

CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE YERSINIA

Rapport annuel 2022

.be

Sciensano

Maladies infectieuses humaines - Maladies bactériennes CNR Yersinia

Juillet 2023 • Bruxelles • Belgique

MATTHEUS, WESLEY

CEYSSENS, PIETER-JAN

•

VAN DEN BOSSCHE, AN

Wesley Mattheus, Ph.D. • T+32 (0)2 373 32 24 • wesley.mattheus@siensano.be

Avec le support financier de:











Veuillez citer comme suit: Centre National de Référence pour Salmonella en Shigella, Rapport annuel 2020. Sciensano, Bruxelles, Belgique.

Remerciements

Nous voudrions exprimer notre gratitude aux inspecteurs de la santé qui réalisent les enquêtes auprès des patients, ainsi qu'aux laboratoires cliniques, qui participent à la surveillance de ces agents pathogènes en envoyant leurs souches. Nous remercions également l'Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA).

POINTS PRINCIPAUX

- En 2022, le CNR a procédé au typage de 1081 isolats uniques de Yersinia (dont 933 Y. enterocolitica et 27 Y. pseudotuberculosis) pour le compte de 112 laboratoires cliniques. Ces nombres d'échantillons représentent une augmentation de 19 % par rapport à 2021, les nombres les plus élevés ayant été enregistrés durant les mois d'hiver et de printemps. Parmi les échantillons transmis, 9,9% provenaient de patients hospitalisés, mais ce pourcentage était plus élevé pour Y. pseudotuberculosis (6/27, 22%).
- Contrairement à 2021, pour Y. enterocolitica, nous observons proportionnellement autant de souches provenant de jeunes patients hommes et femmes (0-4 ans, ratio H/F 1,1 vs 1,4 en 2021), de même qu'il n'y a pas de différences globales dans la répartition entre les

- populations de patients hommes et femmes (ratio H/F 0,96). En revanche, pour Y. pseudotuberculosis, on observe un déséquilibre (rapport H/F 3,5), principalement dans la tranche d'âge 5-15 ans.
- Dans l'ensemble, 35,4 % (330/933) des Y. enterocolitica transmises étaient pathogènes pour l'homme, la grande majorité (293/330) étant des Y. enterocolitica de biotype 4/O:3. Parmi les Yersinia spp non pathogènes, le biotype 1A de Y. enterocolitica (603/933) était le plus répandu.
- Les recommandations actuelles pour le traitement des Yersinioses sont la ciprofloxacine et la lévofloxacine (en première intention), et la doxycycline, le TMP-SX, la céfotaxime, la ceftriaxone, la ceftazidime ou la céfépime (en deuxième intention). En 2022, les Yersinia spp. pathogènes restent généralement très sensibles aux antibiotiques actuellement utilisés. En 2022, 5 isolats présentant une sensibilité réduite à la ciprofloxacine (CMI≥0,25 μg/mI) ont été observés, tous appartenant au type Y. enterocolitica biotype 4/O:3. Un échantillon du biotype 2/O9 était résistant aux céphalosporines indicatrices.

TABLE DES MATIERES

CONTENU

• 1.	. INTRODUCTION	6	i
	évalence historique et tendances ojectifs ualité	6 6 6	;
• 2	. METHODOLOGIE	7	,
2.2 flux 2.3 Rés	llecte des souches et métadonnées x de travail du CNR sistance aux antibiotiques quençage du génome entier	7 7 7 Error! Bookmark not defined.	,
• 3.	. RESULTATS	9)
3.2 Ré _l 3.3. Dis 3.4. Ré 3.5. Inf	llection de souches: nombre & origine partition en fonction des âges et du se stribution des ESPECES Et sérovars épartition géographique fections liées au voyage ésistance aux antibiotiques	xe 9 10 10 Error! Bookmark not defined. 11)
• 4.	. RESEARCH & DEVELOPMENT (ENG)ER	ROR! BOOKMARK NOT DEFI	NED
4.1 Pe	er-reviewed publications (2021)	Error! Bookmark not defined.	

1. INTRODUCTION

1.1. PRÉVALENCE HISTORIQUE ET TENDANCES

Au sein du genre Yersinia, trois espèces sont reconnues comme pathogènes pour l'homme : Y. enterocolitica (biotypes 1B, 2-5), Y. pseudotuberculosis et Y. pestis. Ce dernier ne fait pas partie du CNR mais est diagnostiqué dans l'unité de bioterrorisme de Sciensano.

