au schéma de White-Kauffmann-Le Minor WKL (nouvelle édition en 2007), maintenu par le CC-OMS (qui a rejoint l'Unité BBPE en 2003). La demande d'un schéma WKL en format pdf se faisant en écrivant à l'adresse whosalm@pasteur.fr (prière de mentionner les coordonnées professionnelles).

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 2006

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.

Ainsi en 2006, le CNR-Salm a enregistré **10 154** isollements humains de *Salmonella* en France métropolitaine, dans les départements et territoires d'outre-mer et à Monaco. Parmi ces **10 154** isollements, **6274** ont été des souches sérotypées par le CNR-Salm et **3880** provenaient de fiches d'information adressées au CNR-Salm par les laboratoires collaborateurs. Sur l'ensemble des 6358 souches humaines reçues au CNR-Salm en 2006, 84 (13,2 %) n'étaient pas des *Salmonella*.

Le CNR-Salm a également réalisé le sérotypage de **260** souches de *Salmonella* isolées chez l'animal, dans des aliments ou dans l'environnement et **59** souches de *Salmonella* isolées chez l'homme dans des pays étrangers (Belgique, Luxembourg, Cambodge, Sénégal, République centrafricaine et Cameroun).

II. 2.1. 1 Activité de sérotypage du CNR-Salm, 2002 à 2006

	2002	2003	2004	2005	2006
Souches d'origine humaine reçues au CNR-Salm	6636	6256	6355	6629	6274
Informations sur les souches d'origine humaine sérotypées par les laboratoires	5139	4228	4234	4810	3194
Total souches d'origine humaine	11775	10472	10589	11439	9468

II. 2.1. 2 Activité de lysotypage du CNR-Salm, 2002 à 2006

De 2002 à 2006, le CNR-Salm a lysotypé dans son laboratoire, **3449** souches de *Salmonella* isolées chez l'homme dont 316 souches de Typhi, 1868 de Typhimurium, 189 de Paratyphi B, et 928 d'Enteritidis.

Souches lysotypées au CNR	2002	2003	2004	2005	2006
Sérotype Typhi	163	174	55	0	24
Sérotype Typhimurium	589	793	415	45	40
Sérotype Paratyphi B	82	66	41	0	0
Sérotype d'Enteritidis	367	332	176	53	24
Nombre total de souches	1201	1365	687	98	88

Cette activité s'est quasiment arrêtée car les suspensions phagiques ne sont plus fournies régulièrement par l'Health Protection Agency de Colindale (Royaume-Uni). La lysotypie autrefois réalisée de façon prospective, n'est maintenant effectuée que lors d'investigations épidémiologiques

II. 2.1. 3 Activité de typage par électrophorèse en champ pulsé du CNR-Salm, 2002 à 2006

Année	2002	2003	2004	2005	2006

Nombre de typage par ECP	77	176	421	448	326
--------------------------	----	-----	-----	-----	-----

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

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

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

En 2006, 1357 laboratoires d'analyses médicales (329 laboratoires de centres hospitaliers et 1028 LABM privés) de France métropolitaine et des départements d'Outre-Mer ont adressé des souches au CNR-Salm. Entre 2005 et 2006, 255 laboratoires n'ayant pas adressé de souches en 2005 en ont adressé en 2006 et inversement 345 laboratoires ayant adressé des souches en 2005 n'en ont pas adressé en 2006, ce qui représente une perte de 90 laboratoires par rapport à 2005 (soit 6,2%). Cependant le nombre de laboratoires du réseau du CNR-Salm reste stable depuis la plus ancienne étude de représentativité réalisée en 2003 (1080 LABM et 331 laboratoires de centres hospitaliers soit 1411 laboratoires). Le nombre de laboratoires du réseau correspondant à environ 30 % (25 % des LABM et 75 % des laboratoires de centre hospitalier) des laboratoires d'analyses médicales recensés en France métropolitaine et dans les D.O.M en 2005 (source : annuaire des laboratoires d'analyses médicales 2005, Elsevier). La liste détaillée des laboratoires par département ayant adressé des souches en 2005 et/ou en 2006 est donnée dans le dernier chapitre de ce rapport.

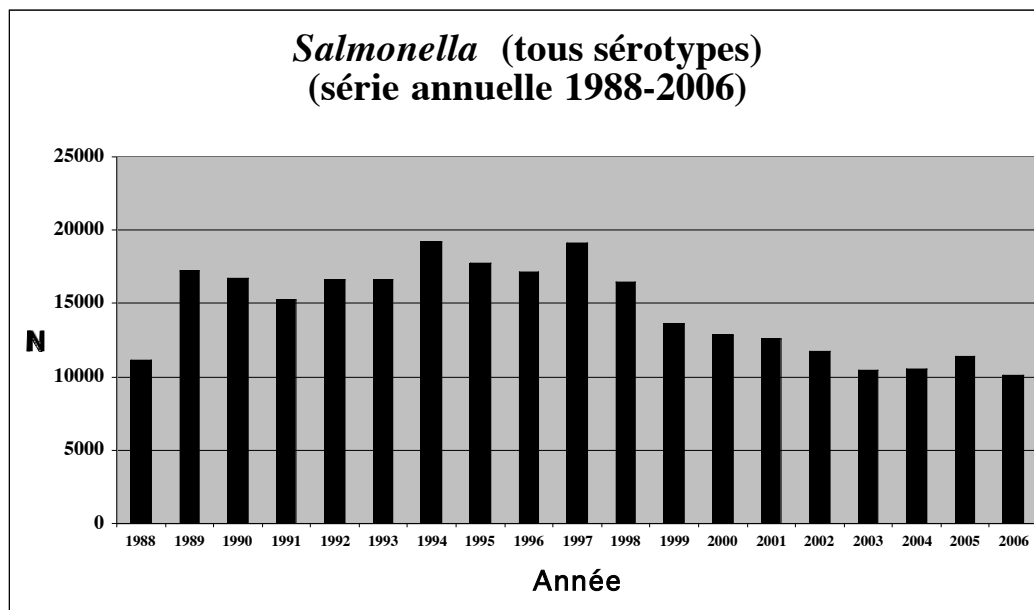
III.1.2 Définition de l'échantillon de souches isolées

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 2006, le CNR-Salm a enregistré **10 154** isollements humains de *Salmonella* en France métropolitaine, dans les départements et territoires d'outre-mer et à Monaco. Parmi ces **10 154** isollements, **6274** ont été des souches sérotypées par le CNR-Salm et **3880** provenaient de fiches d'information adressées au CNR-Salm par les laboratoires collaborateurs. Sur l'ensemble des 6358 souches humaines reçues au CNR-Salm en 2006, 84 (13,2 %) n'étaient pas des *Salmonella*.

III.1.3.1 Nombre annuel de souches de *Salmonella* d'origine humaine repertoriées au CNR-Salm, 1988-2006



Entre 2005 et 2006, le nombre d'isollements de *Salmonella* enregistrés au CNR-Salm a diminué de 11,2% (-1285 isollements). Cette baisse est surtout due à la diminution des fiches d'information (-930 fiches, -19,3%) alors que le nombre de souches reçues au CNR n'a diminué que de 5,4% (-355 souches).

III.1.3.2 Répartition des 15 principaux sérotypes de *Salmonella*, 2002-2006

Rang	Distribution des sérotypes (n) par année*			
	2003	2004	2005	2006
1	Enteritidis (4144)	Enteritidis (3897)	Typhimurium (3992)	Typhimurium (4013)
2	Typhimurium (3222)	Typhimurium (3635)	Enteritidis (3638)	Enteritidis (2878)
3	Virchow (201)	Typhi (151)	Agona (274)	Derby (150)
4	Hadar (178)	Hadar (131)	Infantis (210)	Typhi (148)
5	Typhi (167)	Derby (128)	Typhi (187)	Napoli (144)
6	Newport (161)	Newport, Virchow, Infantis (122)	Derby (158)	Hadar (140)
7	Infantis (139)	-	Hadar (147)	Infantis (135)
8	Brandenburg (131)	-	Virchow (142)	Virchow (118)
9	Derby (109)	Agona (102)	Newport (133)	4, [5], 12 : i :- (113)
10	Agona (92)	Brandenburg (87)	Panama (124)	Newport (105)
11	Heidelberg (90)	Napoli, Panama (80)	Manhattan (95)	Panama (95)
12	Napoli (83)	-	Napoli (93)	Agona (73)
13	Dublin (69)	Paratyphi A, Indiana (77)	Indiana (86)	Brandenburg, Paratyphi B,

CNR des *Salmonella*
Rapport d'activité annuel 2006

14	Indiana (67)	-	Brandenburg (82)	Manhattan (64)
15	Paratyphi B (63)	Paratyphi B (62)	Dublin (73)	-

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

Une diminution nette a été constatée en 2006 chez le sérotype Enteritidis (- 760 souches, - 21%) qui est en constante baisse depuis 1997. Depuis 2005, le sérotype prédominant est Typhimurium qui a faiblement progressé entre 2005 et 2006 (+21 souches, + 0,5%). Le troisième serotype en fréquence est Derby. Le sérotype Napoli est en nette augmentation depuis 2005 (+51 souches, 54,8%).

