



Diversité génomique de Salmonella Derby en France

Yann Sévellec

► To cite this version:

Yann Sévellec. Diversité génomique de Salmonella Derby en France. Microbiologie et Parasitologie. Institut agronomique, vétérinaire et forestier de France, 2018. Français. NNT: 2018IAVF0022 . tel-03392473

HAL Id: tel-03392473

<https://pastel.hal.science/tel-03392473>

Submitted on 21 Oct 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

NNT: 2018IAVF0022

THESE DE DOCTORAT

préparée à l'Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement
(AgroParisTech)

pour obtenir le grade de

Docteur de l'Institut agronomique vétérinaire et forestier de France

Spécialité : Microbiologie

École doctorale n° 581

Agriculture, alimentation, biologie, environnement et santé (ABIES)

par

Yann SÉVELLEC

Diversité génomique de *Salmonella* Derby en France

Directeur de thèse : Michel-Yves MISTOU

Thèse présentée et soutenue à Maisons-Alfort, le 26 novembre 2018

Composition du jury :

M. Pierre COLIN, Professeur émérite, UBO Brest

M. Philippe VELGE, Directeur de Recherche, INRA, Nouzilly

M. Pierre NICOLAS, Directeur de Recherche, INRA, Jouy-en-Josas

Mme Annaëlle KEROUANTON, Chargée de projet, ANSES Ploufragan

M. Philippe GLASER, Chercheur Responsable de structure, Institut Pasteur, Paris

Mme Sabrina CADEL-SIX, Chargée de projet, ANSES, Maisons-Alfort

M. Michel-Yves MISTOU, Directeur de Recherche, ANSES, Maisons-Alfort

Président

Rapporteur

Rapporteur

Examinatrice

Examineur

Examinatrice

Directeur de thèse

Unité *Salmonella* et *Listeria*, LSAL

ANSES

14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort

Table des matières

TABLE DES MATIERES	2
REMERCIEMENTS	8
ABREVIATIONS.....	10
INTRODUCTION.....	12
1 DU PORTAGE SAIN A LA FIEVRE TYPHOÏDE : <i>SALMONELLA</i>, UNE ENTEROBACTERIE UBIQUITAIRE	12
1.1 Description et nomenclature de <i>Salmonella</i>	12
1.1.1 Historique de la découverte des salmonelles	12
1.1.2 Nomenclature.....	12
<i>Figure 1 Taxonomie des espèces et sous espèces de Salmonella. (MacKenzie et al., 2017).</i>	13
1.1.3 Caractéristiques biochimiques	13
<i>Tableau 1. Caractéristiques métaboliques de Salmonella.</i>	<i>14</i>
<i>Tableau 2 : caractéristiques biochimiques des différentes espèces et sous-espèces du genre Salmonella (Grimont and Weill, 2007).</i>	<i>15</i>
1.2 Epidémiologie de <i>Salmonella</i> – problématique de sécurité des aliments	15
<i>Figure 2 : Mécanisme d'invasion cellulaire de Salmonella enterica (Winter and Baumler, 2011).</i>	<i>16</i>
1.2.1 Transmission et facteur de risques.....	16
1.2.2 Fièvre typhoïde.....	17
<i>Figure 3. Mécanisme d'infection de Salmonella Typhi (Kaur and Jain, 2012).</i>	<i>18</i>
1.2.3 <i>Salmonella</i> non typhiques (SNT)	19
<i>Figure 4. Nombre de cas confirmés reportés et taux de notification des zoonoses humaines dans l'Union Européenne en 2016 (EFSA, 2017).</i>	<i>20</i>
1.2.4 Résistances aux antibiotiques	21
1.2.5 Sécurité des aliments et <i>Salmonella</i>	22
<i>Tableau 3 : Tableau résumant les études de « source-attribution » des infections à Salmonella dans le monde (Pires et al., 2014).</i>	<i>23</i>
1.2.6 Structure du dispositif français pour la surveillance de <i>Salmonella</i> isolée de la chaîne agro-alimentaire	25
1.3 Méthode de caractérisation – problématique de source-attribution	26
1.3.1 Sérotypage.....	27
1.3.2 Electrophorèse sur gel à champs pulsé - PFGE.....	28

1.3.3	Analyse Multi-Locus des Variants en tandem – MLVA.....	30
1.3.4	Typage de Séquence Multi-Locus – MLST	31
1.3.5	CRISPR.....	32
	<i>Figure 9 : Structure des locus CRISPR/cas chez Salmonella (Shariat and Dudley, 2014).</i>	32
1.3.6	Séquençage du génome complet – WGS (Whole Genome Sequencing)	33
	<i>Figure 10 : Principe du séquençage Illumina (Brown, 2016).</i>	34
1.4	Les facteurs moléculaires permettant l'infection entérique et systémique par <i>Salmonella</i>	36
1.4.1	Colonisation de la lumière intestinale.....	36
	<i>Figure 11 : Stratégies employées par Salmonella pour entrer en compétition avec le microbiote intestinal (Khan, 2014).</i>	37
	<i>Figure 12 : Principaux effecteurs du T3SS-1 de Salmonella impliqués dans l'induction de l'inflammation chez l'hôte (Ramos-Morales, 2012).</i>	38
	<i>Figure 13 : Activation et interaction des systèmes de régulation à deux composants PhoQP et PmrAB (Gunn, 2008).</i>	39
	<i>Figure 14 : Représentation du T6SS encodé par le SPI-6 (Sana et al., 2016).</i>	40
1.4.2	Adhésion cellulaire	40
	<i>Figure 15 : Organisation génétique des opérons et des gènes susceptibles d'encoder pour des adhésines chez S. Typhimurium (Hansmeier et al., 2017).</i>	41
1.4.2.1	Fimbriae.....	41
	<i>Figure 16 : Structure des fimbriae de type 1 (anonymous, 2018).</i>	42
1.4.2.2	Facteurs d'adhésion non fimbriale	43
1.4.3	Invasion cellulaire.....	44
1.4.3.1	Rôle du SPI-1.....	44
	<i>Figure 17. Détail des gènes portés par le SPI-1 et de leurs fonctions (Kosarewicz et al., 2012).</i>	44
	<i>Figure 18. Structure et mécanisme d'action du T3SS-1 (Costa et al., 2015).</i>	45
	<i>Figure 19 : Mécanisme d'invasion cellulaire provoqué par le SPI-1 (Srikanth et al., 2011).</i>	46
1.4.3.2	Mécanisme zipper.....	46
	<i>Figure 20 : Différence entre les mécanisme trigger et zipper chez Salmonella (Velge et al., 2012a)...</i>	47
1.4.3.3	Invasine PagN.	48
1.4.4	Survie et multiplication dans la cellule hôte.	48
	<i>Figure 21 : Structure génétique du SPI-2 et organisation du T3SS-2 (Kuhle and Hensel, 2004).</i>	49
	<i>Figure 22. Formation et évolution de la Vacuole Contenant les Salmonella (Ramos-Morales, 2012).</i>	50
1.4.5	Induction de la mort cellulaire	51
	<i>Figure 23. Mécanismes d'apoptose et de pyroptose induits par Salmonella (Fink and Cookson, 2007).</i>	52
1.5	Spécificité à l'hôte	53

1.5.1	Spéciation de <i>Salmonella</i>	53
	<i>Figure 24 : Modèle pour l'évolution de la virulence du genre Salmonella (Baumler et al., 1998).</i>	54
	<i>Figure 25 : Spécialisation chez Salmonella (Feasey et al., 2012).</i>	55
1.5.2	Facteurs de spécificité à l'hôte.....	55
2	SALMONELLA DERBY, UN SEROVAR EMERGENT ENCORE MECONNU	57
2.1	Découverte et épidémies notables	57
2.2	Salmonella Derby dans les filières alimentaires	57
2.2.1	Description des filières alimentaires critiques en France.	58
2.2.1.1	Secteur porcin.....	58
	<i>Figure 26: Répartition de la production porcine en France (CGAAER, 2012).</i>	59
	<i>Figure 27 : Chiffres clés de la filière Porc en France (IFIP, 2014).</i>	60
2.2.1.2	Secteur volailles.....	60
	<i>Figure 28 : Chiffres clés pour la filière volailles de chair (ITAVI, 2015).</i>	61
	<i>Figure 29: Répartition de la production avicole française (ITAVI, 2013).</i>	62
2.3	Impact sur la santé publique et prévalence.....	62
2.4	Etudes de typage du sérovar Derby	63
	<i>Figure 30 : Dendrogramme UPGMA des profils PFGE de 82 souches de S. Derby isolée en Allemagne entre 2006 et 2008 (Hauser et al., 2011).</i>	64
	<i>Figure 31 : Dendrogramme représentant les 42 profils PFGE obtenus sur 170 souches de S. Derby isolées en France entre 2006 et 2007 (Kerouanton et al., 2013).</i>	65
	PROBLEMATIQUE	67
	DIVERSITE GENETIQUE DE S. DERBY DE LA FOURCHE A LA FOURCHETTE ET ETUDE DE SA PATHOGENICITE.	67
	RESULTATS	70
1	SELECTION DE LA COLLECTION.	70
1.1	Sélection des souches alimentaires.....	70
1.1.1	Souches du secteur porcin	71
	<i>Figure 32: Répartition des souches de S. Derby collectées par le réseau Salmonella pour le secteur porcin en 2014-2015.</i>	71
	<i>Tableau 5 : Plan de sélection pour les souches issue du secteur porcin.</i>	72
1.1.2	Souches du secteur avicole	73
	<i>Figure 33: Correspondance entre les souches de S. Derby sélectionnées et les chiffres de production du secteur avicole en France en 2014-2015 (TEC = tonne équivalent carcasse) (ITAVI, 2016).</i>	73
	<i>Figure 34 : Répartition des souches de S. Derby collectées par le réseau Salmonella pour le secteur avicole.</i>	74
	<i>Tableau 6: Plan de sélection pour les souches du secteur volaille.</i>	75

1.2	Souches humaines.....	76
	<i>Figure 35 : Répartition des cas cliniques recensés par le CNR de S. Derby par région (période 2014-2015) au regard de la densité de population française.</i>	76
2	PUBLICATION I : POLYPHYLETIC NATURE OF <i>SALMONELLA</i> ENTERICA SEROTYPE DERBY AND LINEAGE-SPECIFIC HOST-ASSOCIATION REVEALED BY GENOME-WIDE ANALYSIS.....	77
2.1	Résumé.....	77
	<i>Tableau 8. Liste des sérovars utilisés pour l'analyse MLST et nombre des génomes correspondants.</i>	77
	<i>Figure 36 : Comparaison des profils MLST des 25 sérovars les plus fréquemment isolés en Europe. .</i>	78
2.2	Publication.....	79
2.2.1	Supplementary material.....	93
	<i>Supplementary table 1: Strains information: Epidata, sample ID, NCBI accession number, genome deep coverage, and breadth.....</i>	93
	<i>Supplementary figure 1 : Geographical selection plan for the strains isolated from the pork and poultry sectors.....</i>	102
	<i>Supplementary table 2: List of the genomes from different serotypes of Salmonella enterica subsp. enterica used for the FimH sequence analysis. Epidata and sample ID.</i>	103
	<i>Supplementary table 3: List of strains presenting antimicrobial resistance genes.....</i>	105
	<i>Supplementary figure 2: Results of the in silico PCR for the SPI-23 into S. Derby collection.</i>	107
3	PUBLICATION II : COMPLETE GENOME FOR <i>SALMONELLA</i> ENTERICA SUBSP. ENTERICA SEROTYPE DERBY ASSOCIATED WITH THE PORK SECTOR IN FRANCE.	108
3.1	Résumé.....	108
3.2	Publication.....	108
4	PUBLICATION III : PHYLOGENOMIC ANALYSIS OF <i>SALMONELLA</i> ENTERICA SUBSP. ENTERICA SEROVAR DERBY CIRCULATING IN EUROPE, ASIA AND THE UNITED STATES AND ASSOCIATED WITH THE POULTRY SECTOR.	113
4.1	Résumé.....	113
4.2	Publication.....	113
	<i>Figure 1. Phylogenetic reconstruction based on SNPs including strains of the ST71 profile and their geographic distributions and origins.....</i>	116
	<i>Figure 2. AMR and phage profiles according to the phylogeny.</i>	117
4.2.1	Supplementary material.....	126
	<i>Supplementary Table 1. S. Derby genomes information analyzed in this study.</i>	126
	<i>Supplementary table 2. S. Derby antimicrobial resistance genes</i>	128
	<i>Supplementary table 3. S. Derby's phages.....</i>	131
5	PUBLICATION IV : SOURCE-ATTRIBUTION STUDY OF S. DERBY SPORADIC CASES IN FRANCE (EN PREPARATION).....	134

5.1	Résumé.....	134
5.2	Publication.....	134
5.2.1	Introduction.....	135
5.2.2	Material and methods.....	136
5.2.3	Results	138
	<i>Figure 1: Phylogenetic tree of the French Salmonella Derby human and non-human isolates.....</i>	<i>138</i>
5.2.4	Discussion	139
6	PUBLICATION V: INVESTIGATION OF THE HOST SPECIFICITY OF S. DERBY. (EN PRÉPARATION).....	141
6.1	Résumé.....	141
6.2	Publication.....	142
6.2.1	Introduction.....	142
6.2.2	Material and Methods.....	143
6.2.3	Results	145
	<i>Figure 1: Differences in adhesion, invasion and multiplication capacity of the ST40, ST71 and ST682 lineages of S. Derby on human (HT 29), Gallus gallus (LMH) and pig (IPEC-1) epithelial cells.</i>	<i>146</i>
	<i>Table 1: Presence of known SPI in the different S. Derby lineages.....</i>	<i>148</i>
	<i>Table 2: Presence of known virulence factors in the different S. Derby lineages.</i>	<i>150</i>
	<i>Table 3: Identity Variation between the lineages of S. Derby in several virulence related gene.</i>	<i>151</i>
	<i>Figure 2: general function of lineages specific genes.</i>	<i>152</i>
6.2.4	Discussion	153
	DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION	156
	SALMONELLA DERBY : UN SEROVAR POLYPHYLETIQUE.....	156
	<i>Figure 37. Exemple de source-attribution sur un cluster du clade 1 du ST40.....</i>	<i>159</i>
	FICHE ASSURANCE QUALITE	167
	REFERENCES.....	172
	ANNEXES	190
	Annexe 1 : Donnée épidémiologiques des souches de la collection.....	191
	Annexe 2 : Collection de génomes pour la publication : “ Source-attribution study of S. Derby in France” (en préparation)	210
	Annexe 3 : Collection pour l’analyse pan-génome des souches françaises de S. Derby.	234
	Annexe 4 : références utilisée pour les différents SPI	244
	Annexe 5 : résultats de l’invasion cellulaire sur les souches du ST71.....	245

Annexe 6: Classement fonctionnel des gènes unique aux différentes lignées de S. Derby.	246
Annexe 7 : Différences observées au locus correspondant au SPI-8.	247
Annexe 8: réparation géographique des souches de la collection	248

Remerciements

Je tiens à remercier vivement, l'ANSES et Agroparistech de m'avoir donné l'opportunité de conduire cette thèse.

Mon directeur de thèse, **Michel-Yves Mistou** pour m'avoir proposé ce sujet passionnant, pour son accueil au sein de son département et pour sa confiance et son soutien tout au long de mes trois années de thèses.

Je tiens à remercier tout particulièrement mon encadrante, **Sabrina Cadel-Six** pour m'avoir appris le métier de chercheur, et m'avoir transmis sa passion pour la recherche. Je te remercie pour ton aide et tes conseils et ta disponibilité tout au long de cette thèse.

Je tiens à remercier les membres de mon jury : mes rapporteurs, **M. Philippe Velge** et **M. Pierre Nicolas** pour leur lecture de ce manuscrit ainsi que mes examinateurs, **Mme. Annaelle Kerouanton** et **M. Philippe Glaser** et mon président de jury, **M. Pierre Collin** pour m'avoir fait l'honneur de juger mes travaux et de participer à mon jury.

Je tiens à remercier également les membres de mon comité de thèse, **M. Renaud Lailier**, **M. Éric Duchaud**, **M. Malorny Burkhard** et **Mme Martine Denis** pour leur précieux conseil et leur participation à la construction de cette thèse et plus particulièrement **M. Olivier Grepinet**, **Mme. Carole Feurer** et **M. Simon Le Hello** pour leur participation active à ce projet de recherche.

Je souhaite remercier l'Institut Pasteur pour leur implication dans ce projet qui n'aurait pas pu aboutir sans eux. Et l'équipe « Signalisation, portage et virulence bactérienne » de l'INRA de Nouzilly plus particulièrement **Isabelle Virlogeux-Payant** et **Sylvie Roche** pour leur collaboration qui m'a permis de faire faire des pas de géant à cette thèse.

Je remercie également toute l'équipe *Salmonella Listeria E. Coli* du Laboratoire de Sécurité des Aliments, plus particulièrement **Benjamin Felix** et **Emeline Cherchame** pour m'avoir tout appris sur Bionumerics ses conseils et surtout Marie-Léone Vignaud qui m'a beaucoup appris au laboratoire et grâce à qui l'extraction d'Adn n'a plus de secret pour moi.

Je remercie également **Nicolas Radomski** et **Arnaud Felten** de l'unité GAMeR pour leur aide et leur conseil durant cette thèse, vous m'avez beaucoup appris.

Je remercie **Laurent Guillier** pour son aide dès le tout début de cette thèse pour construire une collection cohérente et tout au long de cette thèse pour tirer le meilleur parti de mes résultats.

Je remercie **Sophie Granier** pour tout ce qu'elle m'a appris sur le métier de chercheur, pour ses nombreuses relectures, ses conseils et ses encouragements.

Je remercie enfin toute la communauté de la république très démocratique de l'open-space dont je suis un ressortissant depuis deux ans et demi. **Meryl Villa-Nova, Barthelemy Julien, Sabine Delannoy, Bérivan Boran** et **Kevin Durimel** qui m'avez accompagné tout ce temps et plus particulièrement notre bien aimé président : **Abakabir Mahamat Abdelrahim** pour les longues discussions sur les vicissitudes de la vie de doctorant.

Je remercie nos ressortissant de la dernière heure, **Kévin La, Hajar Hachad, Emilie Dauvergne, Siham Ayachi, Pauline Barbet**, et surtout **Katia Hadjab** et **Julien Pichon** qui ont fait en sorte que l'écriture de ce mémoire se fasse dans la bonne humeur.

Je remercie également **Samuel Lebourgeois** pour les pauses qu'il me force presque à presque, pour les longues conversations dans la cours et pendant les formations et pour le partage quant au déroulement des thèses.

Enfin, je remercie ma famille, et surtout ma femme **Stéphanie** pour son soutien et son amour et surtout pour m'avoir toujours poussé à donner le meilleur de moi-même et pour tous ses précieux conseils pour ce qui est de la communication orale.

Abréviations

ADN: Acide désoxyribonucléique

AFNOR : Association Française de Normalisation

ANSES: Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail

Aw : Activité de l'eau

CDS : *Coding DNA Sequence* ou Séquence Codante

CNR : Centre National de Référence

DALY : *Disability Adjusted Life Years* ou espérance de vie corrigée de l'incapacité

EFSA/ European Food Safety Agency ou Agence de Sécurité Alimentaire Européenne

Kgec : Kilogramme équivalent carcasse

LNR : Laboratoire de Référence

LPS : Lipopolysaccharide

MAPK : *Mitogen Activated Protein Kinase* ou Protéine Kinase activée par le mitogène

MLVA : *MultiLocus VNTR Analysis* ou Analyse Multi-Locus des variants en tandem

ONPG : orthonitrophényl- β -D-galactopyranoside

ORF : *Open Reading Frame* ou cadre de lecture ouvert

Pb : Paire de bases

SISTR : *Salmonella In Silico Typing Ressource* ou Ressource de typage de *Salmonella* in silico

SIG : *Salmonella* Genomic Island ou Ilot génomique de *Salmonella*

SNT : *Salmonella* non Typhoïdes

SPI : *Salmonella Pathogenicity Island* ou Ilot de pathogénicité de *Salmonella*

TEC : Tonne Équivalent Carcasse

TIAC : Toxi-Infection Alimentaire Collective

T3SS : Système de Sécrétion de Type 3

- T3SS-1 : Système de Sécrétion de Type 3 sécrété par le SPI-1

- T3SS-2 : Système de Sécrétion de Type 3 sécrété par le SPI-2

T6SS : Système de sécrétion de type 6

USDA : *United States Department of Agriculture* - Département d'Agriculture des Etats Unis

Vi : antigène capsulaire

VNTR : *Variant Number Tandem Repeats* ou séquence répétées en tandem

WGS : *Whole Genome Sequencing* ou séquençage du génome complet

Introduction

1 Du portage sain à la fièvre typhoïde : *Salmonella*, une entérobactérie ubiquitaire

1.1 Description et nomenclature de *Salmonella*

1.1.1 Historique de la découverte des salmonelles

Le bacille connu sous le nom de *Salmonella* a été décrit pour la première fois en 1879 par l'allemand Karl Joseph Eberth dans la rate et les ganglions lymphatiques de patients atteints de la fièvre typhoïde (Marineli et al., 2013). En 1884 le bacille responsable du choléra porcin est isolé, depuis l'intestin d'un cochon mort, par Théobald Smith, assistant de recherche sous la supervision de Daniel E Salmon, vétérinaire responsable des recherches de l'USDA aux Etats Unis. Le bactériologiste français Liengière donne le nom au genre « *Salmonella* » en hommage à Daniel E. Salmon en 1900 (Evangelopoulou et al., 2018). En 1934, a lieu le premier comité de nomenclature de *Salmonella* dirigé par le danois F. Kauffman qui fixe les premières tentatives de nomenclature pour ce pathogène (Evangelopoulou et al., 2018). A l'origine les salmonelles sont différenciées par la pathologie dont elles sont la cause, expliquant la distinction entre les salmonelles typhoïdiques et les salmonelles non-typhoïdiques, distinction encore utilisée de nos jours (Kirk et al., 2015; Evangelopoulou et al., 2018).

1.1.2 Nomenclature

Le genre *Salmonella* peut être divisé en deux espèces : *Salmonella bongori*, associé essentiellement au système digestif des animaux à sang froid (Fookes et al., 2011), et *Salmonella enterica*. *Salmonella enterica* peut être divisée en 6 sous-espèces : *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae*, *S. enterica* subsp. *Indica* (**figure 1**). Parmi les sous-espèces de *Salmonella enterica* ; *Salmonella enterica* subsp. *enterica* regroupe 60 % des sérovars de *Salmonella* et représente 95 % des isolats issus de l'humain et des animaux domestiques au niveau mondial. (MacKenzie et al., 2017).

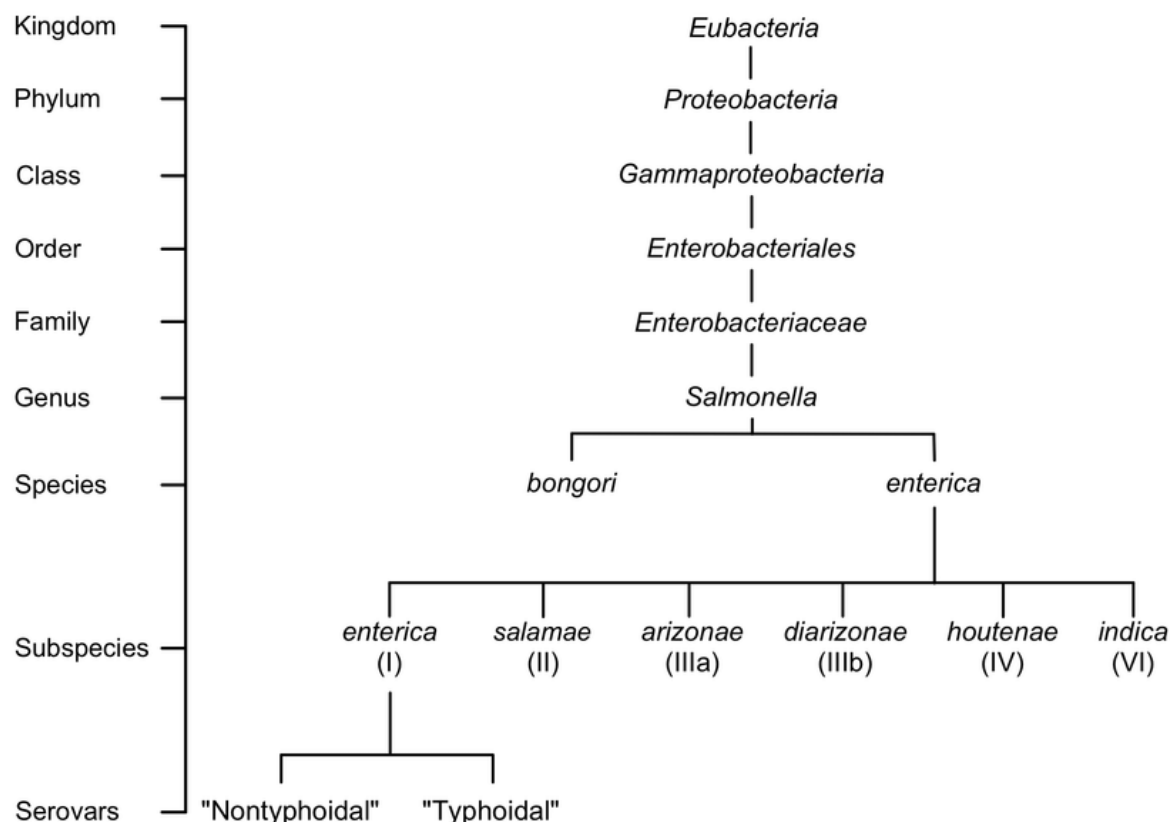


Figure 1 Taxonomie des espèces et sous espèces de *Salmonella*. (MacKenzie et al., 2017).

Selon le schéma de Kaufmann White le Minor qui décrit la méthode de typage antigénique de *Salmonella* (voir chap. 1,3), plus de 2 600 sérovars ayant une formule antigénique de surface différentes ont été décrites (Tindall et al., 2005; Grimont and Weill, 2007). Dans ce schéma sont pris en considération les antigènes somatiques (O), les antigènes flagellaires (H) et les antigènes de virulence (Vi), plus rares, qui n'ont été détectés que pour les sérovars Typhi, Paratyphi C et Dublin.

Les noms des différents sérovars de *Salmonella* reflètent leur caractère pathogène (*Salmonella* Typhi, Typhisuis, Abortusovis, Typhimurium), leur spécificité à un hôte donné (*S. Gallinarum*) ou encore leur lieu d'isolement (*S. Panama*, *Orianenburg*, *Derby* etc.). Les sérovars les plus récents sont systématiquement nommés d'après leur lieu d'isolement (Brenner et al., 2000).

1.1.3 Caractéristiques biochimiques

Les Salmonelles sont des bacilles à coloration de Gram négative appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Ce germe ubiquitaire est un hôte habituel du système digestif des vertébrés mais les salmonelles sont également capables de survivre dans de nombreux environnements tel que les sols, l'eau, les végétaux ou les aliments pour animaux (Andino and Hanning, 2015). Les salmonelles sont aéro-anaérobies facultatives. Elles présentent une

gamme de température allant de 2 à 57 °C avec un optimum de croissance à 37 °C. Elles sont généralement détruites par toute température dépassant les 70 °C. Elles se multiplient à un pH compris entre 3.8 et 9.5 avec un optimum de croissance à pH=7. Enfin, une activité de l'eau (aw) de 0.94 (équivalent à une concentration en NaCl de 10.34 g/100 mL) est suffisante pour permettre leur croissance (Korsak et al., 2004). Les salmonelles sont capables de réduire les nitrates, de fermenter le glucose mais ne possèdent pas d'oxydase. Elles peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone. On peut distinguer les salmonelles des autres entérobactéries par leur incapacité à fermenter le lactose, le saccharose, le 2-cétogluconate, l'inositol, l'adonitol et l'amygdaline. *Salmonella* se distingue également par l'absence d'uréase et de tryptophane désaminase, par la présence d'une tétrathionate réductase, d'une thiosulfate réductase et, pour la plupart des souches, par la décarboxylation de la lysine et de l'ornithine (voir **tableau 1**). Il faut noter que certains sérovars peuvent présenter des divergences importantes à ces caractères métaboliques mais qu'ils constituent des exceptions.

Tableau 1. Caractéristiques métaboliques de *Salmonella*.

(d : variable en fonction des souches). * plus de 75% des souches, sauf *diarizonae*

	Arabinose	Esculine	Inositol	Lactose	Sorbitol	Sucrose	Citrate	Arginine decarboxylase	Gelatinase	H ₂ S	Indole	Lysine decarboxylase	Ornithine Decarboxylase	Urease	Glucose
<i>Salmonella</i>	+	d	-	- *	+	-	+	+	d	+	-	+	+	-	+

Les espèces et sous-espèces de *Salmonella* se distinguent par 11 caractéristiques biochimiques détaillées dans le **tableau 2** (Grimont and Weill, 2007). Les différentes sous – espèces de *Salmonella* présentent des différences importantes dans la métabolisation des dérivés du carbone et dans leur activité enzymatique. Ainsi, *Salmonella* *diarizonae* est capable de fermenter le lactose contrairement aux autres salmonelles.

Tableau 2 : caractéristiques biochimiques des différentes espèces et sous-espèces du genre *Salmonella* (Grimont and Weill, 2007).

(ONPG : orthonitrophényl- β -D-galactopyranoside)

Species	<i>S. enterica</i>					<i>S. bongori</i>	
Subspecies	<i>enterica</i>	<i>salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houtenae</i>	<i>indica</i>	
Characters							
Dulcitol	+	+	–	–	–	d	+
ONPG (2 h)	–	–	+	+	–	d	+
Malonate	–	+	+	+	–	–	–
Gelatinase	–	+	+	+	+	+	–
Sorbitol	+	+	+	+	+	–	+
Growth with KCN	–	–	–	–	+	–	+
L(+)-tartrate ^(a)	+	–	–	–	–	–	–
Galacturonate	–	+	–	+	+	+	+
γ-glutamyltransferase	+ ^(*)	+	–	+	+	+	+
β-glucuronidase	d	d	–	+	–	d	–
Mucate	+	+	+	– (70%)	–	+	+
Salicine	–	–	–	–	+	–	–
Lactose	–	–	– (75%)	+ (75%)	–	d	–
Lysed by phage O1	+	+	–	+	–	+	d
Usual habitat	Warm-blooded animals		Cold-blooded animals and environment				

(a) = *d*-tartrate.

(*) = Typhimurium d, Dublin –.

+

–

d

= 90 % or more positive reactions.

= 90 % or more negative reactions.

= different reactions given by different serovars.

1.2 Épidémiologie de *Salmonella* – problématique de sécurité des aliments

Salmonella enterica est un agent pathogène entérique invasif capable de coloniser l'intestin grêle de son hôte et de s'y multiplier. La bactérie est capable de pénétrer dans les cellules intestinales en provoquant une invagination de la membrane cellulaire (**figure 2**). Les cellules épithéliales infectées vont être tuées par apoptose entraînant une inflammation et une gastro-entérite aiguë. L'évolution de la maladie varie ensuite en fonction du sérovar. Les sérovares Typhi et Paratyphi sont ainsi responsables de la fièvre typhoïde (voir paragraphe 1.1.2). D'autres sérovares hautement adaptés à un hôte particulier causent des pathologies spécifiques de certaines espèces. Ainsi, *S. Typhisuis* est, par exemple, responsable de la fièvre typhoïde chez le porc tandis que *S. Choleraesuis* cause le choléra porcin, *S. Pullorum* est un

agent pathogène très virulent pour le poulet. Les autres sérovars plus ubiquitaires, causent, chez l'humain, des entérites auto-limitatives.

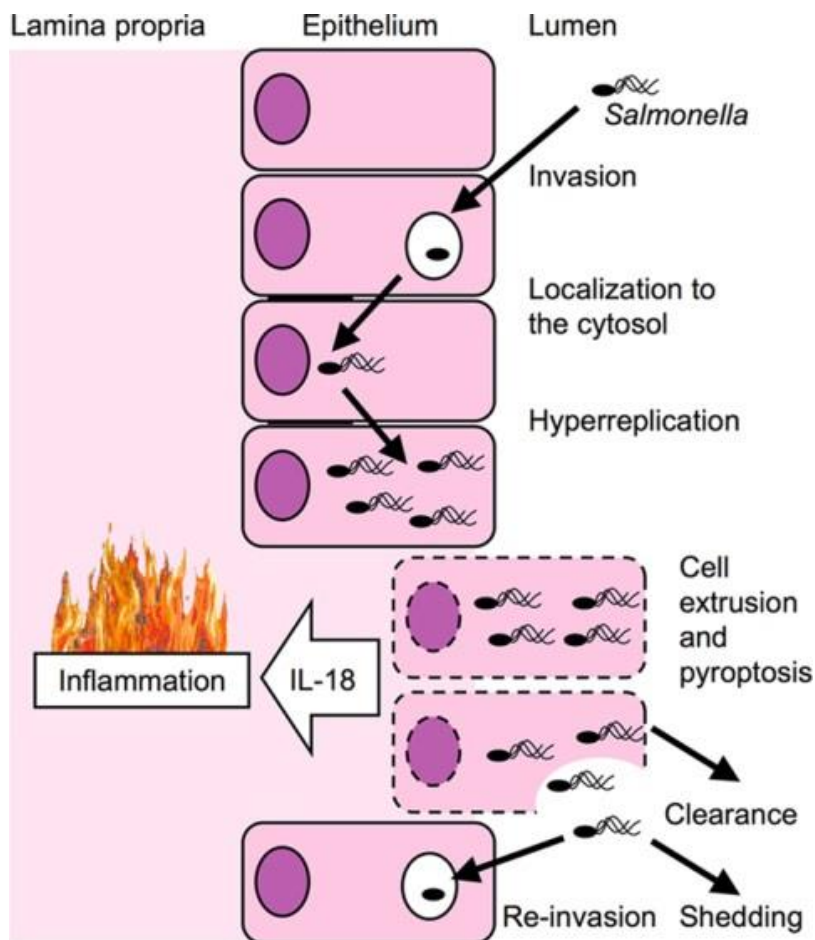


Figure 2 : Mécanisme d'invasion cellulaire de *Salmonella enterica* (Winter and Baumler, 2011).

Salmonella accompagne l'humanité depuis l'Antiquité. La célèbre peste d'Athènes en 420 av JC qui a tué un tiers de la population de la cité est suspectée d'avoir été causée par une souche de *Salmonella* Typhi dont l'ADN a été retrouvé dans un charnier datant de cette époque (Papagrigorakis et al., 2008). Des éléments d'ADN appartenant à une variante de paratyphi C ont également été isolés dans une tombe associée aux morts de l'épidémie de Cocoliztli causant la mort de 5 à 15 millions de natifs au Mexique entre 1545 et 1548 (Acuna-Soto et al., 2002; Vågene et al., 2018).

1.2.1 Transmission et facteur de risques

Les *Salmonella* sont des agents pathogènes intestinaux capables de survivre dans l'eau et le sol pendant plusieurs mois à la suite d'une contamination fécale (Andino and Hanning, 2015). Leur résistance à des conditions environnementales extrêmes et leurs faibles besoins nutritifs expliquent leur caractère ubiquitaire (D'Aoust, 1994).

La grande majorité (95 %) des infections à *Salmonella* chez l'humain sont dues à la consommation d'aliments contaminés, tels que la viande, les œufs, le lait ou les produits de la mer (Foley and Lynne, 2008), mais de nombreux exemples démontrent la capacité de *Salmonella* à :

- survivre et croître dans les plantes et les produits végétaux (Brandl, 2006) ;
- contaminer l'humain par la consommation d'eau contaminée (Palmera-Suarez et al., 2007) ;
- infecter l'humain par contact avec des animaux porteurs de la bactérie (Swanson et al., 2007; Harris et al., 2009).

Les cas de contamination interhumaine sont un facteur de risque important (D'Aoust, 1991) ; certaines *Salmonella* pouvant rester présentes chez un hôte humain plus d'un an après la contamination initiale. Le cas le plus célèbre étant celui de Marie Malone une cuisinière new yorkaise, première porteuse saine de *Salmonella* Typhi identifiée, soupçonnée d'avoir provoqué des centaines de cas de fièvre typhoïde à New York, qui a dû être placée en quarantaine toute la fin de sa vie (Marineli et al., 2013).

1.2.2 Fièvre typhoïde

La fièvre typhoïde est causée par un nombre limité de serovars (*S. Typhi*, Paratyphi A, B et C et Sendai) hautement adaptés à l'humain. La divergence de *Salmonella* Typhi vis-à-vis de *S. Typhimurium* est estimée avoir eu lieu il y a 15 000 à 150 000 ans, soit après l'apparition de l'homme moderne et sa diversification d'avec les autres hominidés (Kidgell et al., 2002). Ces sérovars sont exclusivement adaptés à l'humain et la transmission est assurée essentiellement par des contacts avec des malades ou des porteurs chroniques et par la consommation d'eau ou d'aliments contaminés par les fèces de personnes infectées.

Présente dès l'Antiquité, la fièvre typhoïde est une maladie endémique pendant tout le Moyen Age. Très présente en Amérique du nord au 19^{ème} siècle, la fièvre typhoïde est connue pour avoir provoqué plus de 80 000 cas durant la guerre de sécession américaine causant plus de 27 000 morts (Bollet, 2002; Reilly, 2016). Elle ne reculera qu'avec l'apparition des mesures sanitaires modernes notamment la chloration de l'eau et la vaccination dès 1911 (Crump and Mintz, 2010).

De nos jours, on recense 21 millions de cas de fièvre typhoïde par an causant plus de 220 000 décès (CDC, 2016). Il s'agit d'une maladie endémique en Asie, en Afrique et en Amérique du Sud (Pasteur I, 2012) touchant principalement les zones à forte densité de population où la fièvre typhoïde cause des épidémies de grande ampleur (Crump and Mintz, 2010).

La plupart des cas reportés dans les pays riches sont associés à des voyages dans des régions du monde où la fièvre typhoïde est très présente.

Comme l'illustre la **figure 3**, les manifestations cliniques de la fièvre typhoïde sont liées à ses mécanismes d'infection. Après une période d'incubation de 5 à 21 jours, l'invasion de plusieurs cellules de l'hôte provoque une réaction inflammatoire. Celle-ci va déclencher une fièvre gagnant progressivement en intensité et pouvant durer 4 semaines si l'infection n'est pas traitée. La bactérie va infecter les macrophages et se répandre dans le système sanguin et lymphatique jusqu'aux ganglions mésentériques ce qui peut provoquer l'apparition de plusieurs symptômes : à partir de la deuxième semaine, apparition de céphalée, asthénie, anorexie, insomnie, torpeur, splénomégalie, saignements de nez, blanchiment de la langue et douleurs abdominales accompagnée de diarrhée ou de constipation.

La destruction des salmonelles entraîne la libération d'endotoxines pouvant provoquer des hémorragies ou des perforations intestinales. Ces complications peuvent provoquer la mort dans 10 % des cas en l'absence de traitement (Kaur and Jain, 2012).

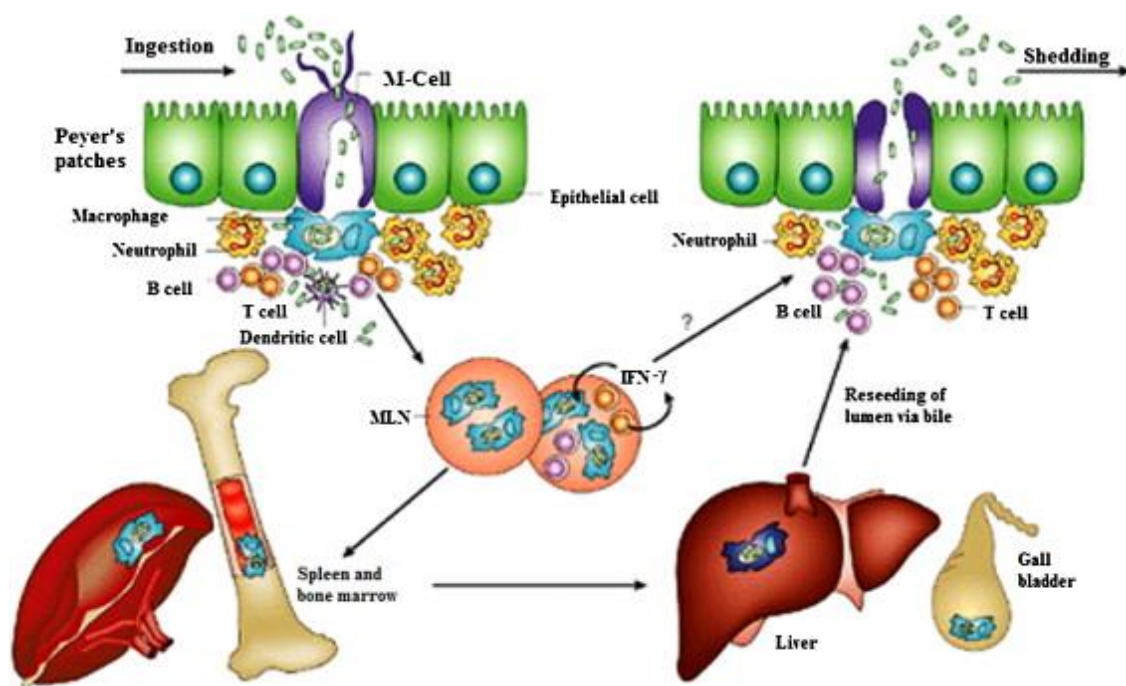


Figure 3. Mécanisme d'infection de *Salmonella Typhi* (Kaur and Jain, 2012).

La bactérie envahit la muqueuse intestinale au niveau des plaques de Peyer par les cellules de type M : des cellules épithéliales spécialisées qui capturent et transmettent les antigènes luminaux au système immunitaire. Il s'ensuit une inflammation qui va mobiliser le système immunitaire de l'hôte et permettre la dissémination de *Salmonella Typhi* dans les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN). La bactérie peut ensuite se répandre dans la moelle osseuse et la rate, puis dans le foie et dans la vésicule biliaire.

1.2.3 *Salmonella* non typhiques (SNT)

La plupart des sérovars de *Salmonella* vont provoquer des gastro-entérites de sévérité variable présentant des symptômes de diarrhée, douleurs abdominales, vomissements, nausées, myalgies, fièvre et céphalées. Dans la plupart des cas, la maladie est auto-limitative et évolue spontanément vers une guérison en 3 à 7 jours. Chez les personnes sensibles (personnes âgées, enfants en bas âge, femmes enceintes) ou des sujets immunodéprimés l'infection peut devenir systémique et provoquer des pathologies plus graves pouvant conduire à la mort.

Les infections à *Salmonella* constituent l'une des 4 causes majeures de gastroentérites dans le monde (WHO, 2018). Une étude de 2010 évalue à 93,8 millions le nombre de cas humains de gastroentérites à *Salmonella* pour 155 000 morts annuellement (Majowicz et al., 2010). *Salmonella* causerait la perte de plus de 4 847 000 années d'espérance de vie corrigée de l'incapacité (DALY), (nombre d'années soustraites à l'espérance de vie de la population mondiale) pour la seule année 2010 (Ao et al., 2015). Les complications dues à une invasion systémique par les *Salmonella* non typhiques (SNT) s'évaluent à 3,4 millions de cas pour plus de 680 000 morts chaque année. Ces cas sont majoritairement retrouvés en Afrique (Ao et al., 2015).

En Europe, les salmonelles sont la seconde cause de gastroentérite après *Campylobacter* avec un total de 94 530 cas confirmés, sur l'ensemble des membres de l'Union Européenne (EFSA, 2017) (voir **figure 4**). Par cas confirmés on entend les cas pour lesquels des prélèvements microbiologiques ont été effectués qui confirment la présence de l'agent pathogène et pour lesquels des données épidémiologiques sont disponibles. Si l'incidence des salmonelloses a fortement baissé de 2008 à 2011 grâce à des politiques de lutte ciblées, le nombre de cas s'est stabilisé depuis 2012 (EFSA, 2015; 2016; 2017).