En 2017, 6 240 cas d'infections humaines à Y. enterocolitica ont été diagnostiqués dans l'UE, ce qui correspond à 2,2 notifications pour 100 000 habitants. En Belgique, la majorité des yersinioses sont causées par le biosérotype 4/O:3 de Y. enterolitica, et dans une moindre mesure par les biosérotypes 2/O:9 et 2/O:5,27 . La proportion relative des sérotypes varie avec l'âge, le sérotype O:3 étant le plus répandu chez les patients jeunes et de sexe masculin. Le sérotype O:9 est généralement plus fréquemment rencontré dans les yersinioses invasives, où l'agent pathogène est isolé à partir d'échantillons sanguins et extra-intestinaux (Verhaegen et al, 1998).

Y. pseudotuberculosis est moins répandu, mais provoque des infections plus invasives que Y. enterolitica. En Belgique, l'incidence des infections par Y. pseudotuberculosis fluctue entre 0,08 et 0,36/100.000 habitants. Bien qu'il existe plus de 20 sérotypes, 90 % des infections humaines (et aussi animales) par Y. pseudotuberculosis sont dues au sérotype O:1.

Il n'existe actuellement aucune obligation légale de signaler les infections à Yersinia aux autorités, sauf en cas d'épidémies d'origine alimentaire. Néanmoins, l'AFSCA surveille Y. enterolitica pathogène chez les porcs depuis 1997, dans le cadre de la directive européenne 2003/99/CE.

1.2. OBJECTIFS

Les principales missions du Centre National de Référence (CNR) pour Yersinia enterocolitica et Y. pseudotuberculosis sont (i) de distinguer les infections pathogènes des infections porteuses de Y. enterocolitica, et (ii) d'assurer une surveillance épidémiologique des infections humaines à Yersinia spp. Cette surveillance vise à détecter le plus tôt possible les épidémies, ainsi que leur origine et à évaluer à long terme les tendances spatiales et temporelles de l'évolution de ces deux germes. Les cas spécifiques tels que les souches multirésistantes ou invasives sont étudiés par séquençage du génome entier (WGS). Le CNR surveille également la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés.

Lorsqu'une épidémie est suspectée, le CNR alerte les inspecteurs sanitaires de la région concernée (AVIQ, Agence pour les soins et la santé ou CoCom), qui prennent alors les mesures nécessaires pour examiner les patients. Cette surveillance permet de suivre les épidémies, de définir des mesures de prévention et d'évaluer les mesures prises

en faveur de la santé publique et de la protection des consommateurs. Si nécessaire, les inspecteurs sanitaires contactent alors l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire (AFSCA) pour une enquête plus approfondie sur la source possible de la contamination.

Chaque mois, toutes les données de sous-typage seront transférées au système national de surveillance EpiStat, et chaque année, elles seront transmises au Réseau européen des maladies d'origine alimentaire et hydrique et des zoonoses (une organisation pour les infections entériques du Centre européen de prévention et de contrôle des maladies, ECDC). Ces données épidémiologiques peuvent être consultées par les inspecteurs de la santé des Communautés, le réseau de peillaboratoires et les centres de référence sur https://epistat.sciensano.be/dashboard/.

1.3. QUALITÉ

Depuis 2020, le CNR a été intégré au département des maladies bactériennes humaines de Sciensano, avec le CNR Salmonella et Shigella. Depuis plus de 40 ans, ce laboratoire s'est engagé à respecter des normes de qualité élevées, tant en termes d'analyses et d'études épidémiologiques qu'en termes de communication avec les correspondants et les clients.

Comme indiqué à la section 4.2, en 2020, la norme de qualité ISO/IEC 15189 a été obtenue pour les analyses décrites dans ce rapport. Ce système garantit l'exactitude et la validité des protocoles appliqués, la traçabilité des résultats de recherche, la justesse des résultats et l'indépendance technique du laboratoire. Ce système de qualité crée également un lien de confiance entre le Centre et ses correspondants et clients grâce à la qualité des analyses effectuées.

2. METHODOLOGIE

2.1 COLLECTE DES SOUCHES ET MÉTADONNÉES

Les isolats de Yersinia sont envoyés au CNR par les laboratoires cliniques sur une base volontaire, accompagnés de la souche et du formulaire d'information épidémiologique.

