



INSTITUT PASTEUR

Centre National de Référence

des *Salmonella*

Rapport d'activité annuel 2007

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 2007..... | 6 |
| I. 3 PERSONNELS DU CNR | 8 |
| I. 3. 1 <i>Les responsables scientifiques</i> | 8 |
| I. 3. 2 <i>Le personnel technique et administratif</i> | 8 |
| I. 4 LES LOCAUX ET EQUIPEMENTS | 9 |
| I. 5 LA DEMARCHE QUALITE | 10 |
| II. ACTIVITES D'EXPERTISE | 11 |
| II.1 CAPACITES TECHNIQUES DU CNR | 11 |
| II.1.1 <i>Liste des techniques de référence</i> | 11 |
| II.1.2 <i>Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles</i> | 12 |
| II.1.3 <i>Collection de souches</i> | 12 |
| II.1.4 <i>Liste des techniques recommandées par le CNR</i> | 13 |
| II. 2 ACTIVITES D'EXPERTISE EN 2007 | 13 |
| II. 2.1. 1 Activité de sérotypage, CNR-Salm, 2003 à 2007 | 13 |
| II. 2.1. 2 Activité de typage par électrophorèse en champ pulsé, CNR-Salm, 2002 à 2007 | 13 |
| II. 2.1. 3 Activité de typage par la méthode MLVA, CNR-Salm, 2005 à 2007..... | 14 |
| III. ACTIVITES DE SURVEILLANCE..... | 15 |
| III.1 SURVEILLANCE DE L'EVOLUTION ET DES CARACTERISTIQUES DES INFECTIONS | 15 |
| III.1.1 <i>Le réseau de laboratoires correspondants du CNR-Salm</i> | 15 |
| III.1.2 <i>Définition de l'échantillon de souches isolées</i> | 16 |
| III.1.3 <i>Analyse de la distribution des différents sérotypes et analyse des tendances</i> | 16 |
| III.1.3.1 Nombre annuel de souches de <i>Salmonella</i> d'origine humaine repertoriées au CNR-Salm, 1988-2007..... | 16 |
| III.1.3.2 Répartition des 15 principaux sérotypes de <i>Salmonella</i> , 2003-2007 | 17 |
| III.1.3.3 Proportion de souches par rapport aux compte-rendus de sérotypage | 18 |
| III.1.3.4 Proportion relative des sérotypes Enteritidis et Typhimurium en France, 1991-2007..... | 19 |
| III.1.3.5 Répartition par sites de prélèvement des souches de <i>Salmonella</i> , CNR-Salm 2003 -2007..... | 19 |
| III.1.3.6 Distribution par tranches d'âge des patients, CNR-Salm 2003 -2007 | 19 |
| III.1.3.7 Nombre de souches reçues au CNR-Salm par régions, 2002-2007..... | 19 |
| III.1.3.8 Délais moyens de rendu des résultats de sérotypage en 2007 | 21 |
| III.1.3.9 Le sérotype Typhi en 2007 | 22 |
| III.1.3.10 Le sérotype Paratyphi A en 2007 | 23 |
| III.1.4 <i>Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS</i> | 24 |
| III.1.4.1 Relevés périodiques envoyés à l'InVS :..... | 24 |
| III.1.4.2 Notifications de foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs entre 2002 et 2007..... | 24 |
| III.1.4.3 Les différents foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs en 2007 | 24 |
| III.1.4.4 Détection des seuils d'alerte | 29 |
| III.1.5 <i>Collaboration avec les réseaux nationaux de surveillance des salmonelles chez l'animal</i> | 30 |
| III. 2 SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES..... | 30 |
| III.2.1 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhimurium, 1993-2006</i> | 31 |
| III.2.2 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis, 1993-2006</i> | 32 |
| III.2.3 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Hadar, 1997-2006</i> | 33 |
| III.2.4 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow, 1997-2006</i> | 34 |
| III.2.5 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Newport, 1997-2007</i> | 35 |
| III.2.6 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Infantis, 1997-2006</i> | 36 |
| III.2.7 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Derby, 2000-2006</i> | 37 |
| III.2.8 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi, 1997-2006</i> | 38 |
| III.2.9 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A, 2005-2007</i> | 39 |
| III.2.10 <i>Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B, 2000-2007</i> | 39 |
| III.2.11 <i>Souches présentant une résistance particulière aux antibiotiques, CNR-Salm 2005-2007</i> | 40 |
| III.2.11.1 Souches résistantes aux céphalosporines de 3 ^{ème} génération | 40 |
| III.2.11.2 Souches résistantes à la ciprofloxacine | 42 |
| III. 3 DETECTION ET INVESTIGATION DES CAS GROUPES ET DES PHENOMENES ANORMAUX | 48 |
| III. 4 CONTRIBUTION AUX RESEAUX DE SURVEILLANCE INTERNATIONAUX..... | 48 |
| III.4.1 <i>Contribution aux réseaux européens</i> | 48 |
| III.4.2 <i>Contribution aux réseaux internationaux</i> | 49 |
| III. 5 ENQUETES OU ETUDES PONCTUELLES CONCOURANT A LA SURVEILLANCE..... | 50 |

| | |
|--|-----------|
| IV. ALERTE..... | 51 |
| V. ACTIVITES D'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL..... | 52 |
| V.1 REUNIONS ET MISSIONS..... | 52 |
| V.2 ENSEIGNEMENT | 52 |
| V.3 ACCUEIL DE STAGIAIRES | 53 |
| V.4 CONGRES | 53 |
| V.5 MODALITES DE DIFFUSION DES DONNEES DE SURVEILLANCE ET PRODUCTION DU CNR..... | 53 |
| V.6 CONSEILS AUX PROFESSIONNELS DE SANTE | 53 |
| VI. TRAVAUX DE RECHERCHE EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR | 54 |
| VI.1 CONTRIBUTION AU DEVELOPPEMENT DE NOUVELLES METHODES DE TYPAGE ET SOUS-TYPAGE DES <i>SALMONELLA</i> | 54 |
| VI.2 ETUDE DES MECANISMES DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ <i>SALMONELLA</i> | 56 |
| VII. LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS..... | 57 |
| VII.1 PUBLICATIONS NATIONALES | 57 |
| VII.2 PUBLICATIONS INTERNATIONALES | 57 |
| VIII. LE PROGRAMME DE TRAVAIL POUR LES ANNEES 2008-2009..... | 59 |

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

I. 2 Résumé des activités de l'année 2007

- **8124** isollements de *Salmonella* d'origine humaine (**5628** souches et **2496** fiches d'information), en provenance de France métropolitaine et des DOM-TOM, ont été répertoriés par le CNR-Salm.
- Le sérotype **Typhimurium** est depuis 2005 le premier sérotype de *Salmonella* isolé chez l'homme (3019 isollements contre 2187 pour le sérotype Enteritidis en 2007).
- 120 souches de **sérotype Typhi** isolées chez 112 patients ont été répertoriées au CNR-Salm (6^{ème} sérotype le plus fréquemment isolé). Soixante-douze souches ont été isolées de laboratoires métropolitains, une d'un laboratoire guadeloupéen, 10 de laboratoires guyanais et 37 du centre hospitalier de Mamoudzou (Mayotte).
- Le sérotype **Napoli**, en nette progression depuis ces dernières années, a diminué de 50,7% entre 2006 (144 isollements, 5^{ème} sérotype le plus fréquemment isolé) et 2007 (71 isollements, 12^{ème} sérotype le plus fréquemment isolé).
- Le sérotype **Kentucky** est en nette augmentation, il devient le 8^{ème} sérotype le plus fréquemment isolé (112 isollements). Les souches majoritairement résistantes à la ciprofloxacine (68/112, 60,7%) seraient contractées en Afrique du Nord et de l'Est.
- **257 foyers de cas groupés** impliquant 47 sérotypes ont été signalés à l'InVS
- Entre 2006 et 2007, **le nombre d'isollements de *Salmonella* répertoriés au CNR-Salm a diminué de 20% (-2030 isollements)**. Cette baisse est surtout due à la diminution des fiches d'information (-1384 fiches, -35,7%) alors que le nombre de souches reçues au CNR n'a diminué que de 10,3% (-646 souches).
- Trois signalements d'excès de cas (sérotype Bredeney, Rissen, Kentucky) ont été communiqués à l'InVS, mais **aucune épidémie n'a été détectée ou investiguée par le CNR-Salm**. Le CNR-Salm a apporté son soutien microbiologique à une enquête cas-témoin de l'InVS sur les facteurs de risque liés au sérotype Napoli
- **Le sérotype Enteritidis** reste globalement sensible aux antibiotiques. Cependant la résistance à l'acide nalidixique est en nette augmentation depuis 1993 (prévalence oscillant entre 14% et 28 %). 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 est en diminution. Environ 60 % de souches appartenaient au lysotype DT104 entre 1997 et 2002, pour atteindre 37% en 2006.
- En 2007, le pourcentage de résistance à l'acide nalidixique (CMI de la ciprofloxacine < à 1 mg/L) des souches **de sérotype Typhi et Paratyphi A** reste élevé (environ 30%). Ces souches ont été contractées suite à des séjours en Inde, Pakistan ou en Asie du sud-Est.

- **Les souches résistantes aux C3G** sont très rarement observées dans le genre *Salmonella*. Au cours de l'étude de prévalence de la résistance aux antibiotiques des souches non-typhiques isolées en 2006 (534 souches analysées), elles n'étaient observées que dans le sérotype Virchow (prévalence de 1%) et dans le sérotype Newport (prévalence de 8%). Il s'agissait d'une souche de sérotype Virchow productrice d'une beta-lactamase à spectre étendu (BLSE) en cours de typage et de 8 souches de sérotype Newport produisant la céphalosporinase CMY-2.
En dehors de cette étude de prévalence, une trentaine de souches productrices de BLSE ou de céphalosporinases ont été identifiées et caractérisées au CNR-Salm. Il s'agissait de souches épidémiques (en relation avec des enfants adoptés du Mali ou d'Ethiopie) ou sporadiques.
- **Les souches résistantes à la ciprofloxacine** restent également exceptionnelles dans le genre *Salmonella* en dehors de celles du sérotype Kentucky.
- **Deux nouvelles méthodes de typage ont été validées par le CNR-Salm.** La méthode de sous-typage MLVA pour le sérotype Enteritidis et la nouvelle méthode de typage et sous-typage en une seule étape basée sur le polymorphisme des régions CRISPR.

I. 3 Personnels du CNR

I. 3. 1 Les responsables scientifiques

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 : 8 ans au CNR et 27 ans en LABM.
- **Laëtitia Fabre**, technicienne supérieure de laboratoire, Bachelor in Science (Kingston, RU), Master 2 de Microbiologie. Expérience : 6 ans au CNR.
- **Marie Demartin**, technicienne supérieure de laboratoire, Licence en Qualité (IP de Lille). Expérience : 6 ans au CNR.
- **Véronique Guibert**, technicienne de laboratoire qualifié. Expérience : 12 ans au CNR.
- **Adeline Josse**, technicienne de laboratoire qualifié. Expérience : 2 ans au CNR.