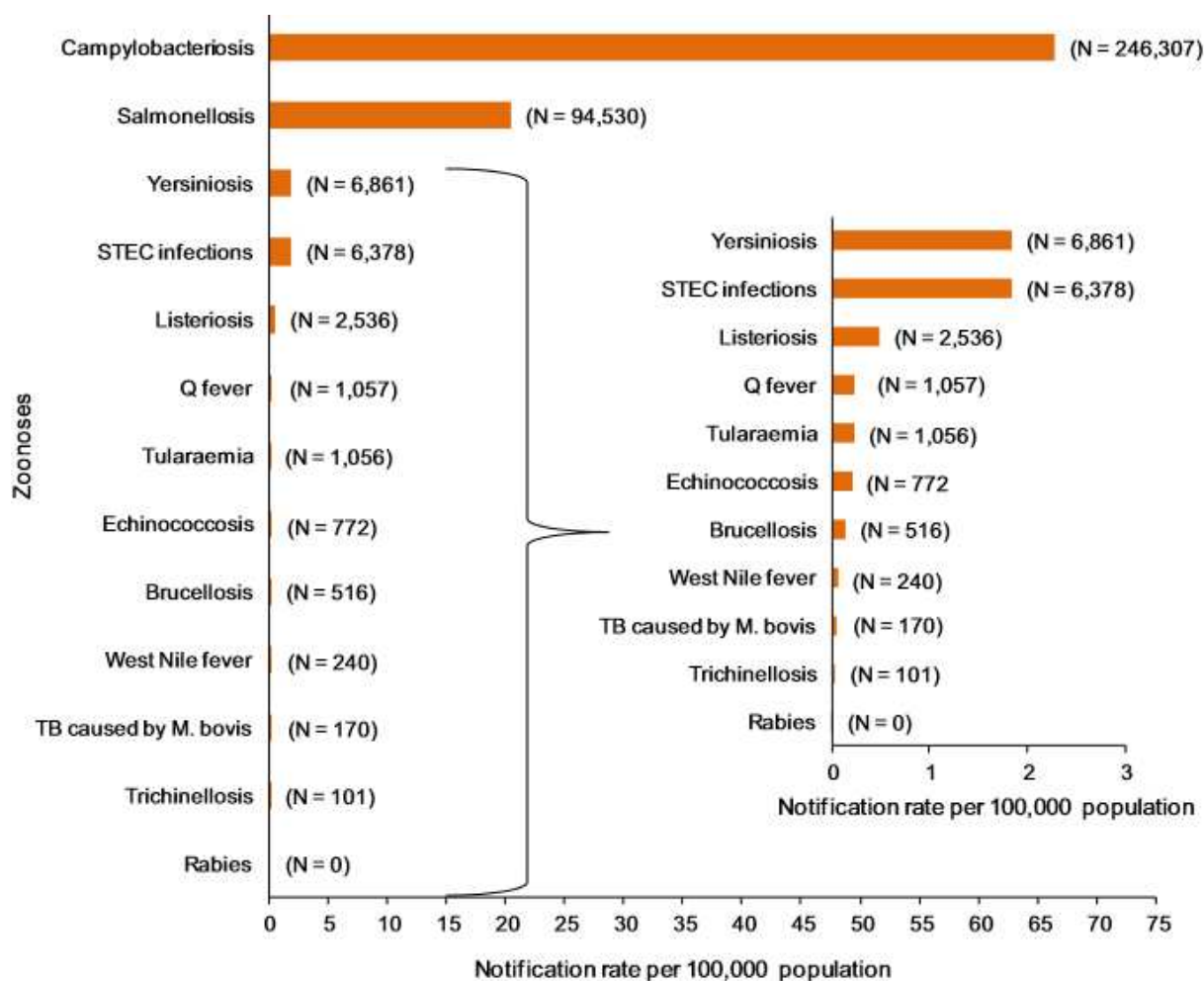


Figure 4. Nombre de cas confirmés reportés et taux de notification des zoonoses humaines dans l'Union Européenne en 2016 (EFSA, 2017).

En France, *Salmonella* cause en moyenne plus de 10 000 cas confirmés par an, ce qui en fait la première cause de toxi-infection alimentaire en 2017. Le nombre de cas réels est estimé à plus de 198 000 cas par an pour un total de 4 415 hospitalisations et 72 morts (Van Cauteren et al., 2017).

La majorité des infections à *Salmonella* sont des cas isolés (cas sporadiques) mais les phénomènes épidémiques ne sont pas rares, on parle alors de Toxi-Infections Alimentaires Collectives (TIACs). Une TIAC est identifiée quand au moins deux cas d'infection d'une même maladie similaire surviennent chez des personnes ayant partagé le même repas. L'industrialisation et la globalisation du secteur agroalimentaire ont provoqué une intensification des échanges de denrées alimentaires. Cette intensification a elle-même provoqué une mutation de la typologie des TIAC, qui sont passées d'un groupement de cas localisés à des épidémies de grande ampleur pouvant toucher plusieurs pays (Ammon and Tauxe, 2007).

L'évolution des procédés de contrôle des aliments a également joué un rôle important dans la maîtrise des épidémies liées aux *Salmonella* non-invasives. Ainsi l'éradication dans les années 70 en Europe et aux Etats Unis des sérovars Gallinarum et Pullorum -pathogènes pour

les volailles- a favorisé l'émergence du sérovar Enteritidis asymptomatique chez la volaille mais capable d'infecter les œufs par voie transovarienne. Ce sérovar jusque-là associé à 10 % des cas humains est rapidement devenu le sérovar le plus fréquemment isolé chez l'humain (Cogan and Humphrey, 2003; Velge et al., 2005).

1.2.4 Résistances aux antibiotiques

Le phénomène de résistance aux antibiotiques chez *Salmonella* pose un grave problème de santé publique. L'utilisation des antibiotiques ayant provoqué un phénomène de pression sélective, la résistance aux antibiotiques chez *Salmonella* est en augmentation constante (Su et al., 2004; Hong et al., 2016). L'apparition de souches de salmonelles multirésistantes aux antibiotiques, et de souches résistantes aux antibiotiques de dernière génération tels que les céphalosporines de troisième génération ou les quinolones, a valu à *Salmonella* d'être classée dans la catégorie des risques microbiologiques émergents (Newell et al., 2010). Ces classes d'antibiotiques sont considérées comme critiques pour la santé humaine (Sofos, 2008).

En Europe, la proportion de souches multi-résistantes -c'est-à-dire résistantes à 3 familles d'antibiotiques ou plus- isolée chez l'humain en 2016 s'élève à 26.5% (EFSA and ECDC, 2018).

Chez *Salmonella*, les gènes codant pour la résistance aux antibiotiques sont généralement acquis par transfert horizontal permettant une dissémination rapide de l'antibio-résistance et la pression sélective la croissance rapide des lignées résistantes sur les lignées ancestrales susceptibles (Brown and Wright, 2016). Les plasmides, des éléments d'ADN mobile auto-répliquatifs et transférables d'une bactérie à l'autre sont un vecteur important pour ces gènes de résistance (Parry and Threlfall, 2008; Carattoli, 2013). Les gènes de résistance aux antibiotiques présents sur les plasmides sont généralement situés sur des éléments d'ADN mobile : les transposons qui peuvent se recombiner dans des plasmides ou dans le chromosome bactérien via des séquences d'insertion qui leur permettent de s'intégrer dans l'ADN de l'hôte (Carattoli, 2003).

La multi résistance chez *Salmonella* est généralement associée à la présence d'un locus chromosomique : l'îlot génomique (SGI-1).

Il s'agit d'un élément génomique d'environ 43kb, identifié pour la première fois chez *S. typhimurium* DT104 (Boyd et al., 2001) et dont différentes variantes ont été isolées dans de nombreux autres sérovars (Levings et al., 2005; Amar et al., 2008; Beutlich et al., 2011). L'îlot génomique de *Salmonella* (SGI-1 pour *Salmonella Genomic Island 1*) joue un rôle dans la dissémination et l'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques chez *Salmonella*. Il comprend un cluster de gènes d'antibio-résistance porté par un intégron : une région du génome permettant l'intégration de séquences spécifiques. Ces séquences spécifiques appelée cassette de gènes sont souvent porteurs d'un ou plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques qui se retrouvent alors intégrés de façon stable au génome bactérien (Boyd et al., 2001; Doublet et al., 2005; Beutlich et al., 2011).

Depuis sa découverte plusieurs variantes du SGI-1 ont été identifiées chez différents sérovars. Elles sont caractérisées par le contenu de la cassette de gènes de résistance de leur intégrons (Beutlich et al., 2011).

1.2.5 Sécurité des aliments et *Salmonella*

Les Salmonelles ubiquistes sont universellement répandues et peuvent induire un portage asymptomatique dans le tube digestif des animaux. Le portage sain de *Salmonella* dans le système digestif des animaux peut donc être considéré comme fréquent chez le porc et la volaille ce qui rend leur détection ardue au niveau des élevages et des abattoirs (Denis et al., 2013). Des symptômes proches de ceux reportés chez l'humain sont retrouvés chez le bovin après une infection à *Salmonella* (Millemann, 2008). La capacité de survie de la bactérie dans des environnements divers pose de sérieux problèmes pour contrôler les infections alimentaires liées à *Salmonella*.

Pour limiter la prévalence de *Salmonella* dans les aliments il est nécessaire d'identifier les principales sources de contamination par cet agent pathogène via l'alimentation : c'est l'objet des études de source-attribution qui visent à établir la source d'origine des TIACs. De nombreuses études ont cherché à évaluer le poids des différentes filières alimentaires dans le nombre total de cas cliniques humains provoqués par *Salmonella*. Le **tableau 3** résume l'attribution des cas de salmonellose humaine dans le monde (Pires et al., 2014)

Tableau 3 : Tableau résumant les études de « source-attribution » des infections à *Salmonella* dans le monde (Pires et al., 2014).

	Danemark ^a	Suède ^b	UE ^c	Europe de l'est ^{c,*}	Europe du Nord ^{c,*}	Europe de l'Ouest ^{c,*}	Europe du Sud ^{c,*}	Etats Unis ^d	Nouvelle Zélande ^e	Japon ^f
Porcins	15.1	0.08	26.9	22.7	10.6	34.1	43.6	<1	60	5.3
Bovins	0.7	0.1	—	—	—	—	—	29	11.5	0.5
Poule pondeuses	1.8	0.16	43.8	59.4	30	41.8	28.4	6	3.2	63.3
Poulet de chair	0.5	0.09	3.4	7.0	1.2	2.1	3.1	48	21.2	6.4
Canards	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Dindes	—	—	4.0	2.2	7.4	4.1	7.6	17	—	—
Mouton/agneau	—	—	—	—	—	—	—	—	1.4	—
Aliments importés	—	6.4	—	—	—	—	—	—	—	—
Porcins	5.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bovins	2.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Volailles	2.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Animaux sauvages	—	0.6	—	—	—	—	—	—	—	—
Voyages	46.9	82	9.2	0.8	34.5	4.8	0.7	—	—	—
Inconnu, associé à une TIAC	5.1	2.9	3.6	5.4	4.0	2.2	4.2	—	—	—
Inconnu, sporadique	19.8	7.7	9.0	2.5	12.4	10.9	12.5	—	—	20.8

^aDonnées:2010, Anon., 2011; ^bDonnées : 2004–2006, Whalström et al., 2011; ^cDonnées :2007–2009, Pires et al., 2011a; ^dGuo et al., 2011; ^eMullner et al., 2009; ^fToyofuku et al., 2011. (Pires et al., 2014) Données exprimées en pourcentage

En France, la prévalence à l'attribution des sources a été évaluée en 2014 à 30.8 % pour les poules pondeuses, 18.2 % pour les porcs, 13.7 % pour la dinde, 8.2 % pour les poulets de chair et 2.4 % pour les bovins (David et al., 2013).

Si les pertes économiques directes sont rares dans les filières animales en Europe du fait de la quasi-éradication des sérovars pathogènes de *Salmonella*, les pertes indirectes causées par les cas humains (arrêt maladies, coûts des traitements et des hospitalisations, et dans des cas plus rares, séquelles à long terme voir décès) engendrent des coûts importants mais qui restent difficiles à évaluer. Ainsi les pertes annuelles engendrées par les infections à *Salmonella* sont évaluées à 3 milliards de dollars aux Etats-Unis (HOFFMANN et al., 2012).

Un coût comparable a été constaté dans l'Union Européenne (EFSA, 2014). Les salmonelles provoquent de nombreux retraits de produits et une obligation à prendre des mesures de contrôle et de réduction des risques qui ont également un coût économique important pour l'industrie agro-alimentaire et les distributeurs (Wegener et al., 2003).

Le contrôle des salmonelles est encadré par la directive zoonose de l'Union Européenne 2003/99/CE et par le règlement 2160/2003 du 17 novembre 2003 qui met en place une approche coordonnée entre les Etats membres pour la réduction de la prévalence de *Salmonella* à toutes les étapes de la chaîne alimentaire. La directive CE n°882/2004 impose à chaque état membre la mise en place de contrôles officiels réguliers en fonction du risque et devant correspondre à la réalité du secteur. Ces contrôles ont pour objectif de garantir une qualité microbiologique des produits destinés à la consommation, telle que définie par la directive CE n°2073/2005, qui impose le retrait des aliments contaminés dans certains secteur (dont les produits d'origine animale).

En France, le règlement EU 2073/2005 impose l'absence de salmonelles dans 25 g pour un grand nombre de produits destinés à l'alimentation humaine. la lutte contre *Salmonella* est encadrée par l'arrêté du 24 avril 2013 pour la volaille, qui souligne la nécessité de la prévention et de la surveillance dans la lutte contre *Salmonella*. En outre, l'arrêté du 11 Juillet 2018 a défini 5 serovars réglementés : *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* et son variant Monophasique : *S. 1,4,[5],12:i:-*, *S. Hadar*, *S. Infantis* et *S. Virchow* auxquels s'ajoute *S. Kentucky* pour lesquels la déclaration, ainsi que la mise en place de mesures de prévention, de surveillance et de lutte, sont obligatoires. Ces mesures entraînent (arrêté du 24 avril 2013):

- La mise en quarantaine de l'élevage concerné
- L'abattage des animaux
- Un nettoyage obligatoire des locaux
- Des contrôles renforcés sur l'élevage contaminé
- Le traitement thermique des produits contaminés est obligatoire. Il doit être réalisé dans un établissement agréé.

Pour le secteur porcin des objectifs non chiffrés incitent à la réduction de la prévalence.

1.2.6 Structure du dispositif français pour la surveillance de *Salmonella* isolée de la chaîne agro-alimentaire

Le système de surveillance français actuel est basé sur un système national dont les fondements remontent à 1947 pour les cas humains et à la fin des années 80 pour les réservoirs animaux principaux. Ce système a évolué sous l'effet combiné de la réglementation européenne et des évolutions des niveaux de prévalence des salmonelles observées dans les différentes sources. La réglementation européenne constitue un support majeur pour la construction d'un système de surveillance institutionnel harmonisé au niveau élevage et facilite l'intégration des données recueillies tout au long de la chaîne agro-alimentaire (David et al., 2011). La surveillance française pour les cas humains est assurée par le Centre National de Référence des Salmonelles (CNR-salm), de l'Institut Pasteur de Paris. Le CNR-salm analyse les souches envoyées par des laboratoires d'analyses de biologie médicale et des laboratoires hospitaliers et il collecte les informations sur les souches dont le sérovar a déjà été déterminé par ces laboratoires. Ces données permettent de suivre l'évolution du nombre de souches de *Salmonella* isolées chez l'homme, et de détecter des cas groupés. Santé publique France (SpF) anciennement nommé Institut de veille sanitaire (InVS) centralise les déclarations obligatoires des TIAC notifiées aux autorités sanitaires départementales, les DDPP (Direction départementale de la protection des populations), ainsi qu'aux Agences Régionales de Santé (ARS).

Le Laboratoire de Référence des Salmonelles et des salmonelloses aviaires de l'ANSES à Ploufragan/Plouzané assure la collecte et les analyses des souches de *Salmonella* issues des filières règlementées (volaille). Dans le cadre de sa mission, il fournit un appui scientifique et technique pour les filières professionnelles et le monde vétérinaire (analyse de prélèvements, fourniture de réactifs de référence, suivi de la qualité des analyses des laboratoires de diagnostic...).

Ces deux systèmes constituent les acteurs de la surveillance active. Cependant, l'existence concomitante de réseaux de surveillance passifs dans les domaines agro-alimentaires et vétérinaires permet d'obtenir des informations complémentaires sur des secteurs ou points de recueil de données non couverts par la surveillance institutionnelle (dite active).

Le Réseau *Salmonella*, géré par le Laboratoire de Santé des Aliments de l'ANSES de Maisons-Alfort, assure une surveillance dite passive (événementielle) très utile pour la détection d'événements émergents ou inhabituels et pour les alertes précoces de foyers épidémiques. Le Réseau *Salmonella* collecte et analyse les souches de *Salmonella* issues des réservoirs animaux règlementés ou non (porc, volaille autre que *Gallus gallus* et *Meleagris gallipavo*, bovin, caprin, équin, reptilien, etc...). Il est constitué de 150 laboratoires répartis sur l'ensemble du territoire national qui ciblent la surveillance des salmonelles d'origine non humaine. Le réseau Salmonelle offre aux laboratoires des prestations de typage pour la détermination et la confirmation des différents sérovars. Le réseau est composé de laboratoires vétérinaires, privés et publics, qui adressent sur la base du volontariat au

Laboratoire de sécurité des aliments, soit leurs souches de salmonelles pour caractérisation, soit les récapitulatifs de leurs propres résultats de caractérisation par sérotypage.

Le Réseau *Salmonella*, collecte et centralise donc les informations épidémiologiques (date d'isolement, filière, matrice, contexte d'isolement, etc...) sur environ 12 000 isolats de *Salmonella* chaque année. Ce réseau produit donc des séries temporelles de cas ou de nombres de souches permettant d'évaluer l'impact des interventions et fournit un appui aux services de SpF pour la recherche des origines de TIAC.

La qualité et la représentativité des données de surveillance active en font des éléments-clés pour appliquer des outils d'analyse de risque comme l'analyse quantitative de risque ou l'attribution des sources. Ainsi, malgré la dispersion des données entre différents acteurs, le système se révèle efficace et apte à remplir ses objectifs de santé publique.

A part le Réseau *Salmonella*, s'ajoute le réseau de l'observatoire épidémiologique pour l'élevage des volailles -créé et géré par le laboratoire ANSES de Ploufragan- (David et al., 2011) et le réseau français pour la surveillance de la résistance aux antibiotiques chez les agents pathogènes vétérinaires gérés par le laboratoire ANSES de Lyon (David et al., 2011).

1.3 Méthode de caractérisation – problématique de source-attribution

Afin de suivre l'évolution de la contamination par *Salmonella*, il est nécessaire de caractériser les souches isolées lors des autocontrôles et des contrôles officiels. Différentes méthodes ont été proposées pour la caractérisation de *Salmonella* en fonction des objectifs scientifiques des études et les besoins de source-attribution liés aux investigations de TIACs et à la démarche qualité des industries agroalimentaire (Hendriksen et al., 2011).

La caractérisation des Salmonelles repose sur différentes méthodes. Il convient de différencier les méthodes de références des méthodes courantes :

- Les méthodes de référence sont des méthodes validées par les autorités réglementaires ou des organisations commerciales afin de mise en application. Ces méthodes ont subi des essais interlaboratoires et ont des performances bien documentées. Leur caractéristique principale est de garantir des résultats comparables pour tous les laboratoires et donc de permettre une bonne communication entre laboratoires. Elles disposent d'une fidélité importante.
- Les méthodes courantes ont également fait l'objet d'essais interlaboratoires mais disposent d'une fidélité moindre par rapport aux méthodes de référence, que ce soit parce qu'elles sont moins bien documentées, moins précises ou plus difficiles à interpréter. Ces méthodes sont considérées comme ayant une précision suffisante pour la plupart des analyses.

1.3.1 Sérotypage

Actuellement la méthode de référence pour la classification des souches de *Salmonella* est le sérotypage par agglutination. Cette méthode, proposée par Fritz Kaufmann et P. Bruce White en 1934, a été considérablement enrichie avec le temps permettant de discriminer plus de 2 500 sérovars différents à l'heure actuelle (Grimont and Weill, 2007).

Cette méthode se base sur l'agglutination des bactéries mises en contact avec des sérums spécifiques contenant des anticorps ciblant différents antigènes exprimés par la bactérie. Les sérums permettent de distinguer les différentes variations des antigènes O (somatiques), H1 et H2 (flagellaires) et des antigènes capsulaires (Vi) spécifiques des sérovars Typhi, ParatyphiC et Dublin. Ces antigènes sont hautement variables : on compte 64 antigènes O et 114 antigènes H.

L'antigène somatique O est un des composants des lipopolysaccharides (LPS) constitutifs de la membrane externe des bactéries à gram négatif et peut jouer un rôle dans la virulence des salmonelles (Jones et al., 2008). L'antigène O est en contact avec le milieu extérieur et constitue l'élément le plus variable du LPS (Szalo et al., 2006). Plusieurs antigènes O peuvent être exprimés à la surface de la bactérie.

Salmonella possède -à la différence d'*E. coli*- deux phases flagellaires H1 et H2 codées respectivement par les gènes *fliC* et *fljB* qui peuvent être ciblées spécifiquement par les sérums (Wattiau et al., 2011). L'expression différentielle de *fliC* ou *fljB* est régulée par le gène *hin* qui promeut le mécanisme d'inversion de phase. L'identification des deux phases est permise par l'utilisation d'antisérums spécifiques et d'un milieu sélectif tel que le Sven Gard (McQuiston et al., 2011).

Selon le chemin de sérotypage (**figure 5**), qui propose de tester de façon séquentielle plusieurs sérums, l'un à la suite de l'autre, on peut attribuer à chaque bactérie une formule antigénique spécifique indiquant la sous-espèce d'appartenance (de I à VI en caractères romains), les antigènes somatiques O qui se sont révélés positifs et les flagellaires H1 et H2. Cette formule antigénique permet l'assignation de la bactérie à un sérovar (par exemple, la formule antigénique S. I.4,5,12:i:1,2 correspond au sérovar Typhimurium).

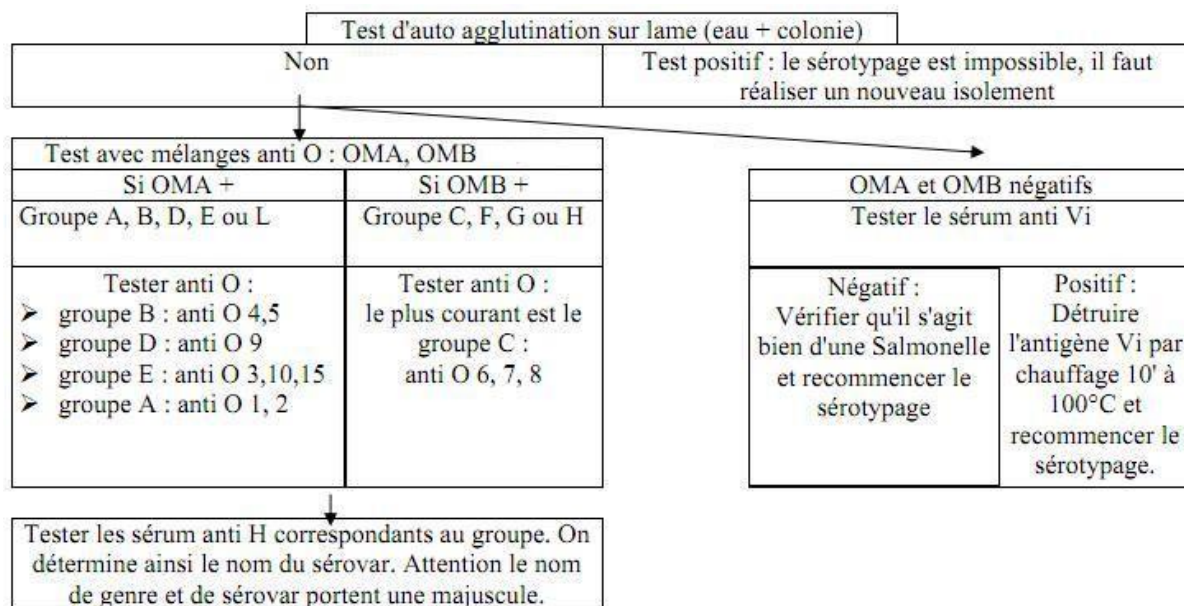


Figure 5 : Chemin de sérotypage pour *Salmonella* (Anonimous, 2009).

Le sérotypage est la méthode de caractérisation la plus utilisée et permet l'identification des sérovars des souches isolées. Cependant dans le cadre d'investigations sur des TIAC et des contrôles sanitaires, il est souvent nécessaire de discriminer les souches collectées au-delà du niveau du sérovar (Kerouanton et al., 2007). Pour répondre à des problématiques où le sérotypage ne dispose pas du pouvoir de discrimination suffisant pour remonter à la source de la contamination, différentes méthodes de sous-typages ont été développées.

1.3.2 Electrophorèse sur gel à champs pulsé - PFGE

La PFGE est la méthode de référence pour le sous typage de *Salmonella*. La **figure 6** détaille son déroulement. Cette méthode repose sur le clivage du chromosome par des enzymes de restriction coupant des positions spécifiques du génome et la séparation des fragments d'ADN par électrophorèse afin d'obtenir des profils de migration de l'ADN dépendant de la composition du génome. Les bactéries sont fixées dans un gel d'agarose avant l'étape de lyse enzymatique qui est effectuée par une combinaison de détergents et d'enzymes (la protéinase K). Le gel d'agarose permet une immobilisation de l'ADN et évite sa dégradation suite à des actions mécaniques lors des lavages du procédé de lyse et de purification de l'ADN. L'enzyme de restriction (l'enzyme XbaI dans le cas de *Salmonella*) permet de découper le génome de la bactérie en fragments de différentes tailles.

Ces fragments pourront ensuite être séparés en utilisant l'électrophorèse en champs pulsé qui consiste à faire varier la direction du champ électrique appliqué sur le gel d'électrophorèse afin d'obtenir une séparation fine des fragments d'ADN en fonction de leur taille. Les résultats de la migration sur gel peuvent ensuite être traités en utilisant un logiciel d'analyse adapté (Foley et al., 2009).

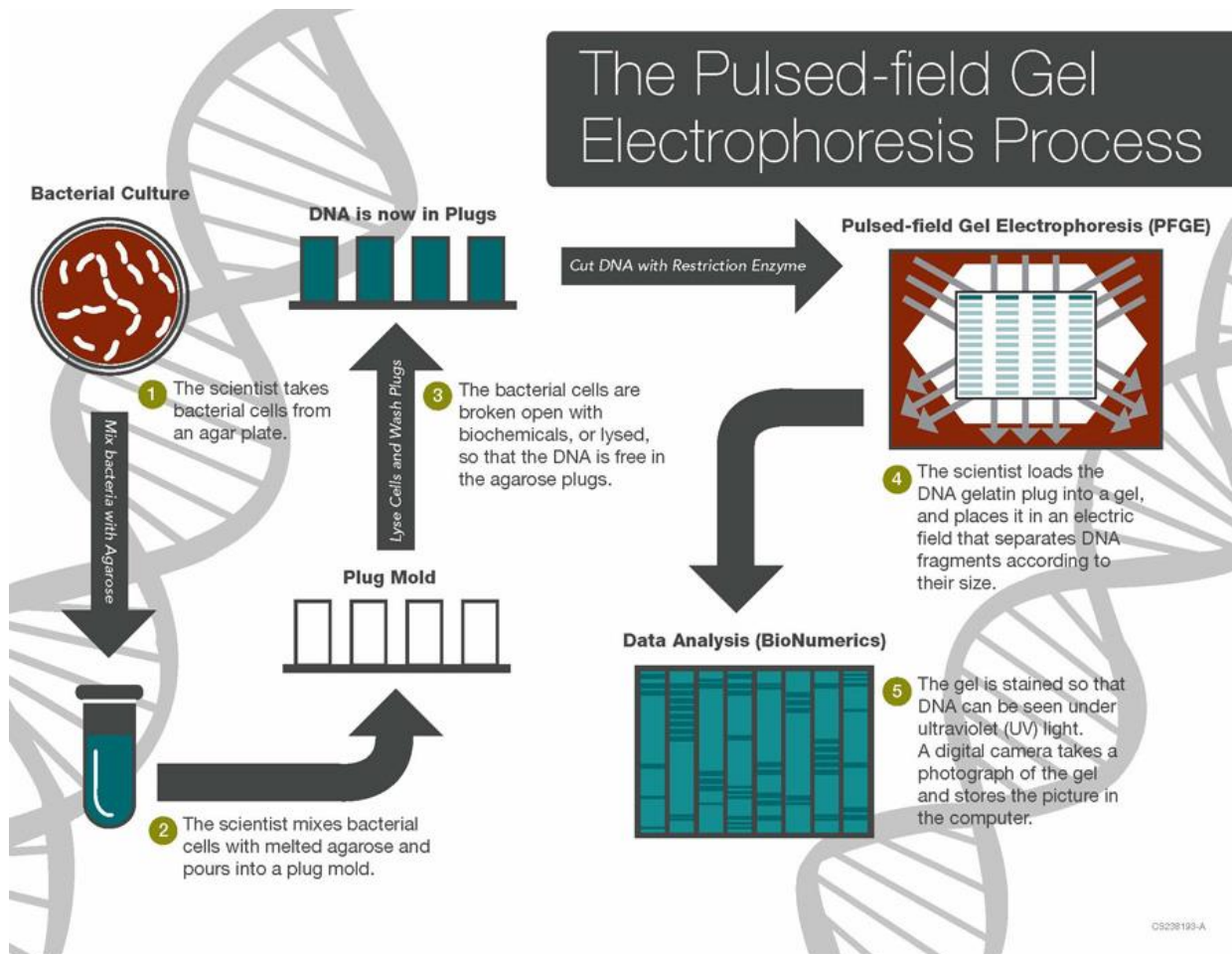


Figure 6 : Principe de la PFGE (CDC, 2013).

Cette technique possède un fort pouvoir de discrimination pour certains sérovars et est utilisée avec succès pour l'identification de la source de contamination en cas de TIAC (Kerouanton et al., 2007; Wattiau et al., 2011). Cependant, cette méthode demande un investissement important en temps et en travail. Elle requiert également des efforts rigoureux de standardisation pour l'interprétation des résultats afin d'en assurer la répétabilité : c'est l'objectif du programme PulseNet conduit par le CDC (*Center for Disease Control and prevention*) depuis 1996 (Gerner-Smidt et al., 2006).

Cette méthode souffre également d'un faible pouvoir de discrimination pour certains sérovars très clonaux tel que *S. Enteritidis* (Gerner-Smidt et al., 2006) ou pour certains sous-groupes d'intérêt tel le sous-groupe *S. Typhimurium* DT104 (Kerouanton et al., 2007). De plus, l'interprétation de profils PFGE relativement proches peut être considérée comme subjective car dépendant de l'œil de l'observateur et du logiciel d'analyse employé pour harmoniser sa lecture (Wattiau et al., 2011).

1.3.3 Analyse Multi-Locus des Variants en tandem – MLVA

Autre technique de sous-typage des salmonelles, la MLVA est une méthode rapide, reproductible et peu coûteuse (Wattiau et al., 2011; Peters et al., 2017) qui repose sur l'analyse de séquences répétées en tandem présentes dans le génome. Elle est proposée à l'origine pour pallier au manque de pouvoir de discrimination de la PFGE sur certains variants de *S. Typhimurium*, notamment le variant DT104 (Lindstedt et al., 2003; Lindstedt et al., 2004) ou pour d'autres sérovars pour lesquels la PFGE n'a qu'un faible pouvoir de discrimination tel que *S. Dublin* (Vignaud et al., 2017).

Des loci présentant des séquences répétées en tandem (VNTR pour l'anglais *Variable Number Tandem Repeat*) sont amplifiées par PCR. Les fragments sont séparés par une électrophorèse capillaire en fonction de leur taille et donc du nombre de répétitions de la séquence (**figure 7**). Un profil MLVA consiste en un code représentant le nombre de répétitions pour chaque locus VNTR sélectionné. Ainsi le profil 3 - 2 - 3 - 4 indique trois répétitions pour le locus 1, deux répétitions pour le locus 2 et ainsi de suite...

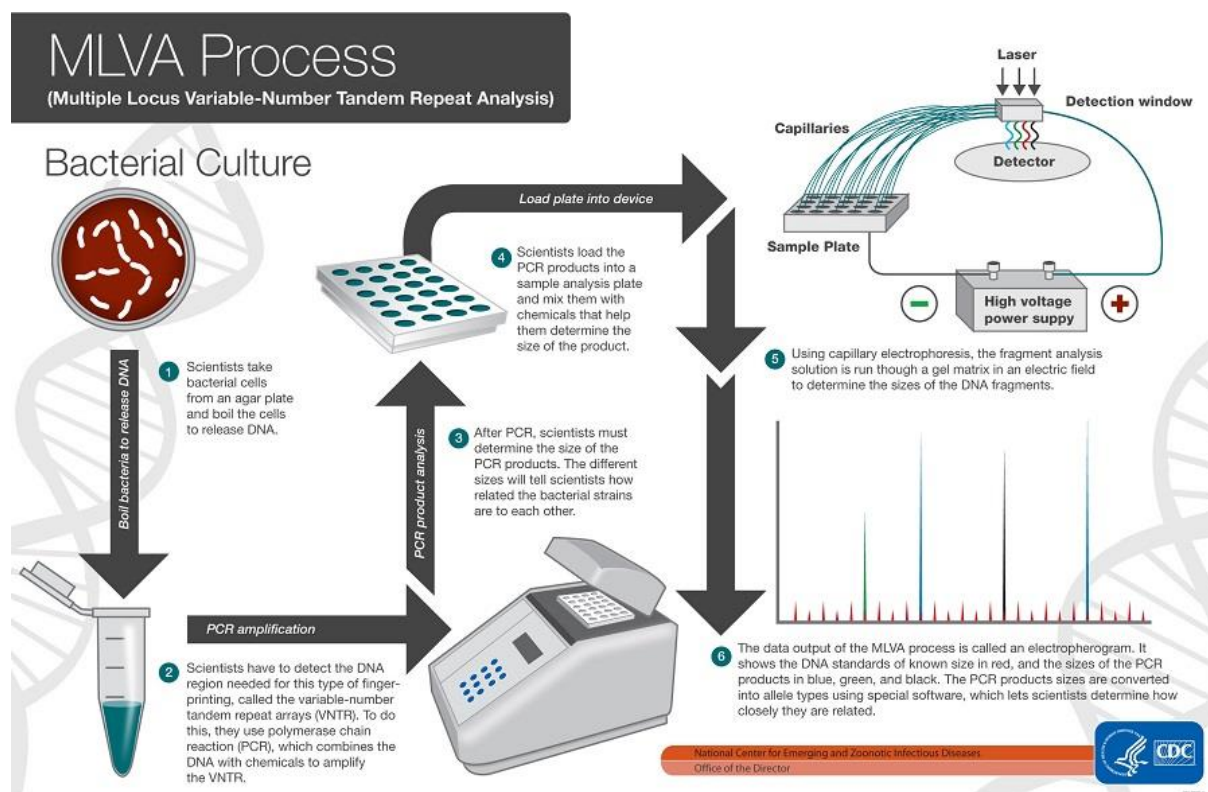


Figure 7 : principe de la MLVA (CDC, 2013).

Cette méthode a été normalisée pour les sérovars Typhimurium (Lindstedt et al., 2004) et Enteritidis (Hopkins et al., 2011) et reste très populaire pour le sous-typage de ces sérovars. D'autres schémas MLVA ont été développés pour quelques sérovars d'intérêt tel que *S. Livinstone* (Ktari et al., 2016) et *S. Derby* (Vignaud et al., en préparation).

La MLVA souffre néanmoins du besoin de développer un schéma spécifique pour chaque sérovar ce qui demande un investissement en temps considérable et nécessite un équipement

dédié onéreux (de l'ordre de 150 000 Euro pour un séquenceur capillaire AB3500). La méthode ne peut donc pas être utilisée pour une étude phylogénétique globale et pour l'assignement d'une souche à un sérovar (Wattiau et al., 2011).

1.3.4 Typage de Séquence Multi-Locus – MLST

La méthode MLST repose sur le séquençage et l'analyse des variations de séquences hautement conservées chez une espèce bactérienne d'intérêt. Différents schémas de MLST ont été développés en fonction des espèces bactériennes étudiées. Concernant *Salmonella* le schéma de référence, illustré dans la **figure 8**, concerne l'analyse des variants de 7 gènes hautement conservés : *aroC*, *dnaN*, *hemD*, *hisD*, *purE*, *sucA* et *thrA* (Kidgell et al., 2002).

Cette méthode a été popularisée par la création d'une base de données (Enterobase : <https://Enterobase.warwick.ac.uk/>) (Alikhan et al., 2018) regroupant une banque d'allèles pour ces 7 gènes. Chaque allèle se voit assigner un numéro d'identification normalisé et un profil (Achtman et al., 2012).

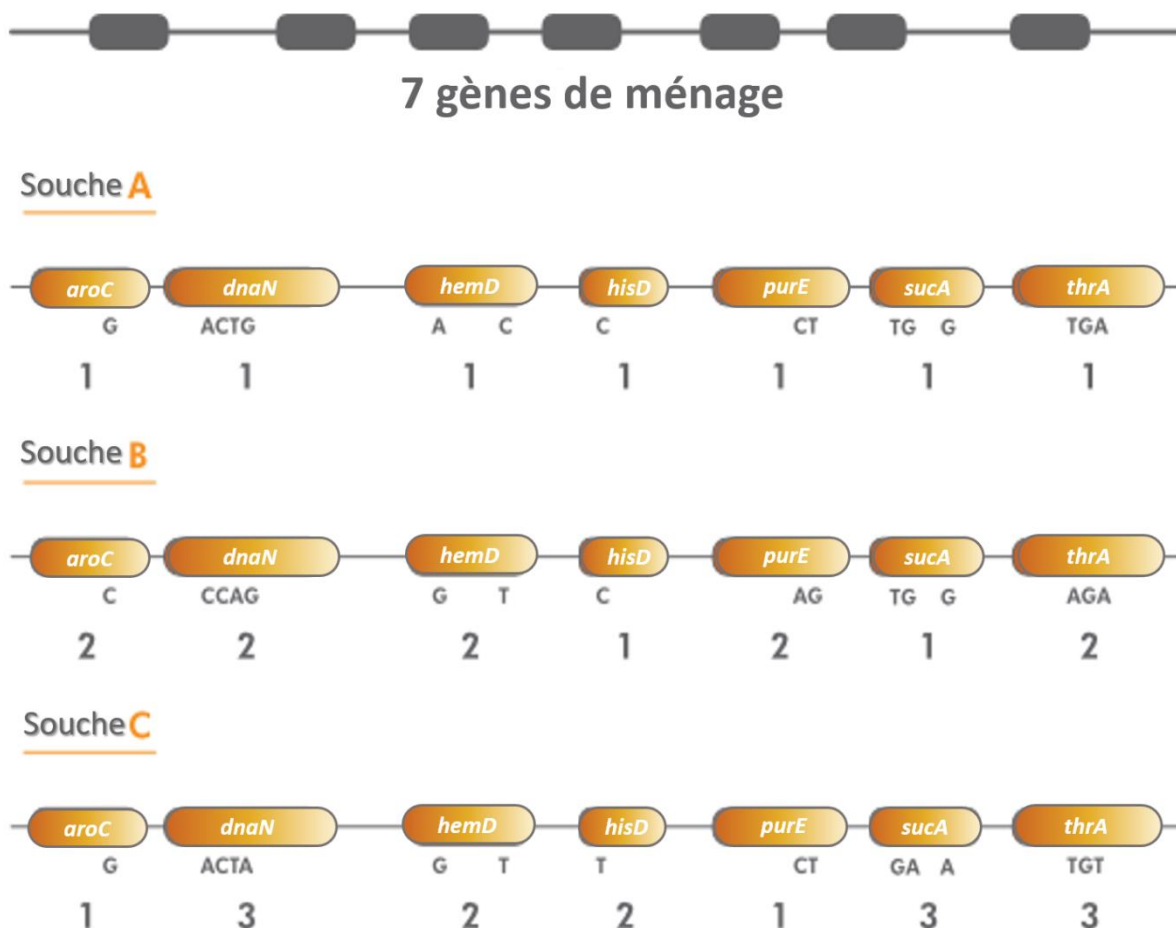


Figure 8 : Principe de la MLST.

Chaque allèle des loci sélectionnés est numéroté. Les numéros des allèles pour l'ensemble des loci du schéma constituent le profil allélique qui donne sa désignation à la souche.

Ce schéma MLST présente cependant un pouvoir discriminant inférieur à la PFGE pour la plupart des sérovars (Wattiau et al., 2011). Néanmoins, cette technique permet une classification facile et rapide des souches à un sérovar ou à sous-groupe au sein d'un sérovar, ce qui représente une alternative au sérotypage traditionnel (Achtman et al., 2012).

1.3.5 CRISPR

La méthode CRISPR se base sur la détection des courtes répétitions palindromiques groupées et régulièrement espacées (en anglais : *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*). Ces régions du génome des Archées et de la plupart des bactéries consistent en des séquences courtes répétées de 24 à 47 pb encadrant des séquences d'espacement plus communément appelées « *spacers* » de taille similaire (21 à 72 pb).

Ces « *spacers* » correspondent à des séquences d'ADN phagique étranger à la cellule. Ces loci CRISPR sont souvent adjacents à des gènes *cas* codant pour les CRISPR associated protein : des protéines impliquées dans la reconnaissance et la destruction d'ADN étranger à la cellule (van der Oost et al., 2014). Il a été démontré que les loci CRISPR jouent un rôle dans la protection des bactéries contre les phages, leur conférant un système de reconnaissance de séquences spécifiques du génome de phages précédemment rencontrés par la bactérie (Barrangou et al., 2007; Shariat and Dudley, 2014).

Chez *Salmonella* deux loci CRISPR sont présents chez l'ensemble des souches (**figure 9**) de *Salmonella enterica* et *bongori*. Des études ont démontré un lien entre le polymorphisme des spacers CRISPR et le sérovar ou le profil MLST d'une souche de *Salmonella* (Weill. et al., 2007; Liu et al., 2011; Fabre et al., 2012). Les micro-variations dans le contenu des *spacers* permet de sous-typer les souches appartenant au même sérovar (Fabre et al., 2012).

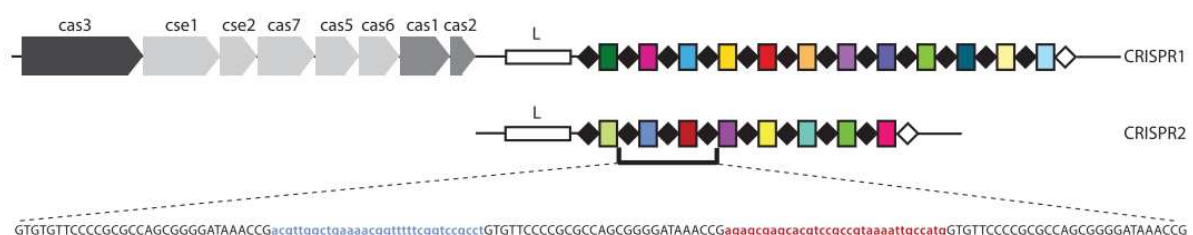


Figure 9 : Structure des locus CRISPR/cas chez *Salmonella* (Shariat and Dudley, 2014).

Les diamants noirs représentent les répétitions et les diamants colorés les spacers.

La méthodologie CRISPOL, développée en France par le CNR, est basée sur le polymorphisme des spacers CRISPR. Cette technique fait partie des analyses réalisées en routine par le laboratoire (Fabre et al., 2012) avec un pouvoir discriminant équivalent à celui de la PFGE (Liu et al., 2011). Cependant, cette méthode ne s'est pas développée à l'international et est essentiellement utilisée en France (Ferrari et al., 2017).

1.3.6 Séquençage du génome complet – WGS (Whole Genome Sequencing)

L'obtention de la totalité de l'information génomique d'un isolat fournit théoriquement une méthode de typage offrant la meilleure résolution (Ruppitsch, 2016). Avec le développement des technologies de séquençage haut débit dans les années 2000, il devient de plus en plus abordable et rapide de recourir au séquençage du génome complet pour le typage des souches de *Salmonella* (Ruppitsch, 2016). L'emploi du WGS comme méthode de routine pour l'analyse des souches isolées permet une augmentation constante du nombre de génomes de *Salmonella* disponibles dans les bases des données en libre accès. Disposer d'un grand nombre de génomes permet une meilleure utilisation des données issues du séquençage pour la source-attribution (Dunn, 2016). Les méthodes d'analyse génomique basées sur le WGS ont été rendues possible par le développement des techniques de séquençage à haut débit dites « short reads » de 3^{ème} génération telles que celles proposées par la technologie Illumina. La **figure 10** détaille le fonctionnement de cette technologie.