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 en 2006 était d'environ 38 % (tous sérotypes confondus) en 2006. Cette proportion, voisine de 50 % pour les sérotypes Typhimurium et Enteritidis est beaucoup plus faible (environ 10 %) pour d'autres sérotypes du fait de la non disponibilité dans le laboratoire correspondant et/ou dans le commerce de certains sérums agglutinants (tableau ci-dessous).

	Tous sérotypes	Enteritidis	Hadar	Typhi	Typhimurium	Virchow
Souches de <i>Salmonella</i> reçues en :						
2002	6636	2054	244	153	1756	126
2003	6244	2048	157	167	1489	157
2004	6355	2062	113	143	1667	88
2005	6629	1525	119	187	1829	121
2006	6274	1502	124	148	1852	102
Compte-rendus reçus en:						
2002	5139	2415	38	1	2242	48
2003	4228	2096	21	0	1732	44
2004	4234	1835	18	6	1968	34
2005	4810	2113	28	0	2163	21
2006	3880	1376	16	0	2161	16
Total :						
2002	11775	4469	282	154	3998	174
2003	10472	4144	179	167	3221	201
2004	10589	3897	131	149	3635	122
2005	11439	3638	147	187	3992	142
2006	10154	2878	140	148	4013	118
Proportion compte-rendus de sérotypage (%) en :						
2002	43,6	54	13,5	0,6	56,1	27,6
2003	40,4	50,6	11,7	0	53,8	21,9
2004	40	47,1	13,7	4	54,1	27,9
2005	42	58,1	19	0	54,2	14,8
2006	38,2	47,8	11,4	0	53,8	13,6

III.1.3.4 Proportion relative des sérotypes Enteritidis et Typhimurium en France, 1991-2006

Sérotype	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Enteritidis	5063	5944	6006	6559	5775	4982	6514	6183	4579	4656	4899	4469	4144	3897	3638	2878
Typhimurium	4086	4496	4389	6253	6389	6409	6755	5177	4386	3800	3773	3998	3222	3635	3992	4013
Autres sérotypes	6156	6226	6375	6439	5601	5761	5905	5163	4703	4427	3929	3308	3106	3057	3809	3263
TOTAL	15305	16666	16770	19251	17765	17152	19174	16523	13668	12883	12601	11775	10472	10589	11439	10154

III.1.3.5 Répartition par sites de prélèvement des souches de *Salmonella* reçues au CNR-Salm entre 2002 et 2005

Sites de prélèvement	2002	2003	2004	2005	2006
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Selles	5598 (85,4)	5370 (86,1)	5520 (87,3)	5659 (86,4)	5362 (85,5)
Sang	383 (5,8)	399 (6,4)	421 (6,6)	435 (6,5)*	430 (6,9)**
Urines	190 (2,9)	176 (2,8)	170 (2,6)	204 (3,1)	190 (3)
Pus	26 (0,3)	14 (0,2)	14 (0,2)	16 (0,2)	5 (<0,1)
Bile	6 (<0,1)	7 (0,1)	13 (0,2)	5 (0,1)	6 (0,1)
LCR	1 (<0,1)	2 (<0,1)	2 (<0,1)	1 (<0,1)	2 (<0,1)
Autres	47 (0,7)	29 (0,4)	25 (0,3)	83 (1,2)	26 (0,4)
Inconnu	299 (4,5)	236 (3,7)	154 (2,4)	151 (2,3)	253 (4)

*Le % tient compte des souches de serotypes Typhi et Paratyphi A. Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, le pourcentage est de 4,1%.

**Le % tient compte des souches de serotypes Typhi et Paratyphi A. Pour les souches non-Typhi et non-Paratyphi A, le pourcentage est de 4,6%.

III.1.3.6 Distribution par tranches d'âge des patients dont les souches de *Salmonella* ont été reçues au CNR-Salm entre 2003 et 2006

Classes d'âge	2003	2004	2005	2006
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<1 an	324 (5,1)	296 (4,6)	295 (4,5)	239 (3,8)
1-5 ans	1528 (24,4)	1726 (27,1)	1907 (29,1)	1812 (28,9)
6-14 ans	872 (13,9)	640 (14,7)	913 (13,9)	910 (14,5)
15-64 ans	2466 (39,4)	2335 (36,7)	2306 (34,7)	2307 (36,8)
>65 ans	819 (3,9)	864 (13,6)	937 (14,3)	870 (13,9)
Inconnu	247 (3,9)	191 (3)	188 (2,9)	136 (21,7)

III.1.3.7 Nombre de souches reçues au CNR-Salm par régions, 2002-2006

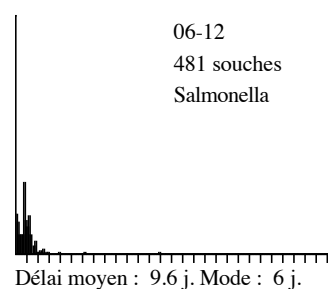
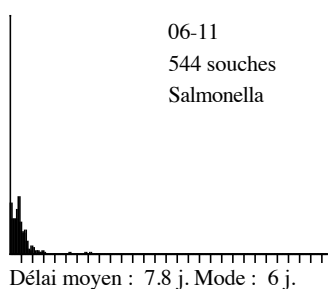
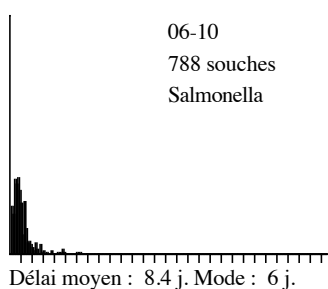
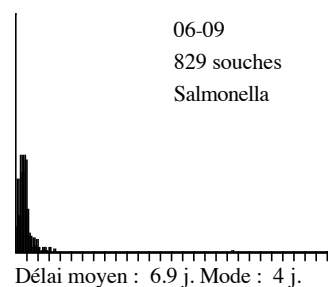
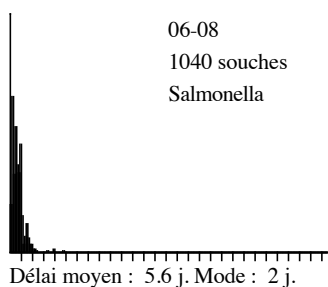
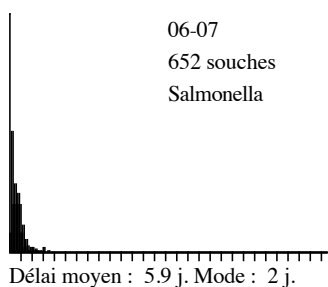
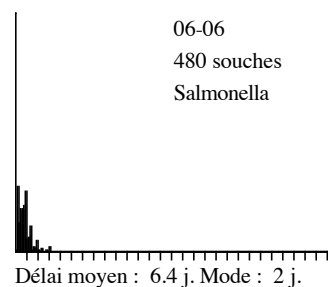
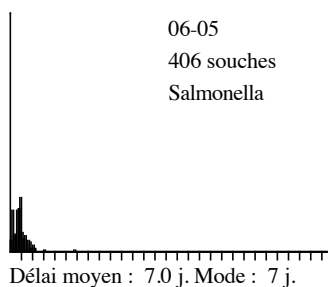
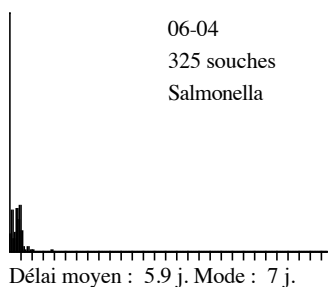
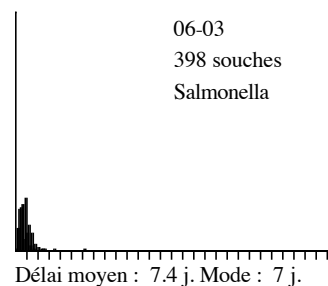
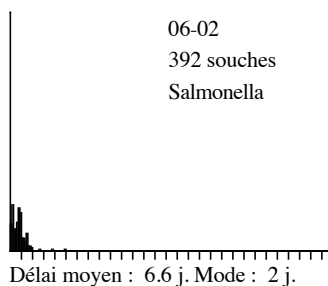
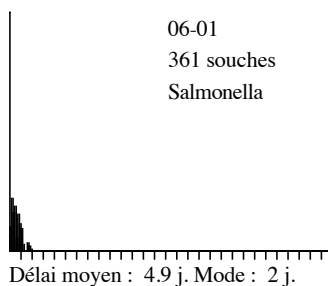
	2002	2003	2004	2005	2006
Alsace	242	157	248	135	155
67-68					
Aquitaine	352	317	297	387	328
24-33-40-47-64					
Auvergne	193	122	90	135	123
03-15-43-63					
Bourgogne	193	135	157	148	126