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

- **Sylvie Issenhuth-Jeanjean**, technicienne supérieure de laboratoire, niveau 2^{ème} année DEUG Sciences de la Nature. Expérience : 21 ans en Bactériologie et 10 ans au CNR.

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

- **Chrystelle Roux**, technicienne de laboratoire. Expérience : 24 ans.

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

- **Brigitte Chavinier**, technicienne supérieure de laboratoire. Expérience : 4 ans

*** Secrétariat:**

- **Valérie Abihssira**, employée administrative. Expérience à ce poste: 8 ans.

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

- **Annie Prétesac**, responsable de préparation.
- **Cartini Mardi**, aide de laboratoire et **Patrice Tomasino**, agent de laboratoire.

I. 4 Les locaux et équipements

Le CNR est situé dans l'Unité Biodiversité des Bactéries Pathogènes Emergentes (BBPE) à l'Institut Pasteur. Ce Centre comprend :

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

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

Matériel, équipement de la structure actuelle :

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

*Partagé avec les autres CNR de l'Unité

Moyens extérieurs à la structure :

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

I. 5 La démarche qualité

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. Un laboratoire de métrologie a également été créé à l'Institut Pasteur pour répondre aux besoins des laboratoires en contrôle de température et de volume.

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

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

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 *fliB***, ou l'analyse par **MLST** (Multi Locus Sequence Typing) permet de typer moléculairement une souche non sérotypable.

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

- **électrophorèse en champ pulsé** à l'aide de différentes endonucléases (méthode standardisée PulseNet),
- **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 les sérotypes Typhimurium et Enteritidis,
- **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 prévue en avril 2008), maintenu par le CC-OMS (qui a rejoint l' Unité BBPE en 2003). La demande d'un schéma KWL 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 2007

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

En 2007, le CNR-Salm a enregistré **8124** isollements humains de *Salmonella* en France métropolitaine, dans les départements et territoires d'outre-mer et à Monaco. Parmi ces **8124** isollements, **5628** ont été des souches sérotypées par le CNR-Salm et **2496** provenaient de fiches d'information adressées au CNR-Salm par les laboratoires collaborateurs.

Le CNR-Salm a également réalisé le sérotypage de **311** souches de *Salmonella* isolées chez l'animal, dans des aliments ou dans l'environnement et **9** souches de *Salmonella* isolées chez l'homme dans des pays étrangers (Belgique, Sénégal, et République centrafricaine).

II. 2.1. 1 Activité de sérotypage, CNR-Salm, 2003 à 2007

| | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 |
|--|-------|-------|-------|-------|------|
| Souches d'origine humaine reçues au CNR-Salm | 6256 | 6355 | 6629 | 6274 | 5628 |
| Informations sur les souches d'origine humaine sérotypées par les laboratoires | 4228 | 4234 | 4810 | 3880 | 2496 |
| Total souches d'origine humaine | 10472 | 10589 | 11439 | 10154 | 8124 |

II. 2.1. 2 Activité de typage par électrophorèse en champ pulsé, CNR-Salm, 2002 à 2007

| Année | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 |
|--------------------------|------|------|------|------|------|------|
| Nombre de typage par ECP | 77 | 176 | 421 | 448 | 326 | 287 |

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

II. 2.1. 3 Activité de typage par la méthode MLVA, CNR-Salm, 2005 à 2007

| Année | 2005 | 2006 | 2007 |
|--------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Nombre de typage par ECP | 127 | 135 | 266 |

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

III. ACTIVITES DE SURVEILLANCE

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

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

L'Unité des Entérobactéries à l'Institut Pasteur (Paris), qui a été renommée en 2001 « Unité de Biodiversité des Bactéries Pathogènes Emergentes » (BBPE) 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. Le nombre de laboratoires du réseau correspondait à environ 30 % (25 % des LABM et 75 % des laboratoires de centre hospitalier) des laboratoires d'analyses médicales recensés en France métropolitaine et dans les D.O.M en 2005

En 2007, une analyse partielle sur 18 départements n'a révélé la «perte» que de 7 laboratoires par rapport à 2006. Pour ces 18 départements, la diminution du nombre d'isolements entre 2006 et 2007 était de 162.

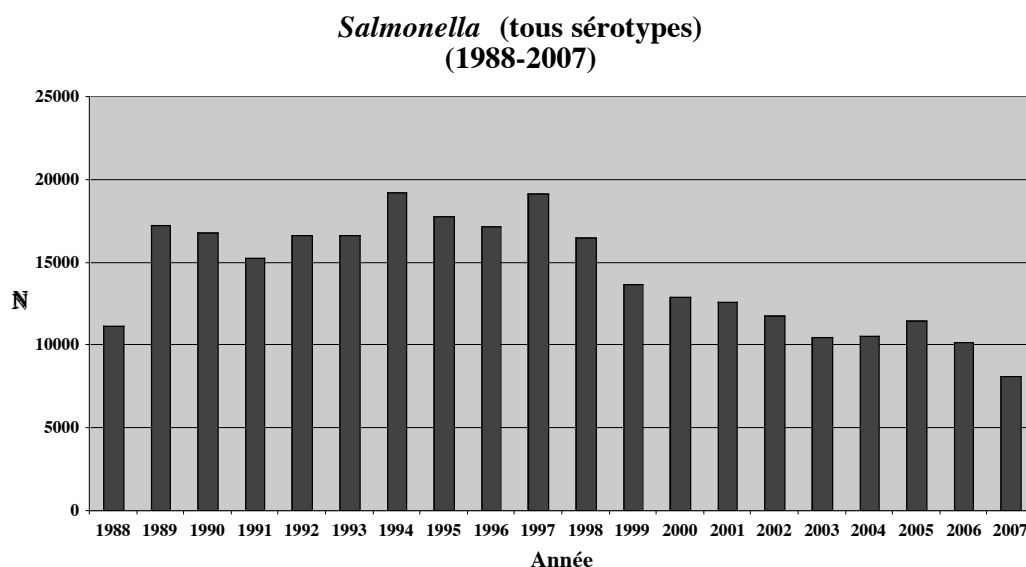
III.1.2 Définition de l'échantillon de souches isolées

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 **2007**, le CNR-Salm a enregistré **8124** isollements humains de *Salmonella* en France métropolitaine, dans les départements et territoires d'outre-mer et à Monaco. Parmi ces **8124** isollements, **5628** ont été des souches sérotypées par le CNR-Salm et **2496** provenaient de fiches d'information adressées au CNR-Salm par les laboratoires collaborateurs.

III.1.3.1 Nombre annuel de souches de *Salmonella* d'origine humaine repertoriées au CNR-Salm, 1988-2007



Entre 2006 et 2007, le nombre d'isollements de *Salmonella* enregistrés au CNR-Salm a diminué de 20% (-2030 isollements). Cette baisse est surtout due à la diminution des fiches d'information (-1384 fiches, -35,7%) alors que le nombre de souches reçues au CNR n'a diminué que de 10,3% (-646 souches). Cette forte diminution des fiches d'information par rapport au nombre d'isollements de *Salmonella* peut être expliquée par le fait que les fiches d'information concernent principalement les deux sérotypes majoritaires Typhimurium et Enteritidis (92,5% des fiches d'information), alors que ces deux sérotypes ne représentent que 51,5% des souches reçues au CNR-Salm. Toute diminution globale de ces 2 sérotypes se traduira donc relativement plus par une diminution du nombre des fiches d'information que par celui des souches reçues au CNR-Salm.

III.1.3.2 Répartition des 15 principaux sérotypes de *Salmonella*, 2003-2007

| Rang | Distribution des sérotypes (n) par année* | | | |
|------|---|----------------------|--|-----------------------|
| | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 |
| 1 | Enteritidis (3897) | Typhimurium (3992) | Typhimurium (4013) | Typhimurium (3019) |
| 2 | Typhimurium (3635) | Enteritidis (3638) | Enteritidis (2878) | Enteritidis (2187) |
| 3 | Typhi (151) | Agona (274) | Derby (150) | Derby (127) |
| 4 | Hadar (131) | Infantis (210) | Typhi (148) | Hadar (123) |
| 5 | Derby (128) | Typhi (187) | Napoli (144) | 4, [5],12 :i :- (121) |
| 6 | Newport, Virchow, Infantis (122) | Derby (158) | Hadar (140) | Typhi (120) |
| 7 | - | Hadar (147) | Infantis (135) | Newport (118) |
| 8 | - | Virchow (142) | Virchow (118) | Kentucky (113) |
| 9 | Agona (102) | Newport (133) | 4, [5],12 :i :- (113) | Infantis (108) |
| 10 | Brandenburg (87) | Panama (124) | Newport (105) | Panama (89) |
| 11 | 4, [5],12 :i :- (86) | 4, [5],12 :i :- (99) | Panama (95) | Virchow (87) |
| 12 | Napoli, Panama (80) | Manhattan (95) | Agona (73) | Napoli (71) |
| 13 | - | Napoli (93) | Brandenburg, Paratyphi B, Manhattan (64) | Bredeney (59) |
| 14 | Paratyphi A, Indiana (77) | Indiana (86) | - | Agona (55) |
| 15 | - | Brandenburg (82) | - | Montevideo (54) |

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

Depuis 2005, le sérotype prédominant est Typhimurium. Il a faiblement progressé entre 2005 et 2006 (+21 souches, + 0,5%) mais a diminué de 24,8% entre 2006 et 2007 (-994 isollements). Le sérotype Enteritidis est en baisse constante depuis 2005. Il a diminué de 21,9% entre 2006 et 2007 (-631 isollements) et de 39,9% entre 2005 et 2007 (-1451 isollements). Le sérotype Kentucky est en nette augmentation, il apparaît pour la première fois à la 8^{ème} place dans ce tableau regroupant les 15 sérotypes les plus fréquemment isolés. Le sérotype Napoli est en nette diminution depuis 2006 (-73 souches, - 50,7%).