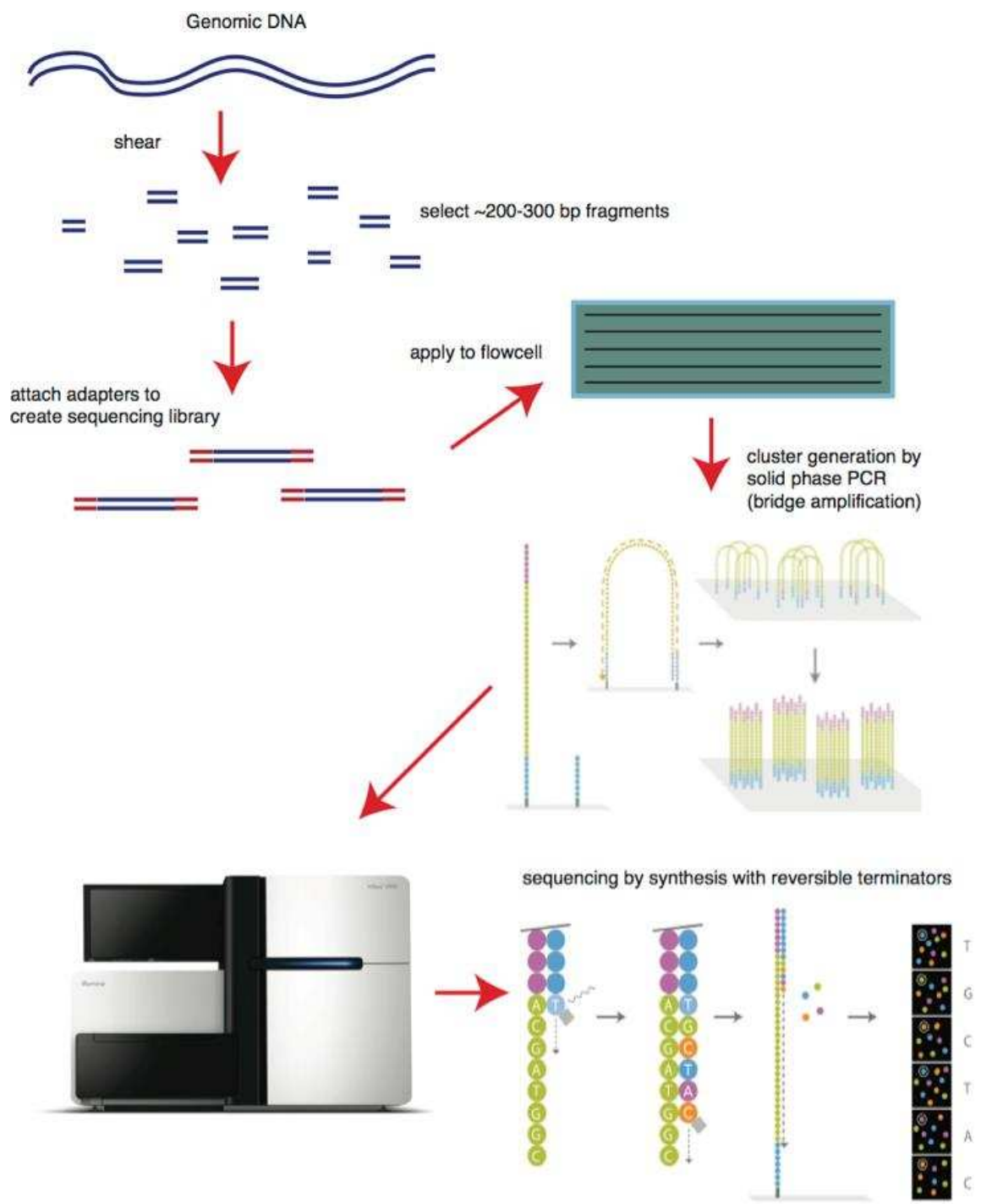


Figure 10 : Principe du séquençage Illumina (Brown, 2016).

L'ADN génomique est découpé en fragments courts sur lesquels des adaptateurs sont fixés afin d'être amplifiés par PCR et créer une librairie de séquences. Les séquences de chaque librairie sont ensuite fixées via d'autres adaptateurs sur une phase solide puis séquencées à l'aide de bases marquées émettant des signaux lors de leur incorporation à l'ADN.

Une fois les séquences génomiques obtenues, de nombreux types d'analyses sont envisageables. L'étude de la diversité génétique d'une collection de souches repose le plus souvent sur des techniques de *variant calling* qui consistent à détecter le polymorphisme mono-nucléotidique ou *single nucleotide polymorphism* (SNP) entre les différentes souches

analysées (Timme et al., 2013). La recherche des variants (*variant calling*) permet d'étudier les relations entre des souches éloignées et proches génétiquement et a été utilisée avec succès dans l'investigation des TIAC (Timme et al., 2013; Allard et al., 2016; Dunn, 2016; Ruppitsch, 2016). Le séquençage de l'ADN génomique donne également accès à des informations telles que le profil MLST d'une souche, son résistome (ensemble des gènes de résistance d'une souche donnée), mobilome (l'ensemble des éléments mobiles tel que les plasmides ou les transposons d'un génome) ou encore le profil de facteurs de virulence (Taboada et al., 2017).

Différents outils permettent la prédiction d'informations d'intérêt tel que le profil MLST d'une souche, le sérotype d'une souche à partir de son génome (application SISTR/SeqSero) (Yoshida et al., 2016), la prédiction de la présence de gènes de résistance à certaines classes d'antibiotiques (Zankari et al., 2012) mais également une annotation fonctionnelle rapide et la prédiction de caractéristiques phénotypiques (Page et al., 2015) et des études d'association basées sur le génome complet (*Genome Wide Association Study* ou GWAS) (Brynildsrud et al., 2016).

De nombreux laboratoires de référence ont entamé la transition du sérotypage traditionnel de *Salmonella* vers : un sérotypage basé sur les données WGS en routine, c'est le cas notamment de l'Institut Pasteur en France et de *Public Health England* (Ashton et al., 2016).

En Europe, 18 pays utilisent le WGS pour l'investigation de TIAC et l'ECDC encourage la transition vers une surveillance basée sur le WGS dans l'espoir de garantir une meilleure couverture des souches collectées qui dépassent actuellement la capacité européenne de typage par PFGE ou MLVA (ECDC, 2016).

Toutefois le séquençage du génome complet possède quelques inconvénients : cette approche impose des dépenses nouvelles pour assurer le séquençage et demande une expertise en bio-informatique dans les laboratoires de référence. De même, une puissance de calcul importante doit être dédiée à l'analyse de jeux de données et au stockage des données issues du séquençage. Il est également nécessaire de standardiser les méthodes de traitement des données et d'analyse de la diversité génétique afin de pouvoir la comparer aux méthodes traditionnelles (Ellington et al., 2017; Ferrari et al., 2017). Le groupe de travail 25 (ISO/TC 34/SC 9/WG 25) de l'Organisation Internationale de Standardisation (ISO) travaille actuellement sur une norme sur la génération de données WGS et sur les techniques d'analyses à appliquer sur ces données.

1.4 Les facteurs moléculaires permettant l'infection entérique et systémique par *Salmonella*

Après l'ingestion, la virulence d'une souche de *Salmonella* varie beaucoup d'un sérovar à l'autre. Toutes les salmonelles doivent cependant surmonter les mêmes obstacles : elles doivent traverser l'estomac et trouver le moyen de persister dans le milieu hautement compétitif de l'intestin pour traverser l'épithélium intestinal et infecter l'hôte.

La virulence d'une souche de *Salmonella* dépend de nombreux facteurs. Elle est déterminée par sa capacité à adhérer aux cellules, à les envahir, à survivre et à se multiplier à l'intérieur des cellules épithéliales et des macrophages. Pour le succès de ces trois étapes clés (adhésion, invasion, multiplication intracellulaire) de nombreux gènes vont intervenir. Une grande partie de ces gènes de virulence est regroupée dans des régions génomiques spécifiques, acquises par transfert horizontal, appelées « Ilots de pathogénicité de *Salmonella* » (SPI) (Marcus et al., 2000; de Jong et al., 2012; Hurley et al., 2014). L'ensemble de ces gènes de virulence va permettre la colonisation de l'hôte et l'invasion systémique de *Salmonella*.

1.4.1 Colonisation de la lumière intestinale

La colonisation de la lumière intestinale est un défi pour un éventuel agent pathogène. En effet, la flore commensale de l'intestin limite l'apport en nutriments pour un envahisseur potentiel et assure une résistance face à cette première étape d'infection (Ilyas et al., 2017). Il a pourtant été démontré que la majorité de la charge bactérienne des souches non-systémiques de *Salmonella* se retrouvent à ce niveau. Seule une faible proportion des bactéries va être impliquée dans l'invasion de l'épithélium (Winter et al., 2010; Winter and Baumler, 2011).

Pour y parvenir, *Salmonella* va provoquer une réaction inflammatoire chez son hôte ce qui va lui procurer un avantage sélectif (Winter et al., 2010). L'activation de la réaction inflammatoire va provoquer un rapide influx de neutrophiles et un stress oxydatif et nitrosatif avec la formation d'oxyde nitrique que *Salmonella* sera plus à même d'exploiter que la plupart des microorganismes de la flore intestinale. *Salmonella* est en effet capable de métaboliser les nitrates et le tétrathionate comme source d'énergie alternative, ce qui lui donne un avantage métabolique (Winter et al., 2010; Ilyas et al., 2017). La **figure 11** illustre les mécanismes mis en œuvre lors de cette étape.

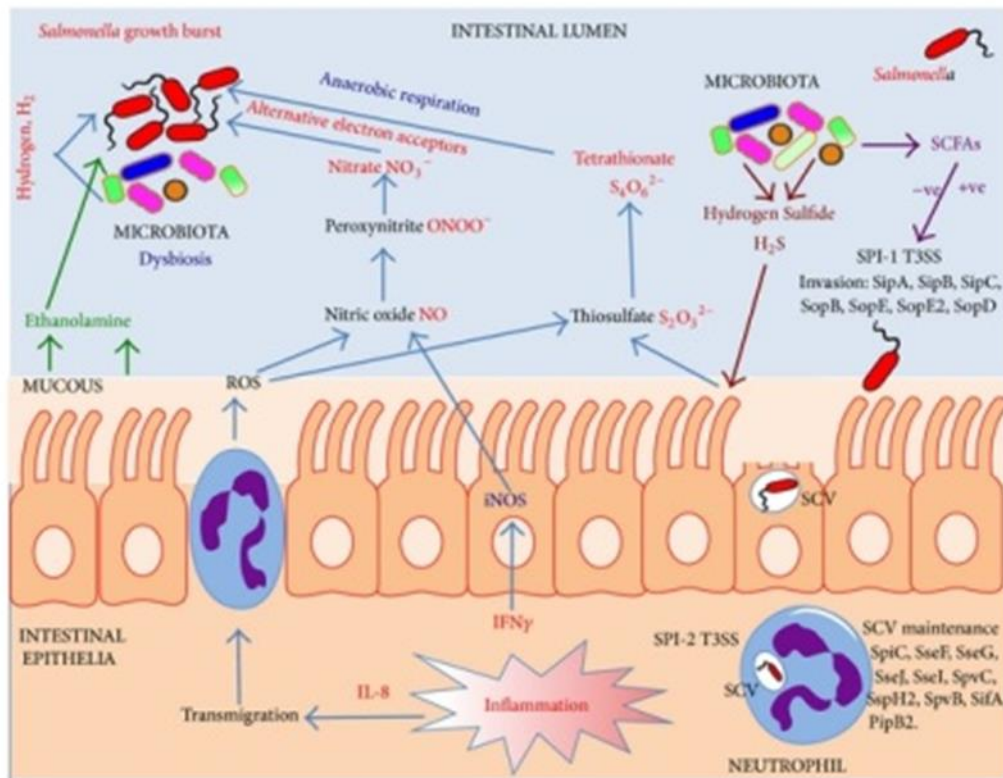


Figure 11 : Stratégies employées par *Salmonella* pour entrer en compétition avec le microbiote intestinal (Khan, 2014).

Salmonella utilise différentes stratégies pour entrer en compétition avec la flore intestinale. Aux premiers stades, elle est capable d'utiliser l'hydrogène comme source d'énergie. Le contact avec le microbiote va activer l'expression du SPI-1 et 2. L'utilisation des SPI-1 et 2 va permettre à la bactérie d'envahir et de survivre dans les cellules épithéliales mais également de déclencher une réaction inflammatoire bénéfique pour le pathogène. Une réponse inflammatoire entraîne la production d'oxygène hautement réactif qui provoque la production de nitrates et de tétrathionates; des composés que *Salmonella* va pouvoir exploiter pour accélérer sa croissance au détriment du microbiote.

Une réaction inflammatoire à *Salmonella* est induite par la reconnaissance de molécules de surface (l'antigène O et les flagellines) par le système immunitaire de l'hôte. Certains effecteurs du système de sécrétion de type 3 (T3SS) codé par le SPI-1 (T3SS-1 qui sera détaillé dans la partie 1.4.3.1.) *sipA*, *sopA*, *sopB*, *sopD* et *sopE* jouent également un rôle dans la promotion de réactions inflammatoires de l'épithélium (Zhang et al., 2003).

La protéine SipA agit sur la sécrétion apicale d'hepoxiline A3, un promoteur de la transmigration des neutrophiles à travers la barrière épithéliale. L'effecteur SopA, agit comme une ligase ubiquitine-HECT3 (Zhang et al., 2006) qui induit la migration des neutrophiles polynucléaires. Les protéines SopB et SopE agissent en activant les GTPase Cdc42 et Rac1, ce qui provoque l'induction des régulateurs AP-1 et NF-κB : des régulateurs clés de l'inflammation par la sécrétion d'IL-8. Ces régulateurs provoquent donc également la migration des neutrophiles polynucléaires vers la lumière intestinale (Haraga et al., 2008; Srikanth et al., 2011).

Salmonella fait partie des agents pathogènes altérant la structure de l'épithélium en provoquant une perte d'étanchéité au niveau des jonctions serrées des cellules épithéliales (Ramos-Morales, 2012). Comme illustré dans la **figure 12**, les effecteurs SipA, SopB, SopE et SopE2 jouent un rôle important dans la désorganisation des jonctions entre cellules épithéliales et favorisent la migration des neutrophiles polynucléaires (PMN) vers la lumière intestinale. Cette perte d'étanchéité provoque un afflux de liquide du sang directement vers l'intestin, un des symptômes rencontrés lors d'une gastroentérite à *Salmonella* (Zhang et al., 2003; Gordon, 2008).

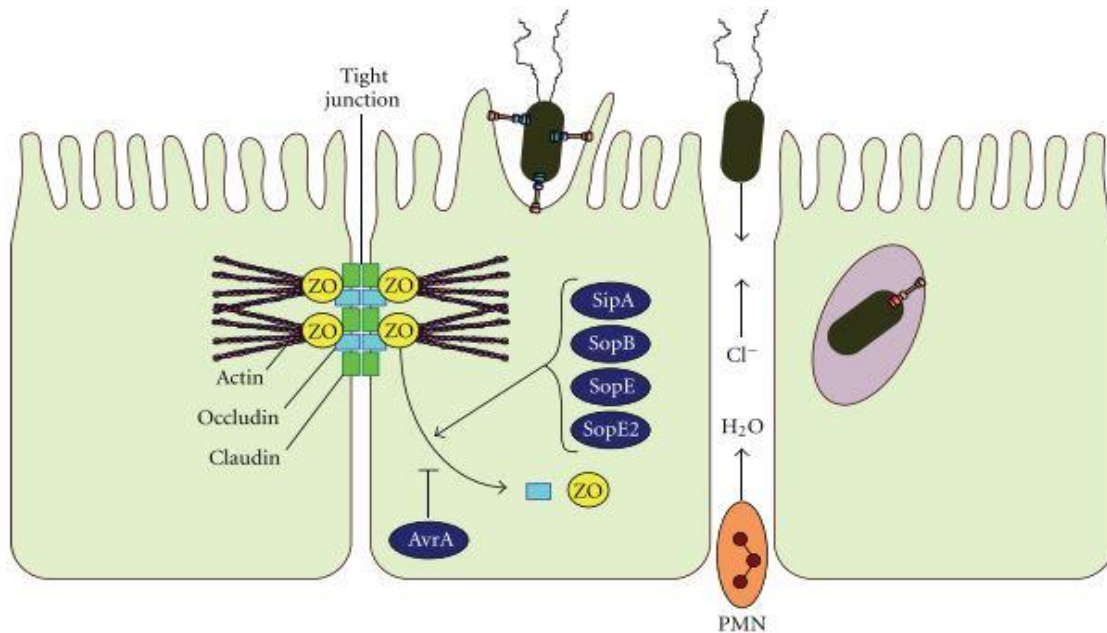


Figure 12 : Principaux effecteurs du T3SS-1 de *Salmonella* impliqués dans l'induction de l'inflammation chez l'hôte (Ramos-Morales, 2012).

Outre leur rôle de promoteur de l'inflammation les effecteurs SipA, SopB, SopE et SopE2 du T3SS-1 provoquent le relâchement des jonctions entre les cellules épithéliales résultant en des symptômes de diarrhée et favorisant une réponse immunitaire inflammatoire.

Les cellules épithéliales et les cellules immunitaires, présentes dans l'intestin, sécrètent un grand nombre de peptides antimicrobiens qui vont déranger l'intégrité de la membrane bactérienne. *Salmonella* dispose d'un arsenal de gènes lui permettant de modifier la structure de sa membrane pour se protéger de l'action de ces peptides. Cet arsenal de défense est régulé par les systèmes de régulation à deux composants PhoPQ et PmrAB représentés sur la **figure 13** (Gunn, 2008). Ces couples de régulateurs jouent un rôle important dans l'activation du T3SS-2 et la réorganisation de la membrane extérieure de la bactérie. Ces régulateurs sont également responsables de l'activation du T3SS-2 après l'invasion des cellules de l'hôte (Gunn, 2008; Dalebroux and Miller, 2014; Ilyas et al., 2017).

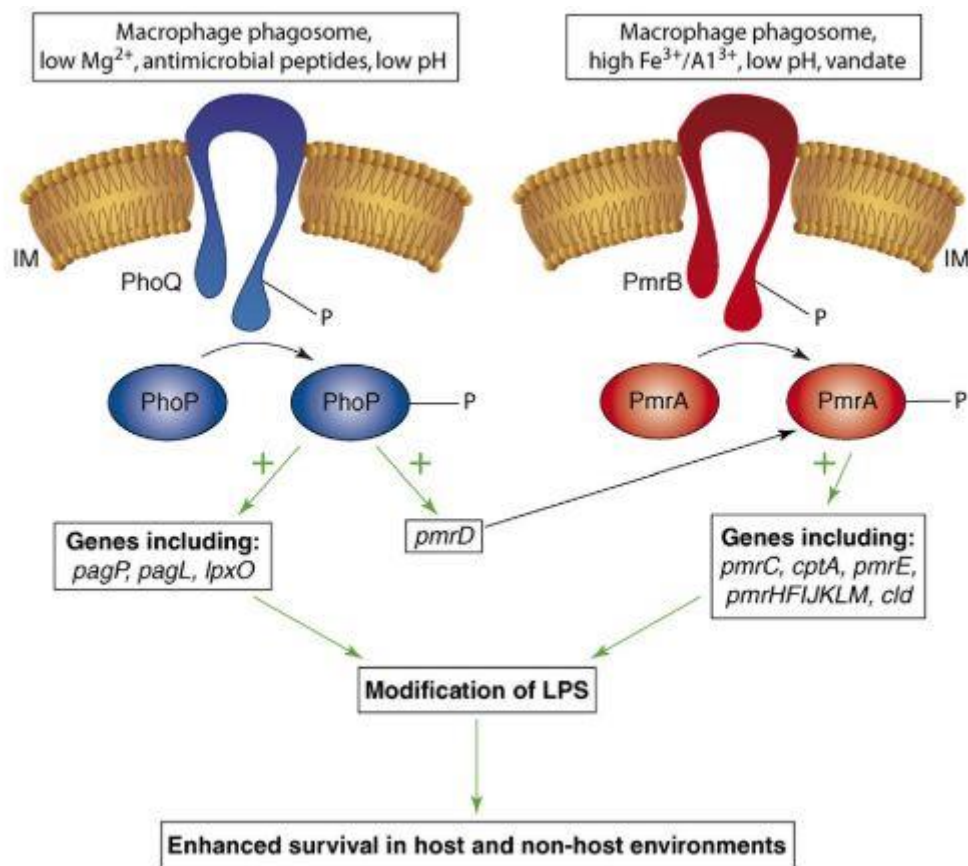


Figure 13 : Activation et interaction des systèmes de régulation à deux composants PhoQ et PmrAB (Gunn, 2008).

La présence d'un pH acide, de peptides antimicrobiens cationiques et d'un environnement à faible teneur en ion Mg^{2+} stimule l'activité de kinase de PhoQ et provoque la phosphorylation de PhoP. Une fois PhoP phosphorylé, il se fixe au promoteur de nombreux gènes de virulences. PmrAB peut être activé par des facteurs extérieurs et/ou par la phosphorylation de PhoP. Les deux couples de régulateurs provoquent la réorganisation de la membrane extérieure de la bactérie en réduisant notamment la longueur des chaînes de polysaccharides de l'antigène O, cela permet à la bactérie de se protéger des peptides antimicrobiens et de rendre sa détection plus difficile pour le système immunitaire de l'hôte.

L'intestin est également le siège d'une lutte entre micro-organismes. La plupart des bactéries à coloration de gram négative, dont *Salmonella*, disposent d'un système de sécrétion de type 6 (T6SS), capable d'injecter des effecteurs ou des toxines dans d'autres bactéries ou des cellules eucaryotes (Sana et al., 2016; Ilyas et al., 2017). La structure du T6SS est détaillée sur la **figure 14**. Le T6SS ressemble à une queue de phage intégrée à la membrane bactérienne par un complexe membranaire. Une structure semblable à un fourreau s'y ancre et propulse un tube intérieur terminé par un poinçon protéique à travers la membrane de la cellule cible. L'extrémité du poinçon se désassemble alors, libérant des effecteurs dans la cellule cible (Cianfanelli et al., 2016; Gallique et al., 2017). *Salmonella* utilise son système de sécrétion de type 6 portée par le SPI-6 comme instrument de lutte contre les autres bactéries.

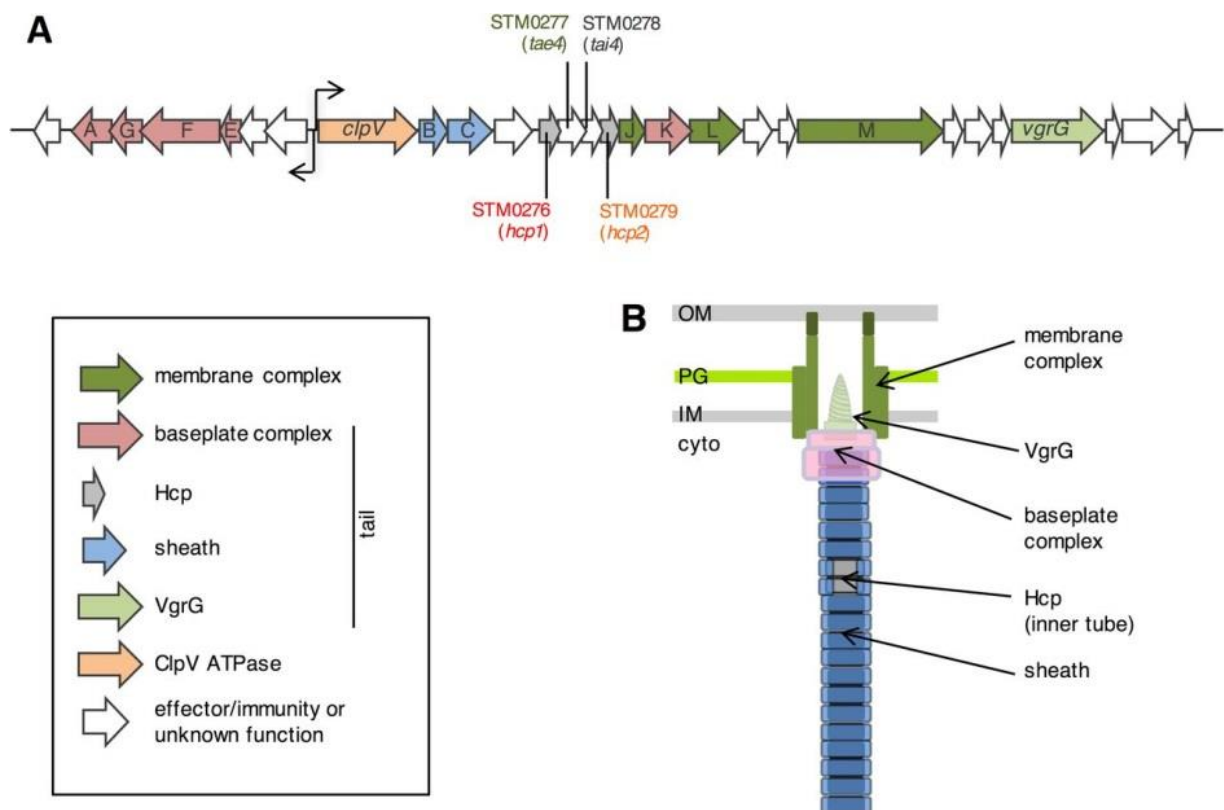


Figure 14 : Représentation du T6SS encodé par le SPI-6 (Sana et al., 2016).

(A) Locus codant pour le système de sécrétion (situé entre STM0266 et STM0292 chez *S. Typhimurium* LT2) ; (B) représentation schématique du T6SS, en bleu les composants du fourreau (TssB/TssC) ; en orange l'ATPase ClpV ; en vert clair la protéine poinçon ClpV ; en vert foncé le complexe membranaire ; les protéines Hcp en gris. Les protéines Hcp servent de promoteur à l'excrétion des effecteurs tels que la toxine antibactérienne Tae4.

1.4.2 Adhésion cellulaire

L'adhésion aux cellules de l'hôte est un processus crucial pour la pathogénicité de la bactérie. *Salmonella* est connue pour être capable de déployer jusqu'à 13 adhésines fimbriales et 7 adhésines non fimbriales selon les sérovars (**figure 15**) (Wagner and Hensel, 2011; Hansmeier et al., 2017).

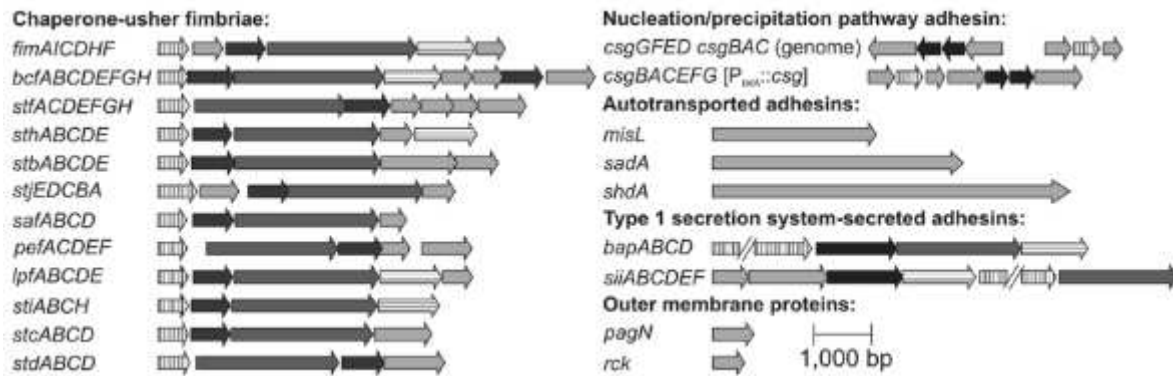


Figure 15 : Organisation génétique des opérons et des gènes susceptibles d'encoder pour des adhésines chez *S. Typhimurium* (Hansmeier et al., 2017).

1.4.2.1 Fimbriae

Les fimbriae sont des structures retrouvées à la surface des bactéries qui prennent la forme de filaments de 2-8 nm de large pour 1 à 10 µm de longs composés d'un assemblage de protéines appelées pilines qui sont organisées sous forme hélicoïdales.

Les fimbriae permettent l'adhésion aux cellules hôtes par reconnaissance d'un récepteur cellulaire, elles interviennent également dans la formation de biofilm et sur l'agrégation bactérienne (Blumer et al., 2005). Les fimbriae les plus fréquemment rencontrées correspondent aux fimbriae de type 1, les fimbriae polaires longues, et les fimbriae agrégatives minces (Wagner and Hensel, 2011).

- Fimbriae de type I: Les fimbriae de type I font partie des fimbriae les plus communément rencontrées, elles sont codées par les gènes *fim* (*fimACDHF*). La **figure 16** détaille la structure de ces fimbriae. La base du *pilus* est constituée d'un assemblage de protéine structurelle FimA. Elle est terminée par l'adhésine FimH qui se fixe spécifiquement au α-D-mannose porté par les cellules eucaryotes (Grzymajlo et al., 2013) facilitant ainsi l'adhésion des bactéries à la cellule hôte. La structure de la protéine FimH est suspectée de jouer un rôle important dans la spécificité à l'hôte des différents sérovars de *Salmonella* (voir la partie 1.5.2) (Grzymajlo et al., 2013; Yue et al., 2015; Grzymajlo et al., 2017)

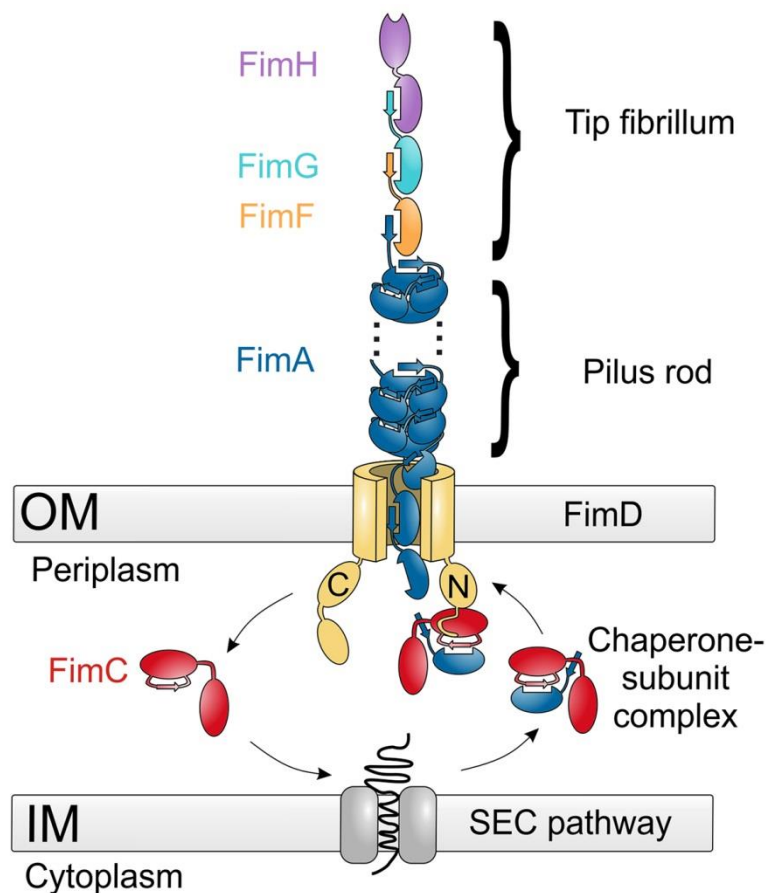


Figure 16 : Structure des fimbriae de type 1 (anonymous, 2018).

- Fimbriae polaires longues : codées par les gènes *lpfABCDE*, leur expression dépend des mécanismes de variation de phase qui permettent à *Salmonella* d'échapper au système immunitaire (Kingsley et al., 2002b). Elles sont impliquées dans la colonisation spécifique de la muqueuse intestinale via des follicules lymphoïdes présents dans le tube digestif : les plaques de Peyer. Les fimbriae polaires longues ont une spécificité pour les cellules de type M qui séparent les follicules lymphoïdes de la lumière intestinale (Bäumler et al., 1996). L'absence de l'opéron *lpf* conduit à une diminution significative de la colonisation à long terme de l'intestin des souris par *S. Typhimurium* (Weening et al., 2005). Ces fimbriae jouent également un rôle dans les premières étapes de la formation de biofilm à la surface des cellules épithéliales de l'hôte (Laniewski et al., 2017).
- Les fimbriae agrégatives minces : codées par les gènes *agfABCDEFGF* ces fimbriae sont les promotrices de l'adhésion aux protéines de la matrice extracellulaire comme la fibronectine. Elles jouent également un rôle important dans la formation de biofilm (Laniewski et al., 2017).

Le rôle des autres complexes de formation des adhésines fimbriales détaillés sur la **figure 15** est encore mal élucidé. Ces fimbriae ne sont pas aussi fréquents que celles décrites

précédemment (Laniewski et al., 2017). Cependant, le rôle de certaines de ces fimbriae dans la colonisation à long terme de l'hôte a été démontré (Weening et al., 2005).

Ces différents fimbriae jouent vraisemblablement un rôle important dans la spécificité à l'hôte des différents sérovars de *Salmonella*. Ainsi les sérovars les plus « généralistes » disposent souvent d'un plus grand nombre d'opérons fimbriaux leur donnant la faculté à persister chez une gamme plus importante d'hôtes (Weening et al., 2005) et permettent l'adhésion de *Salmonella* à différents organes ou tissus en cas de bactériémie (Laniewski et al., 2017).

1.4.2.2 Facteurs d'adhésion non fimbriale

- Adhésine non fimbriale géante SiiE : les gènes *siiCDF* portés par le SPI-4 codent pour un système de sécrétion de type I (T1SS) régulé par le complexe SiiA/B (Wille et al., 2014) permettant l'excrétion de l'adhésine non fimbriale SiiE (Sabbagh et al., 2010). L'adhésine SiiE est la protéine la plus grande du protéome de *Salmonella* avec une taille de 595 KDa (Barlag and Hensel, 2015). Elle est constituée de nombreuses répétitions semblables aux sous unités constituant la structure des fimbriae (Gerlach et al., 2007). SiiE est nécessaire pour une adhésion efficace aux microvillosités des cellules épithéliales qui permet ensuite l'invasion des cellules de l'hôte provoquée par le T3SS du SPI-1 (Gerlach et al., 2007; Wille et al., 2014).
- Adhésine MisL : portée par le SPI-3 l'adhésine MisL est une protéine dotée de deux domaines : un domaine auto-transporteur qui se fixe dans la membrane cellulaire de la bactérie pour permettre au « domaine passager » de la protéine de se propulser à l'extérieur de la membrane où il pourra interagir avec l'environnement (Dorsey et al., 2005). Cette adhésine permet une fixation sélective de la *Salmonella* au collagène de type 4 et à la fibronectine présente à la surface des cellules hôtes. La protéine MisL joue un rôle significatif dans la virulence de *Salmonella* en favorisant l'invasion des cellules épithéliales humaines (Dorsey et al., 2005).
- ShdA : le gène *shdA* codant pour l'adhésine ShdA correspond à une protéine dotée d'un domaine auto-transporteur. Ce gène est porté sur le CS54, un îlot génomique de *Salmonella* qui distingue *S. enterica subsp. enterica* des autres groupes de salmonelles (Kingsley et al., 2002a). Cette adhésine est un facteur déterminant dans la persistance de *S. Typhimurium* dans le caecum murin. Elle se fixe spécifiquement au site de liaison des fibronectines à l'héparine (Kingsley et al., 2004). Le SPI-9, présent chez *S. enterica* et *S. bongori*, code pour un opéron similaire à un T1SS dont l'effecteur partage une structure similaire à ShdA et qui contribue à l'adhésion de *S. Typhi* (Velasquez et al., 2016).

1.4.3 Invasion cellulaire

Salmonella dispose de deux mécanismes permettant son entrée dans les cellules épithéliales et les macrophages de l'hôte :

- Le mécanisme *trigger* médié par le T3SS-1 du SPI-1 ;
- le mécanisme *zipper* via la protéine de surface membranaire Rck.

1.4.3.1 Rôle du SPI-1

Le SPI-1 est un îlot génomique de 40 Kb contenant 29 gènes codant pour un système de sécrétion de type 3 : le T3SS-1, pour ses gènes de régulation et pour certains de ses effecteurs (Marcus et al., 2000). La structure du SPI-1 sont résumés dans la **figure 17**.

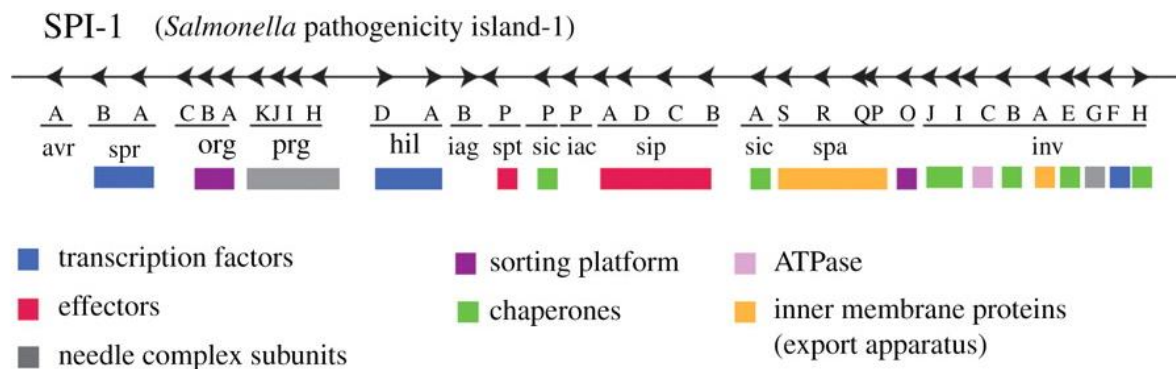


Figure 17. Détail des gènes portés par le SPI-1 et de leurs fonctions (Kosarewicz et al., 2012).

Le T3SS-1 correspond à un mécanisme de seringue moléculaire (**figure 18**) qui traverse l'enveloppe bactérienne pour entrer en contact avec la membrane cellulaire de l'hôte. Il s'agit d'un complexe d'approximativement 25 protéines organisées en deux sous-unités principales : une base s'ancrant dans la membrane bactérienne et un filament semblable à une seringue, qui permet l'injection d'effecteurs protéiques directement dans la cellule hôte (Costa et al., 2015; Deng et al., 2017a). L'injection des effecteurs dépend de l'interaction avec le translocon (SipB) et le cholestérol de la membrane des cellules eucaryotes. Les effecteurs sont ensuite excrétés de manière sélective à travers la seringue jusque dans le cytoplasme de la cellule eucaryote (Costa et al., 2015; Hume et al., 2017).

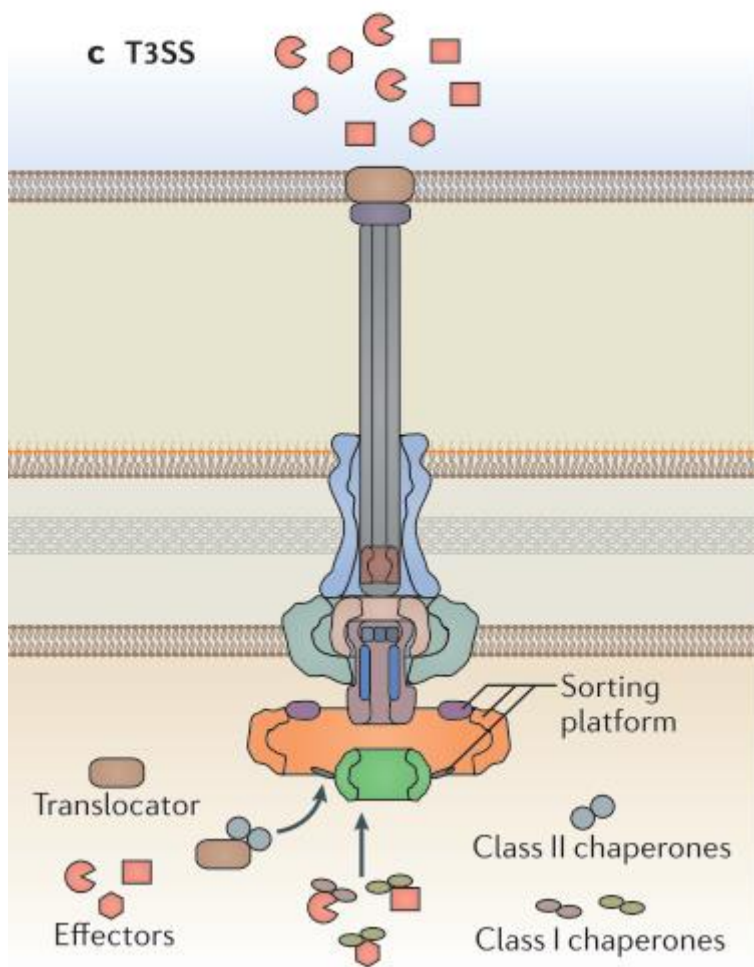


Figure 18. Structure et mécanisme d'action du T3SS-1 (Costa et al., 2015).

Le domaine cytoplasmique inclut l'ATPase *InvC* et une plateforme de tri constituée des protéines *SpaO*, *OrgA* et *OrgB*. *InvG* s'étend entre les membranes bactériennes et soutient la base du complexe (*PrgK*, *PrgH*, *SpaP*, *SpaQ*, *SpaR*, *SpaS* et *InvA*) qui soutient la seringue (*PrgI*). Le translocateur *InvB* permet la formation de pores dans la membrane cellulaire de l'hôte pour y injecter des effecteurs.

Une fois dans le cytoplasme d'une cellule eucaryote, les effecteurs interagissent avec différents composants de la cellule-hôte. Ces effecteurs sont strictement régulés et provoquent des effets divers sur la cellule hôte (**figure 19**).

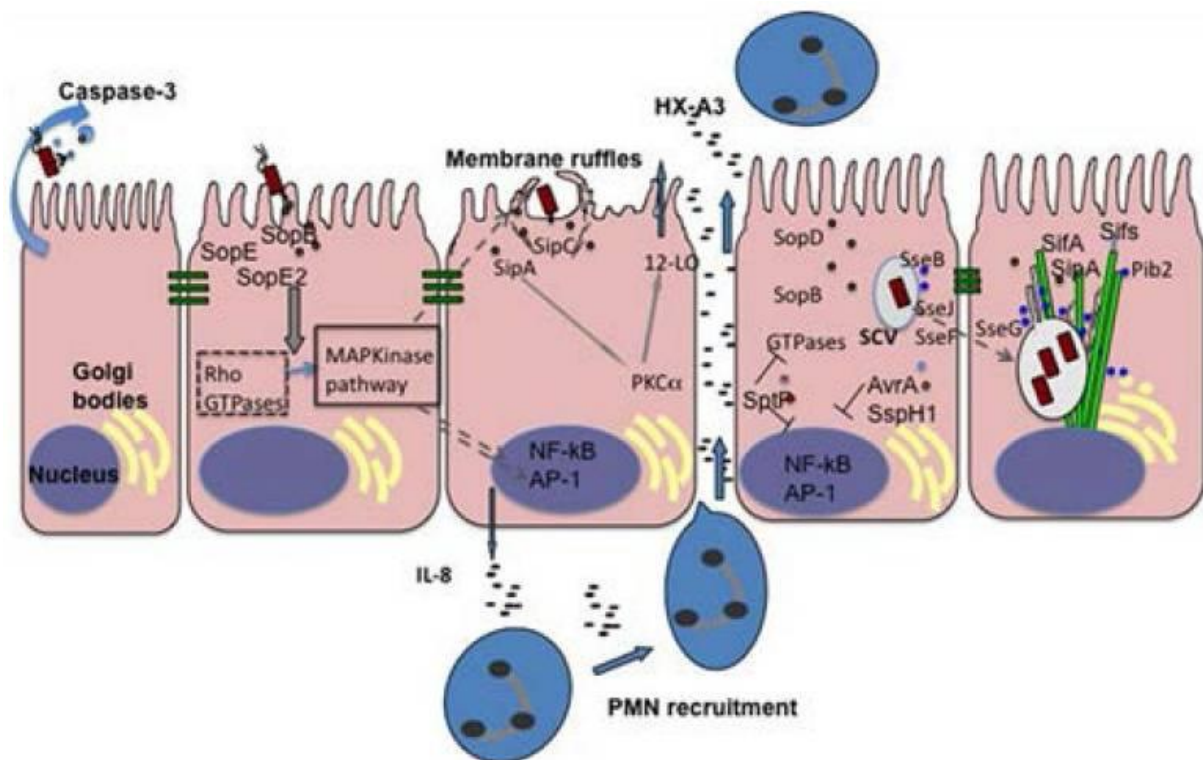


Figure 19 : Mécanisme d'invasion cellulaire provoqué par le SPI-1 (Srikanth et al., 2011).