CNR des *Salmonella*
Rapport d'activité annuel 2006

21-58-71-89					
Bretagne	194	200	188	200	185
22-29-35-56					
Centre	213	198	192	230	207
18-28-36-37-41-45					
Champagne-Ardennes	155	120	162	83	97
08-10-51-52					
Corse	26	57	22	26	26
2A-2B					
Franche-Comté	151	121	128	121	104
25-39-70-90					
Ile-de-France	1619	1555	1659	1702	1500
75-77-78-91-92-93-94-95					
Languedoc-Roussillon	299	285	316	248	249
11-30-34-48-66					
Limousin	87	81	74	71	100
19-23-87					
Lorraine	193	177	158	146	168
54-55-57-88					
Midi-Pyrénées	440	432	430	428	323
09-12-31-32-46-65-81-82					
Nord-Pas-de-Calais	249	257	235	238	325
59-62					
Basse-Normandie	150	115	141	123	144
14-50-61					
Haute-Normandie	155	128	139	184	133
27-76					
Pays de la Loire	251	244	275	270	325
44-49-53-72-85					
Picardie	173	157	141	130	136
02-60-80					
Poitou-Charentes	200	193	181	209	218
16-17-79-86					
Provence-Alpes-Côte d'Azur	323	373	349	360	423
04-05-06-13-83-84					
Rhône-Alpes	464	534	410	562	514
01-07-26-38-42-69-73-74					
TOTAL France métropolitaine	6327	5968	5997	6136	5909
Monaco	19	11	3	7	13
Guadeloupe	22	29	55	75	51
Martinique	7	13	80	91	113
Guyane	91	121	118	116	68
La Réunion	109	80	70	65	76
Mayotte	16	41	29	62	30
Polynésie Française	1	1	3	0	3
Nouvelle Calédonie	1	0	0	0	0

III.1.3.8 Délais moyens de rendu des résultats de sérotypage en 2006

Distribution mensuelle des délais de réponse



III.1.3.9 Le sérotype Typhi en 2006

En 2006, 148 souches de *S. enterica* sérotype Typhi isolées chez 138 patients ont été répertoriées au CNR-Salm. Cent vingt-deux souches ont été isolées de laboratoires métropolitains, une d'un laboratoire réunionnais, quatre de laboratoires guyanais et 21 du centre hospitalier de Mamoudzou (Mayotte).

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

Pays de contamination	Nombre de souches
Afrique (27 souches)	
Maroc	2
Tunisie	2
Algérie	2
Egypte	1
Sénégal	3
Mauritanie	1
Niger	2
Togo	1
Mali	1
Côte d'Ivoire	4
République Centrafricaine	1
Cameroun	3
Burkina Faso	1
Comores	2
Madagascar	1
Asie (20 souches)	
Inde	12
Pakistan	6
Bengladesh	1
Cambodge	1
Amérique (3 souches)	
MEXIQUE	2
Haiti	1
EUROPE (2 SOUCHES)	1
Italie	2
TOTAL	53

III.1.3.10 Le sérotype Paratyphi A en 2006

En 2006, 52 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi A ont été répertoriées au CNR-Salm. Sur les 52 souches, 47 ont été reçues au CNR-Salm. Elles provenaient de 45 patients et ont été toutes isolées dans des laboratoires métropolitains.

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

Pays de contamination	Nombre de souches
Afrique (14 souches)	
Sénégal	13
Mali	1
Asie (18 souches)	
Pays non indiqué	2
Inde	12
Pakistan	1
Cambodge	1
Chine	1
Turquie	1
TOTAL	31

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 (286 messages en 2006),
- informations épidémiologiques sur les nouvelles souches étudiées au laboratoire pour certains sérotypes de *Salmonella responsables des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes* ou bien récemment impliqués dans des épidémies.

Relevés annuels :

Edition annuelle d'un **rapport d'activité** et d'un **inventaire** des souches de *Salmonella* enregistrées au CNR-Salm.

Relevés ponctuels :

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

III.1.4.2 Notifications de foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs du CNR-Salm entre 2002 et 2006

De 2002 à 2006, le CNR a retransmis par télécopie à l'Institut de Veille Sanitaire **1628** notifications de foyers de cas groupés.

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

III.1.4.3 Les différents foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs du CNR-Salm en 2006

286 épisodes épidémiques

Nombre de sérotypes de *Salmonella* : 43
Foyers hospitaliers : 14
Foyers familiaux : 204
Infections collectives : 59
TIAC : 0
Colonies de vacances : 0

Crèches : 3
Ecoles : 5

Sérotype 1,4,[5],12:-:-

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :

Grenoble, Forbach.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 2

Sérotype 1,4,[5],12:i:-

- Epidémie(s) familiale(s) (4) à :

Albert, Milhaud, Saone, Dinan.

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

Grande-Synthe.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 5

Sérotype 11:-:e,n,x

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Nice.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype 40:z4,z23:-

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Cholet.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype 48:k:z53

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Rambouillet

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype 48:z4,z23:-

- Epidémie(s) familiale(s) (4) à :

Chateaubriant, Laval, Lyon, Mauleon-Saule.

- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :

Ancenis.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 5

Sérotype Agona

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Paris.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Anatum

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Rennes.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Bovismorbificans

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

Saint-Girons.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Braenderup

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Cognac.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Bredeney

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Poitiers.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Cerro

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Bruay-La-Buissiere.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Concord

- Epidémie(s) dans une crèche (1) à :
Fourmies.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Corvallis

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :
Mennecy, Montauban.
- Infection(s) collectives(s) (1) à :
Verdun.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 3

Sérotype Derby

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Aurillac.
- Infection(s) collectives(s) (1) à :
Langon.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 2

Sérotype Eastbourne

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Ezy-Sur-Eure.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Enteritidis

- Epidémie(s) familiale(s) (87) à :
la Celle-Saint-Cloud, Ancenis, Antibes, Aulnay-Sous-Bois, Auxerre, Beauvais, Bethune, Blanquefort, Bondy, Boulogne-Billancourt, Bourg En Bresse, Bourgoin-Jallieu, Brives-Charensac, Bruay-La-Buissiere (2 foyers), Chalons-En-Champagne, Chateauroux, Chatillon, Chaumont (2 foyers), Cognin, Coutras, Dieuze, Digne-Les-Bains, Dole, Forbach (2 foyers), Fort De France, Gonesse, Grenade-Sur-Garonne, Grenoble, Hagueneau (2 foyers), Houilles (2 foyers), Illkirch-Graffenstaden, La Chapelle Saint-Luc, La Rochelle, Lamorlaye, Le Chesnay, Lognes, Lomme, Marseille, Mauleon-Saule, Mayenne, Merville, Moirans, Montbeliard, Montelimar, Montgeron, Montlucon, Moulins, Nancy, Nevers, Nogent-Sur-Marne, Paris, Pessac, Pezenas, Pierrefitte-Sur-Seine, Pontivy, Remiremont, Rochefort, Romans, Saint Pol Sur Mer, Saint Sebastien Sur Loir, Saint-Flour, Saint-Gaudens (3 foyers), Saint-Jean-De-Luz, Saint-Laurent Du Var, Salon-De-Provence, Salouel, Sarreguemines, Sete, Strasbourg, Thiais, Toulouse, Tourcoing, Tournefeuille, Trebes, Vendome, Vierzon, Ville-D'avray, Villeneuve Loubet, Villeneuve-La-Garenne, Voiron.
- Epidémie(s) hospitalière(s) (2) à :
Le Lamentin, Valence.
- Infection(s) collectives(s) (33) à :
Annecy, Antony, Bruay-La-Buissiere (2 foyers), Clermont-Ferrand, Deauville (2 foyers), Gonesse, Guyancourt, Hyeres, La Motte-Servolex, La Roche Sur Yon (2 foyers), La Rochelle, La Seyne Sur Mer (2 foyers), Langogne, Le Lamentin, Le Puy-En-Velay, Marne La Valle 04, Marseille, Marseille Armees, Meudon, Mont-De-Marsan, Nogent-Sur-Oise, Paris (4 foyers), Poissy, Roubaix, Saint-Sebastien-Sur-Loir, Tourcoing.
- Epidémie(s) dans une école (2) à :
Le Mans (2 foyers).