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 2007 était d'environ 31% (tous sérotypes confondus). Cette proportion, voisine de 45% pour les sérotypes Typhimurium et Enteritidis est beaucoup plus faible (moins de 10%) pour d'autres sérotypes du fait de la non disponibilité dans le laboratoire correspondant et/ou dans le commerce de certains sérums agglutinants (tableau ci-dessous).

| | 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 |
| 2007 | 5628 | 1264 | 114 | 120 | 1632 | 81 |
| 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 |
| 2007 | 2496 | 923 | 9 | 0 | 1387 | 6 |
| 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 |
| 2007 | 8124 | 2187 | 123 | 120 | 3019 | 87 |
| Proportion compte-rendus de sérotypage/souches (%) 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 |
| 2007 | 30,7 | 42,2 | 7,3 | 0 | 45,9 | 6,9 |

III.1.3.4 Proportion relative des sérotypes Enteritidis et Typhimurium en France, 1991-2007

| Sérotype | 1991 | 1992 | 1993 | 1994 | 1995 | 1996 | 1997 | 1998 | 1999 | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 |
|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|
| Enteritidis | 5063 | 5944 | 6006 | 6559 | 5775 | 4982 | 6514 | 6183 | 4579 | 4656 | 4899 | 4469 | 4144 | 3897 | 3638 | 2878 | 2187 |
| Typhimurium | 4086 | 4496 | 4389 | 6253 | 6389 | 6409 | 6755 | 5177 | 4386 | 3800 | 3773 | 3998 | 3222 | 3635 | 3992 | 4013 | 3019 |
| Autres sérotypes | 6156 | 6226 | 6375 | 6439 | 5601 | 5761 | 5905 | 5163 | 4703 | 4427 | 3929 | 3308 | 3106 | 3057 | 3809 | 3263 | 2918 |
| TOTAL | 15305 | 16666 | 16770 | 19251 | 17765 | 17152 | 19174 | 16523 | 13668 | 12883 | 12601 | 11775 | 10472 | 10589 | 11439 | 10154 | 8124 |

III.1.3.5 Répartition par sites de prélèvement des souches de *Salmonella* reçues au CNR-Salm entre 2003 et 2007

| Sites de prélèvement | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 |
|----------------------|-------------|-------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | N (%) | N (%) | N (%) | N (%) | N (%) |
| Selles | 5370 (86,1) | 5520 (87,3) | 5659 (86,4) | 5362 (85,5) | 4699 (83,7) |
| Sang | 399 (6,4) | 421 (6,6) | 435 (6,5) ¹ | 430 (6,9) ² | 397 (7,1) ³ |
| Urines | 176 (2,8) | 170 (2,6) | 204 (3,1) | 190 (3) | 202 (3,6) |
| Pus | 14 (0,2) | 14 (0,2) | 16 (0,2) | 5 (<0,1) | 10 (0,2) |
| Bile | 7 (0,1) | 13 (0,2) | 5 (0,1) | 6 (0,1) | 4 (<0,1) |
| LCR | 2 (<0,1) | 2 (<0,1) | 1 (<0,1) | 2 (<0,1) | 2 (<0,1) |
| Autres | 29 (0,4) | 25 (0,3) | 83 (1,2) | 26 (0,4) | 15 (0,3) |
| Inconnu | 236 (3,7) | 154 (2,4) | 151 (2,3) | 253 (4) | 285 (5,1) |

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

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

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

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

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 2007

| Classes d'âge | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 |
|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | N (%) | N (%) | N (%) | N (%) | N (%) |
| <1 an | 324 (5,1) | 296 (4,6) | 295 (4,5) | 239 (3,8) | 193 (3,4) |
| 1-5 ans | 1528 (24,4) | 1726 (27,1) | 1907 (29,1) | 1812 (28,9) | 1568 (27,9) |
| 6-14 ans | 872 (13,9) | 640 (14,7) | 913 (13,9) | 910 (14,5) | 791 (14,1) |
| 15-64 ans | 2466 (39,4) | 2335 (36,7) | 2306 (34,7) | 2307 (36,8) | 2158 (38,3) |
| >65 ans | 819 (3,9) | 864 (13,6) | 937 (14,3) | 870 (13,9) | 809 (14,4) |
| Inconnu | 247 (3,9) | 191 (3) | 188 (2,9) | 136 (2,1) | 109 (1,9) |

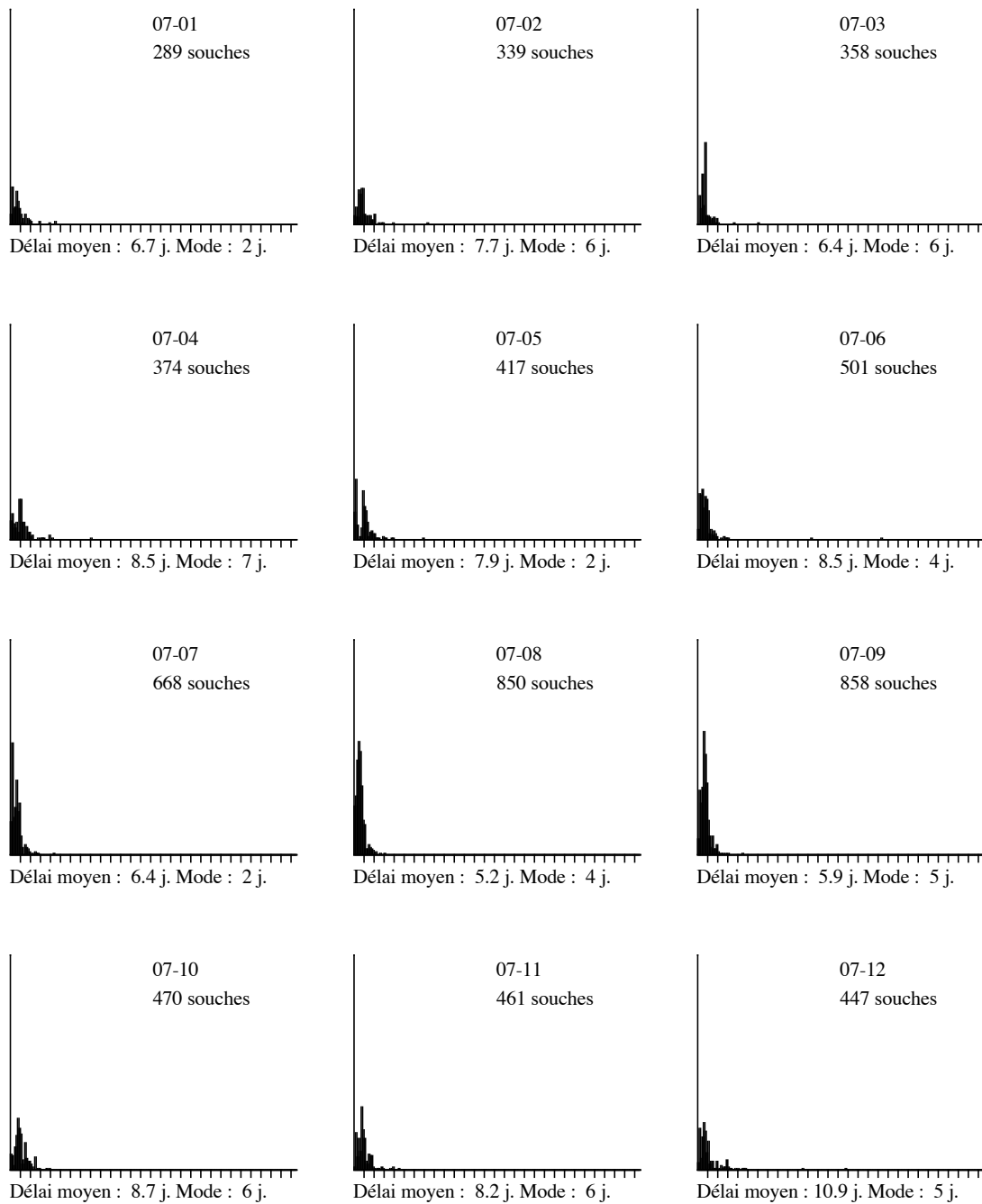
III.1.3.7 Nombre de souches reçues au CNR-Salm par régions, 2002-2007

| | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 |
|----------------|------|------|------|------|------|------|
| Alsace | 242 | 157 | 248 | 135 | 155 | 116 |
| 67-68 | | | | | | |
| Aquitaine | 352 | 317 | 297 | 387 | 328 | 295 |
| 24-33-40-47-64 | | | | | | |

| | | | | | | |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Auvergne 03-15-43-63 | 193 | 122 | 90 | 135 | 123 | 125 |
| Bourgogne 21-58-71-89 | 193 | 135 | 157 | 148 | 126 | 158 |
| Bretagne 22-29-35-56 | 194 | 200 | 188 | 200 | 185 | 149 |
| Centre 18-28-36-37-41-45 | 213 | 198 | 192 | 230 | 207 | 145 |
| Champagne-Ardenne 08-10-51-52 | 155 | 120 | 162 | 83 | 97 | 89 |
| Corse 2A-2B | 26 | 57 | 22 | 26 | 26 | 40 |
| Franche-Comté 25-39-70-90 | 151 | 121 | 128 | 121 | 104 | 87 |
| Ile-de-France 75-77-78-91-92-93-94-95 | 1619 | 1555 | 1659 | 1702 | 1500 | 1313 |
| Languedoc-Roussillon 11-30-34-48-66 | 299 | 285 | 316 | 248 | 249 | 252 |
| Limousin 19-23-87 | 87 | 81 | 74 | 71 | 100 | 52 |
| Lorraine 54-55-57-88 | 193 | 177 | 158 | 146 | 168 | 129 |
| Midi-Pyrénées 09-12-31-32-46-65-81-82 | 440 | 432 | 430 | 428 | 323 | 257 |
| Nord-Pas-de-Calais 59-62 | 249 | 257 | 235 | 238 | 325 | 209 |
| Basse-Normandie 14-50-61 | 150 | 115 | 141 | 123 | 144 | 77 |
| Haute-Normandie 27-76 | 155 | 128 | 139 | 184 | 133 | 130 |
| Pays de la Loire 44-49-53-72-85 | 251 | 244 | 275 | 270 | 325 | 252 |
| Picardie 02-60-80 | 173 | 157 | 141 | 130 | 136 | 127 |
| Poitou-Charentes 16-17-79-86 | 200 | 193 | 181 | 209 | 218 | 156 |
| Provence-Alpes-Côte d'Azur 04-05-06-13-83-84 | 323 | 373 | 349 | 360 | 423 | 329 |
| Rhône-Alpes 01-07-26-38-42-69-73-74 | 464 | 534 | 410 | 562 | 514 | 693 |
| TOTAL Métropole | 6327 | 5968 | 5997 | 6136 | 5909 | 5233 |
| Monaco | 19 | 11 | 3 | 7 | 13 | 12 |
| Guadeloupe | 22 | 29 | 55 | 75 | 51 | 59 |
| Martinique | 7 | 13 | 80 | 91 | 113 | 53 |
| Guyane | 91 | 121 | 118 | 116 | 68 | 128 |
| La Réunion | 109 | 80 | 70 | 65 | 76 | 71 |
| Mayotte | 16 | 41 | 29 | 62 | 30 | 53 |
| Polynésie Française | 1 | 1 | 3 | 0 | 3 | 16 |
| St Pierre et Miquelon | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Nouvelle Calédonie | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |

III.1.3.8 Délais moyens de rendu des résultats de sérotypage en 2007

Distribution mensuelle des délais de réponse



III.1.3.9 Le sérotype Typhi en 2007

En 2007, 120 souches de *S. enterica* sérotype Typhi isolées chez 112 patients ont été répertoriées au CNR-Salm. Soixante-douze souches ont été isolées de laboratoires métropolitains, une d'un laboratoire guadeloupéen, 10 de laboratoires guyanais et 37 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 (25 souches) | |
| Maroc | 6 |
| Tunisie | 2 |
| Algérie | 1 |
| Sénégal | 4 |
| Guinée | 2 |
| Tchad | 1 |
| Mali | 1 |
| Côte d'Ivoire | 3 |
| Cameroun | 3 |
| Burkina Faso | 1 |
| Madagascar | 1 |
| Asie (15 souches) | |
| Inde | 6 |
| Pakistan | 6 |
| Bengladesh | 1 |
| Indonésie | 1 |
| Irak | 1 |
| Amérique (1 souche) | |
| Mexique | 1 |
| Europe (1 souche) | |
| Espagne | 1 |
| TOTAL | 42 |

III.1.3.10 Le sérotype Paratyphi A en 2007

En 2006, 53 souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi A ont été répertoriées au CNR-Salm. Sur les 53 souches, 47 ont été reçues au CNR-Salm. Elles provenaient de 43 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 (12 souches) | |
| Sénégal | 10 |
| Maroc | 1 |
| Burkina Faso | 1 |
| Asie (14 souches) | |
| Inde | 8 |
| Pakistan | 3 |
| Népal | 1 |
| Bengladesh | 1 |
| Birmanie | 1 |
| TOTAL | 26 |

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 (257 messages en 2007),
- 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 2007

De 2002 à 2007, le CNR a retransmis à l’InVS par télécopie ou par courrier électronique **1885** notifications de foyers de cas groupés.