Les protéines SopB (porté sur le SPI-5), SopE et SopE2 (protéines issues d'un bactériophage) provoquent l'activation des RhoGTPase Cdc42 et Rac1 de la cellule hôte ce qui induit une réorganisation du squelette d'actine ainsi que la cascade inflammatoire décrite précédemment dans la partie 1.4.1. Les effecteurs SipA et SipC portés par le SPI-1 agissent de manière similaire se liant à l'actine en diminuant la concentration nécessaire à sa polymérisation (SipA) et en assurant la stabilité des filaments existants (SipC) tout en induisant un réarrangement de ces filaments autour de la bactérie. Ce réarrangement des microtubules permet l'entrée de *Salmonella* dans la cellule hôte et la formation de la Vacuole Contenant les Salmonelles (VCS) (Marcus et al., 2000; Hapfelmeier et al., 2004; Haraga et al., 2008; Srikanth et al., 2011; Hume et al., 2017).

Une fois la bactérie implantée dans la cellule hôte, le T3SS-1 joue un rôle dans la réorganisation de la membrane cytoplasmique et du cytosquelette. Les effecteurs SptP et AvrA, portés sur le SPI-1, vont avoir l'effet opposé des effecteurs SopB, SopE et SopE2 et inhiber la réponse inflammatoire de la cellule hôte par restauration du cytosquelette d'actine et l'inactivation de la voie MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase), une voie de signalisation basée sur une cascade de phosphorylations médiées par des protéines kinases. La voie MAPK est impliquée dans la multiplication et la survie cellulaire. Son inhibition permet également de réduire la réponse inflammatoire de la cellule hôte (Srikanth et al., 2011; Que et al., 2013).

1.4.3.2 Mécanisme zipper

La protéine membranaire Rck est codée par le gène *rck* du plasmide de virulence de *Salmonella* porté par certains sérovar dont *Salmonella* Typhimurium, Enteritidis, Gallinarum

ou Choleraesuis (Barth and Bauerfeind, 2005). Cette protéine de la membrane externe a un effet anti-bactéricide via l'inhibition de la polymérisation du complément C9 sur la surface cellulaire évitant ainsi la formation du complexe d'attaque membranaire capable de percer des pores dans la membrane cellulaire des bactéries (Rosselin et al., 2010).

Elle joue également un rôle dans l'invasion de l'hôte par *Salmonella*. L'interaction de la protéine Rck et du récepteur EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*) induit l'activation des GTPase Cdc42 et Rac qui provoquent un réarrangement du cytosquelette comme pour le mécanisme *trigger* (Wiedemann et al., 2016; Mambu et al., 2017). Si ce réarrangement est plus modeste que celui induit par le T3SS-1, il permet néanmoins l'invasion de l'hôte via le mécanisme dit *zipper* (Rosselin et al., 2010; Velge et al., 2012a; Pilla and Tang, 2018) détaillé dans la **figure 20**.

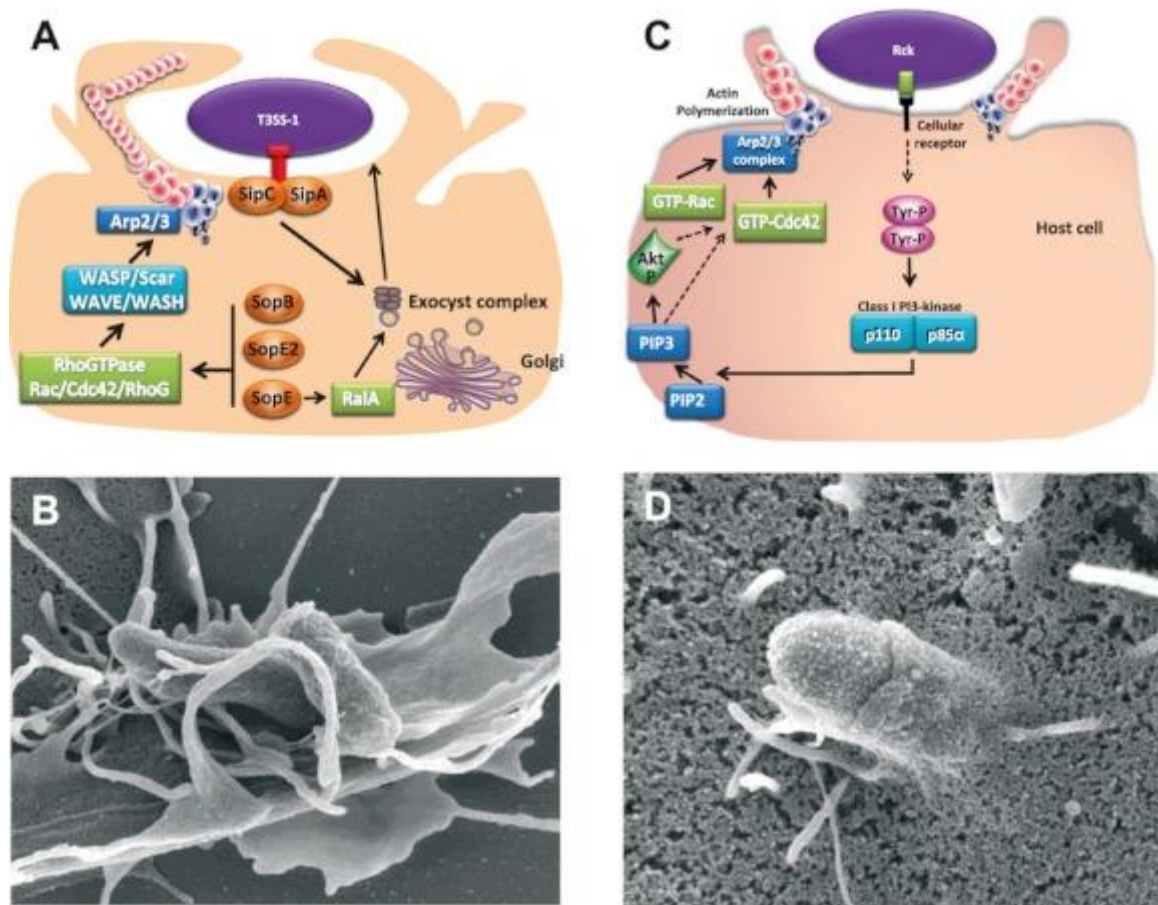


Figure 20 : Différence entre les mécanisme trigger et zipper chez *Salmonella* (Velge et al., 2012a).

Le mécanisme trigger (A, B) repose sur l'injection d'effecteurs provoquant une réponse inflammatoire et un réarrangement actif du cytosquelette tandis que le mécanisme zipper (C, D) provoque une interaction avec le récepteur EGFR. Cette interaction conduit à une cascade de réactions : la phosphorylation d'une tyrosine kinase qui induit l'activation des phosphoinositides 3 kinase de classe 1 participant à l'activation des protéines kinases Akt, Rac1 et Cdc42 qui vont induire le réarrangement du cytosquelette (D).

1.4.3.3 Invasine PagN.

En plus du T3SS-1 et de Rck, *Salmonella* dispose sur le SPI-6 du gène *pagN* codant pour la protéine PagN. La protéine PagN est une protéine auto-transporteur de la membrane extérieure ayant une structure similaire aux invasines Hek et Tia d'*E. coli*. Une délétion du gène *pagN* cause une dégradation significative des capacités d'invasion cellulaire de *Salmonella* sans réduire ses capacités d'adhésion (Lambert and Smith, 2008). Le mécanisme d'invasion médié par PagN est encore mal connu, mais nécessite l'interaction de la protéine PagN avec le sulfate d'héparane, un polysaccharide présent à la surface des cellules eucaryotes à la manière d'une hémagglutinine. Cela provoquerait une polymérisation des actines et l'entrée dans la cellule hôte (Lambert and Smith, 2009; Velge et al., 2012b; Yang et al., 2013; Goswami et al., 2018). L'expression de PagN est régulée par le couple PhoP/PhoQ qui est stimulé par des conditions proches de celles rencontrées dans la VCS. Cela permettrait une expression rapide de l'invasine PagN lors de la dissémination des salmonelles hors de la VCS facilitant ainsi l'invasion systémique (Wiedemann et al., 2015).

1.4.4 Survie et multiplication dans la cellule hôte.

Une fois que *Salmonella* a formé une VCS dans le cytoplasme de la cellule hôte et a inversé les changements physiologiques provoqués par l'invasion, elle doit s'adapter au milieu intracellulaire. La bactérie va diminuer l'expression du T3SS-1 et de ses effecteurs et mettre en place des mécanismes permettant la survie et la multiplication de la bactérie dans la VCS.

Salmonella dispose d'un second système de sécrétion de type 3 porté par le SPI-2 (T3SS-2). Le SPI-2 est un îlot génomique de 40 Kb divisé en deux segments. Le premier segment de 14.5 kb environ est commun à *S. enterica* et *S. bongori* et porte les gènes *ttr* impliqués dans la réduction du tétrathionate (Michael, 2000).

Le second segment de 25.3 kb, spécifique de *S. enterica*, porte les gènes codant pour le T3SS-2 (*ssaB-U*), pour son système de régulation (*ssrAB*), pour ses chaperons (*sscAB*) et pour certains de ses effecteurs (*sseABCDEF*) (Marcus et al., 2000; Michael, 2000). La **figure 21** détaille la structure génétique du SPI-2 et du T3SS-2.

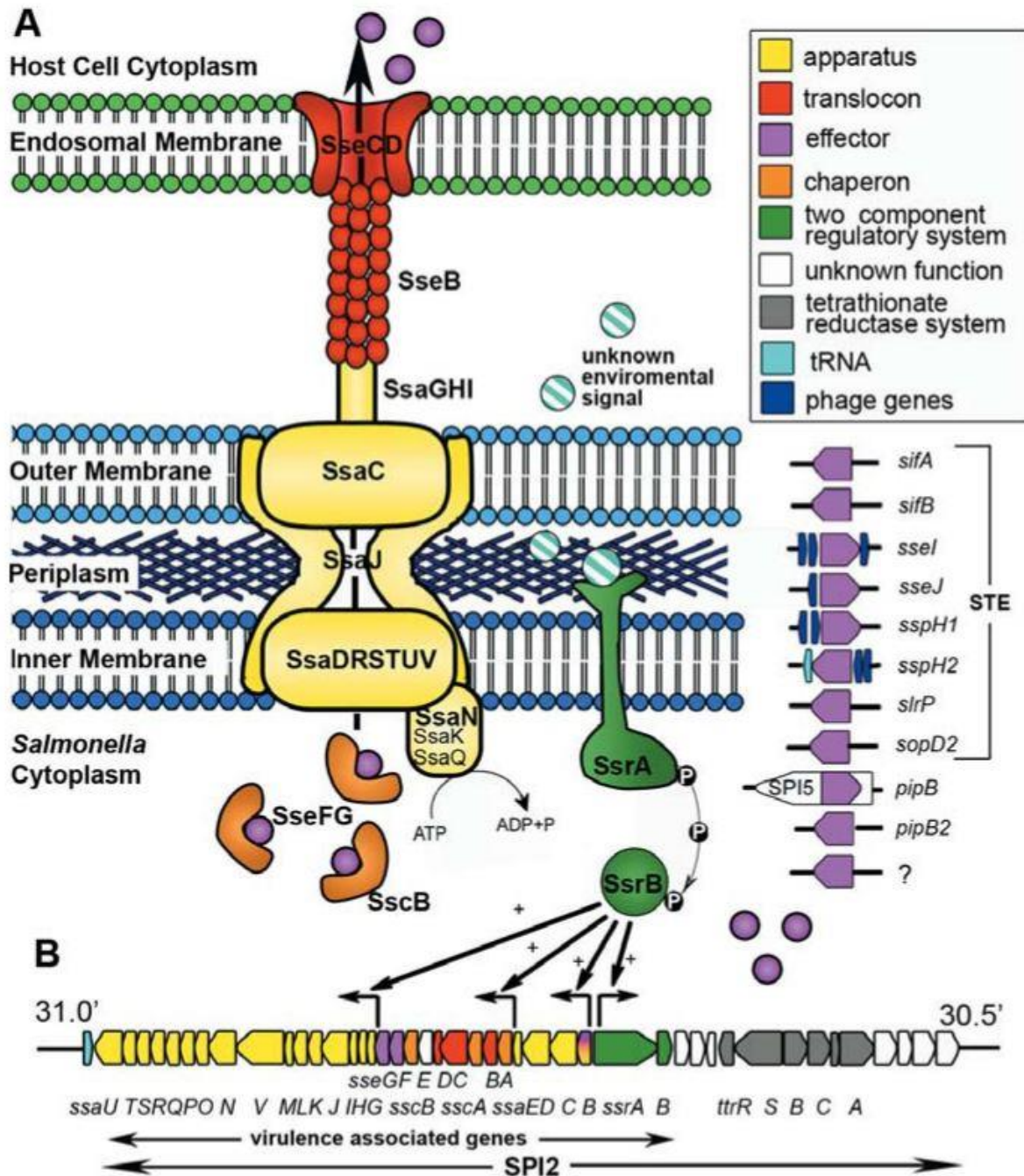


Figure 21 : Structure génétique du SPI-2 et organisation du T3SS-2 (Kuhle and Hensel, 2004).
A. Structure du T3SS-2 et origine de ses principaux effecteurs. Le locus STE (*Salmonella* translocated effector) correspond à des effecteurs liés à des bactériophages. B. Structure génétique du SPI-2.

L'expression du T3SS-2 est régulée par les gènes *ssrA* et *ssrB* et est provoquée par les conditions de la VCS : une concentration faible en ion Mg^{2+} ou Ca^{2+} , le manque de phosphate et un pH acide (proche de 5) (Michael, 2000; Srikanth et al., 2011). Le T3SS-2 permet à la bactérie d'injecter des effecteurs spécifiques au SPI-2 dans le cytoplasme de l'hôte via l'effet de SseB qui forme un translocon avec les effecteurs SseC et SseD. Ce translocon ouvre un pore dans la membrane de la VCS en direction du cytoplasme (Srikanth et al., 2011). La **figure 22** résume les principales actions des effecteurs connus.

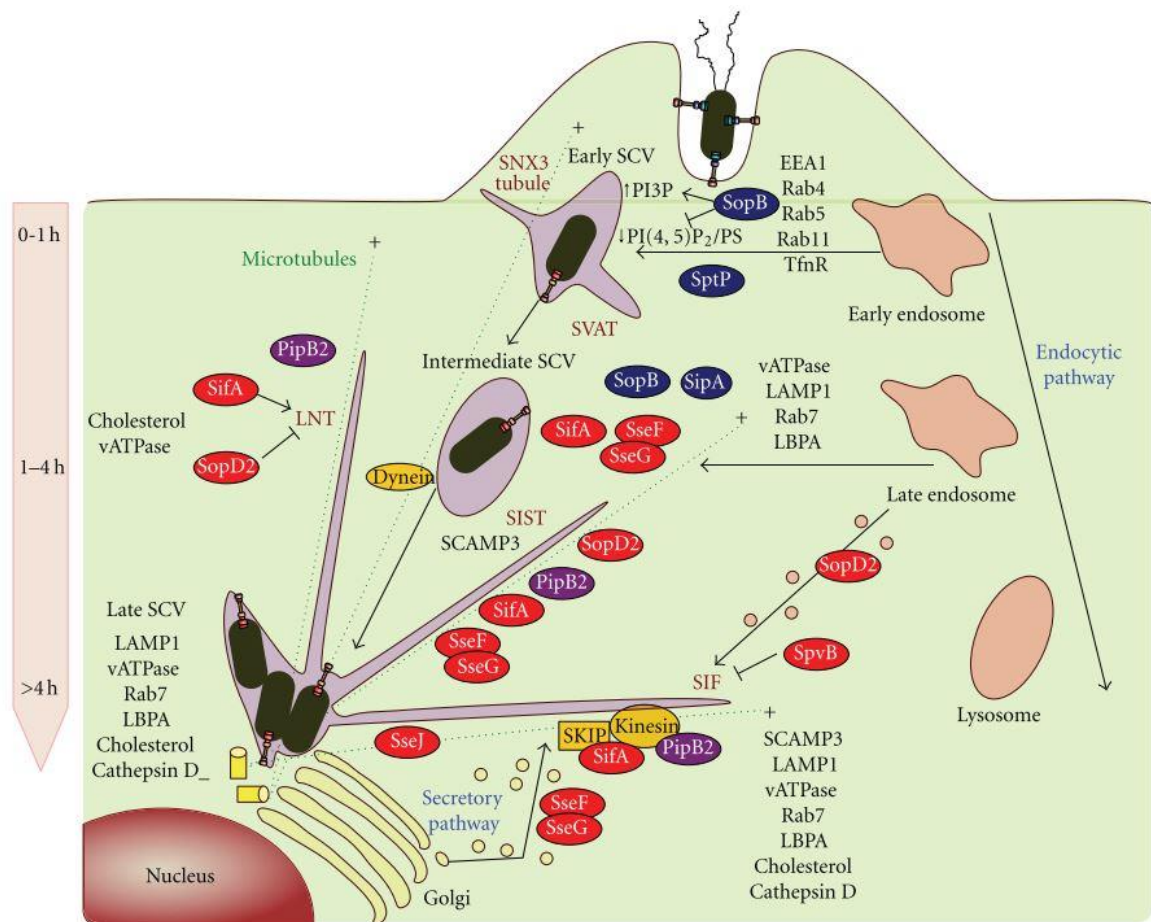


Figure 22. Formation et évolution de la Vacuole Contenant les *Salmonella* (Ramos-Morales, 2012).

Après l'internalisation, *Salmonella* s'établit dans la VCS. Les premières étapes sont gouvernées par les effecteurs SopB et SptP du T3SS-1 (en bleu). Cette étape est caractérisée par la formation de tubules SNX3 et SVAT. Le mouvement de la VCS vers le noyau à proximité des appareils de Golgi nécessite l'action des effecteurs SipA et SopB ainsi que des effecteurs du T3SS-2 (en rouge) SifA, SseF et SseG. Un grand nombre d'effecteurs sont impliqués dans les dernières étapes de maturation et la conservation de l'intégrité de la VCS. La réplication est initiée 4 à 6 H après l'invasion et est caractérisée par la formation de plusieurs sortes de tubules connues comme SIF, SIST et LNT. En violet, les effecteurs excrétés à la fois par le T3SS-1 et le T3SS-2.

La première étape consiste à relocaliser la VCS à proximité du noyau et de l'appareil de Golgi de la cellule hôte. La VCS subit donc des transformations via l'action de l'effecteur SopB qui possède une persistance supérieure à la plupart des effecteurs du T3SS-1. SopB active Atk et réduit le contenu en phosphoinositide PI(4,5)P₂ de la membrane de la vacuole. Cela provoque l'augmentation de son contenu en phosphoinositide PI3P. L'action de SopB permet la maintenance de la vacuole (Ramos-Morales, 2012). Ces changements dans la structure de la membrane de la vacuole empêchent en effet sa fusion avec les lysosomes et stabilise la vacuole via l'incorporation du marqueur Rab dans la membrane de la vacuole, lui donnant

l'apparence d'un phagosome aux yeux de la cellule (Srikanth et al., 2011; Ramos-Morales, 2012). Son action va permettre l'acidification de la vacuole et l'activation du T3SS-2 (Ilyas et al., 2017).

Une fois la vacuole formée et camouflée, elle migre en position juxta-nucléaire via l'action des effecteurs SipA et SopB du T3SS-1 et des effecteurs SifA, SseF et SseG du T3SS-2 (Ramos-Morales, 2012). Ces effecteurs provoquent l'activation des dynéines sur les microtubules et la migration de la VCS vers le noyau, au niveau du Centre Organisateur des MicroTubules (COMT) à proximité de l'appareil de Golgi (Malik Kale et al., 2011; Ramos-Morales, 2012).

La dernière étape de la maturation de la VCS consiste en la formation des Filaments Induits par *Salmonella* (SIFs). La fonction des SIFs reste encore mal connue mais leur formation induit la multiplication de *Salmonella* à l'intérieur de la VCS. Les SIFs se forment le long des microtubules via l'action des effecteurs SifA et PipB2. SifA active les GTPases de l'hôte qui provoquent l'activation de l'effecteur SseJ qui entraîne une modification de la membrane de la VCS afin de favoriser la formation de tubules. Ces deux effecteurs forment avec l'effecteur PipB2 un complexe en se liant aux protéines SKIP et à la kinésine 1 de la cellule hôte ce qui induit la fixation des SIFs naissants aux microtubules de la cellule hôte et, par leur expansion, le déplacement de la VCS (Ramos-Morales, 2012).

L'effecteur SopD2 est associé à l'endosome tardif : il inhibe la formation de filaments par la VCS et limite la migration des vésicules vers la VCS (Ramos-Morales, 2012). SopD2 a un effet antagoniste vis-à-vis de l'effecteur SifA, leurs actions permettant la stabilisation de la VCS et la multiplication des salmonelles (Schroeder et al., 2010).

1.4.5 Induction de la mort cellulaire

Salmonella est capable d'induire la mort des cellules qu'elle a infectées par apoptose, une mort cellulaire programmée déclenchée par l'activation des caspases. Les caspases sont des protéases à cystéine : des enzymes capables d'hydrolyser les liaisons peptidiques. Des caspases initiateuses vont provoquer un clivage libérant le domaine catalytique des caspases effectrices. Les caspases effectrices vont alors déclencher l'apoptose via une chaîne de réactions qui conduit principalement à la condensation du noyau, la dégradation de l'ADN, la réduction du potentiel de la membrane mitochondriale et la dégradation de la cytokératine. La cellule se fragmente en différents corps apoptotiques contenant les salmonelles dont la modification de la membrane induite par l'apoptose va provoquer la phagocytose par les macrophages. Ce phénomène favorise l'infection des macrophages par *Salmonella*.

L'apoptose induite par *Salmonella* est déclenchée via différents mécanismes dépendants des effecteurs du SPI-1 et du SPI-2. *Salmonella* possède 3 mécanismes conduisant à

l'apoptose (Ramos-Morales, 2012). La **figure 23** illustre la différence entre l'apoptose induite par *Salmonella* et la pyroptose que *Salmonella* induit chez les macrophages.

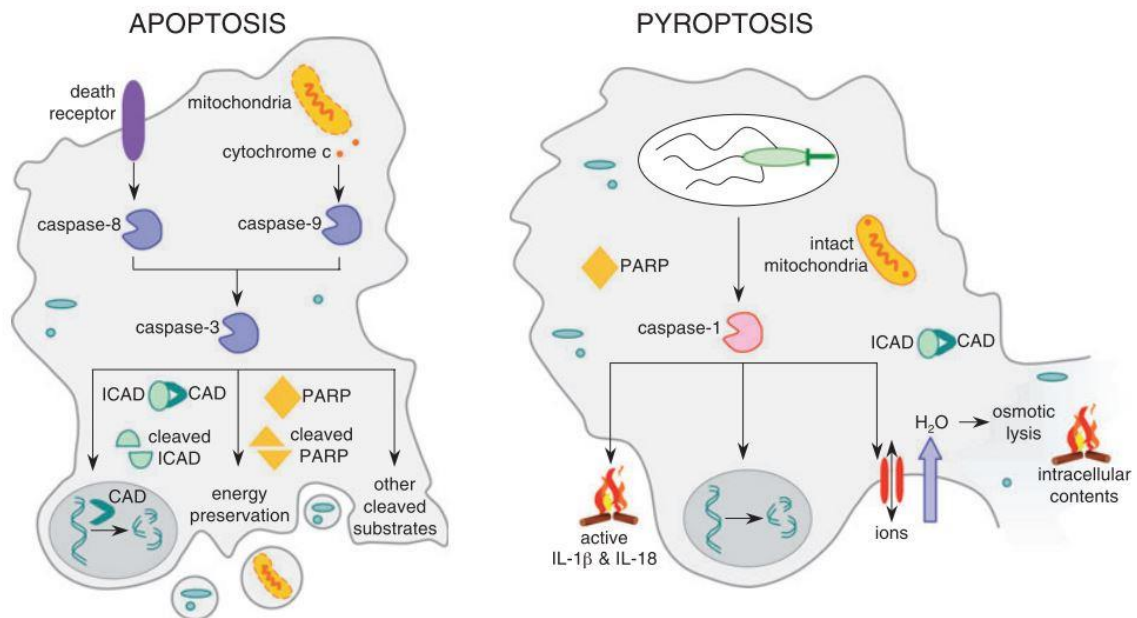


Figure 23. Mécanismes d'apoptose et de pyroptose induits par *Salmonella* (Fink and Cookson, 2007).

L'apoptose est principalement initiée par l'excision des récepteurs de mort cellulaire de la membrane cytoplasmique qui conduit à l'activation d'un initiateur : la caspase-8. La sécrétion de cytochrome c par les mitochondries peut également conduire à l'activation de la caspase initiateur 9. Les caspases-8 et 9 activent la caspase-3, un effecteur qui clive différents substrats intracellulaires pour produire l'apoptose, notamment la DNase activée par la caspase (CAD). Le facteur PARP (enzyme Poly-ADP-Ribose Polymérase) est activé et désactivé par les caspases lors de l'apoptose régulant l'épuisement des réserves de la cellule tout au long du processus. La pyroptose est médiée par la caspase-1 et provoque l'excrétion des cytokines inflammatoires IL-1 β et IL-18 et l'activation des nucléases qui vont provoquer la dégradation de l'ADN. Enfin, la caspase 1 conduit à la formation de pores dans la membrane cytoplasmique qui conduisent à la lyse du macrophage.

Dans les cellules épithéliales *Salmonella* induit une apoptose 12 à 18 heures après son entrée dans la cellule hôte. Ce mécanisme d'induction de la mort cellulaire dépend de la présence des SPI-1 et 2. Le mécanisme est encore mal élucidé mais implique l'activation d'un ensemble d'initiateurs de l'apoptose qui conduisent à l'activation des caspases 3 et 8. L'effecteur du T3SS-2 SpvB joue un rôle important dans l'induction de l'apoptose ainsi que l'effecteur SlprP, transloqué à la fois par les SPI-1 et 2.

Deux effecteurs du SPI-1 (AvrA et SopB) ont un effet inhibiteur de l'apoptose induite par *Salmonella* : AvrA agit directement contre l'apoptose via l'inhibition de la voie MAPK et SopB qui, par contre, favorise la survie de la cellule hôte, via l'activation de l'Akt (Ramos-Morales, 2012).

Chez les macrophages, le T3SS-1 est capable d'induire une pyroptose, c'est-à-dire une apoptose caractérisée par une inflammation importante. Deux mécanismes indépendants peuvent être mis en œuvre :

- La pyroptose rapide, qui se produit 1 à 2 heures après l'entrée de *Salmonella* dans le macrophage. Elle est dépendante du T3SS-1 et repose sur l'activation de la caspase-1 par interaction directe avec l'effecteur SipB et l'activation de l'inflammasome de l'hôte (Jarvelainen et al., 2003; Fink and Cookson, 2007; Ramos-Morales, 2012). L'activation de la caspase-1 induit la pyroptose comme décrit sur la **figure 22**.
- La pyroptose qui se déclenche 18 à 24 heures après l'infection, quand les conditions de la VCS inhibent l'expression du T3SS-1 et de ses effecteurs. Dans ce cas, ce sont les effecteurs SpvB et SseL du SPI-2 qui activent les récepteurs de l'inflammasome NLR4 et NLRP3 via la médiation de la flagelline. Comme précédemment, l'activation de la caspase-1 va provoquer la pyroptose de la cellule hôte et une inflammation des tissus environnants (Fink and Cookson, 2007; Ramos-Morales, 2012).

La pyroptose des macrophages cause la libération des cytokines IL-1 β et IL-18 responsables des fortes fièvres provoquées par la fièvre typhoïde (Fink and Cookson, 2007). Ce processus inflammatoire contribue à la survie du pathogène dans l'intestin, comme vu précédemment, en permettant une réinfection des cellules épithéliales et une meilleure colonisation de l'intestin (Jarvelainen et al., 2003; Winter et al., 2010; Winter and Baumler, 2011).

La pyroptose permet également aux salmonelles absorbées par les macrophages de se répandre dans l'organisme et de déclencher une infection systémique (Fink and Cookson, 2007; Ilyas et al., 2017).

1.5 Spécificité à l'hôte

1.5.1 Spéciation de *Salmonella*

D'après l'étude de leur taux de substitutions, les genres *Salmonella* et *E. coli* se sont différenciés depuis un ancêtre commun il y a entre 120 et 160 millions d'années (Ochman and Wilson, 1987; Doolittle et al., 1996; Ochman et al., 1999). La principale distinction entre *Salmonella* et *E. coli* repose sur la présence des îlots de pathogénicité de *Salmonella* (Fookes et al., 2011), en particulier du SPI-1, commun à toutes les Salmonelles et qui lui donne, comme vu précédemment, la capacité à mobiliser des facteurs d'inflammation et d'invasion des cellules épithéliales (Baumler et al., 1998; Hensel, 2004). Au sein du genre *Salmonella* un second événement de spéciation se serait produit entre 40 et 25 millions d'années et a conduit à la divergence entre *S. bongori* et *S. enterica*. Il se caractérise par l'acquisition par transfert horizontal du T3SS-2 par *S. enterica* et la capacité à envahir les tissus au-delà de la barrière intestinale (Hensel, 2004). Enfin l'espèce *S. enterica* s'est divisée en différentes sous espèces

parmi lesquelles *S. enterica subsp. enterica* se distingue par une adaptation aux vertébrés à sang chaud (mammifères et oiseaux) (Baumler et al., 1998) comme détaillé sur la **figure 24**.

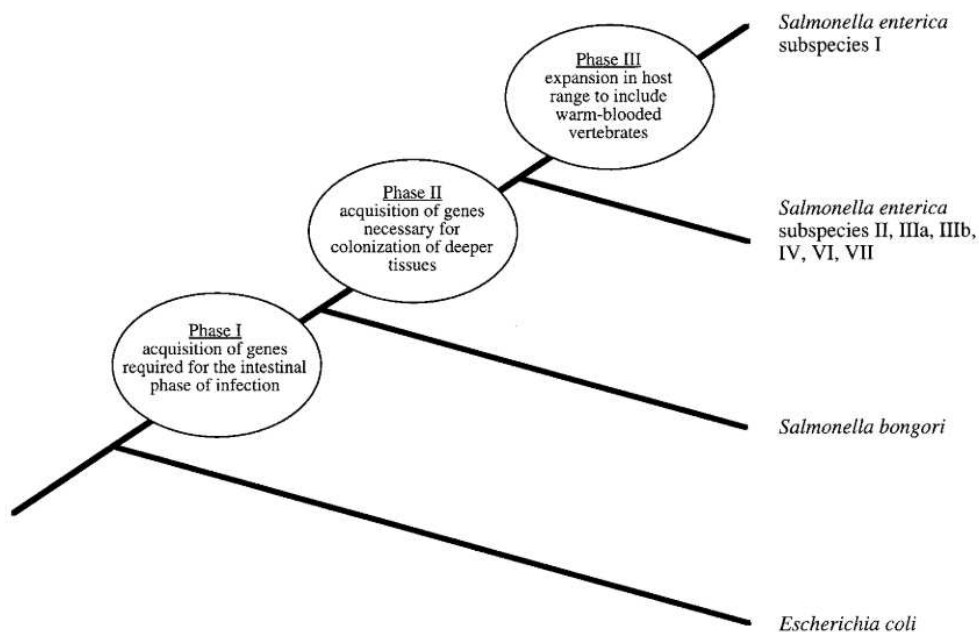


Figure 24 : Modèle pour l'évolution de la virulence du genre *Salmonella* (Baumler et al., 1998).

Trois étapes sont distinguées depuis la divergence d'avec *E. coli* : l'acquisition de la capacité à infecter les cellules épithéliales de l'hôte, la capacité à survivre dans les cellules et à infecter des tissus plus profonds et enfin la capacité à infecter des animaux à sang chaud.

Parmi les différents sérovars de *Salmonella enterica subsp. enterica* on observe des différences dans la gamme d'hôtes potentiels. La plupart des sérovars adoptent un comportement généraliste ce qui permet leur dissémination chez une gamme d'hôtes importante (reptiles, oiseaux, mammifères). Un plus petit nombre de sérovars n'a qu'une gamme d'hôtes plus restreinte, provoquant généralement des pathologies plus graves qu'une simple gastroentérite (Bäumler and Fang, 2013).

Les sérovars sont considérés comme adaptés à un hôte s'ils possèdent la capacité à persister dans la population de celui-ci par transmission directe comme c'est le cas pour *Salmonella Typhi* chez l'humain, *S. Dublin* chez le bovin ou encore *S. Choleraesuis* chez le porc (Kingsley and Baumler, 2000). Le mécanisme infectieux de ces sérovars adaptés à un hôte spécifique repose généralement sur le portage chronique via une infection systémique plutôt que sur la multiplication dans l'intestin (Bäumler and Fang, 2013). La **figure 25** illustre l'adaptation à l'hôte chez *Salmonella*.

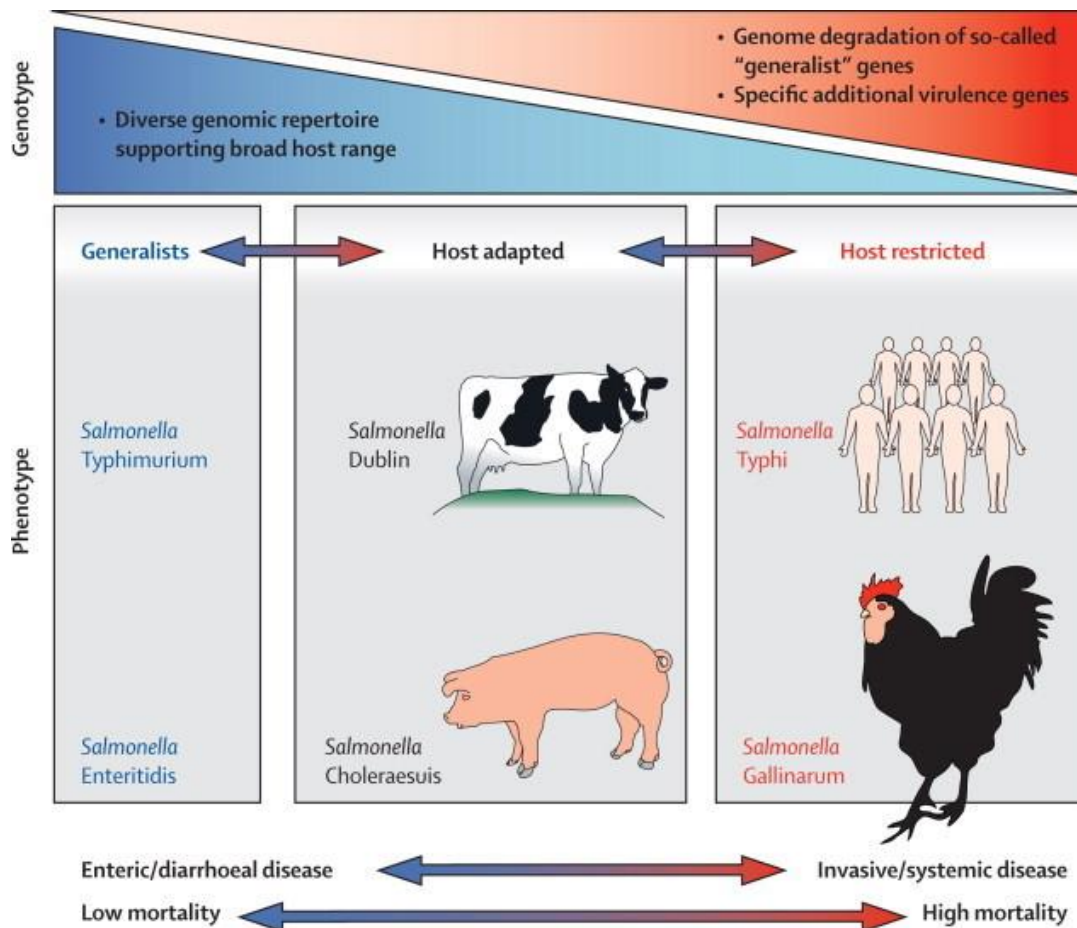


Figure 25 : Spécialisation chez *Salmonella* (Feasey et al., 2012).

1.5.2 Facteurs de spécificité à l'hôte.

L'adaptation à l'invasion systémique chez une espèce donnée est généralement accompagnée de l'acquisition de caractéristiques génétiques particulières. Ainsi *Salmonella Typhi* ne provoque pas les inflammations intestinales comme les sérovars généralistes mais une invasion systémique pendant laquelle la bactérie colonise différents organes (Winter et al., 2014) dont la vésicule biliaire. A ce niveau, la bactérie peut coloniser une niche et rejoindre l'intestin de façon intermittente via la bile pour se répandre dans l'environnement et potentiellement infecter d'autres hôtes (Kingsley and Baumber, 2000).

Ce mécanisme d'invasion particulier est dû à la capacité acquise par *S. Typhi*, *S. Paratyphi C* et *S. Dublin* à réguler rapidement l'expression de ses gènes de virulence via la présence du SPI-7 dont les gènes codent pour la biosynthèse (*tvfBCDE*) et l'export (*vexABCDE*) de l'antigène de virulence Vi. La synthèse de l'antigène Vi est régulée par le gène *tvfA* qui inhibe l'expression de l'antigène flagellaire et du T3SS-1 qui permet à *S. Typhi* d'échapper au système immunitaire et favorise l'invasion systémique (Wangdi et al., 2012; Winter et al., 2014).

Cette capacité d'invasion systémique des sérovars adaptés à l'hôte se caractérise également par une baisse de la pression sélective sur les gènes permettant la colonisation intestinale.

Cela conduit à une baisse du nombre de gènes fonctionnels qui est observée chez la plupart des sérovars « spécialistes » (Bäumler and Fang, 2013). Ainsi, par exemple, si *S. Typhimurium* ne possède que 25 pseudogènes (des gènes ayant perdu leur fonction via une mutation ponctuelle) *S. Typhi* en possède 204, *S. Paratyphi A*, 174 (McClelland et al., 2004) et *S. Gallinarum*, 309 (McClelland et al., 2001; Thomson et al., 2008).

La spécificité à l'hôte peut donc s'évaluer par les caractéristiques génétiques des souches. Les opérons codant pour des facteurs d'adhésion cellulaire sont des éléments du génome ayant une forte propension à muter en pseudogènes lorsque leur fonction n'est plus requise. Dans les sérovars spécialistes comme *S. Typhi*, 7 à 8 des 12 opérons fimbriaux contiennent des pseudogènes (Hansmeier et al., 2017).

Cependant, ces pertes de fonction ne se limitent pas aux sérovars spécialistes et peuvent se retrouver chez certains sérovars généralistes (Hansmeier et al., 2017). La perte ou l'acquisition de facteurs d'adhésion permettrait ainsi d'expliquer la gamme d'hôtes d'un sérovar particulier. Par exemple les opérons fimbriaux *lpfABCDE*, *bcgABCDEFGH*, *stbABCDE*, *stdABCD* et *sthABCDE* sont nécessaires à la colonisation à long terme de l'intestin murin par *S. Typhimurium* (Weening et al., 2005). Ainsi la perte ou l'acquisition d'opérons fimbriaux et de facteurs d'adhésion peut être considérée comme des marqueurs de spécificité à l'hôte même si la contribution précise de chaque opéron à la gamme d'hôtes d'un sérovar donné est encore mal connue (Yue et al., 2012).

Au-delà de la présence/absence de gènes de virulence, les variations alléliques (variations nucléiques dans la séquence de certains gènes) peuvent avoir aussi un impact important sur la spécificité à l'hôte. Plusieurs études démontrent que des variations dans la structure protéique de l'adhésine FimH a un fort impact sur la spécificité à l'hôte (Yue et al., 2012; Yue et al., 2015). Les différents allèles de *fimH* codent pour des protéines présentant de subtiles modifications du site de liaison au mannose et peuvent induire des variations dans la gamme d'hôte de la bactérie. Ainsi le variant de FimH de *S. Gallinarum* n'a pas d'affinité pour le mannose et se fixe à un récepteur encore inconnu (Kisiela et al., 2005). Un grand nombre de sérovars restreints ou adaptés à un hôte présentent des variants de FimH possédant une affinité bien supérieure aux cellules épithéliales de leur hôte de prédilection que le sérovar *Typhimurium* plus généraliste (Yue et al., 2015).

Certains gènes de virulence ont un taux de mutation supérieur au reste du génome de *Salmonella* (Eswarappa et al., 2008). C'est le cas de certains gènes des SPIs :

- *sipD* : un translocon du T3SS-1 porté par le SPI-1 qui joue un rôle essentiel dans la translocation des effecteurs dans la cellule hôte ;
- *sptP* : effecteur du SPI-1 impliqué dans l'inhibition de la réponse inflammatoire ;
- *sseC* et *sseD* : deux composants du translocon du SPI-2 requis pour la survie intracellulaire de *Salmonella* ;

-sseF : un effecteur du T3SS-2 porté dans le SPI-2 et impliqué dans la maintenance de la VCS ;

-sifA : un effecteur du T3SS-2 situé en dehors des SPI et participant à la maturation de la VCS.

Les variations de séquences de ces gènes peuvent être reliées statistiquement au caractère d'adaptation à l'hôte des différents sérovars de *Salmonella* (Eswarappa et al., 2008).

2 *Salmonella* Derby, un sérovar émergent encore méconnu

2.1 Découverte et épidémies notables

Salmonella enterica subsp. *enterica* sérovar Derby a été isolé en 1922 lors d'une TIAC reliée à des tourtes à la viande de porc à Derby en Angleterre (Peckham and Savage, 1923). Dès 1937, *Salmonella* Derby est reconnu comme un sérovar de salmonelle par le sous-comité *Salmonella* de 1934 (The Salmonella Subcommittee of the Nomenclature Committee of the International Society for, 1934). Depuis *Salmonella* Derby est associé de façon sporadique à des TIAC dans les pays développés. Ainsi, en 1946, *S. Derby* cause en Australie une épidémie chez 68 nourrissons et enfants en bas âge causant la mort de 10 d'entre eux (Mushin, 1948). En 1963, une TIAC causée par une contamination d'œufs par *S. Derby* cause 822 cas dans 53 hôpitaux aux Etats Unis (Sanders et al., 1963). Plus récemment, *S. Derby* est responsable d'une TIAC en Allemagne touchant 145 patients, essentiellement des personnes âgées à Berlin et dans l'état du Brandebourg en Allemagne (Simon et al., 2017). Cependant, au-delà de quelques épidémies, *S. Derby* reste majoritairement associé à des cas sporadiques (EFSA and ECDC, 2018).

2.2 *Salmonella* Derby dans les filières alimentaires

Salmonella Derby est historiquement associé à la contamination asymptomatique des porcs et de la volaille, en particulier de la dinde (Felsenfeld and Young, 1947; Valdezate et al., 2005; Hayward et al., 2013). Au niveau international *S. Derby* est en effet en compétition avec *S. Typhimurium* pour la première place au niveau de la prévalence chez le porc (Hauser et al., 2011; Schmidt et al., 2012) avec, en Europe, des prévalences respectives de 22,9% et 20.6% (EFSA, 2016). Une étude menée sur les salmonelles rencontrées dans les œufs en Uruguay reporte également *Salmonella* Derby comme le sérovar le plus fréquemment isolé devant *S. Enteritidis* (Betancor et al., 2010).

En Chine *Salmonella* Derby est le sérovar le plus communément retrouvé dans les abattoirs du secteur porcin (Cai et al., 2016). Aux Etats Unis, *S. Derby* est le 2^{ème} sérovar le plus communément isolé chez le porc après *S. Typhimurium* (Schmidt et al., 2012). En Europe, *Salmonella* Derby est présent dans 28,5 % des élevages de production (EFSA, 2008) et

représente, en 2015, le cinquième sérovar le plus fréquemment isolé dans les aliments et les animaux (EFSA, 2016).