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 124

Sérotype Goldcoast

- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :
Marjevols.
- NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Hadar

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Saint-Lo.
 - Infection(s) collectives(s) (1) à :
Coutances.
- NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 2

Sérotype Havana

- Epidémie(s) dans une école (1) à :
Le Moule.
- NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Heidelberg

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :
Aix-En-Provence, Tourcoing.
 - Infection(s) collectives(s) (1) à :
Blain.
- NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 3

Sérotype Infantis

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :
Brive, Cernay.
 - Infection(s) collectives(s) (2) à :
Hyerès (2 foyers).
- NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 4

Sérotype Kentucky

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Montluçon.
 - Infection(s) collectives(s) (1) à :
Aubervilliers.
- NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 2

Sérotype Manhattan

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
La Souterraine.
- NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Napoli

- Epidémie(s) familiale(s) (3) à :
Lyon, Nantes, Pouzauges.
 - Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :
Rochefort-Sur-Mer.
- NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 4

Sérotype Newport

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Eaubonne.
- NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Oakland

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Angoulême.
- NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Oranienburg

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Clamart.
- NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Panama

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Fort De France.

- Epidémie(s) hospitalière(s) (2) à :

Le Lamentin (2 foyers).

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 3

Sérotype Paratyphi A

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Paris.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Paratyphi B

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

Le Kremlin-Bicetre.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Poona

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :

Rambouillet, Vendome.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 2

Sérotype Rissen

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Montlhery.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Rosenberg

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Frejus.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Rough

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Enghien-Les-Bains.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Saintpaul

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Limoges.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Stourbridge

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :

Lyon, Montelimar.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 2

Sérotype Telelkebir

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

Saint-Martin.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Typhi

- Epidémie(s) familiale(s) (3) à :

Longjumeau, Paris (2 foyers),

- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :

Longjumeau.

- Infection(s) collectives(s) (3) à :

Boulogne-Billancourt, Paris (2 foyers),

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 7

Sérotype Typhimurium

- Epidémie(s) familiale(s) (64) à :

Aix-Les-Bains, Armentieres, Aurillac, Beaumont-Sur-Oise, Blain, Cabestany, Canteleu, Casteljaloux (2 foyers), Chateaudun, Chatenay-Malabry, Clermont-Ferrand, Clichy, Cognac (2 foyers), Cornebarrieu, Coulommiers, Dinan, Draguignan, Dunkerque, Ernee, Evry, Flers, Fleury-Les-Aubrais, Floirac, Forges Les Eaux,

Hagueneau, Illzach, La Chatre, La Guerche-De-Bretagne, Langon (2 foyers), Le Mans, Le Plessis-Robinson, Longjumeau, Manosque, Marignane (2 foyers), Metz, Mont De Marsan, Mont-De-Marsan, Montville, Mornant, Nimes, Orleans (2 foyers), Paris (3 foyers), Pontoise, Rennes, Roanne, Saint Maurice, Saint-Chely-D'apcher, Saint-Denis, Saint-Gaudens, Thonon-Les-Bains, Toulouse, Tours, Trebes, Valence, Villepreux, Voiron.

- Epidémie(s) hospitalière(s) (6) à :

Boulogne-Billancourt, Dourdan (2 foyers), Loudun, Nantes, Paris.

- Infection(s) collectives(s) (12) à :

Aubenas, Castres, Dinan, Forges Les Eaux, Gonesse, Grenoble, La Chatre, La Ferte-Mace, Les Sables-D'olonne, Reims, Selestat, Velaux.

- Epidémie(s) dans une crèche (2) à :

L'aigle, Toulouse.

- Epidémie(s) dans une école (2) à :

Langon, Nice.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 86

Sérotype Veneziana

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

Martigues.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

Sérotype Virchow

- Epidémie(s) familiale(s) (4) à :

Antony, Bordeaux, Grenoble, Troyes.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 4

Sérotype Weltevreden

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Saint-Denis.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 1

III.1.4.4 Détection des seuils d'alerte

L'analyse des tendances évolutives temporo-spatiales des sérotypes de *Salmonella* était jusqu'à présent réalisé grâce au logiciel SISAL (P. Bouvet, CNR-Salm, IP). Un nouvel algorithme a été testé par l'InVS en 2005 sur les bases de données 1990-2005 du CNR-Salm. Le fonctionnement en routine hebdomadaire de cet algorithme est réalisé au CNR-Salm depuis juin 06.

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

Les collaborations entre l'Unité 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 et des informations sur les souches déjà sérotypées. Le CNR-Salm reçoit chaque année de l'AFSSA-LERQAP le relevé des souches qu'il a identifiées avec les informations essentielles (origine du prélèvement et département de provenance). Ces informations sont intégrées dans l'Inventaire annuel des souches de *Salmonella* édité par le CNR-Salm. En contrepartie, l'Unité BBPE par l'intermédiaire du centre OMS fournit gratuitement à l'AFSSA-LERQAP les différents sérums non-commercialisés nécessaires à son activité de routine. Les souches plus complexes isolées à l'AFSSA sont adressées pour

expertise au CNR-Salm. Chaque année un responsable du CNR-Salm vient présenter les données du Centre lors de la réunion annuelle du réseau *Salmonella* de l'AFSSA.

III. 2 Surveillance de la résistance aux antibiotiques

L'étude de la résistance aux antibiotiques est réalisée sur un échantillon représentatif des principaux sérotypes de *Salmonella*, tous les ans ou les deux ans suivant les tendances. La technique utilisée est l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé (*Enterobacteriaceae*) en suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM; communiqué 2006). 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.

III.2.1 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium, 1993-2005

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

n : nombre de souches étudiées

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

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

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

Depuis ces dernières années, la multirésistance associée au clone DT104 (*) semble diminuer en France. Environ 60 % de souches multirésistantes appartenaient au lysotype DT104 entre 1997 et 2002, 51 % en 2003 et 41 % en 2005.

III.2.2 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis, 1993-2005

Antibiotique	% de souches résistantes en :						
	1993 (n=70) (N=2345)	1997 (n=380) (N=2585)	2000 (n=82) (N=1992)	2002 (n=99) (N=2054)	2003 (n=100) (N=2048)	2004 (n=100) (N=1525)	2005 (n=100) (N=1495)
Amoxicilline	0	6,8	7,3	6,1	10	3	12
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	1	0	0
Gentamicine	0	0,5	1,2	0	1	0	2
Acide nalidixique	0	2	9,7	11,1	28	14	21
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	0
Sulfamides	0	3,9	1,2	0	2	1	2
Triméthoprim	0	2,3	2,4	0	3	0	2
Chloramphénicol	0	0,7	0	0	1	0	0
Tétracycline	2,8	3,4	12,1	3	4	1	1

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.2.3 Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar, 1997-2003

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

n : nombre de souches étudiées

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

Devant la stabilité du niveau d'antibiorésistance de ce sérotype multirésistant alors que le nombre de souches isolées est en très nette diminution ces dernières années, l'étude de la sensibilité aux antibiotiques ne sera réalisée que tous les deux ou trois ans. La prochaine étude sera effectuée sur un échantillon représentatif de souches isolées en 2006.

III.2.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow, 1997-2005

Antibiotique	% de souches résistantes en :						
	1997 (n=50) (N=501)	2000 (n=50) (N=239)	2001 (n=100) (N=227)	2002 (n=40) (N=126)	2003 (n=100) (N=157)	2004 (n=77) (N=122)	2005 (n=100) (N=114)
Amoxicilline	26	6	10	5	14	20,8	11
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	3	6,5	3
Gentamicine	0	0	2	0	1	2,6	1

Acide nalidixique	24	48	54	45	35	41,6	51
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	1
Sulfamides	12	4	10	10	17	31,2	16
Triméthoprim	20	2,4	7	5	18	29,9	15
Chloramphénicol	6	6	2	2,5	2	5,2	0
Tétracycline	24	10	4	5	16	23,4	16

n : nombre de souches étudiées

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

A partir de 2003, des souches résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) ont été détectées chez Virchow. L'analyse des mécanismes moléculaires de résistance des souches isolées en 2003 et 2004 ont permis d'identifier les beta-lactamase à spectre étendu (BLSE) CTX-M-2 (phénotype ACroSuTmpTeNal, prévalence de 2 % en 2003 et 6,5 % en 2004) et CTX-M-9 (phénotype ACroSSpKSuTmpTeNal, prévalence de 1 % en 2003). Les mécanismes de résistance des trois souches isolées en 2005 sont en cours d'étude. Deux études en collaboration avec l'INRA, l'AFSSA, et le CNR belge ont permis d'identifier des souches productrices de CTX-M-9 similaires aux souches humaines dans de la volaille dans le Sud-Ouest en 2003 et des souches productrices de CTX-M-2 similaires dans de la volaille et chez l'homme en Belgique. Les souches productrices de CTX-M-2 étaient isolées de façon croissante dans la volaille en Belgique depuis 2000. En 2005, une souche résistante à la ciprofloxacine (CMI : 4 mg/L) ainsi qu'au cotrimoxazole et à la tétracycline, a été détectée.