Les métadonnées demandées comprennent l'âge, le sexe et le code postal du patient, le spécimen à partir duquel la souche a été isolée, le tableau clinique associé, des informations sur un éventuel traitement antibiotique commencé et l'évolution de la maladie, ainsi que des informations sur les voyages et les hospitalisations récentes du patient. Si des caractéristiques antigéniques ont déjà été identifiées, elles sont également demandées.

Dès réception, chaque échantillon reçoit un numéro unique sous la forme S22BD0000x, et les métadonnées enregistrées sont saisies numériquement dans le système STARLIMS. Après analyse, l'échantillon est conservé dans du glycérol à 20% à -80°C.

2.2 FLUX DE TRAVAIL DU CNR

Le flux de travail du CNR est présenté de manière schématique dans la figure 1.

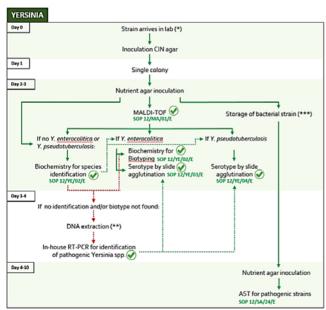


Figure 1. Flux de travail dans le CNR Yersinia, 2021. Les résultats des tests cochés sont communiqués au laboratoire qui les a soumis. (*) conservé pendant 1 mois à 2°C-8°C, (**) conservé à 20°C±5°C, (***) conservé à -80°C±5°C.

Sur demande du laboratoire, une RT-PCR peut être réalisée sur l'échantillon (primaire) afin de déterminer la

pathogénicité de la souche. Cette PCR vise à identifier le gène de virulence chromosomique ail, yopM (YE/YP), inV (spécifique de YP et Y. pestis) et yihN (spécifique de Y. pestis). Les Yersinia spp. non pathogènes sont négatifs pour toutes les sondes.

Toutes les souches sont cultivées sur de la gélose CIN (Cefsulodine-Irgasan-Novobiocin, Oxoid) à 30°C. Cette étape est suivie de la confirmation de l'espèce par MALDITOF (Biotyper, Bruker) et - pour les espèces autres que Y. enterocolitica et Y. pseudotuberculosis - de tests biochimiques parallèles avec les sucres suivants : ornithine, pyrazinamidase, rhamnose, saccharose, Voges-Proskauer, urée, citrate de Simmons, Raffinose, Melibiose, Sorbose et Indole. Une fois Y. enterocolitica identifié, il est biotypée selon le schéma conventionnel de Wauters (Tableau 1). Le sérotype de la souche des principaux sérogroupes est ensuite examiné pour Y. enterocolitica et Y. pseudotuberculosis par agglutination classique sur lame en utilisant des anticorps commerciaux (Sifin and Staten Serum Institute, Elitech).

Tableau 1. Schéma de Wauters pour le biotypage de Y. enterolitica

Biotype	1A	1B	2	3	4	5
Tween Esterase	+	+	-	-	-	-
Esculine	+/-	-	-	-	-	-
Salicine	+/-	-	-	-	-	-
Indole	+	+	(+)	-	-	-
Xylose	+	+	+	+	-	+/-
Trehalose	+	+	+	+	+	-
Pyrazinamidase	+	-	-	-	-	-

() réaction retardée

En cas de résultats non concluants, la souche est examinée plus en détail au moyen du séquençage de nouvelle génération (NGS). Dans ce cas, l'ADN génomique est extrait à l'aide du MgC Bacterial DNA KitTM avec un volume d'élution de 60 µl (Atrida, NL), conformément aux instructions du fabricant. Les librairies de séquençage sont préparées à l'aide du kit de préparation d'échantillons d'ADN Nextera XT d'Illumina, puis séquencées à l'aide d'un instrument MiSeq d'Illumina avec un protocole paired-end de 250 pb (chimie MiSeq v3), conformément aux instructions du fabricant. L'identification des espèces est effectuée sur la base du typage multilocus des séquences ribosomiques (rMLST) et génomiques (cgMLST).