Parmi les souches de *S. Derby* reportées par l'EFSA en 2016, 64,4 % proviennent du porc, 21 % de la dinde et 11,3 % de poulets de chair (EFSA, 2017). Au-delà de sa prévalence importante dans la filière porcine, *S. Derby* a également été reporté chez la volaille. Il est en effet le sérovar le plus fréquemment isolé chez la dinde au Royaume Uni avec une multiplication par 5 de sa prévalence entre 2014 et 2015 (EFSA, 2016; Hayward et al., 2016).

En France, *S. Derby* est le 4^{ème} sérovar le plus fréquemment isolé dans les filières alimentaires après *S. Typhimurium*, son variant monophasique *S. 1,4,[5],12:i:-* and *S. Enteritidis* (Leclerc et al., 2016). Ce sérovar est isolé principalement dans la viande de porc et de volaille avec une prévalence respective de 1,4 % chez le porc (DGAI, 2015) et de 3,2 % chez le poulet de chair (DGAI, 2014).

2.2.1 Description des filières alimentaires critiques en France.

2.2.1.1 Secteur porcin

La viande porcine représente 33,1 % de la consommation de viande totale des français avec 2,1 millions TEC (Tonne Equivalent Carcasse) consommée en 2017. La TEC, tonne équivalent carcasse, correspond à une unité de poids employée pour mesurer des quantités industrielles de viande, elle constitue à l'application d'un coefficient dépendant du type de produit considéré afin de ramener son poids à celui des carcasses nécessaires à la production du produit fini.

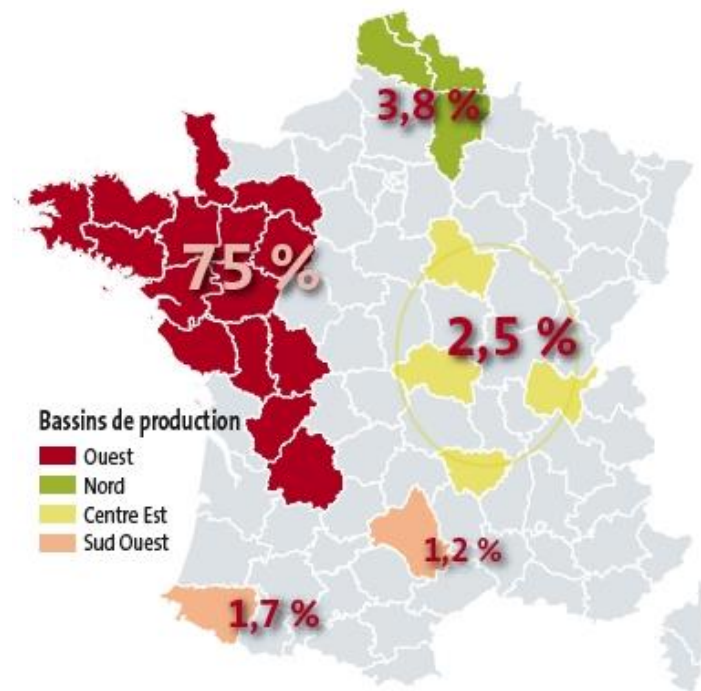
La consommation de viande de porc se répartit pour trois-quarts vers la charcuterie, la viande fraîche représentant un quart de la consommation (Agrimer, 2017). Plus de 90 % de la production est commercialisé par une quarantaine d'organisation de producteurs. Ces organisations sont de plus en plus impliquées dans la sélection et la transformation de la viande en produit fini (Agrimer, 2017).

La France dispose d'un cheptel de 12,8 millions de têtes dont 1 million de truies reproductrices. Elle abat annuellement 23,1 millions de porcs, faisant d'elle le 3^{ème} pays producteur en Europe après l'Allemagne et l'Espagne (Agrimer, 2017). L'abattage est réalisé pour sa majorité (95 %) dans 23 abattoirs spécialisés répartis dans les principaux bassins de production. Neuf de ces abattoirs ont une capacité annuelle de plus d'un million de têtes, tous localisés dans les régions Bretagne et Pays de la Loire (Agrimer, 2017).

Le secteur porcin en France est concentré sur 4 zones de production comme montré sur la **figure 26**:

- Le bassin Ouest (75 % de la production)
- Le bassin Nord (3,8 % de la production)

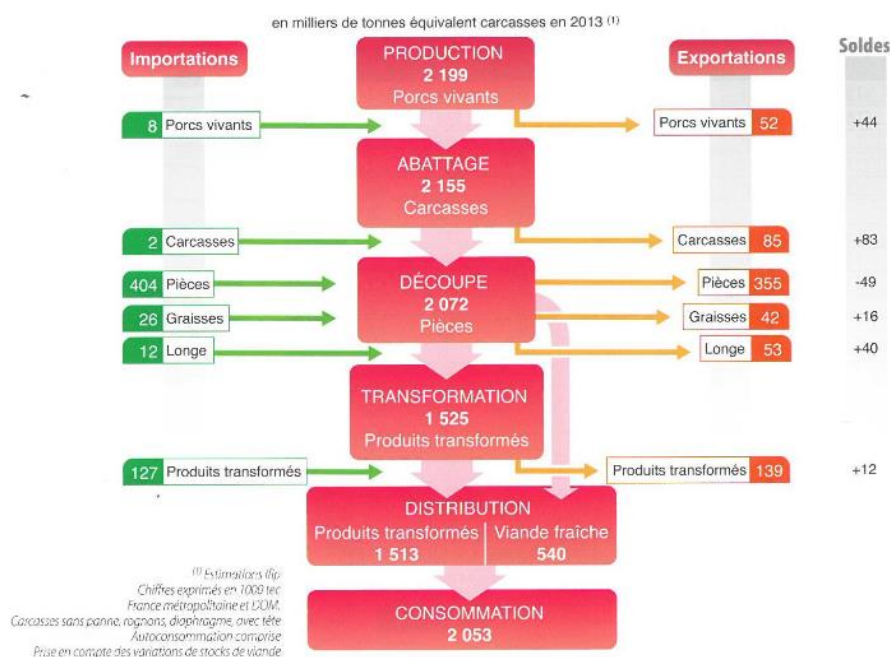
- Le bassin du Sud-Ouest (2,9 % de la production)
- Le bassin du Centre-Est (2,5 % de la production)



Source : CGAAER d'après le service de la statistique et de la prospective

Figure 26: Répartition de la production porcine en France (CGAAER, 2012).

La **figure 27** résume les chiffres clés de la filière :



Les échanges en France : les flux par maillon

Source : Le Porc par les Chiffres 2014-2015, Ifip-Institut du porc

Figure 27 : Chiffres clés de la filière Porc en France (Ifip, 2014).

2.2.1.2 Secteur volailles

La consommation de volailles en France représente 28 % de la consommation annuelle avec 1,2 TEC consommé en 2017 et une consommation moyenne de viande rapportée à chaque habitant (Kgec/hab) de 27 dont 19,6 Kgec/hab (consommation de viande rapporté à chaque habitant) pour la viande de poulet et 4,3 Kgec/hab pour la dinde (Franceagrimer, 2018a).

La production de volailles française atteint les 1,81 millions TEC ce qui fait de la France le 3^{ème} producteur européen après la Pologne et le Royaume Uni. 34 % de cette production est destinée à l'export. Les abattoirs traitent 917 millions de volailles annuellement, des poulets de chair pour 82 % des abattages (Franceagrimer, 2018a). La **figure 28** résume les chiffres clés de la filière :

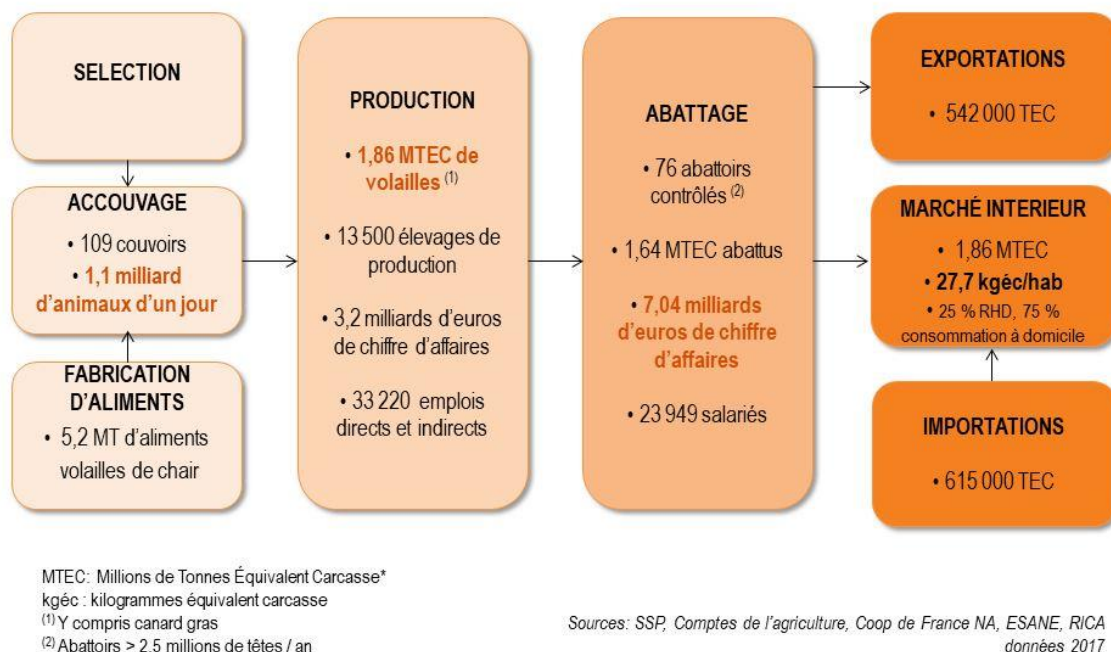


Figure 28 : Chiffres clés pour la filière volailles de chair (ITAVI, 2015).

Le secteur volailles en France est concentré essentiellement dans l'Ouest du territoire :

- Le bassin Ouest (Bretagne, Pays de la Loire et Poitou-Charentes) représente 76 % de la production de volaille et compte 80 % des abattages.
- Le bassin Sud-Est (Rhône-Alpes, Bourgogne et Auvergne) représente 10 % de la production et concentre 11 % des abattages.
- Le bassin Sud-Ouest (Aquitaine et Midi-Pyrénées) représente 7 % de la production et concentre 6 % des abattages.
- Le bassin Nord (Nord-Pas-de-Calais, Picardie et Champagne-Ardenne) représente 6 % de la production et concentre 2, 5 % des abattages.

La répartition de la production de volailles en France est détaillée dans la **figure 29**.

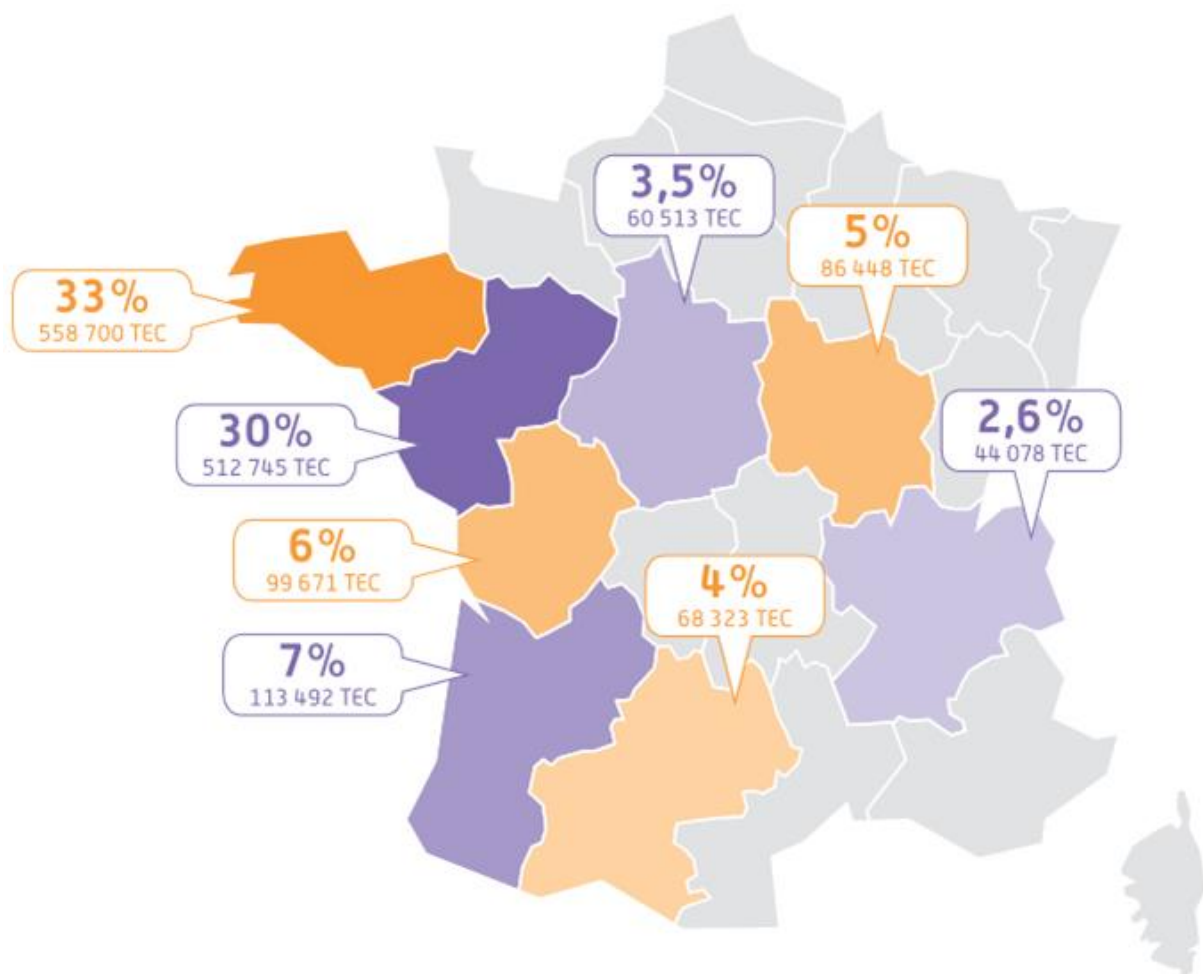


Figure 29: Répartition de la production avicole française (ITAVI, 2013).

2.3 Impact sur la santé publique et prévalence

Au-delà de sa prévalence chez le porc et la volaille, plusieurs études ont démontré la capacité de *S. Derby* à passer du porc à l'humain via la consommation de viande de porc (Valdezate et al., 2005; Hauser et al., 2011; Kerouanton et al., 2013). *S. Derby* fait partie des 5 sérovars les plus fréquemment isolés chez l'humain (EFSA, 2015; 2016; 2017). En Chine, *S. Derby* est le 3^{ème} sérovar le plus fréquemment isolé chez l'humain (Ran et al., 2011) et le plus fréquemment isolé chez les nourrissons et les jeunes enfants de 0 à 36 mois (Cui et al., 2009). Aux Etats-Unis par contre, *S. Derby* ne fait pas partie des sérovars les plus fréquemment rencontrés chez l'humain avec environ 120 cas par ans depuis 2005 (CDC, 2017).

En France, *Salmonella* Derby oscille entre la 5^{ème} et la 8^{ème} place des sérovars les plus fréquemment rencontrés chez l'humain depuis 2000 (avec un nombre de cas par an qui varie entre 164 et 178) (Weill, 2014).

2.4 Etudes de typage du sérovar Derby

Du fait de sa persistance dans les secteurs porcin et volailles, *S. Derby* pose un risque important pour la santé humaine. Il est donc nécessaire de pouvoir rapidement conduire des études épidémiologiques sur la source d'une contamination humaine à *S. Derby*.

Plusieurs études ont exploré la diversité du sérovar Derby par le passé :

En 2005, Valdezate et al. (Valdezate et al., 2005) étudient la diversité d'une collection de 110 souches espagnoles isolées entre 2000 et 2002. Ces souches, issues du porc ou isolées chez des patients, sont typées en utilisant la technique de typage de référence : la PFGE avec l'enzyme de restriction XbaI. Les résultats ne permettent pas de discrimination convenablement ces souches de *S. Derby*. En effet, la majorité des souches se répartissent sur un unique profil PFGE regroupant 53% des souches. La capacité d'antibio-résistance des souches a également été évaluée. La résistance à la streptomycine (STR) ou à la tétracycline (TET), ou au couple sulfaméthoxazole/tétracycline (SSS) était répandue dans plus de 50% des souches collectées. Parmi ces souches le profil de résistance majoritaire était le STR SSS TET.

En 2011, Hauser et al. (Hauser et al., 2011) conduisent une étude similaire en Allemagne sur 82 souches isolées chez le porc ou chez des patients entre 2006 et 2008. Le typage par PFGE (XbaI) donne 30 profils différents dont un profil majoritaire regroupant 31 souches et plusieurs profils minoritaire dont 26 profils ne comptant qu'une seule souche. Finalement, ces 30 profils différents ont été regroupés en 4 grands groupes (A, B, C et D) dont le groupe A qui rassemble 52 souches sur 82 (**figure 30**). L'étude comprend également une analyse MLST assignant les souches à 5 profils : le ST39 (48 souches), le ST40 (25 souches), le ST682 (5 souches), le ST71 (2 souches) et le ST774 (2 souches) très proche du ST39. La plupart des souches (72%) ne possédaient pas de résistance aux antibiotiques testés.

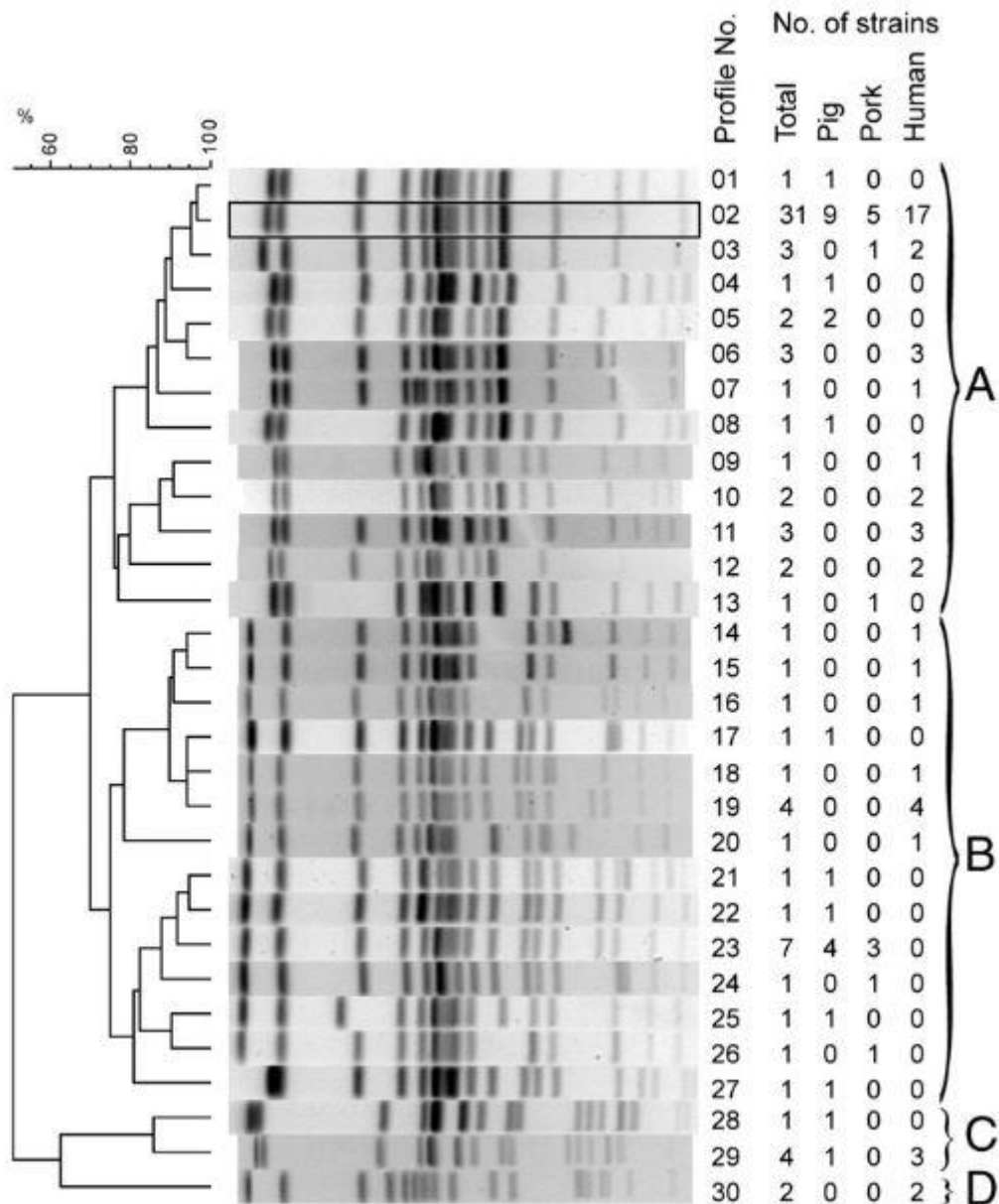


Figure 30 : Dendrogramme UPGMA des profils PFGE de 82 souches de *S. Derby* isolée en Allemagne entre 2006 et 2008 (Hauser et al., 2011).

Le groupe A regroupe des souches des ST39, ST40 et ST774, le groupe B des souches du ST40, le groupe C du ST682 et le groupe D du ST71. Le profil majoritaire est encadré en noir.

En 2013, Kerouanton et al. (Kerouanton et al., 2013) conduisent une étude sur la diversité de *S. Derby* en France par PFGE sur une collection de 170 souches porcines et humaines isolées entre 2006 et 2007. Malgré l'utilisation de trois enzymes de restriction (*Xba*I, *Bln*I et *Spe*I) les résultats (**figure 31**) conduisent à l'identification d'un profil majoritaire regroupant 81 souches (48 %), les 41 autres profils regroupant moins de 7 souches. 84 % des souches étaient résistantes à au moins un des antibiotiques testés et 69 % des souches présentaient le profil de résistance STR SSS TET. Cette étude conclut que la PFGE n'a pas un pouvoir de discrimination suffisant pour le typage de *Salmonella* Derby.

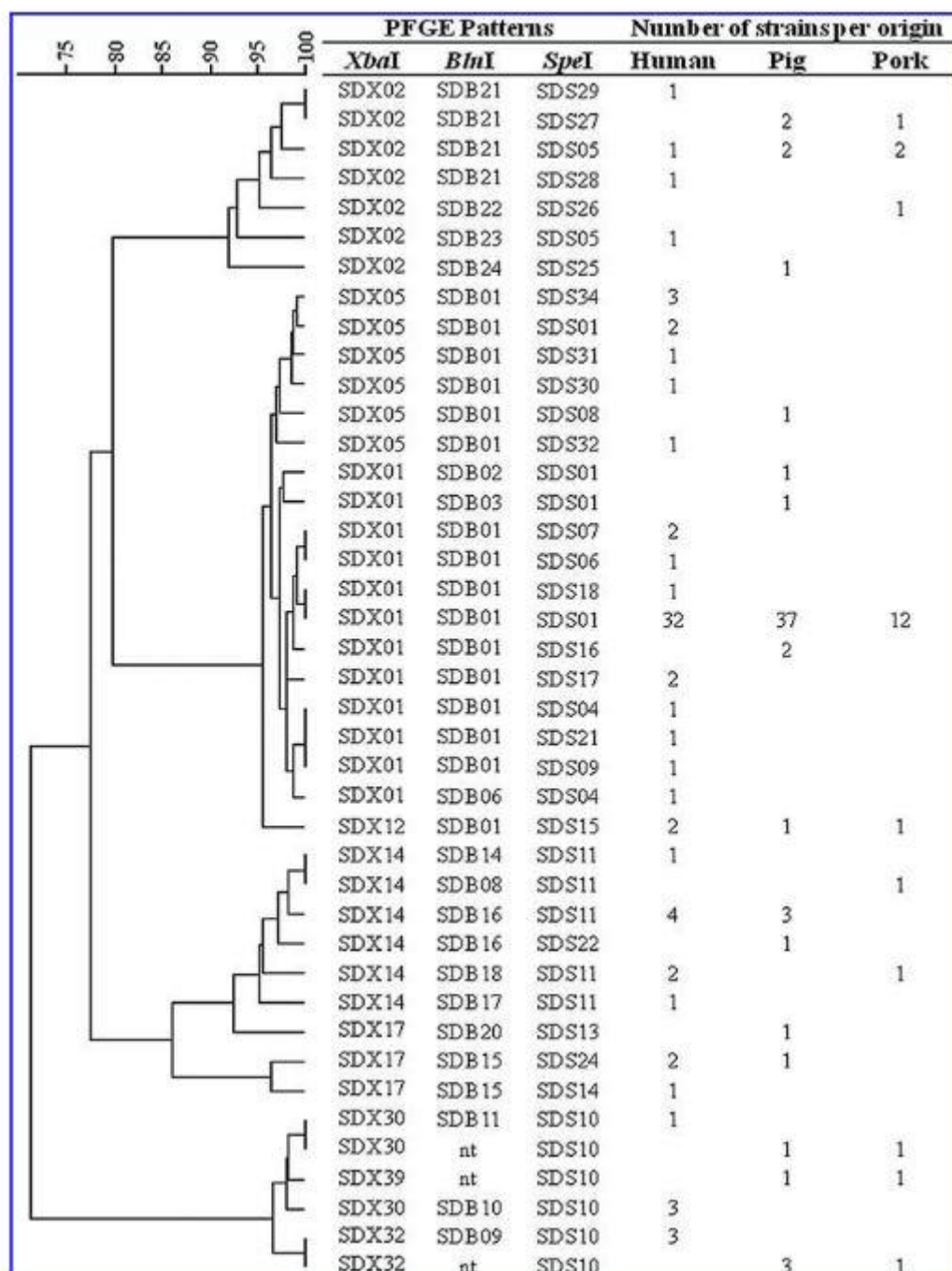


Figure 31 : Dendrogramme représentant les 42 profils PFGE obtenus sur 170 souches de *S. Derby* isolées en France entre 2006 et 2007 (Kerouanton et al., 2013).

(nt: souches non typables)

Au Royaume Uni, Hayward et al. mène plusieurs études de génomique fonctionnelle sur *S. Derby* (Hayward et al., 2013; Hayward et al., 2014). Ce travail met en évidence la présence d'un nouvel îlot de pathogénicité le SPI-23, localisé dans le génome entre le tRNA-asn et le gène *docB*. Cet îlot de 37 kb comprend 42 cadres de lecture ouverts (ORF pour *Open reading Frame*) : des séquences susceptibles d'être traduites en protéine. La plupart de ces ORF (n=28) codent pour des protéines hypothétiques, les autres correspondent, entre autre, à des

protéines se fixant sur l'ADN (n=3), des effecteurs putatifs du T3SS (n=9) et de protéines associées à la production de pili (n=2) (Hayward et al., 2013). Des essais d'invasion cellulaire sur des souches de *S. Derby* démontrent que le SPI-23 joue un rôle encore mal élucidé dans l'invasion du jéjunum porcin (Hayward et al., 2014) ; Le SPI-23 subissant une régulation à la hausse dans le jéjunum porcin et participant ainsi à un tropisme vers les cellules épithéliales.

Une étude sur la structure de la population de 17 souches de *S. Derby* au Royaume Uni basée sur la comparaison des profils MLST et du SPI-23 (Hayward et al., 2016) démontre l'existence de deux lignées chez *S. Derby*, l'une correspondant au ST40, possédant le SPI-23, retrouvée chez le porc et la dinde, l'autre correspondant au ST71, ne possédant pas le SPI-23 retrouvée uniquement chez la dinde (Hayward et al., 2016).

En 2017 Zheng et al. (Zheng et al., 2017) étudie la diversité de *S. Derby* en combinant la méthode MLST et la technique CRISPR sur une collection de 100 souches chinoises isolées à partir du porc et de l'humain. Il parvient à la conclusion que le profil CRISPR est fortement corrélé avec le profil MLST et identifie deux groupes correspondant aux profils MLST ST40 et ST71 qui présentent des profils CRISPR très éloignés.

Pour conclure : Les études menées sur *S. Derby* concluent à un manque de pouvoir discriminant des méthodes de typage traditionnelles pour ce sérovar. Elles se concentrent essentiellement sur la filière porcine et sur les souches humaines avec un indice de discrimination qui reste faible (Kerouanton et al., 2013). Des études préliminaires menée au royaume Unis (Hayward et al., 2016) démontrent sur une petite collection (n=17 génomes) l'existence d'une lignée de *S. Derby* associé à la dinde présentant une distance génétique importante par rapport à la lignée majoritaire isolée chez le porc, la dinde et l'humain. Cependant, la petite taille de la collection étudiée ne permet pas de tirer de conclusions sur la diversité génétique de ce sérovar.

Problématique

Diversité génétique de *S. Derby* de la fourche à la fourchette et étude de sa pathogénicité.

En Europe, on considère que 10 à 20 % des cas de salmonelloses sont attribués au réservoir porcin (Pires et al., 2014). Les salmonelloses dues à la consommation de viande de porc constituent donc un problème majeur de santé publique à l'échelle européenne. Les sérovars les plus fréquemment rencontrés dans le secteur porcin sont : le variant monophasique de Typhimurium, *S. Typhimurium* et *S. Derby* avec des prévalences respectives de 22,3 %, 20,3 % et 22,9 % en 2015 (EFSA, 2016).

En France, l'incidence de *S. Derby* isolé de la viande de porc est passée de 20 à 40 % de 2005 à 2010, faisant de *S. Derby* le sérovar le plus fréquemment isolé dans l'alimentation humaine en 2014-2015 (Leclerc et al., 2016). En même temps, *S. Derby* s'est hissé depuis 2000 parmi les 10 sérovars les plus fréquemment isolés chez l'Homme (Weill, 2014). Alors que *S. Typhimurium*, par exemple, est soumis à plusieurs réglementations européennes, ce n'est pas le cas de *S. Derby* à l'heure actuelle. Pourtant, plusieurs études ont démontré la prédominance chez *S. Derby* de souches multirésistantes en France et en Espagne (Valdezate et al. 2005, Keouranton et al., 2013). Ce profil est fréquemment isolé partout en Europe (EFSA, 2016).

Des souches de *S. Derby* porteuses de multirésistances aux antibiotiques sont donc capables d'échapper au système de surveillance européen et de circuler entre les états membres. L'absence de réglementation pour *S. Derby* est due pour partie au manque de techniques de typage fiables pour les souches de ce sérovar. L'attribution des cas humains à des sources d'infection (l'étude de source-attribution) est cruciale pour le choix de cibles d'intervention dans l'industrie agro-alimentaire (Pires et al., 2009). Pour être efficace, une étude de source-attribution doit s'appuyer sur une connaissance de la diversité de l'agent pathogène considéré afin de pouvoir retracer efficacement le réservoir des souches retrouvées chez l'Homme. Les techniques de typage de référence tel que la PFGE manquant de pouvoir de discrimination pour ce sérovar (Valdezate et al., 2005; Hauser et al., 2011; Kerouanton et al., 2013), l'attribution des cas sporadiques de *S. Derby* est problématique.

L'objectif de ma thèse était, d'une part, de mener une étude globale de la diversité génétique de *Salmonella* Derby de l'abattage au produit finis entre 2014 et 2015 en France ainsi que, d'autre part, d'effectuer une étude de source-attribution incluant les souches humaines isolées à cette même période. Les techniques d'analyse du génome complet étant considérés comme les plus discriminantes pour le sous typage de *Salmonella* (Ruppitsch, 2016), j'ai mené cette étude en utilisant ces approches.

S. Derby étant considéré comme caractéristique de la lignée porcine, mais étant également très présent chez la volaille, j'ai voulu :

- identifier les clones circulant en France dans les secteurs porcin et avicole et analyser les différences génétiques entre ces réservoirs ;
- évaluer la virulence des différents clones de *S. Derby* pour l'humain ainsi que leur adaptation à leur hôte respectif.
- A partir de ces informations : mener une étude d'attribution des sources sur les cas sporadiques attribués à *S. Derby* en France.
- Identifier des marqueurs génétiques permettant d'identifier les clones circulants (voir le clone majoritaire de *S. Derby*).

Pour mener à bien ce projet de thèse, j'ai sélectionné une collection de 140 souches isolées en 2014 et 2015 issues des secteurs porcin et avicole français tel que décrit dans le chapitre 4.1. J'ai conduit une analyse phylogénique basée sur la prédiction des SNP par *variant calling* afin de déterminer la diversité génétique du sérovar Derby sur ma collection de souches. J'ai également étudié les propriétés génétiques des lignées rencontrées en me focalisant sur les facteurs de virulences, particulièrement les Ilots de Pathogénicité de *Salmonella* (SPI-1 à 5), le SPI-23 spécifique de *S. Derby*, et les gènes de résistance aux antibiotiques (Première Publication : "*Polyphyletic nature of Salmonella enterica serotype Derby and lineage-specific host-association revealed by genome-wide analysis*" – Frontiers May 2018 | Volume 9 | Article 891 DOI : 10.1128/MRA.01027-18 : Résultats partie 1).

Pour étudier les caractéristiques des différentes lignées de *S. Derby* identifiées précédemment de façon plus fine il était nécessaire de produire des génomes de références. A l'heure actuelle il n'existe pas de génomes circulaires pour ce pathogène dans les bases de données en libre accès. J'ai donc choisi de produire deux génomes circulaires de *S. Derby*, l'un issu d'une souche de la filière porcine et l'autre des filières volailles. J'ai sélectionné ces deux génomes au sein de ma collection en fonction de la qualité des extractions et des séquençages obtenues par la technologie Illumina. Un séquençage par PacBio a ensuite été réalisé pour produire des données de séquençage de grande taille, facilitant l'assemblage complet des génomes. Cela m'a permis de produire deux séquences de génomes de référence pour *S. Derby*.

Le génome issu de la filière porcine a été valorisé par une deuxième publication : « *Complete genome for Salmonella enterica subsp. enterica serotype Derby associated with the pork sector in France* » – Microbiology Resource Announcement, Volume 7 | Issue 12 | e01027-18, décrit dans les Résultats partie 2)

Le génome de référence issu de la lignée volailles m'a permis d'effectuer une analyse plus fine de la diversité génétique des souches de *S. Derby* issues de la volaille et de l'humain, isolées principalement en Europe. Cette étude fait l'objet d'une troisième publication actuellement soumise à la revue PlosOne : « *Phylogenomic analysis of Salmonella enterica subsp. enterica*

serovar Derby circulating in Europe, Asia and the United States and associated with the poultry sector », (Résultats partie 3)

Muni de génomes de référence de *S. Derby*, j'ai entrepris une étude de source-attribution incluant l'ensemble des souches humaines de *S. Derby* collectée par l'Institut Pasteur (n=302) en 2014 et 2015, cette étude fait l'objet d'un article en préparation (résultats partie 4). Enfin, j'ai étudié le pan-génome (*core* génome + génome accessoire) des différentes lignées de *S. Derby* identifiées en effectuant une analyse comparative poussée sur la diversité des séquences des facteurs de virulences. Enfin, la capacité d'invasion des différentes lignées de *S. Derby* a été estimée via plusieurs essais d'invasion cellulaire sur des tapis de cellules épithéliales humaine, porcine et de poulet, étude menée en collaboration avec une équipe de l'Unité mixte de recherche Infectiologie et santé publique de l'INRA de Nouzilly. Les résultats de cette étude font l'objet d'une publication en préparation (résultats partie 5).

Résultats

1 Sélection de la collection.

J'ai sélectionné 140 souches alimentaires de la collection du Réseau *Salmonella* (LSAI) isolées en 2014 et 2015. L'intégralité des 302 souches humaines issues de la collection du CNR (et isolées dans le même laps de temps) a été obtenue de l'Institut Pasteur (collaboration CNR-LSAI).

L'ensemble de souches alimentaires (n=140) ont été séquencées grâce au financement ANSES/INAPORC - AAP 2015 (collaboration avec l'Institut du Porc (Ifip)).

1.1 Sélection des souches alimentaires

Les souches alimentaires ont été sélectionnées parmi celles isolées des secteurs porcin et volailles. Les souches issues des secteurs bovin et ovin ont été exclues de l'analyse car la prévalence de *S. Derby* a été estimée à moins d'1 % pour ces deux secteurs, et du fait de la faible part du secteur ovin dans la consommation de viandes en France (3 %) (Franceagrimer, 2018b). Pour les secteurs porcin et volailles la prévalence de *S. Derby* est respectivement supérieure à 10 % pour la viande fraîche (DGAI, 2015) et 12 % (dont 12.6 % pour *Gallus gallus* et 14.6 % pour la dinde) (DGAI, 2014).

Dans le cadre de ma thèse, j'ai sélectionné principalement des souches isolées de matière première (carcasses à l'abattage et viandes dans les ateliers de découpe ou préparation) considérant que cet échelon est le lien le plus probable entre l'animal et l'humain et la première source de contamination pour les produits élaborés et transformés.

La sélection de l'effectif des souches pour chaque secteur (porcin et volailles) a été déterminée sur la base de la proportion de la consommation de viande de porc et de volailles en France. Le **tableau 4** illustre cette proportion.

Tableau 4 : Plan de sélection des souches alimentaires et répartition de l'effectif pour chaque secteur (porcin et volailles) par rapport à la consommation en France.

Secteur	% de la consommation	Nombre de souches
Total	67,7	140
Porc	38,3	84
Volailles	29,4	56

Pour ces deux filières, les souches ont été sélectionnées suivant deux critères :
i/ favoriser les souches de la collection issues des plans de surveillance ;
ii/ sélectionner, pour chaque région, un nombre de souches proportionnel à la part de cette région dans la production nationale de la filière respective, porcine ou volailles.

1.1.1 Souches du secteur porcine

La **figure 32** représente les souches issues du secteur porcine collectées par le réseau *Salmonella* en 2014 et 2015 (n=181). La majorité des souches provient des bassins Ouest et Sud-Ouest. La répartition des souches est concordante avec la répartition géographique du secteur porcine. La plupart des souches sont issues des étapes d'abattage (69 souches), de transformation industrielle (69) et de la vente au détail (41).

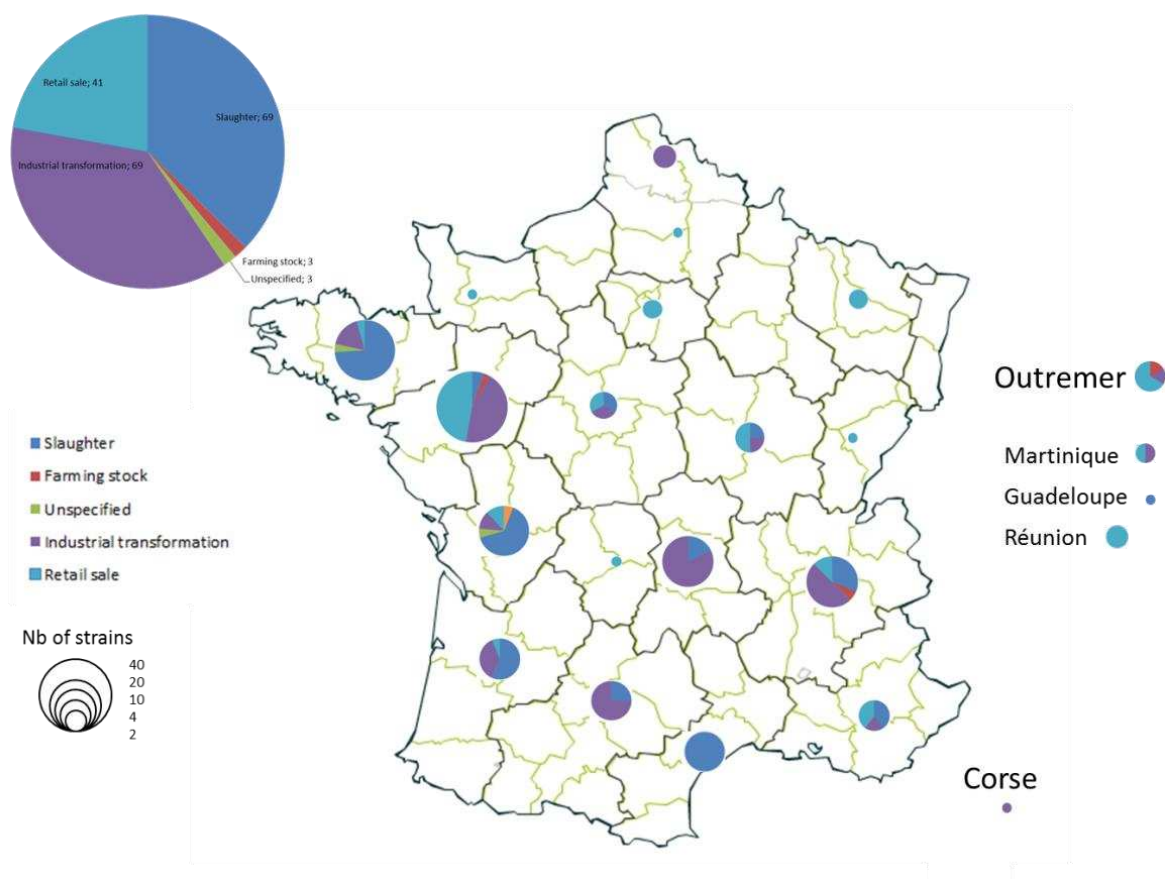


Figure 32: Répartition des souches de *S. Derby* collectées par le réseau *Salmonella* pour le secteur porcine en 2014-2015.

Le **tableau 5** résume la sélection finale des souches issues de la collection du Réseau *Salmonella* (secteur porcin).

Tableau 5 : Plan de sélection pour les souches issue du secteur porcin.

(note : régions suivant la nomenclature à l'œuvre en 2014)

Région	Effectifs (milliers de têtes)	Part dans la production nationale %	Souches disponibles	Souches dédoublonnées	Plans de surveillance	Sélection finale
Île de France	8	0,06	2	2	0	1
Champagne- Ardennes	176	1,31	0	0	0	0
Picardie	121	0,90	1	1	0	0
Haute Normandie	138	1,03	0	0	0	0
Centre	333	2,48	3	3	0	2
Basse Normandie	566	4,22	1	1	0	0
Bourgogne	126	0,94	4	4	0	2
Nord-Pas-de- Calais	472	3,52	2	2	0	2
Lorraine	97	0,72	2	2	0	1
Alsace	101	0,75	0	0	0	0
Franche- Comté	118	0,88	1	1	0	0
Pays de la Loire	1573	11,74	36	34	1	13
Bretagne	7635	56,97	27	17	7	15
Poitou- Charentes	366	2,73	17	14	0	4
Aquitaine	388	2,90	17	15	1	12
Midi-Pyrénées	435	3,25	8	7	0	2
Limousin	124	0,93	1	1	0	1
Rhône-Alpes	294	2,19	16	16	3	8
Auvergne	231	1,72	18	16	2	11
Languedoc Roussillon	28	0,21	8	7	3	8
PACA	22	0,16	5	4	0	1
Corse	50	0,37	1	1	0	0
Total	13402	100	179	148	17	84

Quand le nombre de souches dans une région n'est pas suffisant pour correspondre à cette proportion idéale, des souches additionnelles issues du même bassin de production ont été ajoutées. Si cela est impossible, les souches additionnelles ont été choisies sur des critères de proximité géographique.

1.1.2 Souches du secteur avicole

La **figure 33** correspond à la répartition géographique des souches collectées par le Réseau *Salmonella* en 2014-2015 pour le secteur avicole.