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

III.1.4.3 Les différents foyers de cas groupés signalés par les laboratoires collaborateurs du CNR-Salm en 2007

257 épisodes épidémiques

Nombre de sérotypes de *Salmonella* : 47
Foyers hospitaliers : 10
Foyers familiaux : 187
Infections collectives : 45
TIAC : 0
Colonies de vacances : 0
Crèches : 7
Ecoles : 8

***Salmonella* sérotype 4,12:-:1,2**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Thouars.
- Infection(s) collectives(s) (1) à :
Bressuire.

nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 2

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

- Epidémie(s) familiale(s) (8) à :
La Ferte-Mace, Arcachon, Tourcoing, Nantes, Grenade-Sur-Garonne, Suresnes, Casteljaloux, Perpignan.
- Infection(s) collectives(s) (1) à :
L'isle-Adam.

NOMBRE TOTAL DE FOYERS DE CAS GROUPES SIGNALES POUR LE SEROTYPE : 9

***Salmonella* sérotype 48:z4,z23:-**

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

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype 9,12:l,v:-**

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

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Adelaide**

- Infection(s) collectives(s) (1) à :
Paris.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Bareilly**

- Infection(s) collectives(s) (1) à :
Epernon.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Blockley**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
La Celle-Saint-Cloud.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Brandenburg**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :
Boulogne-Billancourt.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Bredeney**

- Infection(s) collectives(s) (1) à :
Palaiseau.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Cerro**

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

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Coeln**

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :

Montelimar, Villecresnes.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 2

***Salmonella* sérotype Corvallis**

- Epidémie(s) dans une crèche (1) à :

Lyon.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Derby**

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :

Moulins, Nantes.

- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :

Saint-Omer.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 3

***Salmonella* sérotype Eboko**

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :

Amiens, Gisors.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 2

***Salmonella* sérotype Enteritidis**

- Epidémie(s) familiale(s) (64) à :

Aix-En-Provence, Alençon, Anglet, Aurillac, Avignon, Beaumont-Sur-Oise, Beaune, Blanquefort, Bordeaux, Boulogne, Bourg En Bresse, Bourgoin-Jallieu, Brie Comte Robert, Cambrai, Capbreton, Carcassonne, Cavignac, Creteil, Dax, Deauville, Dourdan, Draguignan, Fontenay-Le-Comte (2 foyers), Forbach, Grenade-Sur-Garonne, Gueret, Guilherand-Granges, Hagueneau, Houilles, La Rochelle, Le Chesnay, Le Mans, Limoges, Lons-Le-Saunier, Luçon, Lyon, Monaco, Mont-De-Marsan, Montbeliard, Montluçon, Neuilly-Sur-Seine, Pace, Paimpol, Paris, Pezenas, Pontault-Combault, Rochefort, Saint-Brice-Sous-Forêt, Saint-Cloud, Saujon, Schiltigheim, Sezanne, Strasbourg, Taverny, Toulouse, Valence, Velaux, Vienne, Villefranche De Lauragai, Villeneuve Loubet, Villeparisis, Voiron (2 foyers),

- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :

Pau.

- Infection(s) collectives(s) (10) à :

Auterive, Cenon, Dunkerque, Le Port, Nimes, Reims, Selestat, Toulouse (2 foyers), sans adresse

- Epidémie(s) dans une crèche (1) à :

Le Plessis-Robinson.

- Epidémie(s) dans une école (5) à :

Gonesse (2 foyers), Grenade-Sur-Garonne, Lagnieu, Levallois-Perret.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 81

***Salmonella* sérotype Goldcoast**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Calais.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Grumpensis**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Villeneuve Loubet.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Hadar**

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :

Aurillac, Wormhout.

- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :

Ancenis.

- Infection(s) collectives(s) (3) à :

Auch, Carpentras, Saint-Pol-Sur-Mer.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 6

***Salmonella* sérotype Heidelberg**

- Epidémie(s) familiale(s) (3) à :

Marignane (2 foyers), Nice.

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

Trebes.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 4

***Salmonella* sérotype Indiana**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Saint-Gervais-La-Forêt.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Infantis**

- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :

Mulhouse.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Javiana**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Marmande.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Kentucky**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Rochefort.

- Epidémie(s) hospitalière(s) (1) à :

Lomme.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 2

***Salmonella* sérotype Larochelle**

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

Beauvais.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype London**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Nice.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Miami**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Montville.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Montevideo**

- Epidémie(s) familiale(s) (3) à :

Fort De France, Pau, Vandoeuvre-Les-Nancy.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 3

***Salmonella* sérotype Muenchen**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Brive.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Newport**

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :

Fontenay-Aux-Roses, Langeais.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 2

***Salmonella* sérotype Panama**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Saint-Francois.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Paratyphi B**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Dax.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Pomona**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Saint-Dizier.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Poona**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Mouans-Sartoux.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Rosenberg**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Lyon.

- Infection(s) collectives(s) (1) à :

Saint-Jean-De-Verges.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 2

***Salmonella* sérotype Saintpaul**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Paris.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Stanley**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Paris.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Thompson**

- Epidémie(s) familiale(s) (1) à :

Nice.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Typhi**

- Epidémie(s) familiale(s) (5) à :

Eaubonne, Melun, Montelimar, Poissy, Privas.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 5

***Salmonella* sérotype Typhimurium**

- Epidémie(s) familiale(s) (68) à :

La Celle-Saint-Cloud, Aix-Les-Bains, Ales, Ancenis, Andernos Les Bains, Anduze (2 foyers), Antony, Aulnay-Sous-Bois (2 foyers), Auxonne, Bayeux, Besancon, Bethune, Bolbec, Brie Comte Robert, Caen, Chagny, Chateau-Gontier, Chatellerault, Clermont-Ferrand, Douvres La Delivrande, Epernon, Fontenay-Tresigny, Gien, Gournay En Bray (2 foyers), La Guerche-De-Bretagne, Langon, Lannion (2 foyers), Le Rheu, Les Angles, Lomme, Longjumeau, Maisons-Alfort, Mallemort, Montguyon, Montreuil Sur Mer, Morteau, Moulins, Nimes, Nogent Sur Marne, Paris (2 foyers), Pontault-Combault, Porto-Vecchio, Rochefort, Rodez, Saint-Affrique, Saint-Alban, Saint-Cloud, Saint-Just-En-Chaussee, Sainte-Hermine, Savenay, Segre, Sens, Tourcoing (2 foyers), Troyes, Uzerche, Verneuil-Sur-Avre, Villecresnes, Villejuif, Vire, Vitrolles, Vitry-Le-Francois, Voiron.

- Epidémie(s) hospitalière(s) (5) à :

La Madeleine, Le Puy-En-Velay, Moirans, Paris (2 foyers),

- Infection(s) collectives(s) (22) à :

Bagnols-Sur-Ceze, Beaune, Bergerac, Beziers, Chamonix, Chateau-Gontier, Clichy, Hyeres, Lannemezan, Longvic, Massy, Nantes, Paris, Pointe-A-pitre, Poissy, Rang Du Fliers, Reims, Rouen (2 foyers), Saint-Geosmes, Trebes, Vierzon.

- Epidémie(s) dans une crèche (4) à :
Bourg En Bresse, Lyon (2 foyers), Sartrouville.

- Epidémie(s) dans une école (3) à :
Agen, Decize, Le Kremlin-Bicetre.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 102

***Salmonella* sérotype Uganda**

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

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 1

***Salmonella* sérotype Virchow**

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :
Lannion, Paris.

- Infection(s) collectives(s) (2) à :
Carrieres-Sur-Seine, Niort.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 4

***Salmonella* sérotype Weltevreden**

- Epidémie(s) familiale(s) (2) à :
Mamoudzou, Papeete.