2.3 RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Au CNR, la sensibilité aux antibiotiques des Yersinia spp. est déterminée par microdilution en bouillon (Sensititre™, Thermo Fisher), en déterminant la valeur de la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour chaque antibiotique et interprétée selon les recommandations d'EUCAST (tableau 2). Pour des raisons pragmatiques, le même panel d'antibiotiques est utilisé pour Salmonella, Shigella et Yersinia spp, car la SOP 12/SA/24/E actuelle est accréditée

(ISO 15189) pour tous les Enterobactericeae. La tétracycline est utilisée pour prédire la sensibilité à la doxycycline, avec une CMI ≤4 mg/L pour les isolats de type sauvage. Pour l'azithromycine, nous utilisons la valeur ECOFF de CMI≤8 μg/ml pour les isolats de type sauvage.

En raison des contraintes budgétaires, toutes les souches de Y. pseudotuberculosis et une sélection de Y. enterocolotica pathogènes sont testées. Dans ce rapport, la multirésistance (MDR) est définie comme une résistance à plus de trois classes d'antibiotiques.

Tableau 2. Antibiotiques testés par microdilution en bouillon. Les seuils de résistance à la CHL, à l'AZM, au SMX et au TGC sont fixés dans ce rapport et basés sur les valeurs ECOFF à 8 μg/ml, 16 μg/ml, 256 μg/ml et 1 μg/ml, respectivement.

Antibioticum	CODE	conc. (mg/L)	Breakpoint (mg/L)
AMPICILLINE	AMP	1-64	8.0
AZYTHROMYCINE	AZI	2-64	ND
CEFOTAXIME	FOT	0.25-4	1.0
CEFTAZIDIME	TAZ	0.5-8	1.0
CHLORAMPHENICOL	CHL	8-64	ND
CIPROFLOXACINE	CIP	0.015-8	0.25
COLISTINE	COL	0.5-8	2.0
ERTAPENEM	ETP	0.015-2	0.5
GENTAMICINE	GEN	0.5-16	2.0
MEROPENEM	MER	0.03-16	2.0
SULFAMETHOXAZOLE	SMX	32-1024	ND
TETRACYCLINE	TET	2-64	4.0
TIGECYCLINE	TGC	0.25-8	ND
TRIMETHOPRIM	TMP	0.5-16	4.0

3. RESULTATS

3.1 COLLECTION DE SOUCHES: NOMBRE & ORIGINE

En 2022, le CNR a typé 1081 isolats uniques de Yersinia (dont 933 Y. enterocolitica et 27 Y. pseudotuberculosis) pour le compte de 112 laboratoires cliniques. Ces nombres d'échantillons représentent une augmentation de 19 % par rapport à 2021, les nombres les plus élevés ayant été enregistrés en hiver et au printemps (Figure 2). Contrairement à d'autres pathogènes gastro-intestinaux, aucune réduction significative du nombre d'échantillons n'a été observée au CNR pendant la pandémie de Covid-19.

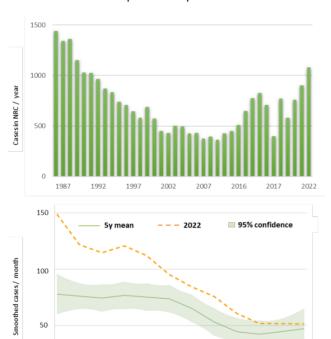


Figure 2. En haut. Nombre total de Yersinia spp. confirmés examinés au CNR, indiqué par année pour la période 1987-2022. **En dessous** : Résumé des yersinioses déclarées mensuellement en 2022, par rapport aux 5 années précédentes.

Jan Feb

Parmi les échantillons transmis, 9,9% (107/1081) provenaient de patients hospitalisés, mais ce pourcentage était plus élevé pour Y. pseudotuberculosis (6/27, 22,2%). La majorité des souches de Yersinia (89,7 %) ont été isolées à partir de matières fécales, tandis que 0,6 % provenaient d'hémocultures : 3 souches de Y. pseudotuberculosis, 2 souches de Y. enterocolitica biosérotype 4/O:3, et 1 souche de Yersinia kristensenii. Le tableau 3 donne un aperçu de l'origine des souches.

Tableau 3. L'origine des souches Yersinia, 2022.

Specimen	N	%
SELLES	939	89.7
SANG	6	0.6
URINE	2	0.2
PUS	1	0.1
BRONCHUSASPIRAAT	1	0.1
AUTRE/INCONNUE	98	9.4

Seuls huit patients (non hospitalisés) ont signalé un voyage récent à l'étranger; en outre, 4/8 cas concernaient des souches appartenant au biotype 1A (non pathogène) de Y. enterocolitica. Les quatre patients infectés par le biotype pathogène Y. enterocolitica 4/O:3 ont signalé des voyages en France, en Italie, au Pérou et en Turquie.