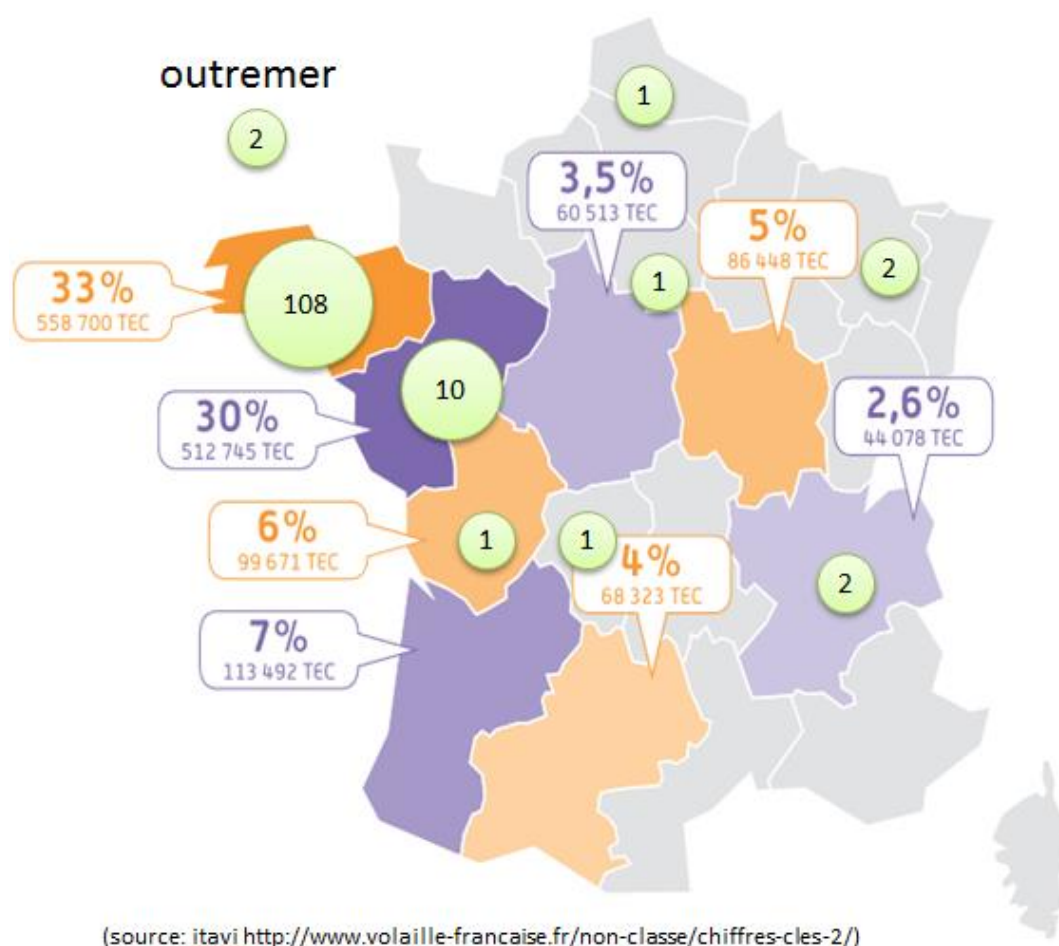


Figure 33: Correspondance entre les souches de *S. Derby* sélectionnées et les chiffres de production du secteur avicole en France en 2014-2015 (TEC = tonne équivalent carcasse) (ITAVI, 2016).

La majorité des souches collectées correspondent au plan de surveillance N°2013-9926. La **figure 34** détaille la répartition de ces souches. La majorité des souches a été isolée à l'étape d'abattage (97 souches sur 127 au total).

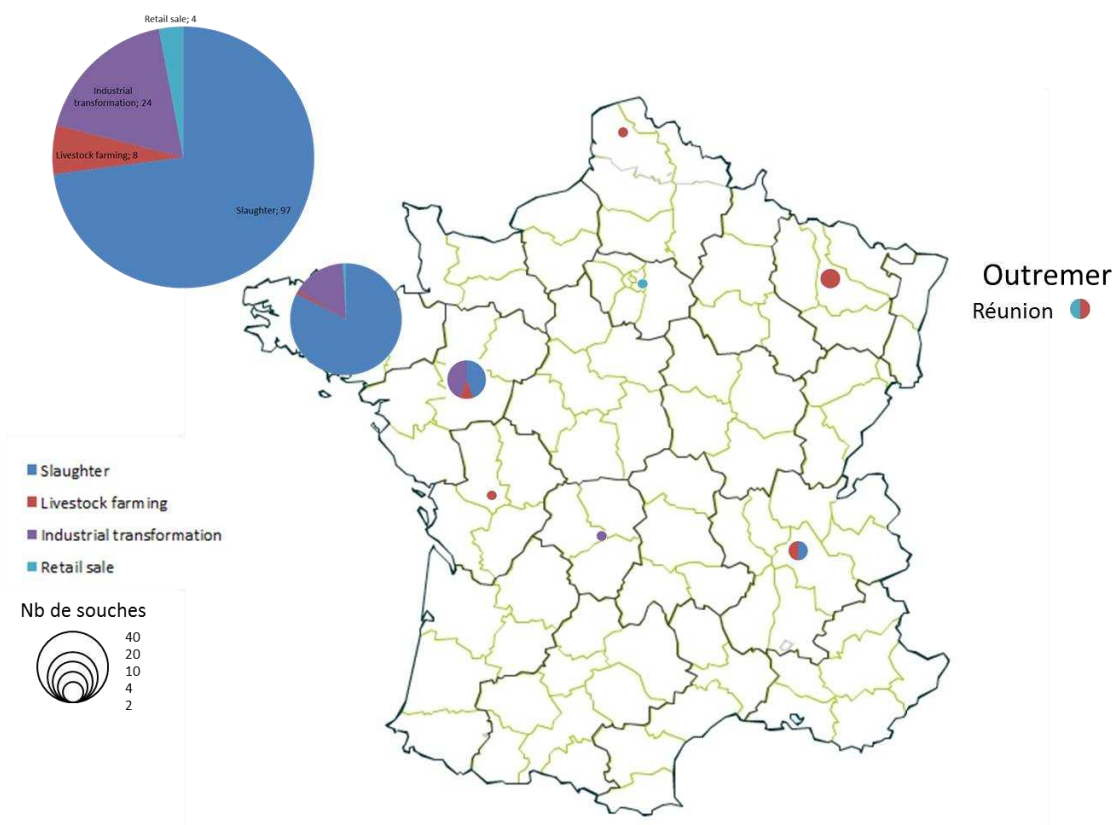


Figure 34 : Répartition des souches de *S. Derby* collectées par le réseau *Salmonella* pour le secteur avicole.

Le **tableau 6** résume la répartition des souches sélectionnées pour les filières volailles. Le manque de souches hors de Bretagne nous a conduit à inclure l'ensemble des souches isolées dans les autres régions.

Tableau 6: Plan de sélection pour les souches du secteur volaille.

(note : régions suivant la nomenclature à l'œuvre en 2014)

Région	Production (en milliers de têtes)	Pourcentage de la production nationale	Souches disponibles	Souches dédoublonnées	Plans de surveillance	Sélection finale
Île de France	6	0	1	1	0	0
Champagne- Ardennes	30	2	0	0	0	0
Picardie	35	2	0	0	0	0
Haute Normandie	7	0	0	0	0	0
Centre	109	7	0	0	0	0
Basse Normandie	42	3	0	0	0	0
Bourgogne	49	3	0	0	0	0
Nord pas de calais	56	3	1	1	0	0
Lorraine	5	0	2	0	0	1
Alsace	6	0	0	0	0	0
Franche-Comté	3	0	0	0	0	0
Pays de la Loire	407	24	10	9	1	6
Bretagne	571	34	108	83	55	46
Poitou-Charentes	100	6	1	1	0	1
Aquitaine	68	4	0	0	0	0
Midi-Pyrénées	38	2	0	0	0	0
Limousin	7	0	1	1	0	0
Rhône-Alpes	69	4	2	2	1	2
Auvergne	46	3	0	0	0	0
Languedoc- Roussillon	10	1	0	0	0	0
PACA	7	0	0	0	0	0
Corse	0,8	0	0	0	0	0
Total	1671,8	100	127	98	57	57

L'annexe 1 regroupe la liste et les données épidémiologiques des souches incluses dans mon projet de thèse.

1.2 Souches humaines

La totalité des 302 souches cliniques de *S. Derby* isolées chez l'humain entre 2014-2015 ont été incluses dans mon projet de thèse. La **figure 35** détaille la répartition de ces souches.

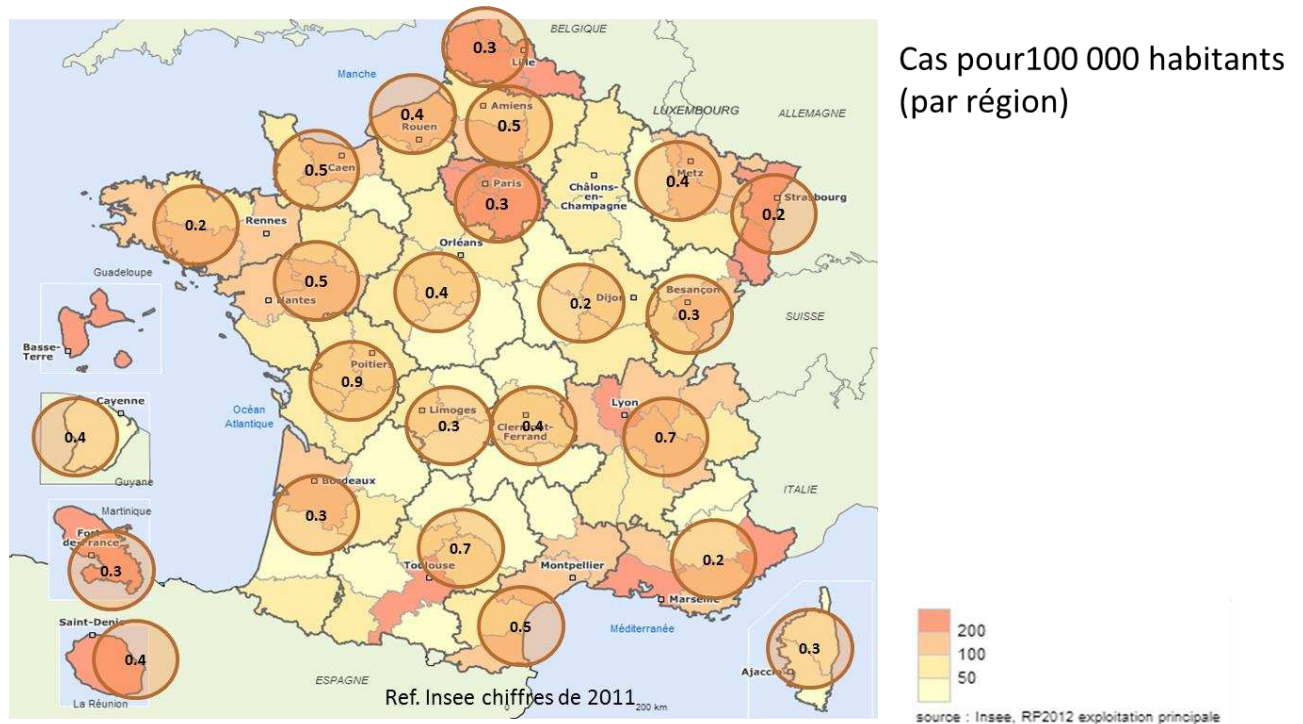


Figure 35 : Répartition des cas cliniques recensés par le CNR de S. Derby par région (période 2014-2015) au regard de la densité de population française.

2 Publication I : Polyphyletic nature of *Salmonella enterica* serotype Derby and lineage-specific host-association revealed by genome-wide analysis

2.1 Résumé

J'ai commencé par étudier la diversité génétique des souches alimentaires.

Afin de disposer d'un élément de comparaison avec les études précédentes (Hauser et al., 2011; Achtman et al., 2012), j'ai identifié les profils MLST des génomes des souches sélectionnées. J'ai également entrepris l'étude comparative des profils MLST identifiés pour *Salmonella* Derby avec les 24 autres sérovars de *Salmonella* les plus fréquemment isolés en France et en Europe (n=504 génomes au total) afin d'apprécier leur distribution (**tableau 8** et **figure 36**).

Tableau 8. Liste des sérovars utilisés pour l'analyse MLST et nombre des génomes correspondants.

Sérovars	Nombre de génomes
Agona	20
Anatum	19
Derby	112
Dublin	19
Enteritidis	20
Hadar	20
Havana	20
Indiana	8
Infantis	17
Kentucky	20
Livingstone	13
Mbandaka	18
Montevideo	18
Muenster	15
Newport	20
Oranienburg	17
Panama	5
Poona	15
Rissen	4
Saintpaul	17
Senftenberg	20
Tennessee	19
Typhi	16
Typhimurium	19
Virchow	13
Total	504

J'ai collecté 405 génomes dans des bases de données accessibles au public (NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> et Enterobase: <https://Enterobase.warwick.ac.uk/>), 61

génomés de la collection du réseau *Salmonella* (obtenus grâce au projet 100k Genome (<http://100kgenome.vetmed.ucdavis.edu/>) et au projet GenoSalmo (Anses Projet 2015-2016) et 38 génomes de *S. Derby* qui faisaient partie de cette étude de thèse.

L'ensemble des 504 génomes ont été vérifiés in silico via SISTR (<https://lfz.corefacility.ca/sistr-app/>) (Yoshida et al., 2016). Les résultats montrent que la population de *S. Derby* peut-être divisée en 3 lignées génétiquement distinctes (figure 36). L'analyse SNP montre d'ailleurs qu'il y a plus de 15 000 SNP en moyenne de distance entre ces trois lignées génétiques. Les ST40 et 39 bien qu'ils forment une unique lignée, diffèrent entre eux de 3962 SNP en moyenne. Ces résultats démontrent le caractère polyphylétique de *S. Derby*.

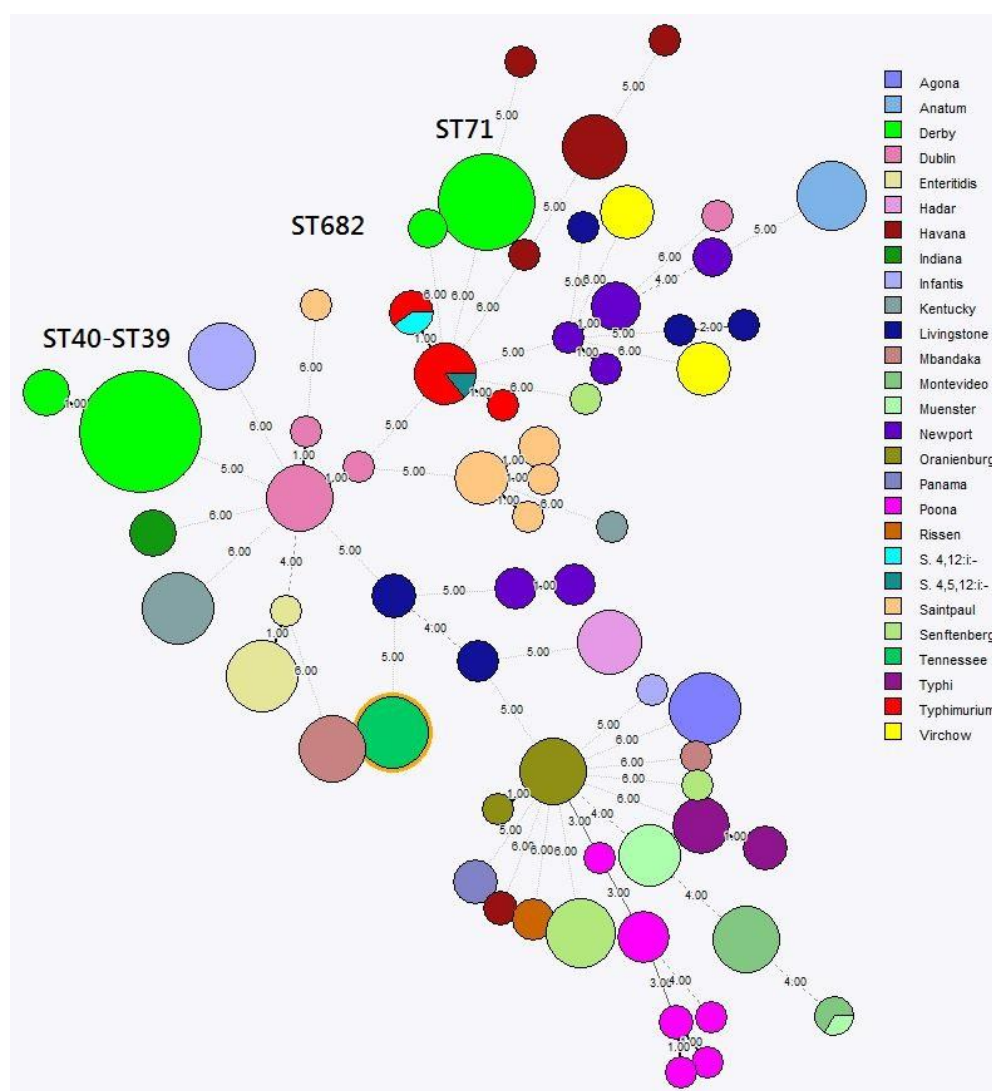


Figure 36 : Comparaison des profils MLST des 25 sérovars les plus fréquemment isolés en Europe.

Les souches du sérovar Derby se regroupent en 3 clusters de souches correspondant aux profils MLST ST40-ST39, ST71 et ST682. Les chiffres et l'épaisseur des traits correspondent au nombre de loci MLST différents entre les profils.

Les souches appartenant aux lignées ST39-ST40 et ST682 sont associées au secteur porcin avec le ST40 représentant la lignée majoritaire chez le porc. La lignée ST71 regroupe quant à elle les souches issues du secteur avicole.

La résistance des souches aux antibiotiques a été évaluée à la fois par prédiction des gènes de résistances et par diffusion sur disque et montrent l'existence d'un profil de résistance majoritaire aux aminosides, sulphonamides et tétracyclines chez un sous-groupe des souches du ST40. Les gènes codant pour cette résistance se trouvent sur un îlot génomique de *Salmonella* (SGI-1) de type 1 dans lequel les gènes codant pour la résistance au mercure sont aussi présents.

Les caractéristiques génomiques des différentes lignées ont été étudiées sur la base d'une comparaison de séquences des SPI-1 à -5, connus pour être présents chez toutes les salmonelles de la subsp. *enterica*, et du SPI-23 isolé spécifiquement chez *S. Derby*. Les séquences codante des SPI-1 à -5 présentaient une forte identité (supérieure à 98%) vis-à-vis de la référence *S. Typhimurium* chez l'ensemble de ces lignées à l'exception du SPI-3 pour lequel les ST39, ST40 et ST71 présentent une délétion des gènes *sugR* et *rhuM* en faveur d'un opéron fimbriale. Enfin, le SPI-23, caractéristique de *S. Derby* s'est avéré n'être présent que dans les lignées porcines ST39 et ST40, et totalement absent des souches des lignées ST71 et ST682.

Enfin, la variation allélique d'un marqueur de la spécificité à l'hôte : le gène *fimH*, codant pour le facteur d'adhésion des fimbriae de type 1, a été exploré. Le gène *fimH* de la lignée ST682 présente la même séquence que celui des sérovars *S. Typhisuis* et *S. Choleraesuis* spécifiques du porc, ce qui pourrait expliquer le tropisme de cette lignée pour la filière porcine malgré l'absence de SPI-23.

2.2 Publication



Polyphyletic Nature of *Salmonella enterica* Serotype Derby and Lineage-Specific Host-Association Revealed by Genome-Wide Analysis

Yann Sévellec¹, Marie-Léone Vignaud¹, Sophie A. Granier¹, Renaud Lailier¹, Carole Feurer², Simon Le Hello³, Michel-Yves Mistou¹ and Sabrina Cadel-Six^{1*}

¹ Université PARIS-EST, Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de L'Alimentation, de L'Environnement et du Travail (ANSES), Laboratory for Food Safety, Maisons-Alfort, France, ² French Institute for Pig and Pork Industry, Le Rheu, France, ³ Centre National de Référence des Salmonella, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Institut Pasteur, Paris, France

OPEN ACCESS

Edited by:

Giovanna Suzzi,
Università degli Studi di Teramo, Italy

Reviewed by:

Craig T. Parker,
Agricultural Research Service (USDA),
United States
Haijian Zhou,
National Institute for Communicable
Disease Control and Prevention
(China CDC), China

*Correspondence:

Sabrina Cadel-Six
sabrina.cadelsix@anses.fr

Specialty section:

This article was submitted to
Food Microbiology,
a section of the journal
Frontiers in Microbiology

Received: 02 February 2018

Accepted: 18 April 2018

Published: 17 May 2018

Citation:

Sévellec Y, Vignaud M-L, Granier SA,
Lailier R, Feurer C, Le Hello S,
Mistou M-Y and Cadel-Six S (2018)
Polyphyletic Nature of *Salmonella*
enterica Serotype Derby
and Lineage-Specific
Host-Association Revealed by
Genome-Wide Analysis.
Front. Microbiol. 9:891.
doi: 10.3389/fmicb.2018.00891

In France, *Salmonella* Derby is one of the most prevalent serotypes in pork and poultry meat. Since 2006, it has ranked among the 10 most frequent *Salmonella* serotypes isolated in humans. In previous publications, *Salmonella* Derby isolates have been characterized by pulsed field gel electrophoresis (PFGE) and antimicrobial resistance (AMR) profiles revealing the existence of different pulsotypes and AMR phenotypic groups. However, these results suffer from the low discriminatory power of these typing methods. In the present study, we built a collection of 140 strains of *S. Derby* collected in France from 2014 to 2015 representative of the pork and poultry food sectors. The whole collection was characterized using whole genome sequencing (WGS), providing a significant contribution to the knowledge of this underrepresented serotype, with few genomes available in public databases. The genetic diversity of the *S. Derby* strains was analyzed by single-nucleotide polymorphism (SNP). We also investigated AMR by both genome and phenotype, the main *Salmonella* pathogenicity island (SPI) and the *fimH* gene sequences. Our results show that this *S. Derby* collection is spread across four different lineages genetically distant by an average of 15k SNPs. These lineages correspond to four multilocus sequence typing (MLST) types (ST39, ST40, ST71, and ST682), which were found to be associated with specific animal hosts: pork and poultry. While the ST71 and ST682 strains are pansusceptible, ST40 isolates are characterized by the multidrug resistant profile STR-SSS-TET. Considering virulence determinants, only ST39 and ST40 present the SPI-23, which has previously been associated with pork enterocyte invasion. Furthermore, the pork ST682 isolates were found to carry mutations in the *fimH* sequence that could participate in the host tropism of this group. Our phylogenetic analysis demonstrates the polyphyletic nature of the *Salmonella* serotype Derby and provides an opportunity to identify genetic factors associated with host adaptation and markers for the monitoring of these different lineages within the corresponding animal sectors. The recognition of these four lineages is of primary importance for epidemiological surveillance throughout the food production chains and constitutes the first step toward refining monitoring and preventing dispersal of this pathogen.

Keywords: *Salmonella* Derby, SNP analysis, AMR analysis, *Salmonella* pathogenicity island, FimH adhesin, host-association's genetic markers

INTRODUCTION

In the European Union, *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotype Derby (S. Derby) is the most abundant serotype isolated from pork. It accounts for 22.9% of all isolates, followed by monophasic strains of S. Typhimurium (22.3%) and S. Typhimurium (20.6%) (EFSA, 2016). In France, between 2000 and 2015 S. Derby ranked between 5th and 8th position ($n = 164$ to 178 clinical isolates) of the most frequently isolated serotypes in humans (Weill and Le Hello, 2014). In the entire food sector, the data of the ANSES *Salmonella* Network (jointly with the National Reference Laboratory) show that this serotype is the 4th most frequently isolated after S. Typhimurium, its monophasic variant S. 1,4,[5],12:i:- and S. Enteritidis (Leclerc et al., 2016). S. Derby is principally isolated from pork and poultry meat in France with a prevalence reaching 1.4% for pork and 3.2% for *Gallus gallus* (compared with <1% for turkey) (DGAL, 2014, 2015). All together, these data indicate that S. Derby is a significant threat to human health, mainly associated with the pork and poultry sectors.

This serotype is not exclusively adapted to pigs but most often associated with this source (Valdezate et al., 2005; EFSA, 2009). S. Derby was recently reported as the most common serotype from turkey flocks in the United Kingdom (~50% of isolates from pigs and ~40% from turkeys) (Hayward et al., 2016). In the United Kingdom, between 2014 and 2015 the number of notifications increased more than fivefold in turkey flocks (from 38 to 217 isolates, respectively), showing how well this serotype is adapted to this host (EFSA, 2016).

It is notable that two distinct lineages of S. Derby have been identified in the United Kingdom. They differ genotypically and phenotypically by the presence and absence of the *Salmonella* pathogenicity island 23 (SPI-23) and by the higher ability of strains possessing the SPI-23 to invade the porcine jejunum-derived cell line IPEC-J2 (Hayward et al., 2014). These two lineages seem to be adapted to distinct animal sources, probably pig and turkey, but the hypothesis cannot be confirmed because of the limited number of S. Derby isolates analyzed ($n = 16$) (Hayward et al., 2016). The presence of different S. Derby clonal groups prominent within the food chain was revealed previously in Spain, Germany, and France (Valdezate et al., 2005; Hauser et al., 2011; Kerouanton et al., 2013). These studies suffer, however, from the low discrimination potential of the technique used, pulsed field gel electrophoresis (PFGE) (Valdezate et al., 2005; Kerouanton et al., 2013). A study conducted by the ANSES *Salmonella* Network on a large panel of S. Derby strains showed that 42% of the S. Derby strains collected since 2005 were assigned to the same profile (SDBYXB0001 for 52/123 strains), highlighting the discrimination limits of PFGE for this serotype with an overall discrimination index of 0.75 (Kerouanton et al., 2007). Contrasting with PFGE studies, recent investigations based on multilocus sequence typing (MLST), clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPRs) and whole genome sequencing (WGS) analysis on a small selection of strains suggested that S. Derby should be considered as a polyphyletic serotype (Hayward et al., 2016; Zheng et al., 2017). Those studies,

however, do not represent the total diversity of the serotype, either because of the limited number of strains analyzed or the low resolution given by the method used.

Considering the prevalence of S. Derby in the pork and poultry food sectors, we decided to thoroughly investigate the genetic diversity of this serotype using a WGS approach on a large dataset ($n = 140$) representative of the geographical and source origins in France. In contrast to conventional molecular typing methods, WGS has the potential to compare whole genomes at a single-nucleotide resolution. Methods based on single-nucleotide polymorphisms (SNPs) allow for a detailed, targeted analysis of variations among related bacterial isolates. WGS has recently been postulated to be an ultimate subtyping technique (Gilchrist et al., 2015; Dunn, 2016), and SNP-based cluster analysis was already successfully used to explore the genomic diversity of *Salmonella* isolates across serotypes as well as among and within specific food sources (Wilson et al., 2016; Ferrari et al., 2017).

The strains of this collection were isolated in 2014 and 2015 from the pork and poultry sectors, which are the main sources of this serotype, to obtain a comprehensive view of their distribution. The collection was investigated by MLST and SNP analysis. Because resistance of *Salmonella* to antimicrobial agents is a worldwide problem, and antimicrobial resistance (AMR) has already been described in S. Derby isolates (Valdezate et al., 2005; Hauser et al., 2011; Keelara et al., 2013; Kerouanton et al., 2013), susceptibility tests were performed and identification of acquired AMR genes was also investigated. The detection and characterization of *Salmonella* pathogenicity islands (SPI-1 to 5 and SPI-23), coding for virulence factors implied in adhesion and invasion of the host, and of the *fimH* gene, known to be a marker of the host specificity within *Salmonella*, were also investigated to identify potential genome signatures responsible for host specificity of the Derby serotype for pig and poultry.

MATERIALS AND METHODS

Strain Selection

A panel of 140 S. Derby strains was selected from all the isolates received by the *Salmonella* Network in 2014 and 2015 ($n = 598$) (Leclerc et al., 2016). The epidemiological data of the 140 S. Derby strains are listed in **Supplementary Table S1**. Duplicates (isolates with the same sampling date, geo-localization, and isolation matrix) and isolates from animals and feed were excluded. The strains selected came principally from the food sector (from slaughterhouses to the retail market). Only pork and poultry meat categories were considered, because of the low prevalence of S. Derby (<1%) in beef and cattle (Leclerc et al., 2016). Within the 140 strains, the proportion of strains from pork and poultry meat (85 and 60, respectively) was chosen in line with French production data. The production of pork and poultry meat accounts for 38.3 and 29.4% of French meat production, respectively (Menard et al., 2015). For each sector, the number of strains was selected, in each region, proportionally to its production compared to the total

French national production of meat products (Supplementary Table S1 and Supplementary Figure S1). For poultry, since the *S. Derby* strains were concentrated in Brittany, all strains belonging to other regions were incorporated into the collection.

All strains were identified as belonging to the Derby serotype by glass slide agglutination, according to the White-Kauffmann-Le Minor scheme (Grimont and Weill, 2007).

Genomic DNA Preparation and Sequencing

DNA was prepared from 10 ml of BHI overnight cultures with the Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, France) according to the manufacturer's instructions for gram-negative organisms. Gels of 1.5% agarose were used to assess the quality of the extraction (and an eventual degradation of the DNA). The DNA concentration was measured with a Qbit® fluorimeter and the purity ratio was assessed with a Nanodrop® Spectrophotometer. Libraries were prepared and the NGS sequencing were performed by the *Institut du Cerveau et de la Moelle épinière* (ICM)¹ (Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris). Each individual library (batch of 96 DNA) was prepared with the Nextera XT technology (Illumina). The indexing of the DNA was carried out during the construction of the library. The libraries were purified with the Agencourt AMPure XP system (Beckman Coulter) and quantification was performed using the Microfluidic LabChip GX (PerkinElmer).

The sequencing of the final library (DNA 96) by NextSeq 500 was carried out using a 300 cycle High Output kit v2 cartridge (400 million paired reads and 800 million single reads in 150 bases). Each Illumina paired-end sequence contained 300 base pairs (bp) (reads are 150 bases). The minimum theoretical coverage is of 30×–50×.

Multilocus Sequence Typing (MLST)

The seven housekeeping gene sequences (*aroC*, *dnaN*, *hemD*, *hisD*, *purE*, *sucA*, and *thrA*) for each strain were detected using the MLST service of the Center for Genomic Epidemiology (CGE)², which enabled us to determine the sequence type (ST) directly from the read files.

Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Analysis

The SNP analysis was conducted using the VARKIT workflow (Felten et al., 2017). In the absence of a complete reference *S. Derby* genome sequence and since VARKIT requires a closed reference genome, sequence reads were mapped to *Salmonella* Typhimurium LT2 (NCBI NC_003197.1). The VCF files computed by VARKIT were combined into a merged VCF which was filtered using Samtools and Picard tools to eliminate duplicated regions and variants solely linked to the reference genome. A pseudogenome obtained on the reference was generated using the Genome Analysis ToolKit (GATK)

(McKenna et al., 2010), SNP and inDEL were predicted, and the distance matrix between each pair of genomes was calculated.

Phylogenetic analyses on the dataset were computed using RAxML software (Stamatakis, 2014). The phylogenetic trees were constructed under the maximum likelihood criterion using the GTR-gamma model of nucleotide evolution. The phylogenetic analyses were based on the pseudogenome obtained using the GATK. The phylogenetic data were visualized using interactive Tree Of Life (iTOL³) (Letunic and Bork, 2016).

Statistical Analyses

The non-normality of the data (number of paired SNP differences) was assessed using the Shapiro test (Royston, 1995) on R from the pairwise matrix generated by the VARKIT workflow described above. The comparison between the paired SNP differences was tested by a Kolmogorov–Smirnov test (KS-test) (Huang et al., 2016), to find the variance of the distribution by paired SNP differences, which had been proven significantly unequal by the Fisher test (Markowski and Markowski, 1990).

Identification of Acquired Resistance Genes

The whole panel of genomes was analyzed using the ResFinder 2.1 application (Zankari et al., 2012) on the CGE server. The threshold for reporting a match between a gene in the ResFinder database and the input *S. Derby* genome was set at 90% identity over at least 3/5 of the length of the resistance gene. BioNumerics software version 7.6.1 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) was used to perform a BLAST to localize each resistance gene inside the assembled genome. In order to investigate the implantation of the AMR gene within the genome of *S. Derby*, SGI-1 coding sequences (NCBI:AF261825.2) were extracted and BLASTed against the dataset with the BioNumerics BLAST tool. The complete genomic sequence of the SGI-1 was investigated using the BioNumerics alignment and sequence visualization tools.

Antimicrobial Susceptibility Tests

Strains were selected by their genetic distance: for the pork sector, all strains above a cut-off defined as the median genetic distance (110 SNPs) were selected ($n = 40$). The same cut-off (36 SNPs) was set to select ST71 strains from the poultry sector ($n = 21$).

Antibiotic susceptibility was determined using the disk diffusion method as recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2015, 2016). Fifteen antimicrobials (Bio-Rad, Marne-la-Coquette, France) were tested: amoxicillin/clavulanic acid (AMC; 30 µg), ampicillin (AMP; 10 µg), cephalothin (CEF; 30 µg), cefotaxime (CTX; 30 µg), ceftazidime (CAZ; 30 µg), chloramphenicol (CHL; 30 µg), sulfonamides (SSS; 300 µg), trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT; 1.25+23.75 µg), streptomycin (STR; 10 U), gentamicin (GEN; 10 µg), kanamycin (KAN; 30 UI), tetracycline (TET; 30 UI), nalidixic acid (NAL; 30 µg), ciprofloxacin (CIP; 5 µg), pefloxacin (PEF; 5 µg). A Colistin disk

¹www.icm-institute.org

²https://cge.cbs.dtu.dk/services/MLST/

³https://itol.embl.de/

(CST; 10 µg) was used on each plate for quality management purposes to ensure the absence of contamination. Automatic readings were performed using the BIOMIC® V3 system (Giles Scientific Inc., Santa Barbara, CA, United States). Isolates were classified as susceptible, intermediate, or resistant according to the clinical interpretive criteria recommended by CLSI (2016).

Salmonella Pathogenicity Islands (SPI) – Identification

SPI-1, the two segments of SPI-2, SPI-3, SPI-4, SPI-5, and SPI-23 were tested for within the set of 140 genomes of *S. Derby* using BLASTn⁴ with a cut-off of 90% identity. The SPI reference sequences used for the BLASTs were collected by the NCBI database (accession numbers KP279311.1, AJ224978.1, KP258194.1, AF106566.1, KP234070.1, AY144492.1, and LAZB000000000-project PRJNA270707, respectively). All these sequences correspond to complete SPIs from *S. Typhimurium* strains with the exception of SPI-23, which corresponds to *S. Derby* strain 07CR553 (Kerouanton et al., 2015).

In the absence of a reference sequence for SPI-23, the primers defined by Hayward et al. (2016) were used to generate the *in silico* PCR and to extract a complete SPI-23 sequence from the genome of the *S. Derby* strain 07CR553 (accession number LAZB000000000, contig 5 (1894692..1931302) (Kerouanton et al., 2015). Both the complete sequence of SPI-23 obtained as described above and the 41 Coding DNA Sequences (CDS) described by Hayward were BLASTed separately against our dataset to verify the results of the *in silico* PCR.

Fimbriae FimH Allele Characterization

The fimbriae FimH allele, identified as host specificity marker by previous studies (Yue et al., 2015), was also sought and characterized within our panel of *S. Derby* genomes. The *fimH* gene sequence was isolated from the project PRJNA297164 (NCBI) and compared with the sequence of the dataset using BLASTn.

As an element of comparison, 25 *fimH* sequences from 25 different serotypes of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* selected among the most frequently isolated in humans, animal, and food (Weill and Le Hello, 2014; EFSA, 2016) were added to this study (Supplementary Table S2). Whole FimH alleles were extracted by dataset, annotated using the BioNumerics 7.6.1 annotation plugin (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) and aligned on the reference *fimH* sequence of the *S. Typhimurium* strain SL1344 (accession NC_016810.1). The alignment was carried out using the BioNumerics 7.6.1 alignment tool and the mutations were identified using the mutation prediction tool of the same software.

RESULTS

MLST Profiles

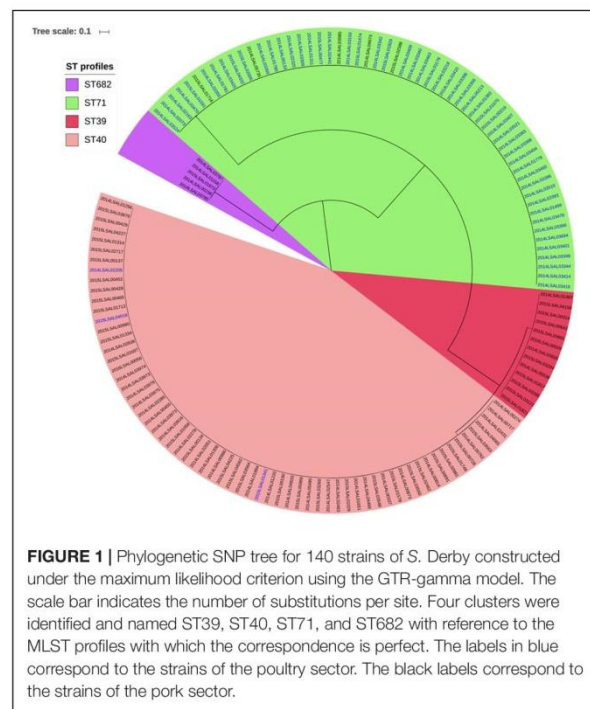
Four different MLST profiles, ST40, ST39, ST71, and ST682, were identified among the 140 studied genomes. ST40 and ST39 were

distinct by only eight mutations in the *sucA* locus and could therefore be included in the same eBURST complex (Achtman et al., 2012). The most frequent profile within the collection was ST40 ($n = 64$ genomes) followed by ST71 ($n = 58$), ST39 ($n = 13$), and ST682 ($n = 5$) (Figure 1). ST40 grouped together 61 strains isolated from pork meat (95.3%) and 3 from poultry (4.7%). The ST39 and ST682 strains were isolated from pork (13 and 5 strains, respectively). ST71 was represented by 54 strains isolated from poultry meat (92%) and 4 strains from pork meat (8%).

Phylogenetic Analysis of *S. Derby* Strains Panel

Four clusters were obtained by the SNP analysis of the 140 genomes of *S. Derby* analyzed (Figure 1). As shown in Figure 1, the SNP analysis clustered the 140 genomes in four groups. These four groups were fully consistent with the ones identified by MLST analysis (100% identity). To simplify the comprehension of the results, these 4 lineages were named with their ST profiles (ST39, ST40, ST71, and ST682).

Within each of these groups, genomes were found to differ by less than 300 SNPs. The genomes belonging to ST39 were most closely related to ST40 genomes with an average of 3,962 SNPs and a standard deviation (SD) of 20 SNPs. The strains belonging to the ST71 cluster were distant from the ones belonging to ST40 by 26,957 SNPs, with an SD of 1,583. The ST profile 682 was the most genetically distant from ST39, ST40, and ST71 with an average of 33,961 SNPs and an SD of 4,102. Considering epidemiological information, there was no evidence of a relationship between the genomic proximity



⁴<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

and geographical localization for the different lineages. Closely related strains could have very different geographical origins and vice versa. It is also the case for the ST39 and ST682 lineages, which grouped together only 13 and 5 genomes, respectively. These lineages presented a very wide geographic distribution, clustering together strains from Pays-de-la-Loire, Bourgogne, Languedoc-Roussillon and Centre. The Pays-de-la-Loire region, however, presented considerable diversity in terms of ST profiles with strains from the four different lineages (Figures 2, 3 and Supplementary Figure S2). Consistent with the distribution of the pork and poultry food production chains in France, ST40 was geographically more widespread than ST71. Our results clearly associated three lineages with the pork sector (ST39, ST40, and ST682) and one with the poultry sector (ST71).

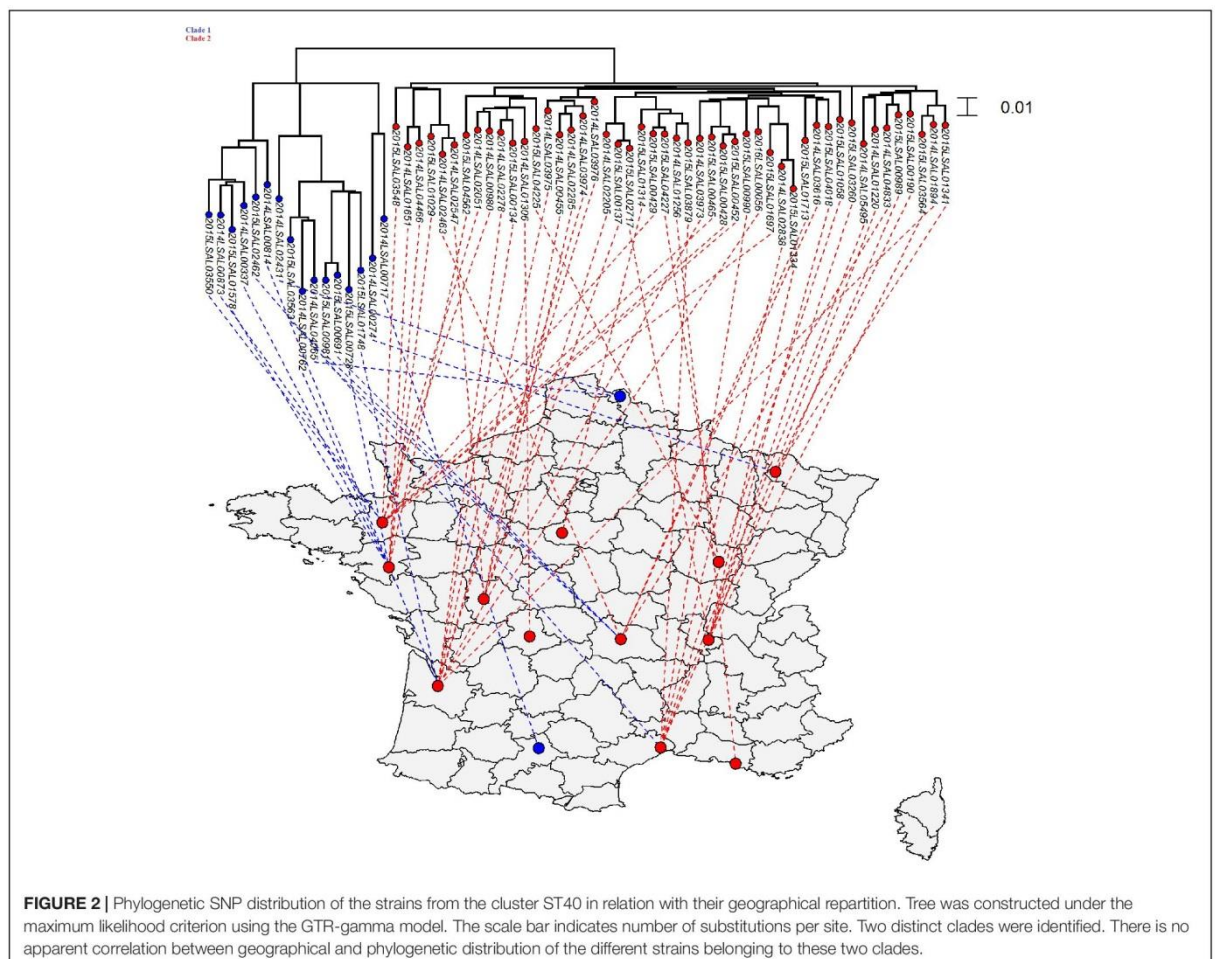
Phylogenetic Analysis of the ST40 Cluster

As shown in Figure 2, the strains forming the ST40 cluster could be divided into two clades. Clade 1 contained 16 strains

with an average of 192 SNPs and an SD of 83 SNPs while Clade 2 contained 48 strains with an average of 68 SNPs and an SD of 16. These two clades were separated by an average of 135 SNPs and an SD of 64. A Kolmogorov-Smirnov test between these two groups statistically confirmed the distinction between those two clades ($p\text{-value} \leq 2.2 \cdot 10^{-16}$). There is no apparent correlation between geographical and phylogenetic distribution of the different strains belonging to these two clades.