III.2.5 Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport, 1997-2005.

Antibiotique	% de souches résistantes en :						
	1997 (n=40) (N=170)	2000 (n=100) (N=109)	2001 (n=124) (N=134)	2002 (n=66) (N=71)	2003 (n=126) (N=138)	2004 (n=91) (N=94)	2005 (n=78) (N=80)
Amoxicilline	27,5	27	9,7	1,5	19,8	8,8	3,8
Ceftriaxone/ceftazidime	0	15	4	1,5	17,5	2,2	0
Gentamicine	2,5	4	1,6	0	1,6	2,2	0
Acide nalidixique	15	23	7,3	4,5	1,6	4,4	2,6
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	0
Sulfamides	27,5	29	10,5	4,5	19,8	8,8	0
Triméthoprim	27,5	10	4	3	1,6	4,4	0
Chloramphénicol	25	25	9,7	1,5	15,9	8,8	0
Tétracycline	45	27	11,3	3	19	9,9	3,8

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 pour l'ensemble de ces souches la production de la céphalosporinase plasmidique CMY-2. Ces souches de phénotype ACazSSuCTe (ou plus rarement ACazSSpKToGSuCTe) sont apparues durant la dernière décennie chez les bovins aux Etats-Unis (après l'autorisation d'utilisation d'une C3G, le ceftiofur pour le traitement de la pneumonie des bovins). Une analyse rétrospective nous a permis d'individualiser en 2000, un foyer de cas groupés dans la région parisienne. En 2003, une petite épidémie suite à de la consommation de la viande de cheval insuffisamment cuite a été détectée dans le Nord de la France. En 2005, aucune souche de ce sérotype n'était résistante aux C3G.

III.2.6 Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi, 1997-2006

Antibiotique	% de souches résistantes en :						
	1997 (n=40) (N=170)	2000 (n=40) (N=186)	2002 (n=40) (N=133)	2003 (n=40) (N=163)	2004* (n=37) (N=109)	2005* (n=63) (N=116)	2006* (n=106) (N=111)
Amoxicilline	0	0	2,5	10	27	8,1	12,3
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	0	5	7,5	12,5	24,3	17,8	37,7
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	0
Cotrimoxazole	5	2,5	7,5	10	25	7,9	12,3

souches isolées en France métropolitaine (une seule par patient)

n : nombre de souches étudiées

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

En 2006, le phénomène le plus marquant est l'augmentation nette de la résistance aux quinolones (les CMI de la ciprofloxacine restant inférieures à 1 mg/L). Ces souches, pouvant être également résistantes à l'ampicilline, au chloramphénicol et au cotrimoxazole, ont été contractées suite à des séjours en Inde, Pakistan ou en Asie du sud-Est. Les souches contractées en Afrique restent globalement sensibles aux antibiotiques. Cependant, quelques souches d'origine africaine résistantes à l'ampicilline, au chloramphénicol et au cotrimoxazole ont été isolées.

Entre 2004 et 2006, 83 souches du sérotype Typhi ont été reçues du centre hospitalier de Mamoudzou (Mayotte), 58 ont été étudiées. Elles étaient toutes sensibles à l'amoxicilline, à l'acide nalidixique et au cotrimoxazole.

Entre 2004 et 2006, 30 souches du sérotype Typhi ont été reçues de Guyane française, 22 ont été étudiées. Elles étaient toutes sensibles à l'amoxicilline, à l'acide nalidixique et au cotrimoxazole.

III.2.7 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A en 2005 et 2006

Antibiotique	% de souches* résistantes en :	
	2005 (n=21) (N=33)	2006 (n=44) (N=45)
Amoxicilline	0	0
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0
Acide nalidixique	71,4	50
Ciprofloxacine	0**	0**
Cotrimoxazole	0	0

* souches isolées en France métropolitaine

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

n : nombre de souches étudiées

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

III.2.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B en 2006

Antibiotique	% de souches résistantes en :
	2006 (n=35) (N=51)
Amoxicilline	8,6
Ceftriaxone/ceftazidime	0
Gentamicine	0
Acide nalidixique	2,9
Ciprofloxacine	0
Sulfamides	8,6
Triméthoprim	0
Chloramphénicol	8,6
Tétracycline	8,6

n : nombre de souches étudiées

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

III.2.9 Souches présentant une résistance particulière aux antibiotiques, détectées au CNR-Salm en 2006

III.2.9.1 Souches résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération

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

III.2.9.1.1 Souches productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE)

Sérotype	N	Date	Lieu de l'isolement	Type de la BLSE	Résistance associée ¹	Renseignements épidémiologiques
Typhimurium	1	Fév 02	St-Denis (93)	TEM-52	BLSE isolée	Plasmide identique décrit dans la filière volaille en Belgique depuis 2000
Rough	1	Fév 02	Colmar (68)	CTX-M-9	SSpKSuTmpTeNal	Souches similaires décrites dans la filière volaille dans le Sud-Ouest en 2003
4,12 :- :-	1	Mars 03	Rennes (35)	SHV-5	SSpKToGSuTmpCTeNal	Patient venant de Roumanie
Enteritidis	1	Mai 03	Dunkerque (59)	TEM-52	BLSE isolée	Plasmide identique décrit dans la filière volaille en Belgique depuis 2000
Typhimurium	1	Juin 03	Paris	CTX-M-15	SSuTmp	Patient venant du Liban
Panama	1	Juill 03	St-Omer (62)	TEM-52	BLSE isolée	Plasmide identique décrit dans la filière volaille en Belgique depuis 2000
Blockley	1	Juill 03	Lomme (59)	TEM-52	BLSE isolée	Contexte inconnu
Babelsberg	6	Déc 02 à Juin 03	France entière	SHV-12	BLSE isolée	Enfants adoptés du Mali
Enteritidis	5	Déc 02 à Juin 03	France entière	SHV-12	ToGSuTmpTe	Enfants adoptés du Mali
Newport	1	Oct 03	Carcassonne (11)	CTX-M-1	SuTmp	Contexte inconnu
Virchow	8	Juin 03 à août 04	Paris Gonesse (93) Pantin (93) Bayonne (64) Bry (94)	CTX-M-2	SuTmpTeNal	3 cas sont survenus dans une même famille (investigation infructueuse). Souches similaires décrites dans la filière volaille en Belgique.
Newport	1	Oct 03	Carcassonne (11)	CTX-M-1	SuTmp	Contexte inconnu
Typhimurium	1	Oct 03	St Amand (18)	SHV-12	SSpSuTmpCTeNal	Consommation d'œufs de ferme
Virchow	3 ²	Janv à Déc 05	Romans (26) Colombe (92) Plaisance (31)	SHV-12 (1) CTX-M (1) TEM-52 (1)	SSpKGSuTmpCTeNal SuTmpTeNal Nal	Contextes inconnus

CNR des *Salmonella*
Rapport d'activité annuel 2006

Enteritidis	1	Oct 04	Orange (84)	CTX-M-14	BLSE isolée	Contexte inconnu
Concord et 6,12 :l,v :-	43	Janv 04 à Déc 06	France entière	CTX-M-15	SSpGSuTmpCTe SSpGSuTmpTe SspGSuTe, SSpGSuCTe SGSuTmpCTeNal ³	Enfants adoptés d'Ethiopie Quelques cas autochtones Investigation en cours
Waycross	16	Mars 05 à Déc 06	France entière	CTX-M-15	Aucune (8/16) KToG (1/16) SuTmp (3/16) G (2/16) GSuTmp (2/16)	Enfants adoptés du Mali
Gambia	2	Août 05	Paris	CTX-M-3	SSpKToGAKSuTmp ⁵	Infection nosocomiale (avec décès) d'un enfant au contact d'un enfant porteur sain originaire du Sénégal
Rough	1	Sept 05	Paris	CTX-M	SSuTmpTeNal	Contexte inconnu
Typhimurium	1	Déc 05	L'Aigle (61)	CTX-M	SSpSuTmpCTeNal	Contexte inconnu
Typhimurium	1	Oct 06	St-Girons (09)	CTX-M	SuTmpTe	Contexte inconnu
Senftenberg	1	Oct 06	Paris	CTX-M-3	Tmp	Contexte inconnu

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

²souches isolées en 2005 mais étudiées en 2006 dans l'étude de rétrospective de sensibilité aux antibiotiques