Nombre total de foyers de cas groupes signales pour le serotype : 2

III.1.4.4 Détection des seuils d'alerte

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

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

Les collaborations entre le CNR-Salm et l'**AFSSA-LERQAP** (Agence française de Sécurité Sanitaire des Aliments - Laboratoire d'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, 1993-2006

| 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) | 2006 (n=100) (N=1632) |
| Amoxicilline | 55,2 | 68,4 | 64,3 | 64,5 | 62 | 60 | 48 |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0 | 0 | 0 | 0,3 | 0 | 1 | 0 |
| Gentamicine | 0,3 | 0,7 | 0,9 | 0,3 | 0 | 0 | 1 |
| Acide nalidixique | 3 | 3,6 | 10,3 | 4 | 1 | 8 | 3 |
| Ciprofloxacine | 0 | 0 | 0 | 0,3 | 0 | 0 | 0 |
| Sulfamides | 58,9 | 70 | 69,6 | 68 | 64 | 61 | 48 |
| Triméthoprim | 0 | 6 | 8,7 | 5,3 | 8 | 10 | 5 |
| Chloramphénicol | 44,1 | 61,2 | 59 | 57 | 46 | 42 | 38 |
| Tétracycline | 69,6 | 83,2 | 81,2 | 71 | 67 | 65 | 52 |

n : nombre de souches étudiées

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

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

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

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

III.2.2 Résistance aux antibiotiques du sérotype Enteritidis, 1993-2006

| 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) | 2006 (n=100) (N=1264) |
| Amoxicilline | 0 | 6,8 | 7,3 | 6,1 | 10 | 3 | 12 | 4 |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Gentamicine | 0 | 0,5 | 1,2 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| Acide nalidixique | 0 | 2 | 9,7 | 11,1 | 28 | 14 | 21 | 22 |
| Ciprofloxacine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Sulfamides | 0 | 3,9 | 1,2 | 0 | 2 | 1 | 2 | 2 |
| Triméthoprim | 0 | 2,3 | 2,4 | 0 | 3 | 0 | 2 | 1 |
| Chloramphénicol | 0 | 0,7 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Tétracycline | 2,8 | 3,4 | 12,1 | 3 | 4 | 1 | 1 | 3 |

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, 1997-2006

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

n : nombre de souches étudiées

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

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

Profils de résistance observés en 2006

| Profils de résistance | N | % |
|-----------------------|----|----|
| Am S Te Nal | 21 | 42 |
| S Te Nal | 14 | 28 |
| S Te | 5 | 10 |
| Am S K Te Nal | 2 | 4 |
| Nal | 2 | 4 |
| S Sul Tmp Te | 2 | 4 |
| Am S K Tmp Te Nal | 1 | 2 |
| Multi-sensibles | 1 | 2 |
| S K Te | 1 | 2 |
| Am S Sul Te | 1 | 2 |

III.2.4 Résistance aux antibiotiques du sérotype Virchow, 1997-2006

| 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=88) | 2005 (n=100) (N=114) | 2006 (n=98) (N=101) |
| Amoxicilline | 26 | 6 | 10 | 5 | 14 | 20,8 | 11 | 6,1 |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 6,5 | 3 | 1 |
| Gentamicine | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 2,6 | 1 | 3 |
| Acide nalidixique | 24 | 48 | 54 | 45 | 35 | 41,6 | 51 | 32,7 |
| Ciprofloxacine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Sulfamides | 12 | 4 | 10 | 10 | 17 | 31,2 | 16 | 13,3 |
| Triméthoprim | 20 | 2,4 | 7 | 5 | 18 | 29,9 | 15 | 13,3 |
| Chloramphénicol | 6 | 6 | 2 | 2,5 | 2 | 5,2 | 0 | 3 |
| Tétracycline | 24 | 10 | 4 | 5 | 16 | 23,4 | 16 | 9,2 |

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 le sérotype Virchow. L'analyse des mécanismes moléculaires de résistance des souches isolées entre 2003 et 2005 ont permis d'identifier les beta-lactamases à spectre étendu (BLSE) CTX-M-2 (phénotype ACroSuTmpTeNal, prévalence de 2 % en 2003, de 6,5 % en 2004 et de 1% en 2005), CTX-M-9 (phénotype ACroSSpKSuTmpTeNal, prévalence de 1 % en 2003), TEM-52 (phénotype ACazNal, prévalence de 1 % en 2005) et SHV-12 (phénotype ACazSSpKGSuTmpCTeNal, prévalence de 1 % en 2005). Quatre études en collaboration avec l'INRA, l'AFSSA, et le CNR belge ont permis d'identifier des souches productrices de CTX-M-9 (plasmide conjugatif de type HI2-R478) similaires aux souches humaines dans de la volaille dans le Sud-Ouest en 2003, des souches productrices de CTX-M-2 (plasmide conjugatif de type HI2-pAPEC-01-R) 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. Par ailleurs un plasmide conjugatif de type I1 codant pour TEM-52 était identifié chez plusieurs sérotypes dont Virchow, isolées chez l'homme et la volaille. Ce plasmide était apparu initialement chez *Salmonella sp* dans la volaille en Belgique à partir de 2001. 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, 1997-2007.

| 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) | 2006 (n=88) (N=91) | 2007 (n=105) (N=109) |
| Amoxicilline | 27,5 | 27 | 9,7 | 1,5 | 19,8 | 8,8 | 3,8 | 10,2 | 10,4 |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0 | 15 | 4 | 1,5 | 17,5 | 2,2 | 0 | 8 | 0,9 |
| Gentamicine | 2,5 | 4 | 1,6 | 0 | 1,6 | 2,2 | 0 | 0 | 0,9 |
| Acide nalidixique | 15 | 23 | 7,3 | 4,5 | 1,6 | 4,4 | 2,6 | 1,1 | 4,7 |
| Ciprofloxacine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Sulfamides | 27,5 | 29 | 10,5 | 4,5 | 19,8 | 8,8 | 0 | 11,4 | 12,3 |
| Triméthoprime | 27,5 | 10 | 4 | 3 | 1,6 | 4,4 | 0 | 3,4 | 8,5 |
| Chloramphénicol | 25 | 25 | 9,7 | 1,5 | 15,9 | 8,8 | 0 | 9,1 | 1,8 |
| Tétracycline | 45 | 27 | 11,3 | 3 | 19 | 9,9 | 3,8 | 12,5 | 11,3 |

n : nombre de souches étudiées

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

Depuis 2000, des souches résistantes aux C3G sont détectées dans ce sérotype avec des fréquences variables suivant les années. L'analyse des mécanismes moléculaires de résistance ont permis d'identifier pour toutes les souches à l'exception d'une (produisant la BLSE CTX-M-1), la production de la céphalosporinase plasmidique CMY-2. Ces souches de phénotype ACazSSuCTe (ou plus rarement ACazSSpKToGSuCTe et ACazSKSuCTe) sont apparues durant la dernière décennie chez les bovins aux Etats-Unis (après l'autorisation d'utilisation d'une C3G, le ceftiofur pour le traitement de la pneumonie des bovins). Une analyse rétrospective nous a permis d'individualiser en 2000, un foyer de cas groupés dans la région parisienne. En 2003, une petite épidémie suite à de la consommation de la viande de cheval insuffisamment cuite a été détectée dans le Nord de la France (Espié et al. *Epidemiology and Infection* 2005). En 2005, aucune souche de ce sérotype n'était résistante aux C3G, mais en 2006 et 2007, de nouvelles souches ont été isolées (2006, n=6 et 2007, n=1). Toutes les souches résistantes aux C3G isolées entre 2000 et 2005 ont été caractérisées au CNR-Salm et ce travail sera publié en juin 2008 dans le journal *Emerging Infectious Diseases* (Egorova et al. Ceftriaxone-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport in France).

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

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

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype reçues au CNR

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

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

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype reçues au CNR

Profils de résistance observés en 2006

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

III.2.8 Résistance aux antibiotiques du sérotype 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) | 2007* (n=65) (N=65) |
| Amoxicilline | 0 | 0 | 2,5 | 10 | 27 | 8,1 | 12,3 | 20 |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Acide nalidixique | 0 | 5 | 7,5 | 12,5 | 24,3 | 17,8 | 37,7 | 33,3 |
| Ciprofloxacine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Cotrimoxazole | 5 | 2,5 | 7,5 | 10 | 25 | 7,9 | 12,3 | 22,2 |
| Chloramphénicol | 7,5 | 0 | 7,5 | 7,5 | NT | 5,9 | 12,3 | 15,6 |
| Tétracycline | 5 | 0 | 7,5 | 10 | NT | 5,9 | 12,3 | 15,6 |

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

NT : non testé

En 2007, le pourcentage de souches résistantes aux quinolones (les CMI de la ciprofloxacine restant inférieures à 1 mg/L) reste élevé (plus de 30%). Ces souches contractées essentiellement dans le sous-continent indien sont souvent résistantes de façon isolée à l'acide nalidixique alors que précédemment elles étaient multirésistantes. Cela serait dû à la perte du plasmide *incHI1* porteur des gènes de résistance aux anciens antibiotiques (amoxicilline, chloramphénicol, cotrimoxazole et tétracycline).

La réaugmentation du pourcentage de souches résistantes à l'ampicilline, au chloramphénicol et au cotrimoxazole depuis 2004 est liée à l'apparition récente de souches multirésistantes contractées en Afrique (Cameroun, Côte d'Ivoire, Algérie).

Entre 2004 et 2007, 105 souches du sérotype Typhi reçues du centre hospitalier de Mamoudzou (Mayotte) ont été étudiées. Elles étaient toutes sensibles à l'amoxicilline, à l'acide nalidixique et au cotrimoxazole.

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.2.9 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi A, 2005-2007

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

Souches isolées en France métropolitaine (une seule par patient)

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

n : nombre de souches étudiées

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

III.2.10 Résistance aux antibiotiques du sérotype Paratyphi B, 2000-2007

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

n : nombre de souches étudiées

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

III.2.11 Souches présentant une résistance particulière aux antibiotiques, détectées au CNR-Salm entre 2005 et 2007

III.2.11.1 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.2.11.1.1 Souches productrices de β -lactamases à spectre étendu, CNR-Salm 2005-2007

| Sérotype | N | Date | Lieu de l'isolement | Type de la BLSE | Résistance associée ¹ | Renseignements épidémiologiques |
|-------------------------|----------------|------------------|---|---|---|--|
| Virchow | 3 ² | Janv à déc 05 | Romans (26) Colombe (92) Plaisance (31) | SHV-12 (1) CTX-M-2 (1) TEM-52 (1) | SSpKGSuTmpCTeNal SuTmpTeNal Nal | Contextes inconnus |
| Concord et 6,12 :l,v :- | 56 | 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 ⁴ | Infection nosocomiale (avec décès) d'un enfant au contact d'un enfant porteur sain originaire du Sénégal |
| Rough | 1 | Sept 05 | Paris | CTX-M-2 | 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 | Séjour en Turquie |
| Virchow | 1 | Nov 06 | Nimes (30) | En cours | BLSE isolée | Contexte inconnu |
| Teitelkebir | 9 | Jan à Déc 07 | France entière | CTX-M-15 | SSpKToGSuTmpNal ⁵ (8/9) SSpKToGSuTmp (1/9) | Enfants adoptés du Mali |
| Havana | 10 | Jan à Déc 07 | France entière | CTX-M-15 | SSpKToGSuTmpNal ⁵ | Enfants adoptés du Mali |
| London | 1 | Fev 07 | St-Affrique (12) | CTX-M-1 | SuTmp | Contexte inconnu |
| Stanley | 1 | Avr 07 | St-Brieuc (22) | CTX-M | SSpKSuTmpTeNal | Séjour au Pakistan |
| Typhimurium | 2 | Juin 07 | Cahors (47) | CTX-M | SKToGSuTmpCTeNal | Séjour en Afghanistan |
| Typhimurium | 1 | Juil 07 | Steenvoorde (59) | En cours | SSpSuCTe | Contexte inconnu |

| | | | | | | |
|---------|---|---------|------------|----------|-----|------------------|
| Virchow | 1 | Juil 07 | Meaux (77) | En cours | Nal | Contexte inconnu |
|---------|---|---------|------------|----------|-----|------------------|