SNP Inference for the ST71 Cluster

The ST71 cluster contained genomes presenting only an average of 28 SNPs and an SD of 10 (Figure 3). The statistical analysis showed that two clades could be identified ($p\text{-value} = 6.10^{-13}$) in the ST71 cluster. Between two genomes, in Clade 1 there was an average of 19 SNPs (SD of 5) while in Clade 2 there was an average of 34 SNPs (SD of 14). There was no apparent chronological relationship between the different strains belonging to these two clades. Considering the geographical distribution of the sampling (Supplementary Figure S2), the



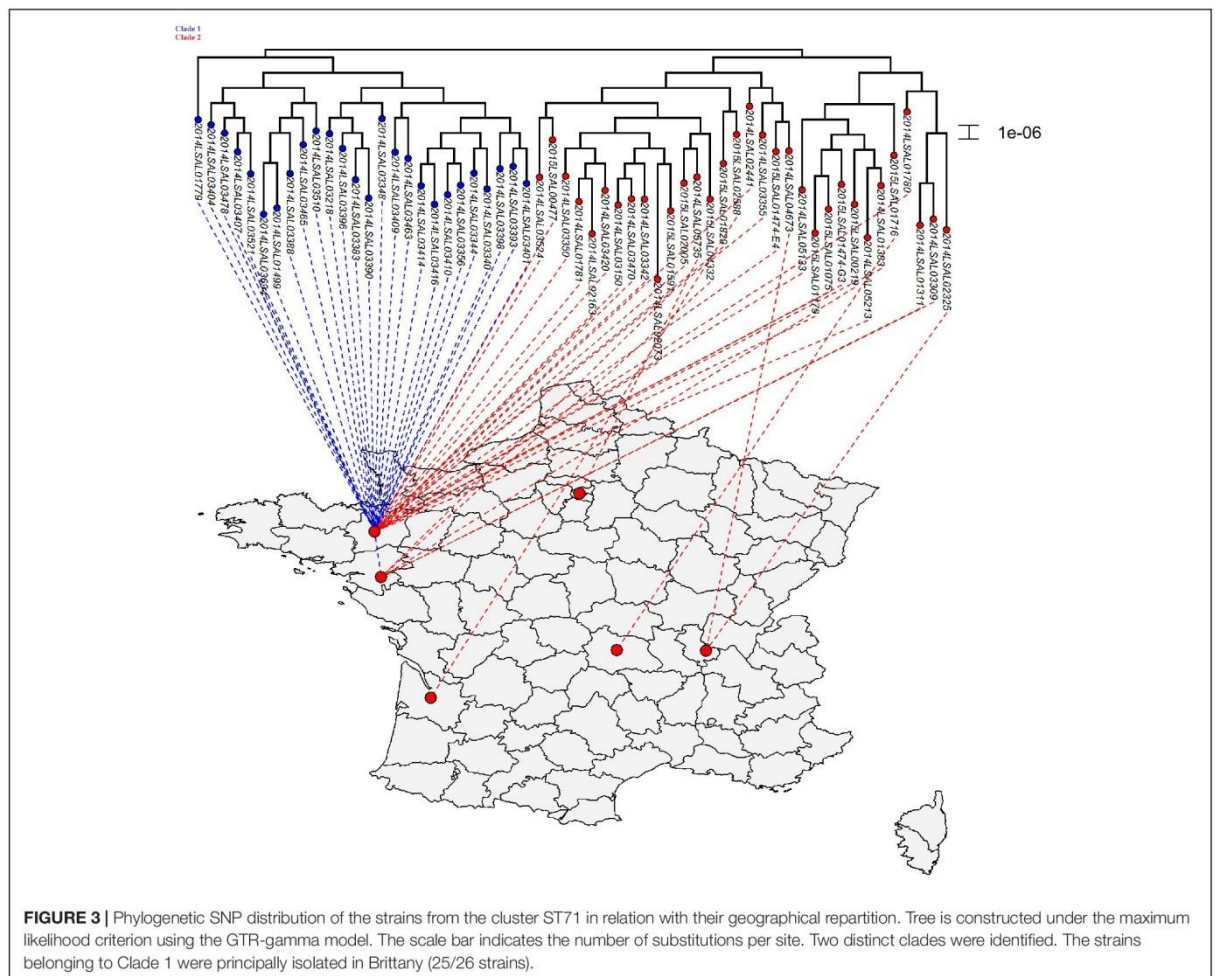


FIGURE 3 | Phylogenetic SNP distribution of the strains from the cluster ST71 in relation with their geographical repartition. Tree is constructed under the maximum likelihood criterion using the GTR-gamma model. The scale bar indicates the number of substitutions per site. Two distinct clades were identified. The strains belonging to Clade 1 were principally isolated in Brittany (25/26 strains).

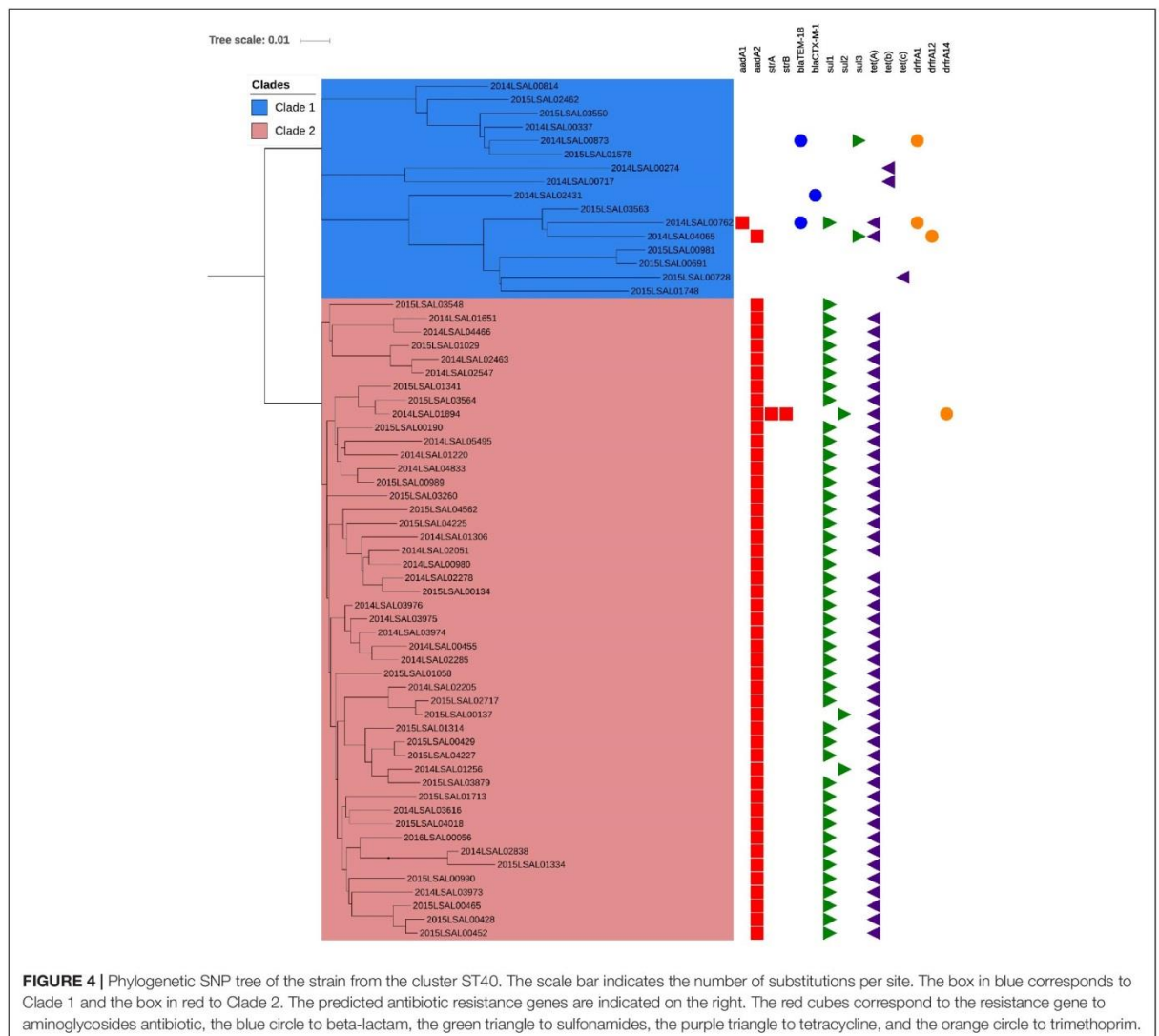
strains belonging to Clade 1 were principally isolated in Brittany (25/26 strains).

Antimicrobial Susceptibility Tests and Detection of Acquired Resistance Genes

Complete and partial antibiotic resistance genes identified in the 140 *S. Derby* genomes studied are listed in **Supplementary Table S3**. No resistance gene was detected in 59% (83/140) of the studied genomes. Among the 57 genomes harboring AMR genes, 81% were simultaneously carrying *aadA2*, *sulI*, and *tetA* (**Figure 4** and **Supplementary Table S3**). These genes mediate resistance to aminoglycosides, sulfonamides, and tetracyclines, respectively. This expected phenotype had been confirmed phenotypically for 46 “STR-SSS-TET” strains belonging to Clade 2 of ST40 (**Figure 4**). The resistance genes carried by the strains of Clade 1 of ST40 were more diverse. Most of the ST71, ST39, and ST682 strains were found to be carrying no AMR genes, 97% (57/58), 100% (13/13), and 80% (4/5), respectively.

Distribution and Diversity of SPI-1, -2, -3, -4, -5

Table 1 compiles the information about the length, number of genes, and percentage of GC content in the different SPIs. SPIs 1 to 5 are present in the 140 genomes studied. The alleles are identical within each lineage (100% of identity) but can be different between lineages. ST40 and ST39 share the same alleles (100% identity) with the exception of 6 genes in SPI-5 (*pipB*, *pipC*, *pipD*, *sopB*, *copS*, and *copR*). The global conservation of SPIs 1 to 5 is high between the four Derby lineages, with an overall sequence identity above 97% and allelic difference that does not exceed four substitutions. The genes *sseB*, *sseC*, and *sseD* of the second region of SPI-2 present the highest allelic difference between the lineages, with a sequence identity between 94.91 and 97.80%. The gene *rhuM* at the left-hand end of SPI-3 is only present in ST682. This gene (coding for a hypothetical protein) and *sugR* (coding for a putative ATP binding protein) are absent in ST40 and ST39 and only present as a fragment in ST71 (corresponding to 1..1246 out of a 1560 bp long gene) and



ST682 (one fragment of 520 bases corresponding to the beginning of the gene *sugR* and a second fragment of 535 corresponding to the end of the gene *sugR*). An integron previously described by Amavisit et al. (2003), containing seven genes related to the adhesion structures, pili and fimbriae (*ecpD2*, *ecpD1*, *htrE*, *yadM*, *yadL*, *yadK*, and *yadC*), flanked by two truncated transposase genes (*tpase2* and *tpase1*), was detected in the SPI3 of ST71, ST40, and ST39.

Distribution and Diversity of the SPI-23 Region

SPI-23 was only present in the sequences of *S. Derby* belonging to ST40 and ST39 with a sequence identity of 100% or above to 99.9% (for a 100% coverage). This *Salmonella* pathogenicity island was missing in ST682 strains and in most

ST71 strains with the exception of strain 2014LSAL05133, which only contains fragments of SPI-23. The *docB* gene, reported to end SPI-23, was present in all strains. We do not believe that the assembly process could alter the reconstruction of SPI-23, because all ST39 and ST40 strains were found to carry the 41 CDS (with 100% of identity) constitutive of SPI-23 and used as references for BLAST analysis. The results obtained by *in silico* PCR with the primers described by Hayward et al. (2016) are shown in **Supplementary Figure S2**.

FimH Gene Alleles

FimH amino acid sequences of the four *S. Derby* lineages obtained in the present study were compared with those of strains previously isolated from swine, poultry, and cattle and

TABLE 1 | Length, genes, and GC content of the main SPIs for *Salmonella*.

<i>Salmonella</i> pathogenicity island	Length (Kb)	GC%	Total number of genes	ST40 and ST39	ST71	ST682	Range of identities (%) between the four lineages
SPI-1	38	45.77	39	39/39	39/39	39/39	98.01 to 100
SPI-2 region 1	12	53.05	10	10/10	10/10	10/10	98.10 to 100
SPI-2 region 2	25	40.00	31	31/31	31/31	31/31	94.91 to 100
SPI-3	16	51.42	10	8/10 ^a	9/10 ^b	9/10 ^c	95.43 to 100
SPI-4	27	45.18	10	10/10	10/10	10/10	97.70 to 100
SPI-5	9	45.50	8	8/8	8/8	8/8	97.27 to 100
SPI-23	36	37.91	41	41/41	0/41 ^d	0/41	99.90 to 100

^aMissing *sugR* and *rhuM*; ^bTruncated *sugR* and missing *rhuM*; ^cMissing *sugR* (fragment only); ^d Except the strain 2014LSAL05133 which present fragments of SPI-23.

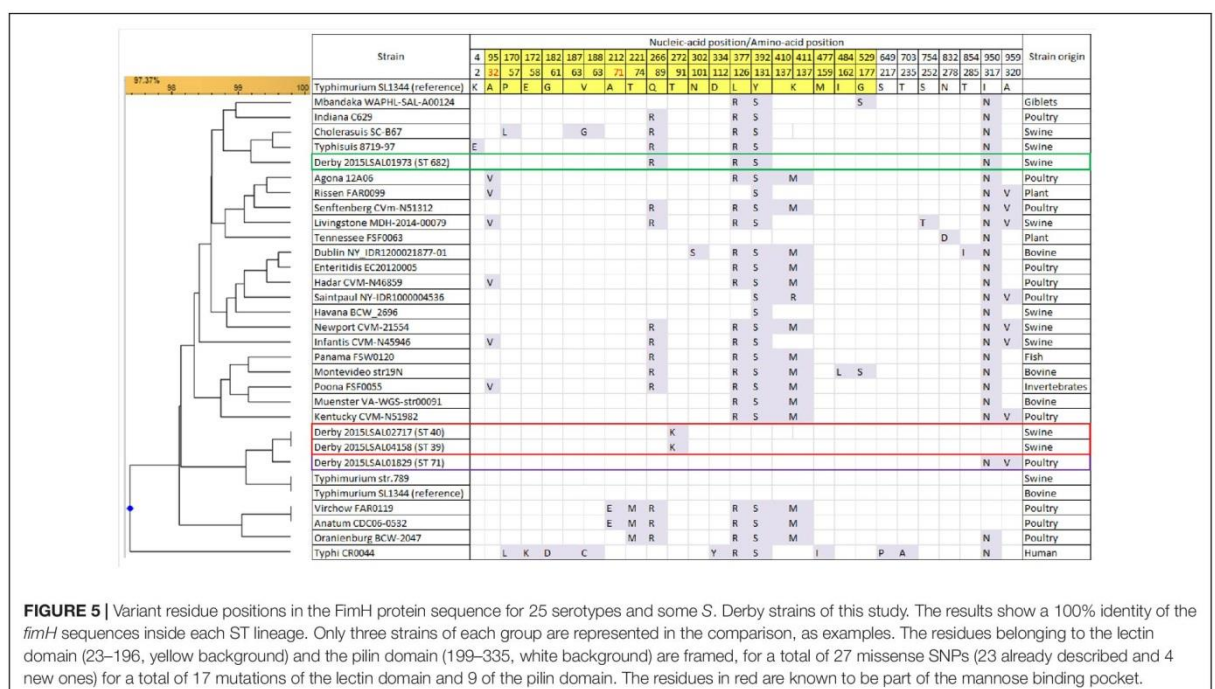


FIGURE 5 | Variant residue positions in the FimH protein sequence for 25 serotypes and some *S. Derby* strains of this study. The results show a 100% identity of the *fimH* sequences inside each ST lineage. Only three strains of each group are represented in the comparison, as examples. The residues belonging to the lectin domain (23–196, yellow background) and the pilin domain (199–335, white background) are framed, for a total of 27 missense SNPs (23 already described and 4 new ones) for a total of 17 mutations of the lectin domain and 9 of the pilin domain. The residues in red are known to be part of the mannose binding pocket.

belonging to the most frequent serotypes isolated in Europe (Weill and Le Hello, 2014; EFSA, 2016). The results show that there are three different *fimH* alleles in our collection, grouping together ST39 and ST40 isolates, while ST71 and ST682 display a peculiar *fimH* allele-type. FimH protein is characterized by two domains, the lectin and pilin domains. The sequence of the lectin domain of the strains belonging to the poultry-associated ST71 shows 100% identity with that of the *Salmonella* Typhimurium reference strain SL1344. The sequences of strains belonging to ST39–ST40 and ST682 differ by one and two substitutions, respectively, from the SL1344 sequence. The sequence of the pilin domain of T39–ST40 isolates differs by one substitution at position 91 from the SL1344 sequence. The ST71 FimH sequence differs by two missense substitutions from ST39–ST40 and three substitutions from ST682 (Figure 5). Considering FimH sequence variations among

the 25 most prevalent serotypes, *S. Derby* ST39–ST40 and ST71 are closely related to *S. Typhimurium*, while ST682 is closely related to *S. Choleraesuis* and *S. Typhisuis* with (4/6 and 4/5, respectively) missense mutations and (15/19) silent mutations in common. The residues predicted to be part of the mannose-binding pocket (positions 32 and 71) are conserved in the genomes of all *S. Derby* lineages. The unique substitution found in ST40 and ST39 and not encountered in the sequences of the other serotypes is located at position 272 and is predicted to change amino acid residue 91 from Threonine to Isoleucine. The ST71 has two missense mutations in position 950 (changing residue 317 from Threonine to Asparagine) and 959 (changing residue 320 from Alanine to Valine). Otherwise, the three ST groups ST40, ST39, and ST71 share 6 identical silent mutations. The ST682 clade is more distant from the *fimH* sequence of *S. Typhimurium* SL1344 and displays 16 silent mutations and

4 missense mutations at positions 266 (changing residue 89 from Quinine to Arginine), 377 (changing residue 126 from Leucine to Arginine), 392 (changing residue 131 from Tyrosine to Serine), and 950 (changing residue 317 from Threonine to Asparagine).

DISCUSSION

Genetic Diversity of *S. Derby*

The collection of *Salmonella* Derby strains used in this study was chosen to be representative of the diversity in the French food sector. The strains were essentially collected in the west/south-west parts of France corresponding to the most intensive pork and poultry meat production regions.

The phylogenetic analysis reveals that four major *Salmonella* Derby genetic lineages cohabit in France, corresponding to the MLST profiles ST40, ST39, ST682, and ST71. Two of these lineages, ST39 and ST40, differ by 3,962 SNPs (SD of 20 SNPs). This genetic proximity is confirmed by considering their MLST alleles, which can be grouped into the same MLST eBURST complex. The other lineages are much more distant from each other and display an overall inter-group difference of 14,866 SNPs with an SD of 12,961. ST682 is the most genetically different, with an average distance of 33,961 SNPs (SD of 4,102) from the three other groups.

These results highlight that strains displaying the same antigenic pattern *S.* 1,4,[5],12: f,g: [1,2] according to the White-Kauffmann-Le Minor scheme (Grimont and Weill, 2007) and consequently grouped under the same *Salmonella* Derby serotype include at least four genomic lineages. Like studies on *Salmonella* Newport (Timme et al., 2013), our results obtained on a large number of strains provide another example of a polyphyletic serotype.

The four MLST profiles, ST39, ST40, ST71, and ST682, have already been described (Hauser et al., 2011; Wang et al., 2011; Cai et al., 2016; Hayward et al., 2016; Zheng et al., 2017). Hauser et al. (2011) reported ST682 strains in Germany that were involved in a 2013–2014 outbreak associated with the consumption of pork (Simon et al., 2017). Isolation of ST40 strains has been previously described in England, Germany, Midwestern United States, and China, making this ST the most frequently reported in the literature (Hauser et al., 2011; Wang et al., 2011; Cai et al., 2016; Hayward et al., 2016; Zheng et al., 2017). Recently, Zheng et al. (2017) described a collection of 92 strains isolated from the swine and pork production chain in China, almost one third of which belong to ST71. This result contrasts with ours where all ST71 strains were associated with the poultry sector and none was isolated from the pork sector. However, Chinese isolates came from slaughterhouses and retail markets and never from the swine and farm environment, leading to the hypothesis that cross-contamination may have occurred on sites. Otherwise the ST71 was described by Hayward et al. (2016) and associated with turkey meat.

Our work is the first large survey at the serotype level taking into account the different sectors with which *Salmonella* Derby

has been associated and that clearly demonstrate the polyphyletic nature of the Derby serotype by whole genome analysis. It further demonstrates through a large national sampling the strong host-association of the four identified lineages. Within our panel the lineages ST40, ST39, and ST682 are associated with pork while ST71 is associated with poultry. Our results were obtained on a large national collection presenting a wide diversity of sampling origins. It can, however, be considered limited due to the time scale (2 years) and the restricted national area and, of course, it does not preclude that additional, uncharacterized lineages could express the Derby antigens. However, our collection brings together in a coherent way, all the genetic diversity that was previously described in a series of separate studies (Hauser et al., 2011; Wang et al., 2011; Cai et al., 2016; Hayward et al., 2016; Zheng et al., 2017).

The phylogenetic analysis carried out on ST40 and ST71, regrouping 87% of the strains analyzed, allowed us to further discriminate four, and statistically supported, clades. The ST40 can be divided into two clades. Clade 1 is highly heterogeneous regarding the antimicrobial profile; it contains susceptible strains and a diversity of antimicrobial-resistance profiles, while Clade 2 is characterized by strains showing a highly homogeneous AMR pattern, STR-SSS-TET (streptomycin, sulfonamides, and tetracycline). The strains clustered in Clade 2 are genetically less distant than the strains of Clade 1, with an average of 68 (SD of 16) and 192 (SD of 83) SNPs, respectively. ST71 can also be divided into two statistically different clades with no differences concerning AMR. The strains belonging to these two clades are essentially pansusceptible.

The ST40 lineage is found throughout France and strains from Clades 1 and 2 were isolated in various links of the food chain: slaughterhouses, secondary processors, retail sale, and food. In light of our results, it would be interesting to acquire information on the genetic diversity of *S. Derby* at the farm level, which is currently lacking. There is a widely held hypothesis that pork becomes contaminated at slaughterhouses supported by several publications (Rostagno et al., 2003; Botteldoorn et al., 2004; Valdezate et al., 2005; Buncic and Sofos, 2012). A recent study by Fois et al. (2017), on the occurrence and the characterization of *Salmonella* strains in slaughtered pigs in Italy, shows self-contamination for 71.5% of *Salmonella*-positive carcasses. Contaminated tools used for slaughtering can participate in the dissemination of this pathogen between carcasses. Contamination can also occur by the use of contaminated tools and work surfaces in the meat-cutting workshops. Above all, an understanding of the modes of transmission within the food production chains and the monitoring of the different lineages throughout the pork and poultry sectors would help national and international health, food, and agricultural authorities to establish suitable hygiene practices against the spread of this pathogen.

The main geographical origin of ST71 is from Brittany and Pays-de-la-Loire, where 76% of the poultry industry in France and 80% of the slaughterhouses are concentrated.

Our phylogenetic analysis does not differentiate Derby strains isolated from turkey from those isolated from *Gallus gallus*. The similar prevalence of Derby in the two animal species, 12.6% for *Gallus gallus* and 14.2% for turkey (DGAI, 2014, 2015), suggests that the ST71 strains are well adapted to both *Gallus gallus* and turkey. On the other hand, these data underline the disproportion observed in France between the prevalence of Derby upstream of the food chain (in animals) and the contamination recorded downstream (in food). In our panel representative of the food production chain in France, two strains were isolated from the turkey food sectors and 54 from the *Gallus gallus* food sector. This discrepancy could be explained by the fact that 81% of the production in the French poultry sector concerns *Gallus gallus* and only 5% turkey, and that the farm environment is often common for the two species, so that cross contamination should not be excluded.

Antimicrobial Susceptibility

Antimicrobial resistance is strongly associated with lineage ST40 in this study, as only 14% of the strains belonging to this lineage are pansusceptible. Most of ST71, ST39, and ST682 strains have no known resistance gene. Clade 2 of ST40 includes the majority of the strains presenting the STR-SSS-TET profile ($n = 46/48$). The STR-SSS-TET profile was first described in Spain (Valdezate et al., 2005). It has also been described in France by Kerouanton et al. (2013) for strains isolated from pig, pork, and humans (accounting for 66.7% of the isolates collected in 2006–2007). Aminoglycosides, sulfonamides, and tetracyclines are the most used antimicrobial classes in the pig sector in France (Binh et al., 2009; Méheust et al., 2016). The exploration of the genome of the ST40 Clade 2 strains revealed the presence between the *trmE* and *yidY* genes of a *Salmonella* genomic island (SGI-1) specific to this clade. This SGI-1 contained a class I integron delimited by *intI1* and IS1326 insertion sequences. This integron is similar to the class I integron containing the *aadA2* and *sul1* genes of the SGI-1C described by Beutlich et al. (2011). The SGI-1 also included the *tetA* gene and a cluster of mercuric resistance genes (*merA*, *merC*, *merP*, *merT*, and *merR*) located in a Tn7 transposon.

Interestingly, several studies have shown that the soil plays an important role in the dissemination within microorganisms of IncN, IncW, IncP-1, and pHHV216-like plasmids carrying resistance genes (Binh et al., 2008). The practice of field application of piggery manure, which harbors a substantial reservoir of broad-host-range plasmids conferring multiple antibiotic resistance genes, has been demonstrated to be responsible for this dissemination into agricultural soils, favoring horizontal gene transfer (Binh et al., 2009). Clinically relevant Class I integrons are also introduced into soil via similar practices (Aminov, 2011; Colavecchio et al., 2017; Pornsukarom and Thakur, 2017).

Finally, 98% (56/57) of the experimental AMR phenotypes were in agreement with the predictions made by ResFinder. One strain (2014LSAL04065) contains a gene coding for trimethoprim

resistance (*dhfrA12*), as trimethoprim has only been tested in combination with sulphonamides (SXT), the expression of this trimethoprim resistance phenotype hasn't been validated. Our results highlight the complementarity of these two analyses, the conjunction of WGS and phenotypic approaches could indeed be able to detect new AMR mechanisms. These affirmations are concordant with the conclusions exposed in the EUCAST review for the antimicrobial susceptibility of *Salmonella* (Ellington et al., 2017). A WGS approach can provide rapid identification for well-known and characterized AMR mechanisms. However, no WGS approach is so far able to predict antimicrobial susceptibility.

Virulence Factors and Host Specificity

The results concerning the *Salmonella* pathogenicity island -1, -2, -3, -4, -5 showed that all these genomic regions were detected within the panel of *S. Derby* strains analyzed, with an average sequence identity of 97%. The observed sequence differences between the lineages for the genes *sseB*, *sseC*, and *sseD* coding for the SPI-2 translocator that influences the capacity of type III secretion system (T3SS) protein to invade host cell cytoplasm, could impact the ability of the four *S. Derby* lineages to efficiently multiply in host cells and to survive in macrophages (Wilson et al., 2007; Reynolds et al., 2014). Even if the substitutions were conserved inside each lineage and could be used to discriminate between the different lineages of *S. Derby*, only cellular test experiments could confirm this hypothesis. The SPI-3 was the most variable SPI within the genomes analyzed. We observed a deletion of the left-terminal genes *rhuM* and *sugR* that had been previously reported in several studies as a common deletion in several serotypes such as Derby, Infantis, Virchow, Havana, Newport, and Albany (Beutlich et al., 2011; Figueiredo et al., 2015; McWhorter and Chousalkar, 2015). The *rhuM* gene was present only in the lineage ST682. It is known that *rhuM* gene deletion causes a significant decrease of the epithelial cell invasion capacity (Tenor et al., 2004). The *sugR* gene was found partial or fragmented in all the lineages. ST40, ST39, and ST71 possessed an integron in their SPI-3 containing seven genes related to the adhesion structures, pili and fimbriae genes that were reported as characteristic of *S. Derby* (Amavisit et al., 2003). These results highlight the genomic difference between ST682 and the other *S. Derby* lineages, but as a whole it could be concluded that the genetic distinction between the four Derby lineages does not reside in these pathogenicity islands.

The *Salmonella* pathogenicity island 23 (SPI-23) described by Hayward et al. (2013) has been shown to play a role in adhesion and invasion of porcine tissues (Hayward et al., 2014). The presence of this particular SPI helps explain the host pig specificity of the strains belonging to the lineages ST39 and ST40. The SPI-23 is absent in the strains belonging to the lineage ST71 associated with poultry and in the lineage ST682 related to pig. It has been shown that in the United Kingdom two distinct lineages of *S. Derby* coexist and these two lineages seem to be adapted to distinct sources (pig and turkey), being distinguished by the presence and absence of SPI-23 and the ability to more

efficiently invade the porcine jejunum derived cell line IPEC-J2 (Hayward et al., 2016). The results of this study support the hypothesis that the differences in host ranges of *S. Derby* are adaptations to pathogenesis, environmental persistence, and the use of metabolites abundant in their respective host environments.

FimH adhesin, located on type 1 fimbriae, mediates the adhesion to gut tissues and colonization of the alimentary tract of the host, an important stage in the pathogenesis of *Salmonella* (Grzymajlo et al., 2013). A previous study (Yue et al., 2015) suggested a possible correlation between the allelic variation of the amino acid sequence of the FimH protein and bacterial host specificity. FimH protein is involved in regulation of length and mediation of adhesion of type 1 fimbriae and consists of a peptide signal of 22 residues followed by a lectin domain (residues 23–196) and a pilin domain (residues 199–335) connected by a 3-residue link (Yue et al., 2015). In the whole dataset, 19 different missense substitutions have been detected in the lectin domain and 8 different missense substitutions in the pilin domain compared to *S. Typhimurium*'s SL1344 sequence. Although most of the substitutions were reported previously by Yue et al. (2015), 5 new substitutions (residues 91, 112, 113, 252, and 278) were identified in this study. The substitution of the residue 91 in the lectin domain was notably specific to the lineages ST40 and ST39. This new substitution was the only variation that differentiates the FimH protein sequence of the *S. Derby* lineages ST40 and ST39 from that of the *S. Typhimurium* SL1344. The impact of this mutation on host specificity could be investigated by invasion test on epithelial cells. The lineage ST682 shared four identical substitutions (Q89R, L126R, Y131S, and I317N) with *S. Typhisuis* and *S. Choleraesuis*, two serotypes well known for their pathogenesis in pig (Barrow and Methner, 2013). *S. Typhisuis* and *S. Derby* FimH protein sequences differed by only one missense mutation in the peptide signal (K2L) located before the lectin domain (Figure 5). FimH adhesin carrying these three substitutions have been shown to present a higher specificity for porcine enterocyte IPEC-J2 than those of *S. Typhimurium* (Yue et al., 2015). The mutations in the ST71 FimH alleles did not relate to any host-specific profiles that have been described in previous study (Yue et al., 2015).

The differences observed between the *fimH* alleles within the different *S. Derby* lineages and other significant SPI substitutions described above, could be used for developing specific real time PCR probe assays aimed at identifying and following the spread of these four *S. Derby* lineages throughout the pork and poultry sectors, from farm to fork.

CONCLUSION

The results of this study show that *Salmonella* Derby serotype in France is polyphyletic and can be divided into four distinct lineages distinguished by 14,866 SNPs on average (SD of 12,961). Our results indicate that it should be possible to develop specific and sensitive molecular markers for each lineage. The

lineages correspond to the four MLST profiles that have been independently described for *S. Derby*. The dominant lineage in France corresponds to ST40, which is associated with the pork sector. Two other lineages associated with the pork sector are ST39 and ST682. The strains belonging to ST71 are associated with the poultry sector and were isolated from *Gallus gallus*, turkey, but also from duck and guinea fowl food products. These four lineages differ principally by sequence differences in part of the SPI-3, by different allelic composition of the SPI-2 and -5, and by the presence of the pork invasion-related SPI-23 that characterizes the lineages ST40 and ST39. The *S. Derby* strains belonging to ST40 also harbor several AMR genes that are absent from the other STs. Clade 2 of this lineage is characterized by the AMR pattern STR-SSS-TET and likely corresponds to the major PFGE profile described previously by Kerouanton et al. (2013) (profil SDX01). The STR-SSS-TET profile is associated with the presence of an SGI-1 containing a class 1 integron sequence and a mercury resistance gene cluster. Mutations in the lectin and pilin domain of the FimH adhesion protein clearly characterize the different *S. Derby* lineages, and the ST682 presents the same protein lectin and pilin domain sequences than *S. Typhisuis*, causing acute infections in pig.

In this study, the whole-genome-sequencing approach was carried out to provide a high-resolution molecular typing of *S. Derby* strains isolated from the pork and poultry sectors, which can be used to further investigate the host specificity of the four lineages identified. This study constitutes the baseline for identifying over time which genetic lineages were and are present in the livestock and farm environment in France, and will contribute to our understanding of how these lineages can be transmitted to the food industries. Considering source attribution, our data constitute a strong basis for determining which *S. Derby* lineages are responsible for human contamination in France. In that last perspective, we are currently analyzing the genomes of a panel of *Salmonella* Derby isolated from human clinical cases during 2014 and 2015.

AVAILABILITY OF DATA

Genomics sequence assemblies used in this project are available online on the NCBI network under the accession: PRJNA391404 (available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/PRJNA391404>). Details for each genomic assembly are summarized in **Supplementary Table S2**, including the accession codes for each genome.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

SC-S piloted and administered the project. SC-S and YS designed and developed the experiments. YS, SG, and M-LV carried out the experiments and the analyses. SC-S, M-YM, RL, and CF provided acquisitions. YS, SC-S, SG, and M-YM drafted the manuscript. SLH and CF participated in the discussion and reviewed the report.

FUNDING

This study was supported by funding by the French Ministry of Agriculture, Food and Forestry, by the *Salmonella* Network, part of the ANSES-Laboratory for Food Safety (France), and by INAPORC. YS is the recipient of a doctoral fellowship (DGER-ANSES) cofinanced by AgroParisTech and the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES).

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank Nicolas Randomski and Arnaud Felten for advice on data interpretation, Laurent Guillier for advice on collection selection and statistical analysis. We thank Neelanzaly Garounnamourdy for technical assistance and Véronique Noel for prevalence data for *S. Derby* in the food sector.

REFERENCES

- Achtman, M., Wain, J., Weill, F. X., Nair, S., Zhou, Z., Sangal, V., et al. (2012). Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in *Salmonella enterica*. *PLoS Pathog.* 8:e1002776. doi: 10.1371/journal.ppat.1002776
- Amavisit, P., Lightfoot, D., Browning, G. F., and Markham, P. F. (2003). Variation between pathogenic serovars within *Salmonella* pathogenicity islands. *J. Bacteriol.* 185, 3624–3635. doi: 10.1128/jb.185.12.3624-3635.2003
- Aminov, R. I. (2011). Horizontal gene exchange in environmental microbiota. *Front. Microbiol.* 2:158. doi: 10.3389/fmicb.2011.00158
- Barrow, P., and Methner, U. (2013). *Salmonella in Domestic Animals*. Wallingford: CAB International. doi: 10.1079/9781845939021.0000
- Beutlich, J., Jahn, S., Malorny, B., Hauser, E., Huhn, S., Schroeter, A., et al. (2011). Antimicrobial resistance and virulence determinants in European *Salmonella* genomic island 1-positive *Salmonella enterica* isolates from different origins. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 5655–5664. doi: 10.1128/aem.00425-11
- Bin, C. T., Heuer, H., Kaupenjohann, M., and Smalla, K. (2009). Diverse *aadA* gene cassettes on class 1 integrons introduced into soil via spread manure. *Res. Microbiol.* 160, 427–433. doi: 10.1016/j.resmic.2009.06.005
- Bin, C. T., Heuer, H., Kaupenjohann, M., and Smalla, K. (2008). Piggery manure used for soil fertilization is a reservoir for transferable antibiotic resistance plasmids. *FEMS Microbiol. Ecol.* 66, 25–37. doi: 10.1111/j.1574-6941.2008.00526.x
- Botteldoorn, N., Herman, L., Rijpens, N., and Heyndrickx, M. (2004). Phenotypic and molecular typing of *Salmonella* strains reveals different contamination sources in two commercial pig slaughterhouses. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 5305–5314. doi: 10.1128/AEM.70.9.5305-5314.2004
- Buncic, S., and Sofos, J. (2012). Interventions to control *Salmonella* contamination during poultry, cattle and pig slaughter. *Food Res. Int.* 45, 641–655. doi: 10.1016/j.foodres.2011.10.018
- Cai, Y., Tao, J., Jiao, Y., Fei, X., Zhou, L., Wang, Y., et al. (2016). Phenotypic characteristics and genotypic correlation between *Salmonella* isolates from a slaughterhouse and retail markets in Yangzhou, China. *Int. J. Food Microbiol.* 222, 56–64. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.020
- CLSI (2015). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. CLSI Document M02-A12*. 12th Edn. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI (2016). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; CLSI Supplement M100S*. 26th Edn. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Colavecchio, A., Cadieux, B., Lo, A., and Goodridge, L. D. (2017). Bacteriophages contribute to the spread of antibiotic resistance genes among foodborne pathogens of the *Enterobacteriaceae* family – a review. *Front. Microbiol.* 8:1108. doi: 10.3389/fmicb.2017.01108
- DGAI (2014). *Bilan 2014 des Plans de Surveillance et de Contrôle. Surveillance Sanitaire des Denrées Animales et Végétales en France*. Boulder, CO: DGAI, 69–74.
- DGAI (2015). *Bilan 2015 des Plans de Surveillance et de Contrôle. Surveillance Sanitaire des denrées Animales et Végétales en France*. Boulder, CO: DGAI, 112–125.
- Dunn, J. R. (2016). Whole-genome sequencing: opportunities and challenges for public health, food-borne outbreak investigations, and the global food supply. *J. Infect. Dis.* 213, 499–501. doi: 10.1093/infdis/jiv298
- EFSA (2009). Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in holdings with breeding pigs in the EU, 2008 - Part A: *Salmonella* prevalence estimates. *EFSA J.* 7:1377. doi: 10.2903/j.efsa.2009.1377
- EFSA (2016). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA J.* 14:e04634. doi: 10.2903/j.efsa.2016.4634
- Ellington, M. J., Ekelund, O., Aarestrup, F. M., Canton, R., Doumith, M., Giske, C., et al. (2017). The role of whole genome sequencing in antimicrobial susceptibility testing of bacteria: report from the EUCAST Subcommittee. *Clin. Microbiol. Infect.* 23, 2–22. doi: 10.1016/j.cmi.2016.11.012
- Felten, A., Vila Nova, M., Durimel, K., Guillier, L., Mistou, M.-Y., and Radomski, N. (2017). First gene-ontology enrichment analysis based on bacterial core genome variants: insights into adaptations of *Salmonella* serovars to mammalian- and avian-hosts. *BMC Microbiol.* 17:222. doi: 10.1186/s12866-017-1132-1
- Ferrari, R. G., Panzenhagen, P. H. N., and Conte-Junior, C. A. (2017). Phenotypic and genotypic eligible methods for *Salmonella* typhimurium source tracking. *Front. Microbiol.* 8:2587. doi: 10.3389/fmicb.2017.02587
- Figueiredo, R., Card, R., Nunes, C., AbuOun, M., Bagnall, M. C., Nunez, J., et al. (2015). Virulence characterization of *Salmonella enterica* by a new microarray: detection and evaluation of the cytolethal distending toxin gene activity in the unusual host *S. Typhimurium*. *PLoS One* 10:e0135010. doi: 10.1371/journal.pone.0135010
- Fois, F., Piras, F., Torpdahl, M., Mazza, R., Consolati, S. G., Spanu, C., et al. (2017). Occurrence, characterization, and antimicrobial susceptibility of *Salmonella enterica* in slaughtered pigs in Sardinia. *J. Food Sci.* 82, 969–976. doi: 10.1111/1750-3841.13657
- Gilchrist, C. A., Turner, S. D., Riley, M. F., Petri, W. A. Jr., and Hewlett, E. L. (2015). Whole-genome sequencing in outbreak analysis. *Clin. Microbiol. Rev.* 28, 541–563. doi: 10.1128/cmr.00075-13
- Grimont, P., and Weill, F.-X. (2007). *Antigenic Formulae of the Salmonella serovars*. [Online]. Paris: WHO Collaborating Center for Reference and Research on

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.00891/full#supplementary-material>

FIGURE S1 | Geographical selection plan for the strains isolated from the pork and poultry sectors.

FIGURE S2 | Results of the *in silico* PCR for the SPI-23 into *S. Derby* collection. The *docB* gene corresponds to the coding sequence located immediately after the SPI-23. Only 2014LSAL05133 present small fragments of the SPI-23 (not corresponding to the primers highlighted in this figure) in the ST71.

TABLE S1 | Strains information. Sheet 1: Epidata, sample ID, NCBI accession number, genome deep coverage, and breadth. Sheet 2: repartition of the selected strains in each French region. Sheets 3 and 4: selection plan for the strains isolated from the pork and poultry sectors respectively.

TABLE S2 | List of the genomes from different serotypes of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* used for the FimH sequence analysis. Epidata and sample ID.

TABLE S3 | List of strains presenting antimicrobial resistance genes.