³présence du gène *qnrA* de résistance aux quinolones

⁴présence du gène *armA* de résistance aux aminosides

III.2.9.1.2 Souches productrices de céphalosporinases plasmidiques

Sérotype	N	Date	Lieu de l'isolement	Type de la céphalosporinase	Résistance associée*	Renseignements épidémiologiques
Newport	46	Janv 00 à Déc 05	France Entière	CMY-2	SSuCTe (43/46) SSpKToGSuCTe (3/46)	Epidémie liée à de la viande de cheval en 2003.
Agona	2	Avr 02	Bagnolet (93) Fontainebleau (77)	CMY-2	SSuTmpCTe	Cas sporadiques.
Typhimurium	1	Oct 03	Nantes (44)	CMY-2	SSpKToGSuTmpCTe Nal	Patient venant de Roumanie
Livingstone	1	Avr 04	Cherbourg (50)	ACC-1	KToGSuTmp	Infection nosocomiale
Bareilly	1	Jan 05	Lomme (59)	ACC-1	Aucune	Aucun
Reading	1	Jan 06	Villecresnes (94)	CMY-2	SSpSuCTe	Aucun
Anatum	1	Aout 06	Paris	En cours de typage	Aucune	Porteur asymptomatique
Agona	2	Sept à Nov 06	Paris Sannois (95)	CMY-2	SKSuTmpCTe	Aucun
Stanley	1	Déc 06	Amiens (80)	En cours de typage	SSpGSuCTe	Voyage en Thaïlande

* abrégations utilisées: S, streptomycine; Sp, spectinomycine; K, kanamycine; To, tobramycine; G, gentamicine; Su, sulfamides; Tmp, triméthoprime; C, chloramphénicol; Te, tétracycline; Nal, acide nalidixique.

Les souches résistantes aux C3G sont très rarement observées dans le genre *Salmonella*. L'étude de sensibilité aux antibiotiques menée par le CNR-salm en 2002 sur 1140 souches appartenant aux 15 principaux sérotypes n'avait mis en évidence que quatre souches résistantes (0,35 %). Cependant il existe certains sérotypes chez lesquels cette résistance est plus importante : Virchow avec des souches multirésistantes productrices de la BLSE CTX-M-2 (2% des souches en 2003 et 6% des souches en 2004), ou CTX-M-9 (1 % des souches en 2003) ; Newport avec des souches multirésistantes productrices de la céphalosporinase CMY-2 (entre 0 et 17,5 % des souches de ce sérotype entre 2000 et 2005). 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, ...) 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.2.9.2 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 2006 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 augmentant le niveau de résistance de ces souches.

III.2.9.2.1 Souches du sérotype Typhimurium résistantes à la ciprofloxacine détectées au CNR-Salm entre 2002 et 2006

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

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

Ces souches possédaient une CMI à la ciprofloxacine supérieure à 16 mg/L. Une étude des mécanismes de résistance à la ciprofloxacine a été réalisée en collaboration avec le Dr Isabelle Casin (Hôpital Saint-Louis, Paris). Les 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 chez ces souches. Une étude par électrophorèse en champ pulsé (*XbaI* et *BlnI*) ainsi qu'une étude par la méthode MLVA a montré que ces souches étaient clonales.

Les souches résistantes à la ciprofloxacine (CiproR) sont exceptionnelles dans le genre *Salmonella*. Les différentes études de sensibilité aux antibiotiques menées par le CNR-Salm entre 1993 et 2002 sur 1140 souches appartenant aux 15 principaux sérotypes n'avaient mis en évidence qu'une souche résistante (< 0,1 %). Il s'agissait de la souche de sérotype Typhimurium 02-8213 présentée dans le tableau ci-dessus. L'analyse de 1287 autres souches de ce sérotype entre 1993 et 2003 dans le cadre des études d'antibioprévalence n'avaient pas permis de mettre en évidence d'autres souches. Les différentes souches signalées dans le tableau précédent l'ont été suite à l'analyse des résultats d'antibiogrammes fournis par les laboratoires correspondants avec les souches à sérotyper. La faible prévalence de ces souches CiproR sur le territoire national ainsi que sur le plan international pourrait être expliquée par une diffusion (jusqu'à présent) suite à un contact direct avec des nouveaux animaux de compagnie (reptiles +++), porteurs sains (la souche ayant vraisemblablement été sélectionnée par l'usage prophylactique d'enrofloxacine dans les animaleries). Le nombre de cas pourrait devenir beaucoup plus important si une telle souche devait contaminer des animaux destinés à l'alimentation humaine.

III.2.9.2.2 Souches d'autres sérotypes résistantes à la ciprofloxacine détectées au CNR-Salm entre 2002 et 2006

Souches du sérotype Kentucky

Nous avons publié en 2006 une étude sur des souches de sérotype Kentucky CiproR avec des CMI à la ciprofloxacine entre 4 et 16 mg/L. Une étude des mécanismes de résistance à la ciprofloxacine en collaboration avec l'équipe d'Axel Cloeckaert (INRA Nouzilly) a identifié deux substitutions significatives dans GyrA (Ser83Phe et Asp87Gly chez 8 souches, Ser83Phe et Asp87Asn chez 5 souches, et Ser83Phe et Asp87Tyr chez 5 souches) et une dans ParC (Ser80Ile). Un mécanisme d'efflux était présent chez les souches avec les CMI les plus hautes. Une étude par électrophorèse en champ pulsé (*Xba*I) a montré que les profils obtenus étaient différents de ceux de souches sensibles ou résistantes seulement à l'acide nalidixique mais il existait une certaine variabilité au sein des souches résistantes à la ciprofloxacine.

Le tableau ci-dessous indique la fréquence d'isolement des souches CiproR de Kentucky dans le temps

Année	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Souches de Kentucky reçues au CNR-Salm	24	28	31	35	34	45	53
dont CiproR n (%)	0 (0)	0 (0)	1(3,2)	0 (0)	5 (14,7)	11 (24,4)	14 (35)*

*analyse sur 40 souches

Souche de sérotype Virchow

Lors de l'étude de prévalence de 2006, une souche de sérotype Virchow isolée en 2005 était résistante à la ciprofloxacine (CMI de 4 mg/L). L'étude des mécanismes de résistance est en cours.

Souche de sérotype Typhi

Lors d'une étude rétrospective de souches de sérotype Typhi, une souche isolée en 2004 chez un patient revenant d'un séjour en Inde, se révélait être résistante à haut niveau à la ciprofloxacine (CMI de 8 mg/L). L'étude des mécanismes de résistance est en cours.

Les souches résistantes à la ciprofloxacine sont exceptionnelles dans le genre *Salmonella* (cf paragraphe précédent). Ce type de résistance pose un sérieux problème pour la thérapeutique des salmonelloses de l'adulte car la ciprofloxacine est l'antibiotique de première intention. Dans le cas de ces souches de Kentucky, il s'agit clairement de souches d'importation. La totalité des patients interrogés ont déclaré la maladie lors ou au décours d'un séjour en Afrique du Nord (Egypte +++), ou de l'Est. Parfois cela survenait dans le cadre d'une toxi-infestation alimentaire collective. Aucune enquête alimentaire n'a été réalisée et le type d'aliment responsable de la dissémination de telles souches est resté inconnu. Pour la souche de Typhi, il s'agit véritablement d'un phénomène inquiétant sur le plan thérapeutique du fait de la gravité de la fièvre typhoïde. Des souches similaires en provenance du sous-continent indien ont été également décrites au Royaume Uni (Threlfall et coll. Lancet. 2006 ;367:1576). L'apparition de telles souches fait suite à l'utilisation massive (et parfois inadéquate) des fluoroquinolones en Inde et en Asie du Sud-Est depuis le début des années 1990.

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

En 2006, le CNR-Salm a participé à la détection et /ou à l'investigation sur le plan microbiologique (analyse par électrophorèse en champ pulsé, ribotypie et antibiotypie) de deux épidémies :

- **Sérotype Montevideo**, France entière, octobre-décembre 2006
Vingt-trois cas liés à de la consommation de fromage Reblochon.
- **Sérotype Typhi**, Paris, juin à juillet 2006
Onze cas liés à la fréquentation d'un restaurant de Paris 7^{ème}. Un porteur sain de *S. enterica* sérotype Typhi ayant préparé des aliments a pu être identifié. La souche était résistante à l'acide nalidixique.