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

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

³ présence du gène de résistance aux quinolones *qnrA1*

⁴ présence du gène de résistance aux aminosides *armA*

⁵ présence du gène de résistance aux quinolones *qnrB1*

III.2.11.1.2 Souches productrices de céphalosporinases plasmidiques, CNR-Salm 2005-2007

| Sérotype | N | Date | Lieu de l'isolement | Type de la céphalosporinase | Résistance associée* | Renseignements épidémiologiques |
|----------|----|------------------|---------------------------|-----------------------------|---|--|
| Newport | 52 | Janv 00 à déc 06 | France Entière | CMY-2 | SSuCTe (47/52) SSpKToGSuCTe (3/52) SKSuCTe (2/52) | Cas sporadiques et 2 petites épidémies en 2000 (non investiguée) et 2003 (liée à de la viande de cheval) |
| 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 | Aucune | Porteur asymptomatique |
| Agona | 2 | Sept à nov 06 | Paris Sannois (95) | CMY-2 | SKSuTmpCTe | Aucun |
| Stanley | 2 | Oct à déc 06 | Amiens (80) Cenon (33) | En cours | SSpGSuCTe SSpSuCTe | Séjour en Thaïlande (1) |

¹ abréviations 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*. Les études de sensibilité aux antibiotiques menées par le CNR-Salm de 1997 à 2006 chez les trois sérotypes majeurs, Enteritidis, Typhimurium et Hadar (2957 souches testées) n'avaient mis en évidence que deux souches résistantes (<0,1 %), une de sérotype Typhimurium en 2002 (TEM-52) et une de sérotype Enteritidis en 2003 (CTX-M-14). Cependant cette résistance était plus importante chez certains sérotypes comme Virchow avec 12 souches sur 615 testées (2%) entre 1997 et 2006 (CTX-M-2, n= 9; CTX-M-9, n= 1; TEM-52, n= 1; SHV-12, n= 1) et Newport avec 53 souches sur 818 testées (6,5%) entre 1997 et 2007 qui produisaient la céphalosporinase CMY-2. L'atteinte préférentielle de ces sérotypes est un phénomène observé sur le plan international et serait vraisemblablement consécutif à l'utilisation de C3G dans la filière animale (bovins pour Newport et volailles pour Virchow). A côté de ces sérotypes majeurs, le CNR-Salm détecte des sérotypes rares producteurs de BLSE (Babelsberg, Concord, Waycross, Havana, Telelkebir) 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.2.11.2 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 ou de facteurs plasmidiques comme les gènes *qnr* et le gène *aac6'-I-cr* augmentent le niveau de résistance de ces souches.

III.2.11.2.1 Souches du sérotype Typhimurium résistantes à la ciprofloxacine détectées au CNR-Salm entre 2002 et 2007

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

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

Ces souches possédaient une CMI à la ciprofloxacine supérieure à 16 mg/L. Une étude des mécanismes de résistance à la ciprofloxacine 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 (Cip^R) sont exceptionnelles dans le genre *Salmonella*. Les différentes études de sensibilité aux antibiotiques menées par le CNR-Salm entre 1997 et 2007 sur 6455 souches appartenant aux 15 principaux sérotypes n'avait mis en évidence que deux souches résistantes (< 0,1 %). Il s'agissait de la souche de sérotype

Typhimurium 02-8213 présentée dans le tableau ci-dessus et d'une souche de sérotype Virchow isolée en 2005. Les différentes souches de sérotype Typhimurium mentionnées 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 Cip^R 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'enrofloxacin 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.2.11.2.2 Souches d'autres sérotypes résistantes à la ciprofloxacine détectées au CNR-Salm entre 2002 et 2007

Souches du sérotype Kentucky

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

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

Tableau 1. Nombre de souches de *S. enterica* sérotype Kentucky reçues au CNR-Salm entre 2000 et 2005

| Année | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 |
|-----------------------------|-------|-------|--------|-------|----------|-----------|-----------|-----------|
| Souches de Kentucky reçues | 24 | 28 | 31 | 35 | 34 | 45 | 54 | 112 |
| Souches de Kentucky testées | 24 | 28 | 31 | 35 | 34 | 45 | 53 | 112 |
| Souches CiproR n (%) | 0 (0) | 0 (0) | 1(3,2) | 0 (0) | 5 (14,7) | 11 (24,4) | 16 (30,2) | 68 (64,3) |

La première souche de sérotype Kentucky Cip^R avait été isolée en décembre 2002 en France chez un touriste français qui avait souffert d'une gastroentérite au cours d'une croisière sur le Nil. Entre 2004 et 2005, un nombre croissant de ces souches était observé (**Tableau 1**). Les 17 autres souches Cip^R (16 de sérotype Kentucky et la souche « rough ») avaient été isolées lors de salmonelloses au cours ou au décours d'un voyage en Egypte ou en Afrique de l'Est (**Tableau 2**). Aucune enquête alimentaire n'avait pu être réalisée et le type d'aliment responsable de la dissémination de telles souches n'avait donc pas pu être identifié.

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

L'analyse de la diversité génétique par ECP (*Xba*I) a montré qu'il existait une certaine variabilité au sein des souches Cip^R avec neuf profils différents. Les profils obtenus chez les souches Cip^R étaient différents de ceux de souches sensibles mais proches de ceux des souches Nal^R utilisées comme contrôles. L'ensemble des résultats est indiqué de façon détaillée dans le (**Tableau 2**).

Il n'y avait aucune corrélation nette entre les pulsotypes, les mutations dans *gyrA* et le pays de contamination. L'analyse de la littérature scientifique avait permis de trouver un travail

relatant l'isolement de souches de sérotype Kentucky résistantes aux quinolones (avec des CMI à la Cip > 0,125 mg/L) chez des porcs en Ethiopie. Cette hypothèse avait été émise pour les patients contaminés en Afrique de l'Est, mais était très improbable pour les contaminations en Egypte du fait des pratiques alimentaires liées à la religion de ce pays.

Entre 2006 et 2007, le nombre de souches de *S. enterica* sérotype Kentucky Cip^R est passé de 16 (sur les 54 souches annuelles de Kentucky, 29,6%) à 72 (sur 112 souches, 64,3 %). En 2007, un profil de résistance (ASSpGSuTeCip) était majoritaire (41 souches sur 72 souches Cip^R, 56,9%) et sur les 14 souches avec renseignement épidémiologique, 12 avaient été acquises au Maroc, une en Libye et une en Egypte. Une étude en cours avec l'Institut Pasteur de Casablanca a révélé la similarité des souches humaines Cip^R acquises au Maroc avec des souches aviaires dans ce même pays (J.D. Perrier-Gros-Claude et F.X. Weill, non publié).

Tableau 2. Caractéristiques des souches de *S. enterica* sérotype Kentucky, 2002-2005.

| Souche | Date | Origine | Age /sexe ^a | Voyage | Phénotype de résistance ^b | ECP | | CMI (mg/L) ^c | | Substitutions dans le QRDR de ^d | | Expression AcrA ^e |
|--|---------|---------|------------------------|----------------|--------------------------------------|--------------|--------------|-------------------------|---------|--|----------|------------------------------|
| | | | | | | <i>Xba</i> I | <i>Spe</i> I | Nal | Cip | GyrA | ParC | |
| Souches résistantes à la ciprofloxacine | | | | | | | | | | | | |
| 02-9866 | Déc 02 | Selles | III/M | Egypte | ASSpGSuTeCip | X1c | S2 | >1,024 [128] | 8 [2] | Ser83Phe; Asp87Asn | Ser80Ile | 2 |
| 04-2049 | Avr 04 | Selles | IV/F | Egypte | Cip | X6 | | >1,024 [128] | 8 [1] | Ser83Phe; Asp87Gly | Ser80Ile | 2 |
| 04-4567 | Juil 04 | Selles | IV /M | Egypte | ASSpKGCSuTmpTeCip | X3 | | >1,024 [64] | 4 [1] | Ser83Phe; Asp87Gly | Ser80Ile | 2 |
| 04-6248 | Aou 04 | Selles | IV /M | Egypte | SSpGSuCip | X1a | S1 | >1,024 [128] | 8 [1] | Ser83Phe; Asp87Gly | Ser80Ile | 1 |
| 04-8262 | Nov 04 | Selles | V /M | Egypte | SSpGSuCip | X1c | S3 | >1,024 [128] | 8 [1] | Ser83Phe; Asp87Asn | Ser80Ile | 1 |
| 04-9384 | Déc 04 | Selles | V /M | Egypte | ASSpGCSuTmpTeCip | X7 | | >1,024 [64] | 4 [1] | Ser83Phe; Asp87Gly | Ser80Ile | 1 |
| 05-236 ^f | Jan 05 | Selles | IV /F | Egypte | ACip | X1c | S3 | >1,024 [16] | 4 [0.5] | Ser83Phe; Asp87Asn | Ser80Ile | 1 |
| 05-490 | Jan 05 | Selles | IV /F | Egypte | SSpGSuTeCip | X1a | S1 | >1,024 [64] | 4 [1] | Ser83Phe; Asp87Gly | Ser80Ile | 2 |
| 05-520 | Jan 05 | Selles | V /M | Egypte | ACip | X1c | S3 | >1,024 [64] | 4 [1] | Ser83Phe; Asp87Tyr | Ser80Ile | 1 |
| 05-1016 | Fev 05 | Selles | IV/F | Kenya | Cip | X1c | S3 | >1,024 [64] | 4 [1] | Ser83Phe; Asp87Tyr | Ser80Ile | 1 |
| 05-1199 | Mar 05 | Selles | IV /F | Egypte | SSpGSuTeCip | X1a | S1 | >1,024 [16] | 4 [1] | Ser83Phe; Asp87Gly | Ser80Ile | 1 |
| 05-2131 | Avr 05 | Selles | 4/F | Egypte | ACip | X1c | S2 | >1,024 [256] | 4 [2] | Ser83Phe; Asp87Asn | Ser80Ile | 3 |
| 05-2354 | Mai 05 | Selles | V /F | Kenya/Tanzanie | ACip | X1d | S3 | >1,024 [128] | 8 [1] | Ser83Phe; Asp87Tyr | Ser80Ile | 3 |
| 05-3290 | Mar 05 | Selles | IV / M | Egypte | AKCip | X1c | S2 | >1,024 [64] | 4 [1] | Ser83Phe; Asp87Gly | Ser80Ile | 1 |
| 05-3883 | Juin 05 | Urines | V /F | Kenya/Tanzanie | ASSpGSuTeCip | X1d | S3 | >1,024 [64] | 4 [1] | Ser83Phe; Asp87Tyr | Ser80Ile | 2 |
| 05-4680 | Juil 05 | Selles | IV /M | Soudan | SSpGSuTmpTeCip | X5 | | >1,024 [128] | 4 [1] | Ser83Phe; Asp87Gly | Ser80Ile | 2 |
| 05-7714 | Oct 05 | Selles | V /M | Inconnu | ACip | X1e | S3 | >1,024 [128] | 4 [1] | Ser83Phe; Asp87Asn | Ser80Ile | 2 |
| 05-8560 | Nov 05 | Urines | V/F | Inconnu | ASSpGSuTmpTeCip | X9 | | >1,024 [128] | 16 [1] | Ser83Phe; Asp87Tyr | Ser80Ile | 6 |