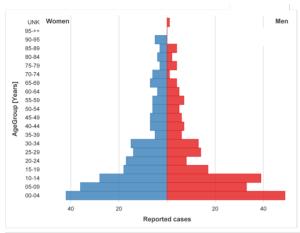
Au total, aucune Yersinia spp. n'a été trouvée dans 11 échantillons. Dans 3/11 cas, il s'agissait d'un isolat de Citrobacter spp, trois autres isolats étaient des Serratia spp.

3.2 RÉPARTITION EN FONCTION DES ÂGES ET DU SEXE

La plus grande proportion d'échantillons pathogènes de Yersinia reçus a été isolée chez des enfants de moins de 15 ans. Ce groupe représentait 48% du nombre total de souches (Figure 3).

Contrairement à 2021, pour Y. enterocolitica, nous avons proportionnellement observé autant de souches chez les jeunes patients hommes et femmes (0-4 ans, ratio H/F 1,1 vs 1,4 en 2021), de même qu'il n'y a pas de différences globales dans la distribution entre les populations de patients hommes et femmes (ratio H/F 0,96). Pour Y. pseudotuberculosis, cependant, il y a un déséquilibre (rapport H/F 3,5), principalement dans le groupe d'âge 5-15 ans (figure 3b). La raison sous-jacente de ce phénomène est encore inconnue, mais il serait intéressant de poursuivre les recherches.

Pour 6 souches (0,5 %), il n'y avait pas d'information sur le sexe du patient.



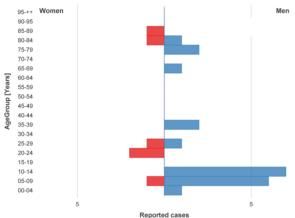


Figure 3. Pyramide des âges générée pour les infections confirmées à *Y. enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis*, période 2022.

3.3. DISTRIBUTION DES ESPECES, BIOTYPES ET SÉROVARS

Une vue d'ensemble des espèces, biotypes et sérovars identifiés est présentée dans les tableaux 4 et 5. Dans l'ensemble, 35,4 % (330/933) des Y. entercolitica transmises étaient pathogènes pour l'homme, la grande majorité (293/330) étant des Y. enterocolitica de biotype 4/O:3. Parmi les Yersinia spp non pathogènes, le biotype 1A de Y. enterocolitica (603/933) était le plus répandu. Sur 11/1081 souches soumises, aucune espèce n'a pu être déterminée sur la base de tests biochimiques.

Tableau 4. Aperçu des différentes Yersinia spp. pathogènes identifiées, 2022. NT, non typifiable par autoagglutination.

Espèce	Biotype	Serotype	N	%
Y. enterocolitica	4	0:3	293	27.1
		0:9	1	0.1
		NT	1	0.1
	2	0:9	10	1.1
		0:8	2	0.2
		0:3	15	1.7

		NT	1	0.1
	5	0:3	2	0.2
	3	0:3	1	0.1
		NT	2	0.2
	1B	0:8	2	0.2
		NT	2	0.2
Y. pseudotuberculosis		1	17	1.6
		2	1	0.1
		NT	9	0.8

Tableau 5. Aperçu des différentes Yersinia spp. non pathogènes identifiées, 2022. NT, non typifiable par autoagglutination.

Espèce	Biotype	Serotype	N	%
Y. Enterocolitica	1A	NT	374	34.6
		0:8	144	13.3
		0:5,27	60	5.6
		0:9	20	1.9
		0:3	5	0.5
Y. frederiksenii			42	3.9
Y. bercovieri			18	1.7
Y. mollaretii			6	0.6
Y. kristensenii/Y.aleksiciae			8	0.7
Y. intermedia			12	1.1
Y. kristensenii			1	0.1
Y. massiliensis			3	0.3
Y. rohdei			7	0.6
Y. species			11	1.0

3.4. RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE

Un aperçu de la distribution géographique des yersinioses pathogènes pour l'homme est présenté dans la Figure 4. En 2022, la majorité des souches (74,4%) provenaient de Flandre, soit une augmentation de 10% par rapport à 2021; les patients wallons et bruxellois représentaient respectivement 19,0% et 6,5% des souches. Au niveau des districts individuels (Figure 4), les incidences les plus élevées ont été mesurées à Tielt (13 cas/10⁵ résidents) et à Ypres (10,4 cas/10⁵ résidents).