III. 4 Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

III.4.1 Contribution aux réseaux européens

Le CNR-Salm fait partie du réseau **Enter-Net** qui est chargé de la surveillance internationale des infections gastro-intestinales humaines (*Salmonella*, VTEC y compris leur résistance aux antibiotiques). Il regroupe de droit les différents pays de la l'Union européenne ainsi que d'autres pays non-membres. La France par l'intermédiaire du CNR-Salm participe à ce réseau depuis sa création en transmettant par Internet 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 du réseau Enter-Net ou émanant de centres ou d'autorités sanitaires des états de l'Union Européenne et des pays de l'espace économique européen. Le CNR-Salm participe aux contrôles de qualité externe « sérotypage et lysotypage des *Salmonella* » et « détermination de la sensibilité aux antibiotiques » organisés par le Réseau Enter-Net.

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.

En étroite collaboration avec le Centre Collaborateur OMS de Référence et Recherche sur les *Salmonella* (qui a rejoint l' Unité BBPE en 2003), chaque année le CNR-Salm identifie des sérotypes nouveaux de *Salmonella* et les transmet au Centre OMS qui les homologue. 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* qui est dans l'Unité BBPE depuis 2003. Le centre collaborateur OMS a validé parmi les souches transmises en 2006 par le CNR-Salm les sérotypes suivants :

- * le nouveau sérotype **Sandaga** (3,10 : z38 : 1,2)
- * le nouveau variant 0:1 du sérotype **Bochum** (1,4,12 : r : 1,w)
- * le nouveau variant 0:1 du sérotype **Telelkebir** (1,13,23 : d : e,n,z15)

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 :

- Grimont P.A.D et Weill F.X. Participation cours OMS Salm-Surv GSS-4, 29 mai-3 juin 2006, St Petersburg (Russie).
- Grimont P.A.D. Organisation du cours OMS sur la préparation des antisérums pour *Salmonella*, 20-24 novembre 2006, Institut Pasteur, Paris.
- Weill F.X. Participation au cours OMS Salm-Surv GSS-1, 23-28 octobre 2006, Suva (Fidji).

III. 5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Suite à la détection de 42 souches de sérotype Concord (ou du sérotype monophasique 6,8 :1,v :-) résistantes aux C3G par production de la BLSE CTX-M-15 chez des enfants adoptés en provenance d'Ethiopie mais également chez des sujets ayant eu des contacts directs ou indirects avec ces enfants, le CNR et l'InVS ont réalisé une enquête auprès des professionnels de santé et des associations agréées pour l'adoption en Ethiopie. Cette enquête avait pour but de connaître le statut clinique (malade ou porteur sain) des enfants adoptés, les modalités de dépistage des pathologies transmissibles à l'arrivée en France ainsi que la prévalence du portage de *Salmonella* chez les enfants adoptés. Cette enquête est toujours en cours, mais a révélé que la grande majorité des enfants adoptés dont la coproculture était positive à *Salmonella* à leur arrivée en France étaient des porteurs sains, que la prévalence des enfants adoptés avec une coproculture positive était faible (moins de 1 %) et que les associations mettaient l'accent sur le dépistage des maladies infectieuses chez les enfants adoptés et informaient les parents adoptifs sur ces pathologies infectieuses.

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'antibiogrammes détectés par le programme de détection ou détectés par les responsables du CNR sont communiquées en temps réel à l'InVS par voie téléphonique ou par courrier électronique. En 2006, le CNR a détecté une augmentation anormale de souches de sérotype Montevideo, ce qui a conduit à une investigation épidémiologique et à la découverte de l'aliment contaminé (fromage de type Reblochon).

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

V.1 Réunions et missions

- Weill F.X. Mission Enter-Net, 22-23 septembre 2006, Prague (république Tchèque).
- Grimont P.A.D et Weill F.X. Participation cours OMS Salm-Surv GSS-4, 29 mai-3 juin 2006, St Petersburg (Russie).
- Weill F.X. Participation au cours OMS Salm-Surv GSS-1, 23-28 octobre 2006, Suva (Fidji).
- Weill F.X. Participation au cours « l'antibiogramme, du phénotype au génotype », 20-24 novembre 2006, Casablanca (Maroc).
- Grimont P.A.D. Organisation du cours OMS sur la préparation des antisérums pour *Salmonella*, 20-24 novembre 2006, Institut Pasteur, Paris.
- Grimont P.A.D et Weill F.X. Participation au workshop « Molecular Techniques in Typing & Diagnosis of Infectious Diseases », 27-30 novembre 2006, Téhéran (Iran).

V.2 Enseignement

- Weill F.X. Cours Master 2 de Microbiologie (Paris 6 et 7), 21 septembre 2006, Epidémiologie des salmonelloses mineures.
- Weill F.X. Cours Master 2 de Microbiologie Appliquée (Paris 6), 6 novembre 2006, Les salmonelles.
- Weill F.X. conférence sur l'actualité des *Salmonella*, Faculté de médecine Saint-Antoine, 14 mars 2006.
- Weill F.X. Les données 2005 du CNR, Journée du réseau *Salmonella* de l'AFSSA, 12 décembre 2006.
- Weill F.X. conférence sur l'actualité des *Salmonella*, Faculté de médecine Necker, 20 décembre 2006.

V.3 Accueil de stagiaires

Le CNR-Salm a reçu en 2006 comme stagiaires:

- Dr Svetlana EGOROVA (Institut Pasteur de St Petersburg, Russie), Stage de 4 mois sur caractérisation moléculaires de *Salmonella* productrices de BLSE à St-Petersbourg et des *Salmonella* productrices de CMY-2 en France et en Russie.
- Mlle Alison Peillon, étudiante en BTS. Stage de 2 mois sur la caractérisation des souches de *S. enterica* sérotype Enteritidis résistantes à l'acide nalidixique (électrophorèse en champ pulsé et séquençage des gènes *gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE*).
- Mlle Aurélia Delauné, étudiante en Mastère 2 (Paris 6). Stage de 7 mois sur la caractérisation des plasmides (replicon typing) et de l'environnement génétique des gènes CTX-M-1, CTX-M-3, CTX-M-15, CTX-M-1 et SHV-12 chez *Salmonella*.

V.4 Congrès

Grimont P.A.D et Weill F.X. Membres du comité d'organisation de l'« International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis », 10-12 mai 2006, St Malo (France).

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

Chaque année le rapport scientifique de l'Unité Biodiversité des Bactéries Pathogènes et le résumé du rapport du CNR sont consultables sur le site web de l'Institut Pasteur (<http://www.pasteur.fr>).

V.6 Conseils aux professionnels de santé

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

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

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

* Développement en collaboration avec S. Brisse (Unité BBPE) et M. Achtman (Max Planck Institut, Berlin) **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 ce jour, plus de 300 souches appartenant aux différents sérotypes des deux espèces de *Salmonella* ont été étudiées et les résultats ont été déposés dans une banque de données internationale. Le projet a pour but de constituer une base de données de l'ensemble 2500 sérotypes de *Salmonella* déposés au Centre Collaborateur OMS.

* Mise au point en collaboration avec S. Brisse (Unité BBPE) d'un système de **sous-typage des souches de *S. enterica* sérotype Typhimurium** et notamment du clone DT104. Le clone multi-résistant DT104 représentant 60 % du sérotype le plus fréquemment isolé en France en 2005, Typhimurium et comprenant des souches très proches sur le plan génétique (elles possèdent dans 70 % des cas le même profil en électrophorèse en champ pulsé), il nous a paru important d'appliquer une méthode discriminante permettant d'être mise en œuvre en cas d'investigation d'épidémies dues à ce clone DT104. La méthodologie décrite par Lindstedt (Oslo, Norvège) repose sur l'amplification par PCR de séquences répétées (VNTR, variable numbers of tandem repeats) dans 5 gènes (STTR3, STTR5, STTR6, STTR9 et STTR10). Nous avons testé la méthode sur environ 120 souches provenant de cas sporadiques et d'épidémies et elle s'est avérée reproductible et très discriminante, notamment pour le clone DT104. Cette méthode fait partie maintenant des techniques de sous-typage applicables lors d'investigation d'épidémies au sérotype Typhimurium.

* Développement en collaboration avec S. Brisse (Unité BBPE) et Bjorn-Arne Lindstedt (Oslo, Norvège) d'un système de **sous-typage des souches de *S. enterica* sérotype Enteritidis par analyse MLVA**. Le pouvoir discriminatif des méthodes classiques de sous-typage de ce sérotype lors d'investigations de TIAC est actuellement limité du fait de la présence de deux lysotypes majoritaires (PT4 et PT8) et de deux profils majoritaires en ECP (X1 et X2) chez environ 75 % des souches. La méthodologie, en cours de développement, repose sur l'amplification par PCR de séquences VNTR dans six gènes (STTR3, STTR5, STTR7, STTR9, STTR11 et Sal02). Nous avons testé la méthode sur 100 souches de ce sérotype en comparant les résultats obtenus avec ceux de la lysotypie et de l'ECP (*Xba*I). Seul un gène sur les six testés a montré une variabilité. D'autres nouveaux gènes devraient être étudiés prochainement.