CNR des *Salmonella*
Rapport d'activité annuel 2007

| Souches de comparaison | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|---------------------|---------|-------|------------------|-------------------|-----|-------------|---------------|----------|---------|-------------|
| 00-1059 | Febv00 | Urines | V/F | Egypte | ANal | X1b | >1,024 [32] | 0.125 [0.03] | Ser83Phe | Sauvage | 3 |
| 01-2100 | Avr 01 | Selles | IV/F | Egypte | ASSpGSuTeNal | X1a | >1,024 [32] | 0.125 [0.03] | Ser83Phe | Sauvage | 2 |
| 01-2959 | Mai 01 | Selles | III/M | Kenya | Sensible | X15 | Non réalisé | Non réalisé | Sauvage | Sauvage | Non réalisé |
| 02-2818 | Mai 02 | Selles | IV/F | Inconnu | ASSpGSuTeNal | X4 | >1,024 [16] | 0.5 [0.03] | Ser83Phe | | 5 |
| 02-2691 | Mai 02 | Selles | IV/F | Inconnu | ASSpKGSuTeNal | X1a | >1,024 [32] | 0.125 [0.06] | Ser83Phe | Sauvage | 1 |
| 02-8051 | Oct 02 | Selles | IV/F | Egypte | ASSpGSuTeNal | X1a | >1,024 [16] | 0.25 [0.06] | Ser83Phe | Sauvage | 1 |
| 02-8141 | Oct 02 | Selles | IV/ ? | Inconnu | ASSpGSuTeCNal | X2 | >1,024 [32] | 0.5 [0.03] | Ser83Phe | Sauvage | 5 |
| 02-8629 | Nov 02 | Inconnu | IV/F | Maroc | Sensible | X15 | Non réalisé | Non réalisé | | | Non réalisé |
| 03-2969 | Avr 03 | Selles | II/ ? | Guyane française | Sensible | X12 | Non réalisé | Non réalisé | | Sauvage | Non réalisé |
| 03-6044 | Aou 03 | Selles | IV/F | Inde | Sensible | X13 | Non réalisé | Non réalisé | | | Non réalisé |
| 03-9270 | Nov 03 | Selles | V/F | Inconnu | Nal | X14 | >1,024 [16] | 0.125 [0.03] | Ser83Phe | Sauvage | 1 |
| 04-7734 | Sep 04 | Selles | IV/M | Inconnu | ASSpKGSuTmpTeCNal | X8 | >1,024 [64] | 0.5 [0.06] | Ser83Phe | Sauvage | 1 |
| 05-177 | Jan 05 | Selles | IV/M | Thaïlande | Sensible | X11 | Non réalisé | Non réalisé | | | Non réalisé |
| 98K | Souche de référence | | | | S | X10 | 2 [<0.015] | <0.01 [<0.01] | Sauvage | Sauvage | 1 |

^a Groupes d'âge I, <1an; II, 1-5ans; III, 6-14ans; IV, 15-64ans; V, >65ans.

^b A, amoxicilline; S, streptomycine; S, spectinomycine, K, kanamycine, G, gentamicine; C, chloramphénicol; Sul, sulfamides, Tmp, triméthoprim; Te, tétracycline; Nal, acide nalidixique; Cip, ciprofloxacine.

^c les valeurs entre crochets sont les CMI en présence de l'inhibiteur de pompes d'efflux Phe-Arg-β-naphtylamide à 80 mg/L.

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 a montré que les mutations dans le QRDR conduisaient à deux substitutions significatives dans GyrA (Ser83Phe et Asp87Asn) et une dans ParC (Ser80Ile).

Les souches résistantes à la ciprofloxacine posent un sérieux problème pour la thérapeutique des salmonelloses de l'adulte car la ciprofloxacine est l'antibiotique de première intention. L'apparition de souches de sérotype Typhi Cip^R est 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 2007, le CNR-Salm a participé :

- au signalement le 12 février 2007 d'une augmentation de souches de sérotype Bredeney. Onze souches ont été reçues au CNR-Salm entre le 20 décembre 2006 et le 8 février 2007 (par rapport à 2 pour la même période en 2005 et 2006). Les 11 souches avaient été isolées chez 10 personnes habitant dans différentes régions de France. L'investigation menée par l'InVS avait révélé que la grande majorité des cas habitaient en zone rurale mais aucune source alimentaire n'avait pu être identifiée. Aucun nouveau cas n'a été détecté par la suite.
- au signalement le 28 février 2007 d'une augmentation de souches de sérotype Rissen. Onze souches ont été reçues au CNR-Salm entre le 8 janvier 2007 et le 23 février 2007 (par rapport à une moyenne de 17 isollements annuels au cours des 7 années précédentes). Les 11 souches avaient été isolées chez 11 personnes habitant dans un large quart Sud-Est de la France. L'analyse épidémiologique par l'InVS avait conclu que cet excès de cas ne constituait pas une alerte mais maintenait un état de vigilance. Au 13 avril, seuls deux cas supplémentaires avaient été répertoriés au CNR-Salm.
- à une investigation menée par l'InVS (enquête cas-témoin) suite à l'augmentation croissante du nombre de cas de salmonelloses liées au sérotype Napoli entre les années 2002 (31 cas) et 2006 (138 cas). Le CNR-Salm a signalé immédiatement à l'InVS tous les nouveaux isolats de ce sérotype et a réalisé l'analyse de la biodiversité (analyse par électrophorèse en champ pulsé) sur un échantillon de souches.
- au signalement en septembre et octobre 2007 de l'augmentation des souches de sérotype Kentucky résistantes à la ciprofloxacine.

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.

Les souches étudiées au CNR-Salm dont les formules antigéniques ne figurent pas dans le schéma de White-Kauffmann-Le Minor sont transmises pour validation au Centre Collaborateur **OMS** de Référence et de Recherche sur les *Salmonella* (CCOMS) qui est dans l'Unité BBPE depuis 2003. En 2007, le CNR-Salm a adressé au CCOMS les sérotypes suivants (en cours d'homologation) de la sous-espèce *enterica*:

- * le putatif nouveau sérotype **Portedeslilas** (1,42 : 1,v : 1,6,7)
- * le putatif nouveau sérotype **Montargis** (3,10 : g,m,s,t :-)
- * le putatif nouveau sérotype **Miromesnil**(1,3,19 : z4,z23 :-)
- * le putatif nouveau sérotype **Forges** (47 : z4,z23 :1,2)
- * le putatif nouveau variant 0:1 du sérotype **Azteca** (1,4,[5],12, 27 : 1,v : 1,5)
- * le putatif nouveau variant 0:1 du sérotype **Putten** (1,13,23 : d : 1,w)
- * le putatif nouveau variant 0:1 du sérotype **Ajiobo** (1,13,23 : z4,z23 : -)
- * le putatif nouveau variant 0:1 du sérotype **Shubra** (1,4,[5],12 : z : 1,2)

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.

III. 5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

En 2007, le CNR-Salm et l'InVS ont poursuivi leur enquête sur les cas porteurs ou infectés par des souches de sérotype Concord (ou de formule monophasique 6,7 :l,v :-) résistantes aux C3G par production de la BLSE CTX-M-15.

Entre 2004 et 2007, ce sont plus de 50 souches qui ont été identifiées chez des enfants adoptés en provenance d'Ethiopie ou plus rarement chez des sujets ayant eu des contacts directs ou indirects avec ces enfants. L'enquête, réalisée auprès des professionnels de santé et des associations agréées pour l'adoption en Ethiopie, 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 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.

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

V.1 Réunions et missions

- FX Weill. Participation à la réunion annuelle du réseau européen EnterNet, 5-7 juillet 2007, Vienne (Autriche).
- FX Weill. Intervention «détection de cas groupés grâce à un algorithme statistique », séminaire 2007 des CNR, 22 novembre, Saint-Maurice.
- FX Weill. Participation au «Workshop on surveillance of Food and Water Borne Diseases in Europe », 28-29 Novembre 2007, ECDC, Stockholm (Suède).

V.2 Enseignement

- FX Weill. Conférence «Résistance des *Salmonella* aux antibiotiques: quoi de neuf ? », Faculté de médecine Necker, 30 mai 2007.
- PAD Grimont. Conférence sur le "Diagnostic des fièvres typhoïdes" et atelier sur le même sujet. 7èmes Rencontres Africaines de Biologie Technique, Yaoundé, Cameroun, 10-15 Septembre 2007.
- FX Weill. Cours Master 2 de Microbiologie (Paris 6 et 7), 11 octobre 2007, «Epidémiologie des salmonelloses mineures ».
- FX Weill. Cours Master 2 de Microbiologie Appliquée (Paris 6), 7 novembre 2007, «Les salmonelles ».
- FX Weill. Conférence «Les données 2006 du CNR-Salm», Journée du réseau *Salmonella* de l'AFSSA, 11 décembre 2007.
- FX Weill. Conférence «Quoi de neuf chez les *Salmonella*», 12 décembre 2007, Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur, Vannes.

V.3 Accueil de stagiaires

Le CNR-Salm a reçu en 2007 comme stagiaires:

- Mlle Aurélie 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*.
- Mlle Maria Pardos, Interne en microbiologie du Centre Hospitalier de Saragosse, Espagne. Stage de 4 mois sur la caractérisation moléculaire de *Salmonella* productrices de BLSE isolées à Saragosse.
- Mr le Dr Souleymane Bakayoko (chercheur à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire). Stage de 3 mois sur la caractérisation moléculaire de souches de *S. enterica* sérotype Typhimurium multirésistantes aux antibiotiques, isolées en Afrique de l'Ouest.

V.4 Congrès

- FX Weill. Trésorier des Journées de Biologie Clinique Necker-Pasteur. Paris, 15-17 janvier 2007.

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

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

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

V.6 Conseils aux professionnels de santé

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

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

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

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

Cette méthode a été testée sur 400 souches appartenant à plus de 50 sérotypes des différentes sous-espèces et espèces de *Salmonella* (dont les plus fréquents chez l'homme et dans la filière alimentaire : Enteritidis, Typhimurium, Hadar, Virchow, Infantis, Derby, Agona, Newport, Napoli, Indiana, Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B, Paratyphi C, Bovismorbificans, Panama, Saintpaul, Senftenberg, Anatum, Gallinarum, Brandenburg, Kottbus, Dublin, Napoli, Montevideo...).

Chez ces 400 souches, nous avons identifié plus de 1200 spacers différents (taille moyenne de 34 nucléotides). Pour les sérotypes étudiés, la composition en spacers (de 1 à 30 par locus) était caractéristique d'un sérotype. Quand plusieurs souches d'un même sérotype étaient étudiées, la composition en spacers pouvait varier (perte de certains spacers, acquisition de nouveaux) entre les souches et cette variabilité au sein d'un même sérotype était concordante avec les méthodes traditionnelles de sous-typage.