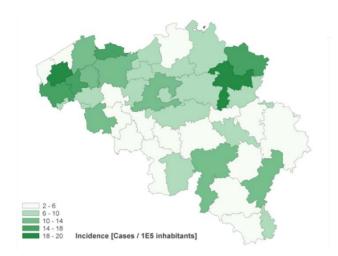


Figure 4. Incidence des échantillons de Yersinia reçus par district. Représentés pour 100 000 habitants.

3.5. RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

La recommandation actuelle pour le traitement de la Yersiniose est la ciprofloxacine et la lévofloxacine (en première ligne), et la doxycycline, le TMP-SX, le céfotaxime, le ceftriaxone, le ceftazidime ou le céfépime (en deuxième ligne).

Bien que la sensibilité aux antibiotiques varie d'un sérogroupe à l'autre, Y. enterolitica est généralement sensible aux aminosides, au cotrimoxazole, au chloramphénicol, à la tétracycline, aux céphalosporines de troisième génération et aux fluoroquinolones. Les souches de Y. pseudotuberculosis sont également pan-sensibles aux antibiotiques actuellement utilisés, bien que l'espèce soit intrinsèquement résistante à la polymixine B/colistine.

En 2022, le profil de résistance a été déterminé pour une sélection aléatoire de souches pathogènes de Y. enterolitica (n=73) et de Y. pseudotuberculosis (n=14), et les résultats sont présentés dans le tableau 5. Pour refléter la prévalence belge des différents biotypes, nous avons sélectionné des souches du biotype 4/O:3 (n=64), 2/O:9 (n=4), 2/NT (n=4) et 2/O:8 (n=1).

Tableau 6. Non-susceptibilité globale (%) des souches pathogènes de Y. enterolitica (YERSENT) et Y. pseudotuberculosis (YERSPS) en Belgique. Voir le tableau 2 pour la signification des abréviations. Les seuils de résistance à la CHL, à l'AZM, à la SMX et à la TGC ont été fixés à 8 μg/ml, 16 μg/ml, 256 μg/ml et 1 μg/ml, respectivement, sur la base des valeurs ECOFF.

Classe	Antibiotique	YERENT	YERSPS
B-lactams	AMPICILLINE	91.7	0.0
	CEFOTAXIME	1.4	0.0
	CEFTAZIDIME	1.4	7.6
	MEROPENEM	0.0	0.0

	ERTAPENEM	0.0	0.0
Protein	CHLORAMPHENICOL	16.4	7.6
synthesis	GENTAMICINE	0.0	0.0
inhibitors	TETRACYCLINE	5.4	0.0
	TIGECYCLINE	0.0	0.0
	AZYTHROMYCINE	0.0	0.0
Gyrase	CIPROFLOXACINE	0.0	0.0
inhibitors			
Cell wall	COLISTINE	0.0	100
inhibitor			
Folate	SULFA-	16.4	0.0
Synthesis	METHOXAZOLE		
	TRIMETHOPRIM	0.0	0.0

En 2022, les Yersinia spp. pathogènes restent généralement très sensibles aux antibiotiques actuellement utilisés. La résistance aux générations antérieures de β-lactamines (91 % en 2022) est liée à l'expression différentielle de deux gènes codés naturellement blaA (β-lactamase de classe A, exprimée de manière constitutive), et blaB β-lactamase de type AmpC, inductible), qui détermine le niveau et le spectre de résistance aux β-lactamines . En 2022, 5 isolats présentant une sensibilité réduite à la ciprofloxacine (CMI≥0,25 μg/ml) ont été observés, tous appartenant au biotype 4/O:3 de Y. enterocolitica. Un échantillon du biotype 2/O9 était résistant aux céphalosporines indicatrices et porte probablement un gène BLSE.

CONTACT

Wesley Mattheus • Wesley.Mattheus@sciensano.be • T +32 (0)2 373 32 24

QUESTIONS, REMARQUES OU PLUS D'INFORMATIONS:

WWW.SCIENSANO.BE

Sciensano • Rue Juliette Wytsman 14 • 1050 Bruxelles • Belgique • T + 32 2 642 51 11 • T pers + 32 2 642 54 20 • info@sciensano.be • www.sciensano.be