* Collaboration avec M. Achtman (Max Planck Institut, Berlin) à la mise au point **d'un système de sous-typage très fin des souches de *S. enterica* sérotype Typhi** par la découverte et l'analyse de mutations ponctuelles ou « single nucleotide polymorphisms (SNPs) ». Le criblage de mutations ponctuelles a été réalisé sur 200 fragments de gènes (1,85% du génome) au sein d'une collection représentative sur le plan mondial de 105 souches de sérotype Typhi. Cette approche a permis de découvrir 88 polymorphismes bi-alléliques (BiPs) composés très majoritairement de polymorphismes associés à des mutations nucléotidiques simples (SNP). La distribution de ces polymorphismes s'est avérée être totalement parcimonieuse et l'arbre phylogénétique construit à partir des 88 BiPs a révélé la présence de nombreux haplotypes (ensemble de marqueurs liés) intermédiaires, séparés séquentiellement par un seul polymorphisme. L'histoire évolutive de ce pathogène majeur a pu être élucidée et

les résultats, publiés dans la revue Science, sont en faveur de l'apparition de plusieurs vagues intercontinentales de dissémination du sérotype Typhi se sont produites et que les haplotypes disséminés ont été capables de se maintenir durablement dans les régions infectées. Un haplotype ancestral (H45) dont descendent tous les haplotypes actuels, a été identifié. Il serait apparu entre – 10 000 ans et – 43 000 ans, donc après la migration de l'Homme en dehors d'Afrique, mais avant la sédentarisation du Néolithique. Des représentants de l'haplotype ancestral sont encore trouvés de nos jours sur plusieurs continents, suggérant que la bactérie se serait maintenue au départ au sein de petites populations de chasseurs-cueilleurs grâce au phénomène du portage asymptomatique. Par ailleurs, l'analyse de plus de 300 souches asiatiques supplémentaires par la méthode de criblage de mutations ponctuelles combinée à l'étude de leur résistance à l'acide nalidixique a permis de mesurer l'effet sur la structure des populations du sérotype Typhi d'une pression de sélection aussi forte que récente : l'utilisation massive de fluoroquinolones en Asie du Sud-Est. Deux résultats majeurs ressortent de cette étude : (i) plusieurs souches non apparentées résistantes aux fluoroquinolones co-existent en Asie du Sud-Est, soulignant la survenue de multiples événements indépendants d'acquisition de la résistance aux antibiotiques et, (ii) l'haplotype H58, composé très majoritairement de souches résistantes à l'acide nalidixique, se dissémine actuellement massivement dans tout le Sud-Est asiatique et commence même à être retrouvé en Afrique.

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

Le CNR-Salm a mené en 2006 plusieurs études sur la caractérisation de souches résistantes aux antibiotiques :

- * Epidémiologie moléculaire et caractérisation des plasmides des souches de *S. enterica* sérotype Newport produisant la céphalosporinase CMY-2, isolées chez l'homme en France entre 2000 et 2005.
- * Epidémiologie moléculaire, caractérisation de l'environnement génétique des gènes de résistance de souches de *S. enterica* sérotype Concord produisant la BLSE CTX-M-15, isolées chez des enfants adoptés d'Ethiopie, en France et en Norvège. Travail en collaboration avec Emmanuelle Espié (InVS) et Jorgen Lassen (CNR norvégien des *Salmonella*, Oslo, Norvège).
- * Epidémiologie moléculaire, caractérisation des gènes de résistance et analyse plasmidique des souches de *S. enterica* sérotype Virchow produisant la BLSE CTX-M-2, isolées chez l'homme en France et en Belgique et chez la volaille en Belgique. Travail en collaboration avec les équipes d'Axel Cloeckaert (INRA Nouzilly), de Jean-Marc Collard (Institut de Santé Publique, Bruxelles) et de Patrick Butaye (CERVA, Bruxelles).
- * Epidémiologie moléculaire, caractérisation de l'environnement génétique des gènes de résistance et analyse plasmidique des souches de *S. enterica* de différents sérotypes produisant la BLSE TEM-52, isolées chez l'homme en France et en Belgique et chez la volaille en Belgique. Travail en collaboration avec les équipes d'Axel Cloeckaert (INRA Nouzilly), de Jean-Marc Collard (Institut de Santé Publique, Bruxelles) et de Patrick Butaye (CERVA, Bruxelles).
- * Description d'une nouvelle BLSE, CTX-M-53 isolée d'une souche de *S. enterica* sérotype Westhampton provenant de coquillages récoltés dans le Mobihan. Travail en collaboration avec les équipes d'Axel Cloeckaert (INRA Nouzilly), d'Anne Brisabois (AFSSA, Maisons-Alfort) et de Richard Bonnet (CHU de Clermont-Ferrand).
- * Prévalence et caractérisation des gènes plasmidiques de résistance aux quinolones *qnrA*, *qnrB* et *qnrS* chez les souches humaines de *S. enterica* en France. Travail en collaboration avec l'équipe de Patrice Nordmann (CHU de Bicêtre).
- * Caractérisation de nouveaux variants de l'ilôt de multirésistance aux antibiotiques, *Salmonella* genomic island 1 chez les sérotypes Newport et Kentucky. Travail en collaboration avec l'équipe d'Axel Cloeckaert (INRA Nouzilly).

VII. LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

VII.1 Publications nationales

Poirier, E., Watier, L., Espié, E., Bouvet, P., Weill, F. X., de Valk, H. & Desenclos, J. C. (2006). Évaluation de l'impact des mesures prises dans les élevages aviaires sur l'incidence des salmonelloses en France. **Bulletin épidémiologique hebdomadaire**. 02-03, 18-20.

Brouard, C., Espié, E., Weill, F. X., Brisabois, A., Kérouanton, A., Michard, J., Hulaud, D., Forgues, A.M., Vaillant, V. & de Valk, H. (2006). Epidémie de salmonellose à

Salmonella enterica sérotype Agona liée à la consommation de poudres de lait infantile, France, janvier-mai 2005. **Bulletin épidémiologique hebdomadaire**. 33, 248-250.

Delmas, G., Gallay, A., Espié, E., Haeghebaert, S., Pihier, N., Weill, F. X., de Valk, H., Vaillant, V. & Desenclos, J. C. (2006). Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 1996 et 2005. **Bulletin épidémiologique hebdomadaire**. 51-52, 418-422.

VII.2 Publications internationales

Bertrand, S., Weill, F. X., Cloeckart, A., Vrints, M., Mairiaux, E., Praud, K., Dierick, K., Wildemaue, C., Godard, C., Butaye, P., Imberechts, H., Grimont, P. A. D. & Collard, J. M. (2006). Clonal emergence of extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-2)-producing *Salmonella enterica* serovar Virchow isolates with reduced susceptibilities to ciprofloxacin among poultry and humans in Belgium and France (2000 to 2003). **J Clin Microbiol** 44, 2897-2903.

Chiu, C. H., Su, L. H., Chu, C. H., Wang, M. H., Yeh, C. M., Weill, F. X. & Chu, C. (2006). Detection of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium phage types DT102, DT104, and U302 by multiplex PCR. **J Clin Microbiol** 44, 2354-2358.

Cloeckart, A., Praud, K., Doublet, B., Demartin, M. & Weill, F. X. (2006). Variant *Salmonella* Genomic Island 1-L Antibiotic Resistance Gene Cluster in *Salmonella enterica* serovar Newport. **Antimicrob Agents Chemother** 50,3944-6.

Noël, H., Dominguez, M., Weill, F.X., Brisabois, A., Duchazeaubeinex, C., Kérouanton, A., Delmas, G., Pihier, N. & Couturier, E. (2006). Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Manhattan infection associated with meat products, France, 2005. **Eurosurveillance** 11,270-273.

Roumagnac, P., Weill, F.X., Dolecek, C., Baker, S., Brisse, S., Chinh, N.T., Le, T.A.H., Acosta, C.J., Farrar, J., Dougan, G. & Achtman, M. (2006). Evolutionary history of *Salmonella* Typhi. **Science** 314, 1301-4.

Weill, F. X., Bertrand, S., Guesnier, F., Grimont, P. A. D. & Cloeckart, A. (2006). Ciprofloxacin-resistant *Salmonella* Kentucky in Travelers. **Emerg Infect Dis** 12, 1611-1612.

Weill, F. X., Guesnier, F., Guibert, V., Timinouni, M., Demartin, M., Polomack, L. & Grimont, P. A. D. (2006). Multidrug resistance in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium from humans in France (1993 to 2003). **J Clin Microbiol** 44, 700-708.