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

Dans le même temps, nous allons mettre au point un système capable d'identifier par hybridation en milieu liquide ou solide les différents spacers au sein de la ou des deux régions préalablement amplifiées enzymatiquement. L'analyse des sondes hybridant avec les produits d'amplification permettra le typage et le sous-typage des souches en une seule étape ; par exemple, Typhimurium sous-type DT104. Cela aurait pour intérêt de remplacer le sérotypage classique et d'apporter dans le même temps une information sur le sous-type de la souche. Cette dernière information est susceptible de fortement intéresser les laboratoires travaillant dans la Santé Publique (détection plus précoce et plus sensible des souches épidémiques) et les laboratoires agroalimentaires (traçabilité plus précoce d'une souche dans la filière alimentaire) pour les sérotypes prédominants.

Cette méthode a fait l'objet d'une déclaration d'invention (DI2007-26) et d'une demande de dépôt de brevet par Weill et coll. Une publication scientifique est en cours de rédaction

* Poursuite du développement en collaboration avec S. Brisse (Unité BBPE) et M. Achtman (Environmental Research Institute, Cork, Irlande) **d'un système de typage des souches de *S. enterica* par MLST (multi locus sequence typing)**. Cette méthode, facilement automatisable, repose sur la caractérisation par séquençage de sept gènes « de ménage » non soumis à une pression de sélection. Cette approche très prometteuse, quand elle sera validée, pourrait être une alternative voire une méthode de substitution au sérotypage classique. A ce jour, plus de 500 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 des 2500 sérotypes de *Salmonella* déposés au Centre Collaborateur OMS.

* Développement en collaboration avec 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) représentant environ 75 % des souches. La méthodologie, en cours de développement, repose sur l'amplification par PCR de séquences VNTR dans dix gènes (STTR3, STTR5, STTR7, STTR9, STTR11, Sal02, SETR2, SETR3, SETR6 et SE3). Nous avons testé la méthode sur plus de 150 souches sporadiques ou épidémiques en comparant les résultats obtenus avec ceux de la lysotypie et de l'ECP (*Xba*I). Les résultats préliminaires montrent que cette méthode peut être utilisée en complément de ECP lors d'investigation d'épidémies dues à ce sérotype.

* Collaboration avec Mark Achtman (Environmental Research Institute, Cork, Irlande) à la mise au point **d'un système de sous-typage très fin des souches de *S. enterica* sérotype Paratyphi A** par l'analyse des mutations ponctuelles ou «single nucleotide polymorphisms (SNPs) décrites dans un précédent travail sur le sérotype Typhi.

* Collaboration avec Mark Achtman (Environmental Research Institute, Cork, Irlande) et Gordon Dougan (Sanger Institute, Cambridge, Royaume Uni) **au séquençage de 17 souches de sérotype Typhi** situés dans des groupes phylogénétiques différents et reflétant l'ensemble de la biodiversité de ce pathogène.

* Collaboration avec Mark Achtman (Environmental Research Institute, Cork, Irlande) et Stephen Baker (Sanger Institute, Cambridge, Royaume Uni) **à l'étude d'une population particulière du sérotype Typhi**; les souches indonésiennes possédant la phase flagellaire additionnelle «z66 ».

*Publication le 15/02/07 par Patrick Grimont le 15/02/07 d'un brevet (WO/2007/017601) «milieu de culture bactérienne dans un milieu inorganique minimum et comportant du gentisate et/ou un de ses précurseurs, et utilisation du 3-hydroxybenzoate dans un tel milieu ».

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

Le CNR-Salm a mené en 2007 plusieurs études sur la caractérisation de souches résistantes aux antibiotiques :

- * Epidémiologie moléculaire et caractérisation des gènes de résistance aux C3G (et de leur environnement génétique) de souches humaines de *S. enterica* sérotype Virchow isolées à Saragosse, Espagne entre 2000 et 2005.
- * Caractérisation des plasmides de souches humaines et animales de *S. enterica* produisant les BLSE de type SHV-12, TEM-52, CTX-M-2, CTX-M-15 et CTX-M-9. Travail en collaboration avec les équipes d'Axel Cloeckaert (INRA Nouzilly) et d'Alessandra Carattoli (Rome, Italie).
- * Etude de génétique des populations bactériennes de souches historiques de sérotype Typhi multirésistantes aux antibiotiques (années 1970 et 1980). Travail en collaboration avec Philippe Roumagnac (CEA, Cadarache) et Mark Achtman (Environmental Research Institute, Cork, Irlande).
- * Epidémiologie moléculaire et caractérisation de l'environnement génétique des gènes *bla*_{CTX-M-15} et *bla*_{SHV-12} chez des souches de *S. enterica* sérotype Concord 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).
- * Etude de souches de sérotype Typhi avec un phénotype de résistance aux quinolones inhabituel. Travail en collaboration avec Philippe Roumagnac (CEA, Cadarache), Mark Achtman (Environmental Research Institute, Cork, Irlande) et John Wain (Sanger Institute, Cambridge, Royaume Uni).
- * Caractérisation de nouveaux variants de l'ilôt de multirésistance aux antibiotiques, *Salmonella* genomic island 1 chez les sérotypes Newport, Kentucky et Haïfa. Travail en collaboration avec l'équipe d'Axel Cloeckaert (INRA Nouzilly).

VII. LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

VII.1 Publications nationales

- **PAD Grimont et FX Weill.** *Salmonella* (pp. 1051-1072) in Freney, J., Renaud, F., Leclercq, R., Riegel, P. **Précis de Bactériologie Clinique**, 2^{ème} ed. 2007, ESKA, Paris.
- **H Noël, M Dominguez, FX Weill, A Brisabois, C Duchazeaubeinex, A Kérouanton, G Delmas, N Pihier, E Couturier.** Epidémie de salmonellose à *Salmonella enterica* sérotype Manhattan associée à des produits carnés. **Bulletin Epidémiologique de l'AFSSA**. 2007 ; 24 : 1-3.

VII.2 Publications internationales

- **C Brouard, E Espié, FX Weill, A. Brisabois, A Kérouanton, J Michard, D. Hulaud, AM Forgue, V Vaillant, H de Valk.** Two consecutive large outbreaks of *Salmonella enterica* serotype Agona infections in infants linked to the consumption of powdered infant formula. **The Pediatric Infectious Diseases Journal**. 2007; 26:148-152.
- **V Cattoir, FX Weill, L Poirel, L Fabre, CJ Soussy, P. Nordmann.** Prevalence of *qnr* genes *Salmonella* in France. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. 2007; 59:751-754.
- **A Cloeckaert , K Praud, B Doublet, A Bertini, A Carattoli, P Butaye, H Imberechts, S Bertrand, JM Collard, G Arlet, FX Weill.** Dissemination of an extended-spectrum beta-lactamase *bla*_{TEM-52} gene-carrying IncII plasmid in various *Salmonella enterica* serovars isolated from poultry and humans in Belgium and France, 2001-2005. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2007; 51:1872-1875.
- **JM Collard, S Place, O Denis, M Vrints, FX Weill, S Baucheron, A Cloeckaert, M Struelens, S Bertrand.** First report in Belgium of a travel associated ciprofloxacin-resistant *Salmonella enterica* serovar Kentucky isolate producing concomitantly a CTX-M-1 extended-spectrum beta-lactamase. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. 2007;60:190-2.
- **S Egorova, L Kaftyreva, PAD Grimont, FX Weill.** Prevalence and characterization of extended-spectrum cephalosporin-resistant non-typhoidal *Salmonella* isolates in adults in Saint-Petersburg, Russia (2002-2005). **Microbial Drug Resistance**. 2007 ;13 :102-107.
- **FX Weill, HH Tran, P Roumagnac, NB Minh, L Fabre, TL Stavnes, J Lassen, G Bjune, PAD Grimont, PH Guerin.** Clonal reconquest of antibiotic-susceptible *Salmonella enterica* serotype Typhi in Son La province, Vietnam. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. 2007;76 :1174-1181.

- **A Kérouanton, M Marault, R Lailier, FX Weill, M Berges, C Feurer, C Lecureuil, E Espié, A Brisabois.** A pulsed-field gel electrophoresis subtyping database for foodborne *Salmonella enterica* surveillance. **Foodborne Pathogens and Diseases**. 2007;4:293-303.
- **A García Fernández, A Cloeckert, A Bertini, K Praud, B Doublet, FX Weill, A Carattoli.** Comparative analysis of IncHI2 plasmids carrying CTX-M-2 or CTX-M-9 from *Escherichia coli* and *Salmonella* isolated from poultry and human. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2007;51:4177-80.
- **H Le, L Fabre, P Roumagnac, MR Scavizzi, PAD Grimont, FX Weill.** Clonal expansion and microevolution of quinolone-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhi, Vietnam, 1996-2004. **Journal of Clinical Microbiology**. 2007;45 :3485-92.
- **E Poirier, L Watier, E Espié, FX Weill , H de Valk, JC Desenclos.** Evaluation of the impact on human salmonellosis of control measures targeted to *Salmonella* Enteritidis and Typhimurium in poultry breeding using time-series analysis and intervention models in France. **Epidemiol Infect.** 2007 Nov 30;1-8

VIII. LE PROGRAMME DE TRAVAIL POUR LES ANNEES 2008-2009

Le programme de travail pour les années 2008-2009 est orienté vers la mise en conformité totale au cahier des charges spécifiques du CNR :

Point 1 : contribuer au développement des méthodes de typage

Le CNR-Salm va poursuivre les différents travaux entrepris dans le développement de nouvelles méthodes de typage et sous-typage. La méthode CRISPR appliquée déjà à 400 souches de 50 sérotypes va être appliquée à d'autres sérotypes. Les bases de données concernant les séquences des gènes des flagellines et les séquençotypes (MLST) vont être progressivement complétées.

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

Le réseau du CNR-Salm comprend environ 30% des LABM de France métropolitaine. Une étude sur la représentativité de ce réseau était nécessaire et a été réalisée en 2005 et en 2006; elle sera analysée en collaboration avec l'InVS et des mesures de recrutement éventuel de nouveaux laboratoires seront entreprises si nécessaire pour améliorer la représentativité nationale du réseau.

En 2008-2009, un informaticien sera recruté au cours d'une mission transitoire pour accompagner le passage du système d'exploitation du laboratoire BactériCentre (Patrick Grimont) vers Lagon (Epiconcept). Les bases de données BactériCentre 1992-2007 seront transférées dans une base plus adaptée pour l'utilisation des algorithmes de détection des dépassements de seuil. Cet informaticien aura également la charge de développer un site web pour la déclaration en ligne des souches sérotypées localement (cela remplacera les fiches information).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Le CNR-Salm va poursuivre son engagement conjoint avec l'InVS au sein d'Enter-Net ou de l'ECDC.

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

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

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

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