- Salmonella*, Institut Pasteur. 9th Edn. Available at: https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf [accessed October 25, 2016].
- Grzymajlo, K., Ugorski, M., Kolenda, R., Kedzierska, A., Kuzminska-Bajor, M., and Wieliczko, A. (2013). FimH adhesin from host unrestricted *Salmonella* Enteritidis binds to different glycoprotein ligands expressed by enterocytes from sheep, pig and cattle than FimH adhesins from host restricted *Salmonella* Abortus-ovis, *Salmonella* Choleraesuis and *Salmonella* Dublin. *Vet. Microbiol.* 166, 550–557. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.07.004
- Hauser, E., Hebner, F., Tietze, E., Helmuth, R., Junker, E., Prager, R., et al. (2011). Diversity of *Salmonella enterica* serovar Derby isolated from pig, pork and humans in Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 151, 141–149. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.020
- Hayward, M. R., AbuOun, M., La Ragione, R. M., Tchorzewska, M. A., Cooley, W. A., Everest, D. J., et al. (2014). SPI-23 of *S. Derby*: role in adherence and invasion of porcine tissues. *PLoS One* 9:e107857. doi: 10.1371/journal.pone.0107857
- Hayward, M. R., Jansen, V., and Woodward, M. J. (2013). Comparative genomics of *Salmonella enterica* serovars Derby and Mbandaka, two prevalent serovars associated with different livestock species in the UK. *BMC Genomics* 14:365. doi: 10.1186/1471-2164-14-365
- Hayward, M. R., Petrovska, L., Jansen, V. A., and Woodward, M. J. (2016). Population structure and associated phenotypes of *Salmonella enterica* serovars Derby and Mbandaka overlap with host range. *BMC Microbiol.* 16:15. doi: 10.1186/s12866-016-0628-4
- Huang, X., Huang, Q., Dun, Z., Huang, W., Wu, S., Liang, J., et al. (2016). Nontyphoidal *Salmonella* infection, Guangdong Province, China, 2012. *Emerg. Infect. Dis.* 22, 726–729. doi: 10.3201/eid2204.151372
- Keelara, S., Scott, H. M., Morrow, W. M., Gebreyes, W. A., Correa, M., Nayak, R., et al. (2013). Longitudinal study of distributions of similar antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars in pigs and their environment in two distinct swine production systems. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 5167–5178. doi: 10.1128/AEM.01419-13
- Kerouanton, A., Hirschaud, E., Rose, V., Esnault, E., Naquin, D., and Denis, M. (2015). First complete genome sequence of a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar derby strain associated with pork in France. *Genome Announc.* 3:e853-15. doi: 10.1128/genomeA.00853-15
- Kerouanton, A., Marault, M., Lailier, R., Weill, F. X., Feurer, C., Espie, E., et al. (2007). Pulsed-field gel electrophoresis subtyping database for foodborne *Salmonella enterica* serotype discrimination. *Foodborne Pathog. Dis.* 4, 293–303. doi: 10.1089/fpd.2007.0090
- Kerouanton, A., Rose, V., Weill, F. X., Granier, S. A., and Denis, M. (2013). Genetic diversity and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella enterica* serotype derby isolated from pigs, pork, and humans in France. *Foodborne Pathog. Dis.* 10, 977–984. doi: 10.1089/fpd.2013.1537
- Leclerc, V., Moury, F., Noel, V., Berta-Vanrullen, L., Cadel-Six, S., and Lailier, R. (2016). Le réseau *Salmonella*, un dispositif de surveillance des salmonelles sur la chaîne alimentaire: bilan 2015. *Bull. Épidémiol. Santé Anim. Aliment.* 77, 75–81.
- Letunic, I., and Bork, P. (2016). Interactive tree of life (iTOL) v3: an online tool for the display and annotation of phylogenetic and other trees. *Nucleic Acids Res.* 44, W242–W245. doi: 10.1093/nar/gkw290
- Markowski, C. A., and Markowski, E. P. (1990). Conditions for the effectiveness of a preliminary test of variance. *Am. Stat.* 44, 322–326. doi: 10.2307/2684360
- McKenna, A., Hanna, M., Banks, E., Sivachenko, A., Cibulskis, K., Kernysky, A., et al. (2010). The genome analysis toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res.* 20, 1297–1303. doi: 10.1101/gr.107524.110
- McWhorter, A. R., and Chousalkar, K. K. (2015). Comparative phenotypic and genotypic virulence of *Salmonella* strains isolated from Australian layer farms. *Front. Microbiol.* 6:12. doi: 10.3389/fmicb.2015.00012
- Méheust, D., Chevanne, A., and Moulin, G. (2016). *Suivi des Ventes de Médicaments Vétérinaires Contenant des Antibiotiques en France en 2015*. Buenos Aires: Anses.
- Menard, J.-N., Nil, A., and Pierre, T. (2015). *Bilan Diagnostic des Bassins de Production de Volailles de Chair*. Paris: CGAER.
- Pornsukarom, S., and Thakur, S. (2017). Horizontal dissemination of antimicrobial resistance determinants in multiple *Salmonella* serotypes following isolation from the commercial swine operation environment after manure application. *Appl. Environ. Microbiol.* 83:e1503-17. doi: 10.1128/aem.01503-17
- Reynolds, C. J., Jones, C., Blohmke, C. J., Darton, T. C., Goudet, A., Sergeant, R., et al. (2014). The serodominant secreted effector protein of *Salmonella*, SseB, is a strong CD4 antigen containing an immunodominant epitope presented by diverse HLA class II alleles. *Immunology* 143, 438–446. doi: 10.1111/imm.12327
- Rostagno, M. H., Hurd, H. S., McKean, J. D., Ziemer, C. J., Gailey, J. K., and Leite, R. C. (2003). Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 4489–4494. doi: 10.1128/AEM.69.8.4489-4494.2003
- Royston, P. (1995). Remark as R94: a remark on algorithm as 181: the W-test for normality. *J. R. Stat. Soc. Series C* 44, 547–551. doi: 10.2307/2986146
- Simon, S., Trost, E., Bender, J., Fuchs, S., Malorny, B., Rabsch, W., et al. (2017). Evaluation of WGS based approaches for investigating a food-borne outbreak caused by *Salmonella enterica* serovar Derby in Germany. *Food Microbiol.* 71, 46–54. doi: 10.1016/j.fm.2017.08.017
- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30, 1312–1313. doi: 10.1093/bioinformatics/btu033
- Tenor, J. L., McCormick, B. A., Ausubel, F. M., and Aballay, A. (2004). *Caenorhabditis elegans*-based screen identifies *Salmonella* virulence factors required for conserved host-pathogen interactions. *Curr. Biol.* 14, 1018–1024. doi: 10.1016/j.cub.2004.05.050
- Timme, R. E., Pettengill, J. B., Allard, M. W., Strain, E., Barrangou, R., Wehnes, C., et al. (2013). Phylogenetic diversity of the enteric pathogen *Salmonella enterica* subsp. *enterica* inferred from genome-wide reference-free SNP characters. *Genome Biol. Evol.* 5, 2109–2123. doi: 10.1093/gbe/evt159
- Valdezate, S., Vidal, A., Herrera-Leon, S., Pozo, J., Rubio, P., Usera, M. A., et al. (2005). *Salmonella* derby clonal spread from pork. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 694–698. doi: 10.3201/eid1105.041042
- Wang, B., Wang, C., McKean, J. D., Logue, C. M., Gebreyes, W. A., Tivendale, K. A., et al. (2011). *Salmonella enterica* in swine production: assessing the association between amplified fragment length polymorphism and epidemiological units of concern. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 8080–8087. doi: 10.1128/aem.0064-11
- Weill, F., and Le Hello, S. (2014). *Bilan des Activités 2013 du Centre National de Référence des Escherichia coli, Shigella et Salmonella* [Online]. Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*. Available at: <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/escherichia-coli-shigella-salmonella/rapports-d-activite> [accessed December 12, 2016].
- Wilson, J. W., Coleman, C., and Nickerson, C. A. (2007). Cloning and transfer of the *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion system for studies of a range of gram-negative genera. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 5911–5918. doi: 10.1128/aem.00952-07
- Wilson, M. R., Brown, E., Keys, C., Strain, E., Luo, Y., Muruvanda, T., et al. (2016). Whole genome DNA sequence analysis of *Salmonella* subspecies *enterica* serotype Tennessee obtained from related peanut butter foodborne outbreaks. *PLoS One* 11:e0146929. doi: 10.1371/journal.pone.0146929
- Yue, M., Han, X., Masi, L. D., Zhu, C., Ma, X., Zhang, J., et al. (2015). Allelic variation contributes to bacterial host specificity. *Nat. Commun.* 6:8754. doi: 10.1038/ncomms9754
- Zankari, E., Hasman, H., Cosentino, S., Vestergaard, M., Rasmussen, S., Lund, O., et al. (2012). Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *J. Antimicrob. Chemother.* 67, 2640–2644. doi: 10.1093/jac/dks261
- Zheng, H., Hu, Y., Li, Q., Tao, J., Cai, Y., Wang, Y., et al. (2017). Subtyping *Salmonella enterica* serovar Derby with multilocus sequence typing (MLST) and clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPRs). *Food Control* 73(Part B), 474–484. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.08.051

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2018 Sévellec, Vignaud, Granier, Lailier, Feurer, Le Hello, Mistou and Cadel-Six. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

2.2.1 Supplementary material

Supplementary table 1: Strains information: Epidata, sample ID, NCBI accession number, genome deep coverage, and breadth.

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth
2014LSAL00238	07/01/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07267519	273	91.92%
2014LSAL00274	09/01/2014	Lorraine	49.0163	6.6165	Pork	Retail sale	Meat from pig - meat products - raw but intended to be eaten cooked	SAMN07734874	113	91.4%
2014LSAL00337	14/01/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation intended to be eaten cooked	SAMN07734875	129	91.38%
2014LSAL00455	15/01/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	Pork	Slaughter	Meat from pig - fresh	SAMN07734876	75	91.41%
2014LSAL00717	11/02/2014	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734877	235	91.0%
2014LSAL00762	18/02/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07734878	282	91.28%
2014LSAL00814	28/01/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734879	307	91.42%
2014LSAL00873	17/02/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Unspecified	Meat from pig - fresh	SAMN07734880	221	91.34%
2014LSAL00980	05/03/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07734881	99	91.4%
2014LSAL01158	14/03/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Retail sale	Meat from pig - offal	SAMN07734882	142	91.56%
2014LSAL01220	17/03/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Slaughter	Meat from pig - fresh	SAMN07734883	244	91.43%
2014LSAL01256	13/03/2014	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734884	139	91.36%
2014LSAL01306	24/03/2014	Limousin	45.7388	1.6891	Pork	Retail sale	Meat from pig - offal	SAMN07734885	51	91.28%

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth
2014LSAL01311	16/03/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Poultry	Slaughter	Meat from duck - carcass	SAMN07734886	164	92.55%
2014LSAL01383	26/03/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734887	376	92.55%
2014LSAL01467	04/04/2014	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734888	227	91.46%
2014LSAL01499	01/04/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734889	309	92.53%
2014LSAL01651	09/04/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Retail sale	Meat from pig - offal	SAMN07734890	140	91.4%
2014LSAL01779	24/04/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734891	236	92.58%
2014LSAL01780	24/04/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734892	251	92.57%
2014LSAL01781	24/04/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734893	190	92.51%
2014LSAL01894	28/04/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig	SAMN07734894	252	91.43%
2014LSAL02051	21/05/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734895	229	91.4%
2014LSAL02073	13/05/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734896	101	92.39%
2014LSAL02163	20/05/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734897	208	92.47%
2014LSAL02205	04/06/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	Poultry	Livestock farming	Gallus gallus - fowl - broilers	SAMN07734898	247	91.4%
2014LSAL02278	06/01/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - fresh	SAMN07734899	178	91.42%
2014LSAL02285	21/05/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734900	238	91.36%
2014LSAL02325	02/06/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Poultry	Slaughter	Meat from turkey - carcass	SAMN07734901	275	92.55%
2014LSAL02431	18/06/2014	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - carcass	SAMN07734902	182	91.48%
2014LSAL02441	18/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734903	281	92.53%

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth
2014LSAL02463	20/06/2014	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07734904	257	91.38%
2014LSAL02547	18/06/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	Pork	Slaughter	Meat from pig - fresh	SAMN07734905	240	91.5%
2014LSAL02838	11/07/2014	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734906	250	91.37%
2014LSAL03150	15/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734907	239	92.51%
2014LSAL03218	30/07/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - mechanically separated meat - MSM	SAMN07734908	217	92.96%
2014LSAL03309	02/04/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734909	152	92.51%
2014LSAL03340	05/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734910	250	92.54%
2014LSAL03342	04/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734911	229	92.51%
2014LSAL03344	05/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734912	238	92.55%
2014LSAL03348	11/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734913	232	92.53%
2014LSAL03350	11/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734914	226	92.52%
2014LSAL03355	11/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734915	245	92.5%
2014LSAL03356	11/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734916	240	92.53%
2014LSAL03383	17/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734917	251	92.53%
2014LSAL03388	17/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734918	238	92.53%
2014LSAL03390	17/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734919	214	92.54%

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth
2014LSAL03393	17/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734920	233	92.52%
2014LSAL03396	17/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734921	225	92.53%
2014LSAL03398	17/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734922	205	92.53%
2014LSAL03401	24/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734923	238	92.53%
2014LSAL03404	24/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734924	229	92.67%
2014LSAL03407	24/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734926	233	92.53%
2014LSAL03409	24/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734927	253	92.53%
2014LSAL03410	24/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734928	205	92.56%
2014LSAL03414	02/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734929	228	92.56%
2014LSAL03416	02/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734930	193	92.55%
2014LSAL03420	02/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734931	265	92.52%
2014LSAL03463	09/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734932	251	92.54%
2014LSAL03465	09/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734933	278	92.55%
2014LSAL03470	15/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734934	251	92.51%
2014LSAL03478	15/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734935	256	92.55%
2014LSAL03510	30/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734936	279	92.55%
2014LSAL03521	22/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734937	236	92.54%
2014LSAL03524	30/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734938	227	92.5%

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth
2014LSAL03616	13/08/2014	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation	SAMN07734939	214	91.37%
2014LSAL03694	08/08/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from guinea fowl	SAMN07734940	297	92.55%
2014LSAL03785	27/08/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Slaughter	Meat from pig - offal	SAMN07734941	271	91.92%
2014LSAL03787	27/08/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - offal	SAMN07734942	350	91.92%
2014LSAL03926	27/08/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07734943	329	97.39%
2014LSAL03973	07/08/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation	SAMN07734944	248	91.34%
2014LSAL03974	07/08/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734945	269	91.41%
2014LSAL03975	07/08/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734946	194	91.42%
2014LSAL03976	07/08/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734947	210	91.41%
2014LSAL03985	15/09/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734948	119	92.3%
2014LSAL04065	17/09/2014	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - meat products	SAMN07734949	247	91.28%
2014LSAL04466	01/10/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Retail sale	Meat from pig - meat preparation intended to be cooked	SAMN07734950	174	91.41%
2014LSAL04673	06/10/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Industrial transformation	Meat from pig	SAMN07734951	258	92.45%
2014LSAL04833	17/09/2014	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - minced meat - intended to be eaten cooked	SAMN07734952	135	91.38%
2014LSAL05133	05/11/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from turkey - carcass	SAMN07734953	206	93.35%

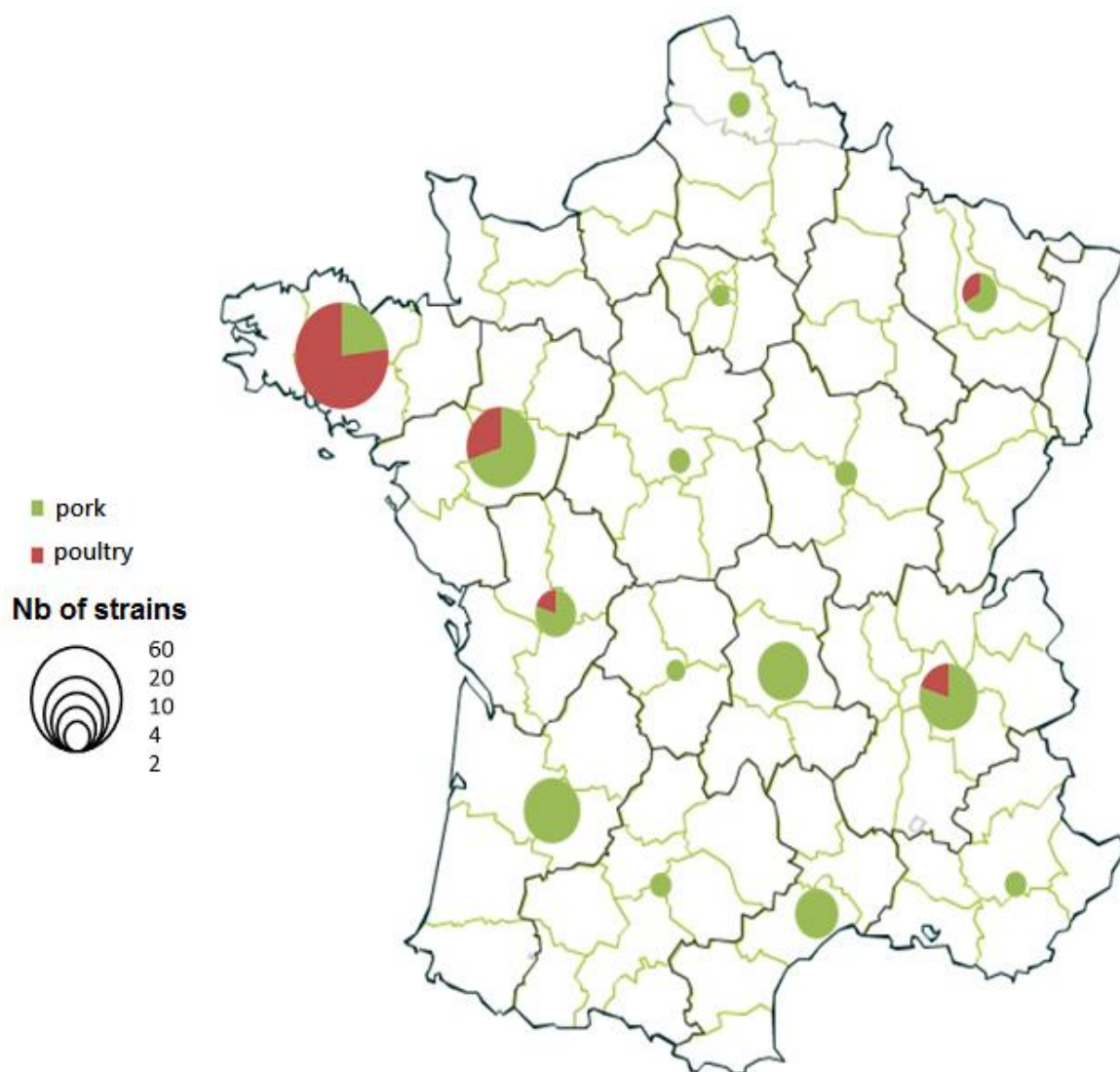
Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth
2014LSAL05213	12/11/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734954	193	92.58%
2014LSAL05495	29/10/2014	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - minced meat - intended to be eaten cooked	SAMN07734955	211	91.43%
2014LSAL05538	01/12/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	livestock farming	Meat from pig - fresh	SAMN07734956	290	91.33%
2014LSAL05735	06/11/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	Pork	Retail sale	Meat from pig - fresh	SAMN07734957	244	92.5%
2015LSAL00134	27/10/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - fresh	SAMN07734958	265	91.47%
2015LSAL00137	17/12/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	Pork	Slaughter	Meat from pig - fresh	SAMN07734959	227	91.38%
2015LSAL00190	18/12/2014	Lorraine	49.0163	6.6165	Pork	Retail sale	Meat from pig - meat products - raw but intended to be eaten cooked	SAMN07734960	286	91.45%
2015LSAL00219	30/12/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734961	257	92.54%
2015LSAL00314	09/10/2014	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734962	251	91.52%
2015LSAL00428	02/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734963	236	91.42%
2015LSAL00429	02/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734964	243	91.41%
2015LSAL00452	10/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734965	241	91.4%
2015LSAL00465	10/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734966	189	91.39%
2015LSAL00477	21/01/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734967	216	92.5%
2015LSAL00641	30/01/2015	Centre	47.7947	2.3483	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07734968	254	93.62%
2015LSAL00691	03/02/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - carcass	SAMN07734969	282	91.32%

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth
2015LSAL00728	13/02/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation destinee a etre consommee cuite	SAMN07734970	237	91.34%
2015LSAL00981	05/03/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - carcass	SAMN07734971	257	91.34%
2015LSAL00989	02/03/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734972	262	91.43%
2015LSAL00990	16/02/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734973	205	91.4%
2015LSAL01029	10/03/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Retail sale	Meat from pig - meat preparation destinee a etre consommee cuite	SAMN07734974	233	91.42%
2015LSAL01058	17/03/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734975	212	91.4%
2015LSAL01075	17/03/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734976	156	92.53%
2015LSAL01179	25/03/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734977	130	92.56%
2015LSAL01314	23/03/2015	Centre	47.7947	2.3483	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734978	224	91.4%
2015LSAL01334	24/03/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734979	220	91.38%
2015LSAL01341	01/04/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	Poultry	Livestock farming	Gallus gallus - fowl - broilers	SAMN07734980	307	91.42%
2015LSAL01474	15/04/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - mechanically separated meat - MSM	SAMN07734981	321	92.53%
2015LSAL01578	22/04/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Industrial transformation	Meat from pig	SAMN07734982	215	91.39%
2015LSAL01591	28/04/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734983	229	92.53%
2015LSAL01697	13/05/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig – carcass	SAMN07734984	192	91.38%

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth
2015LSAL01713	17/03/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig	SAMN07734985	221	91.41%
2015LSAL01716	24/03/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734986	176	92.49%
2015LSAL01748	20/04/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734987	224	91.29%
2015LSAL01817	28/04/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734988	186	91.28%
2015LSAL01821	19/05/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734989	214	91.2%
2015LSAL01829	27/05/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734990	211	92.51%
2015LSAL01973	30/04/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation	SAMN07734992	246	91.92%
2015LSAL02005	04/06/2015	bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from duck - fresh	SAMN07734993	238	92.53%
2015LSAL02462	07/07/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734994	221	91.4%
2015LSAL02588	23/06/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - minced meat - intended to be eaten cooked	SAMN07734995	234	92.52%
2015LSAL02717	28/07/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734997	205	91.36%
2015LSAL03121	17/08/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734998	238	91.35%
2015LSAL03260	02/09/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734999	117	91.25%
2015LSAL03284	11/08/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735000	226	91.15%
2015LSAL03285	17/08/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735001	209	91.13%
2015LSAL03548	09/06/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735002	129	91.25%
2015LSAL03550	08/06/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735003	138	91.21%
2015LSAL03563	21/09/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735004	175	92.91%
2015LSAL03564	14/09/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07735005	231	91.42%

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth
2015LSAL03879	14/10/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735006	265	91.43%
2015LSAL03891	02/10/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - carcass	SAMN07735007	204	91.47%
2015LSAL04018	22/10/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Poultry	Livestock farming	Gallus gallus - fowl - broilers	SAMN07735008	212	91.42%
2015LSAL04158	28/10/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735009	232	91.52%
2015LSAL04225	03/11/2015	Bourgogne	47.214	5.4822	Pork	Retail sale	Meat from pig - fresh	SAMN07735010	140	91.39%
2015LSAL04227	26/10/2015	Bourgogne	47.214	5.4822	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735011	233	91.37%
2015LSAL04332	03/11/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07735013	222	92.52%
2015LSAL04562	31/08/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735014	107	91.22%
2016LSAL00028	22/12/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07735015	274	91.34%
2016LSAL00056	30/11/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - offal	SAMN07735016	165	91.33%

Supplementary figure 1 : Geographical selection plan for the strains isolated from the pork and poultry sectors.



Supplementary table 2: List of the genomes from different serotypes of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* used for the *FimH* sequence analysis. Epidata and sample ID.

Genome name	Strain	Serotype	Sample ID	Country	Collection Year	Source Type
Agona 12A06	12A06	Agona	SAMEA1889081	Ireland	2006	Poultry
Anatum str. CVM_N44699	CVM_N44699	Anatum	SAMN03894116	United States	2013	Poultry
Derby 2014LSAL00238	2014LSAL00238	Derby	SAMN07267519	France	2014	swine
Derby 2014LSAL00814	2014LSAL00814	Derby	SAMN07734879	France	2014	Swine
Derby 2014LSAL02431	2014LSAL02431	Derby	SAMN07734902	France	2014	Swine
Derby 2014LSAL03350	2014LSAL03350	Derby	SAMN07734914	France	2014	Poultry
Derby 2014LSAL03785	2014LSAL03785	Derby	SAMN07734941	France	2014	swine
Derby 2014LSAL03926	2014LSAL03926	Derby	SAMN07734943	France	2014	Swine
Derby 2014LSAL05133	2014LSAL05133	Derby	SAMN07734953	France	2014	Poultry
Derby 2015LSAL00614	2014LSAL00614	Derby	SAMN07734968	France	2015	Swine
Derby 2015LSAL01829	2015LSAL01829	Derby	SAMN07734990	France	2015	Poultry
Derby 2015LSAL01973	2015LSAL01973	Derby	SAMN07734992	France	2015	swine
Derby 2015LSAL02717	2014LSAL02717	Derby	SAMN07734997	France	2015	Swine
Derby 2015LSAL04158	2014LSAL04158	Derby	SAMN07735009	France	2015	Swine
Dublin str. NY_IDR1200021877-01	NY_IDR1200021877-01	Dublin	SAMN01902415	United States	2012	Bovine
Enteritidis str. EC20120005	str. EC20120005	Enteritidis	SAMN02384189	Canada	2011	Poultry
Hadar CVM-N46859	CVM N46859	Hadar	SAMN03894238	United States	2013	Poultry
Havana BCW_2696	BCW 2696	Havana	SAMN02368573	Nigeria	2009	Poultry
Indiana C629	C629	Indiana	SAMN04961653	China	2014	Poultry
Infantis CVM-N45946	CVM-N45946	Infantis	SAMN03894177	United States	2013	Swine
Kentucky CVM N51982	CVM N51982	Kentucky	SAMN03894408	United States	2013	Poultry
Livingstone str. MDH-2014-00079	MDH-2014-00079	Livingstone	SAMN02646853	United States	2003	Swine
Mbandaka str. WAPHL_SAL-A00124	WAPHL_SAL-A00124	Mbandaka	SAMN02182958	United States	2012	Giblets not specified
Montevideo str. 19N	str. 19N	Montevideo	SAMN00710598	nd	nd	Poultry

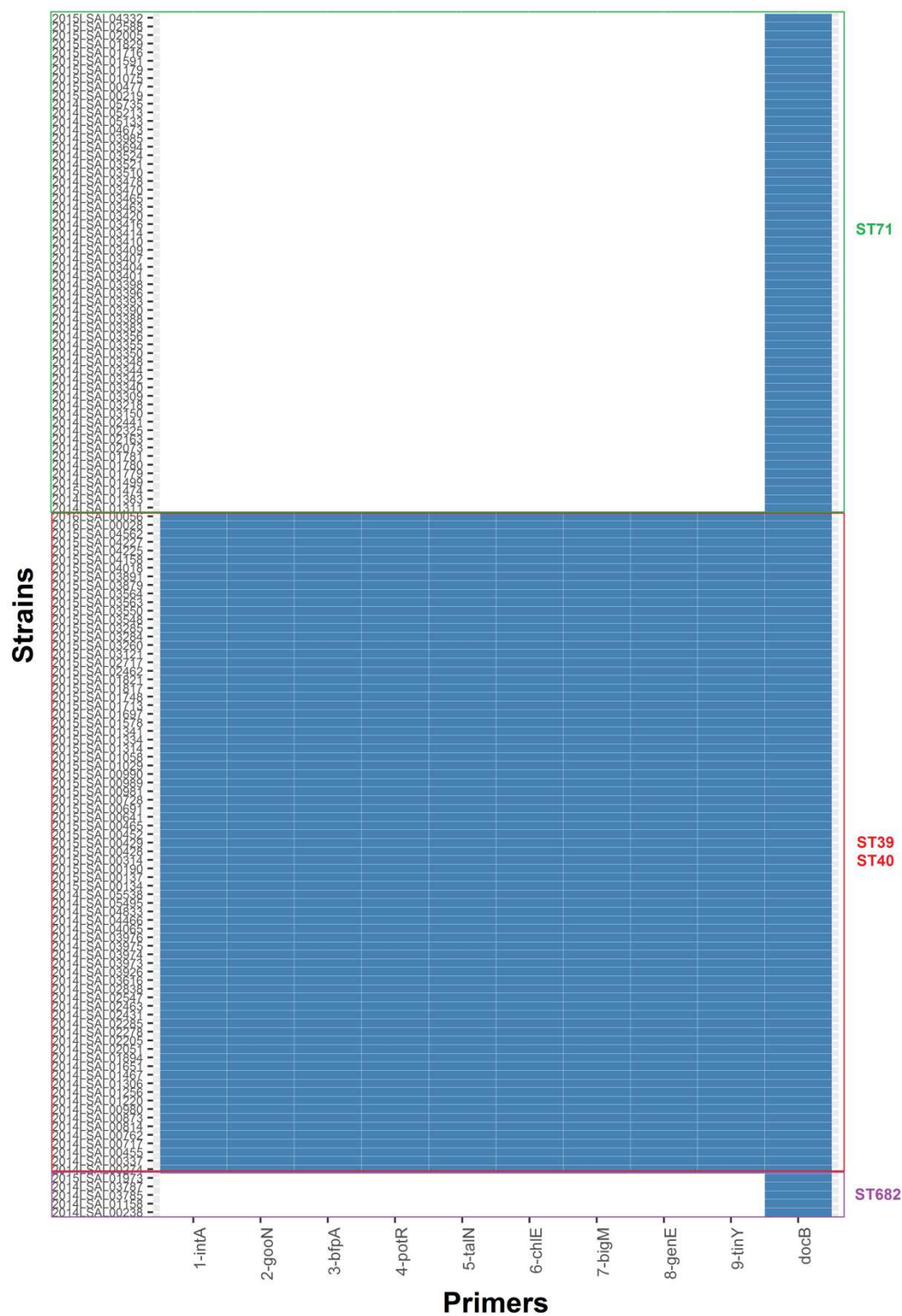
Genome name	Strain	Serotype	Sample ID	Country	Collection Year	Source Type
Muenster VA-WGS-str00091	VA WGS str. 00091	Muenster	SAMN02403312	United States	2006	Bovine
Newport CVM21554	CVM21554	Newport	SAMN01813483	United States	2001	Swine
Oranienburg BCW-2047	BCW-2047	Oranienburg	SAMN02367859	United States	2010	Poultry
Panama FSW0120	FSW0120	Panama	SAMN02678847	Vietnam	2013	Aquatic
Poona FSF0055	FSF0055	Poona	SAMN02344819	China	2010	Invertebrates
Rissen FAR0099	FAR0099	Rissen	SAMN02345539	Mexico	2012	Plant
Saintpaul NY-IDR1000004536	NY IDR1000004536	Saintpaul	SAMN01902359	United States	2010	Poultry
Senftenberg CVM-N51312	CVM N51312	Senftenberg	SAMN03894403	United States	2013	Poultry
Tennessee FSF0063	FSF0063	Tennessee	SAMN02344793	China	2010	Plant
Typhi CR0044	CR0044	Typhi	SAMN02415239	Malaysia	2007	Human
Typhimurium SL1344 (reference)	SL1344	Typhimurium	SAMEA3138382	United Kindoms	nd	nd
Typhimurium str. 798	str. 798	Typhimurium	SAMN02604223	France	nd	Swine
Virchow str. FAR0119	FAR0119	Virchow	SAMN02678442	India	2013	Plant
Choleraesuis SC-B67	SC-B67	Choleraesuis	SAMN02603109	Taiwan	2002	Human
Typhisuis 8719-97	8719-97	Typhisuis	KJ095885.1	ND	ND	Swine

Supplementary table 3: List of strains presenting antimicrobial resistance genes.

Key	ST profile	Antimicrobial resistance profile (in red = prediction)	Aminoglycosides	Beta-lactams	Tetracyclines	Sulphonamides	Trimetroprim
2014LSAL00274	ST40	TET			tet(B)		
2014LSAL00455	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL00717	ST40	TET			tet(B)		
2014LSAL00762	ST40	STR AMP SMX SXT TET	aadA1	bla TEM-1C	tet(A)	sul1	dfrA1
2014LSAL00873	ST40	AMP SMX SXT		blaTEM-1B		sul2	dfrA1
2014LSAL00980	ST40	STR SMX	aadA2			sul1	
2014LSAL01158	ST682	STR KAN TET	aph (3')-IC + strA + strB		tet(B)		
2014LSAL01220	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL01256	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL01306	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL01651	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL01894	ST40	STR SMX SXT TET	aadA2 + Δ strA + strB		tet(A)	sul1 + sul2	dfrA14
2014LSAL02051	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL02205	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL02278	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL02285	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL02325	ST71	AMP SMX SXT TET	Δ strA + strB	blaTEM-1B	tet(A)	sul2	dfrA14
2014LSAL02431	ST40	AMP CEF CTX CAZ		blaCTX-M-1			
2014LSAL02463	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL02547	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL02838	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL03616	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL03973	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	

Key	ST profile	Antimicrobial resistance profile (in red = prediction)	Aminoglycosides	Beta-lactams	Tetracyclines	Sulphonamides	Trimetroprim
2014LSAL03974	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL03975	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL03976	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL04065	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul3	dfrA12
2014LSAL04466	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL04833	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2014LSAL05495	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL00134	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL00137	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul2	
2015LSAL00190	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL00428	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL00429	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL00452	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL00465	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL00728	ST40	TET			tet(C)		
2015LSAL00989	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL00990	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL01029	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL01058	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL01314	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL01334	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL01341	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL01697	ST40	STR KAN SMX TET	aadA2 + aadA5		tet(A)	sul1	
2015LSAL01713	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL02717	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	
2015LSAL03260	ST40	STR SMX TET	aadA2		tet(A)	sul1	

Supplementary figure 2: Results of the in silico PCR for the SPI-23 into S. Derby collection.



The docB gene corresponds to the coding sequence located immediately after the SPI-23. Only 2014LSAL05133 present small fragments of the SPI-23 (not corresponding to the primers highlighted in this figure) in the ST71.

3 Publication II : Complete genome for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype Derby associated with the pork sector in France.

3.1 Résumé

Afin de procéder à une analyse fine des différences mono nucléiques entre les lignées identifiées et avant de procéder à l'étude de source-attribution (incluant les souches humaines), j'ai produit 2 génomes circularisés pour *S. Derby*. En effet, bien que ce sérovar figure parmi les 5 plus fréquemment isolés chez l'Homme en Europe, aucun génome de référence n'était encore disponible dans les bases de données en libre accès. J'ai choisi une souche isolée en 2014 d'une carcasse de porc et prélevée dans un abattoir en Bretagne, en France, dont le génome appartenait au ST40. Le génome de cette souche faisait partie de la lignée génomique principale, il était caractérisé par la présence de l'îlot de pathogénicité de *Salmonella* 23 (SPI-23) et des gènes conférant à cette souche la résistance à la streptomycine, aux sulphonamides et à la tétracycline (STR-SSS-TET). J'ai d'ailleurs décrit dans le détail dans cette publication la structure du SPI-23 et de l'îlot génomique portant les gènes de résistance aux antibiotiques cité plus haut et un opéron de résistance au mercure.

Même si ça n'a pas été discuté dans cette publication, la résistance aux métaux lourds est une caractéristique à prendre en considération, car elle confère à certains clones de *Salmonella* la capacité de persister dans l'environnement. Le clone majoritaire du variant monophasique de Typhimurium circulant en Europe présente aussi des gènes lui conférant la résistance à certains métaux lourds (Petrovska et al., 2016).

Un autre génome circularisé issu d'une souche des filières volailles a été produit et valorisé dans la publication III.

3.2 Publication



Complete Genome Sequence of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serotype Derby, Associated with the Pork Sector in France

Yann Sévellec,^{a,d} Sophie A. Granier,^{a,d} Nicolas Randomski,^{a,d} Arnaud Felten,^{a,d} Simon Le Hello,^b Carole Feurer,^c Michel-Yves Mistou,^{a,d} Sabrina Cadel-Six^{a,d}

^aUniversité Paris-Est, Marne-la-Vallée, France

^bInstitut Pasteur, Centre National de Référence des *Salmonella*, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Paris, France

^cFrench Institute for the Pig and Pork Industry (IFIP), Le Rheu, France

^dANSES, Laboratory for Food Safety, Maisons-Alfort, France

ABSTRACT In the European Union, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Derby is the most abundant serotype isolated from pork. Recent studies have shown that this serotype is polyphyletic. However, one main genomic lineage, characterized by sequence type 40 (ST40), the presence of the *Salmonella* pathogenicity island 23, and showing resistance to streptomycin, sulphonamides, and tetracycline (STR-SSS-TET), is pork associated. Here, we describe the complete genome sequence of a strain from this lineage isolated in France.

In the European Union, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Derby (*S.* Derby) was the fifth serovar reported from human cases of salmonellosis in 2016 (0.7%; 325/44,462 confirmed cases) (1). European monitoring data linked this serovar predominantly to pigs and pork meat and, to a lesser extent, turkey and cattle (1). Recent studies based on whole-genome sequencing (WGS) have shown that distinct genomic lineages of *S.* Derby exist, associated with either pork or poultry (2, 3). The main genomic lineage associated with pork is characterized by multilocus sequence typing (MLST) profile 40 (sequence type 40 [ST40]), presence of genes mediating resistance to aminoglycosides, sulfonamides, and tetracyclines (3), and presence of *Salmonella* pathogenicity island 23 (SPI-23), which was previously associated with pork enterocyte invasion (2). We present here the complete genome sequence of *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Derby strain 2014LSAL02547, which represents this genomic lineage.

Strain 2014LSAL02547 was isolated in 2014 from a pig carcass sampled at a slaughterhouse in Brittany, France, and identified as belonging to *Salmonella* serovar Derby, according to the White-Kauffmann-Le Minor scheme (4). Its genome was sequenced using Illumina HiSeq (i.e., paired-end read sequencing, 2 × 150 bp) and PacBio (i.e., long-read sequencing) technologies. Concerning the Illumina HiSeq sequencing, genomic DNA was isolated from overnight culture at 37°C on a tryptone soy yeast extract agar plate using the Wizard genomic DNA purification kit (Promega, France) according to the manufacturer's instructions for Gram-negative organisms. The DNA concentration was measured with a Qubit fluorometer, and a gel of 0.8% agarose was used to assess the quality of the extraction (and an eventual degradation of the DNA). Library preparation and sequencing were performed by the Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (www.icm-institute.org) using NextEra XT technology and a NextSeq 500 sequencer, respectively (Illumina). Concerning the PacBio sequencing, DNA extraction and library preparation were performed by Genoscreen (Lille, France). DNA was extracted using a Gentra Puregene

Received 30 July 2018 Accepted 2 September 2018 Published 27 September 2018

Citation Sévellec Y, Granier SA, Randomski N, Felten A, Le Hello S, Feurer C, Mistou M-Y, Cadel-Six S. 2018. Complete genome sequence of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype Derby, associated with the pork sector in France. Microbiol Resour Announc 7:e01027-18. <https://doi.org/10.1128/MRA.01027-18>.

Editor Iddo Friedberg, Iowa State University

Copyright © 2018 Sévellec et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.

Address correspondence to Sabrina Cadel-Six, sabrina.cadelsix@anses.fr.

TABLE 1 Structure of the SGI-1C and SPI-23 from *S. Derby* strain 2014LSAL02547^a

Genomic island and position	CDS	Protein	Length (bp)
SGI-1C			
1	<i>int</i>	Integrase	1,158
2	<i>s002</i>	Helix-turn-helix domain protein	327
3	<i>rep</i>	Replication protein	954
4	<i>S004</i>	Hypothetical protein	228
5	<i>S005</i>	Hypothetical protein	2,760
6	<i>S006</i>	Hypothetical protein	534
7	<i>S007</i>	Hypothetical protein	612
8	<i>S008</i>	Hypothetical protein	210
9	<i>S009</i>	Hypothetical protein	291
10	<i>S010</i>	Hypothetical protein	255
11	<i>traG</i>	Pilus assembly protein TraG	3,405
12	<i>S012</i>	Conjugative relaxosome accessory transposon protein	1,425
13	<i>S013</i>	Hypothetical protein	858
14	<i>S014</i>	Hypothetical protein	411
15	<i>S015</i>	Hypothetical protein	270
16	<i>S016</i>	Hypothetical protein	213
17	<i>S017</i>	Hypothetical protein	243
18	<i>intI1</i>	Phage integrase	966
19	<i>prokka_3715</i>	Hypothetical protein	645
20	<i>aplIR</i>	Type 2 restriction enzyme AplI	1,092
21	<i>taqIM</i>	Modification methylase TaqI	1,830
22	<i>hin</i>	DNA-invertase hin	588
23	<i>intI1</i>	Integrase Int1	1,014
24	<i>aadA2</i>	Streptomycin 3"-adenylyltransferase	780
25	<i>qacEdelta1</i>	Quaternary ammonium compound efflux small multidrug resistance transporter QacE delta 1	348
26	<i>sul1</i>	Sulfonamide-resistant dihydropteroate synthase	840
27	<i>ypeA</i>	Putative acetyltransferase	501
28	<i>intB</i>	Transposase/IS protein	786
29	<i>istA</i>	Integrase core domain IS26	1,515
30	<i>tniB</i>	Bacterial TniB protein	861
31	<i>tnsB</i>	Transposon Tn7 transposition protein TnsB	1,680
32	<i>cph2</i>	Phytochrome-like protein cph2	708
33	<i>merE</i>	Mercury resistance protein MerE	237
34	<i>mta</i>	Zinc-responsive transcriptional regulator	363
35	<i>merA</i>	Mercuric reductase	1,695
36	<i>merC</i>	Mercuric resistance protein MerC	423
37	<i>merP</i>	Mercuric transport protein periplasmic component precursor	276
38	<i>merT</i>	MerT mercuric transport protein	351
39	<i>merR</i>	Mercuric resistance operon regulatory protein	435
40	<i>prokka_3736</i>	Hypothetical protein (putative relaxase)	243
41	<i>tetR</i>	Tetracycline repressor protein class A from transposon 1721	678
42	<i>tetA</i>	Tetracycline resistance protein, class C	1,200
43	<i>yedA</i>	Putative inner membrane transporter YedA	783
44	<i>tnsB</i>	Transposon Tn7 transposition protein TnsB	708
45	<i>prokka_3741</i>	Hypothetical protein	1,035
SPI-23			
1	<i>intA3</i>	Integrase A	1,275
2	<i>prokka_01810</i>	Hypothetical protein	252
3	<i>prokka_01811</i>	Abortive infection phage resistance protein	1,113
4	<i>prokka_01812</i>	Bacterial shuffle protein	1,488
5	<i>prokka_01813</i>	Major subunit of bundle-forming pilus precursor	558
6	<i>bfpA</i>	Conjugal transfer protein TraD	306
7	<i>traD</i>	Hypothetical protein	1,515
8	<i>prokka_01816</i>	Hypothetical protein	735
9	<i>prokka_01817</i>	Hypothetical protein	576
10	<i>prokka_01818</i>	Hypothetical protein	531
11	<i>prokka_01819</i>	Hypothetical protein	342
12	<i>prokka_01820</i>	Hypothetical protein	471
13	<i>prokka_01821</i>	Hypothetical protein	552
14	<i>prokka_01822</i>	Hypothetical protein	180
15	<i>prokka_01823</i>	Hypothetical protein	240
16	<i>prokka_01824</i>	Hypothetical protein	1,251

(Continued on next page)

TABLE 1 (Continued)

Genomic island and position	CDS	Protein	Length (bp)
17	prokka_01825	Hypothetical protein	282
18	prokka_01826	Hypothetical protein	438
19	prokka_01827	Hypothetical protein	558
20	prokka_01828	Hypothetical protein	183
21	prokka_01829	Hypothetical protein	477
22	prokka_01830	Hypothetical protein	2,730
23	prokka_01831	Hypothetical protein	504
24	prokka_01832	Hypothetical protein	93
25	prokka_01833	Hypothetical protein	870
26	prokka_01834	Hypothetical protein	588
27	prokka_01835	Hypothetical protein	984
28	prokka_01836	RNA pyrophosphohydrolase	444
29	prokka_01837	Hypothetical protein	519
30	prokka_01838	Hypothetical protein	261
31	prokka_01839	Hypothetical protein	735
32	prokka_01840	Hypothetical protein	738
33	prokka_01841	hypothetical protein	480
34	hns_2	DNA binding protein H_NS	405
35	prokka_01843	Hypothetical protein	549
36	prokka_01844	Hypothetical protein	1,272
37	prokka_01845	Hypothetical protein	297
38	prokka_01846	Hypothetical protein	291
39	prokka_01847	Hypothetical protein	219
40	prokka_01848	Hypothetical protein	876
41	prokka_01849	Hypothetical protein	525

^aGenBank accession number [CP029486](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/CP029486). SGI-1C, *Salmonella* genomic island 1 type C (bases 427735 to 472096); SPI-23, *Salmonella* pathogenicity island 23 (bases 2369809 to 2406412).

kit (Qiagen), the DNA concentration was assessed using a Qubit fluorometer, and the DNA extract's quality was checked by agarose gel electrophoresis. Library preparation was made by DNA fragmentation and ligation of single-molecule real-time (SMRT) adaptors. Prior to sequencing, BluePippin size selection (Sage Science) was set at 15 kb in order to achieve identical sequence overlaps. PacBio sequencing was performed on one SMRT cell. Quality of the Illumina and PacBio reads was examined using FastQC v0.11.5 (5). Prinseq v0.20.4 (6) was used to select Illumina long reads of good quality (no undefined bases; Phred, >30; length, >60 kb). SMRT Analysis v2.3.0 software was used to assemble PacBio reads. In SMRT Analysis, the Hierarchical Genome Assembly Process (HGAP) v3.0 (7) was invoked to correct the subreads (length, >1,000 bases; read score, 0.8), and Celera v8.3 (8) was used for assembly (subread length, >500 bases; deep coverage, >25×). SAMtools v1.5 (9) was used to map the Illumina short paired-end reads against the PacBio assembly to correct potential assembly mistakes and to determine the depth of the final assembly. The final deep coverage obtained was 146×. A unique 4.86-Mb contig was obtained, with a GC content of 51.12%. The genome was annotated using Prokka (10). It included 4,549 coding sequences (CDS) and 88 tRNAs.

Genes mediating antimicrobial resistance phenotype STR-SSS-TET (showing resistance to streptomycin, sulfonamides, and tetracycline) are part of the *Salmonella* genomic island 1 (SGI-1) (3), described in Table 1. This SGI-1 element integrated a cluster of mercury resistance genes (*merA*, *merC*, *merP*, *merT*, and *merR*) located in a Tn7 transposon. SPI-23 from the 2014LSAL02547 genome was 36,603 bp long and was located between the *DAD50_12070* and *mftA* genes (Table 1).

Data availability. This whole-genome assembly sequence was deposited in the NCBI database under the accession number [CP029486](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/CP029486). The SRA accession numbers are [SRX3643218](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRX3643218) (Illumina reads) and [SRX4523973](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRX4523973) (PacBio reads).

ACKNOWLEDGMENTS

This study was funded by the French Ministry of Agriculture, Food and Forestry, by the *Salmonella* Network from the French Agency for Food, Environmental and Occu-

pational Health and Safety (ANSES) Laboratory for Food Safety and by INAPORC. Y.S. is the recipient of a doctoral fellowship (DGER-ANSES) cofunded by AgroParisTech and the ANSES.

REFERENCES

1. European Food Safety Authority. 2017. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. EFSA J 15:e05077. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5077>.
2. Hayward MR, AbuOun M, La Ragione RM, Tchorzewska MA, Cooley WA, Everest DJ, Petrovska L, Jansen VA, Woodward MJ. 2014. SPI-23 of *S. Derby*: role in adherence and invasion of porcine tissues. PLoS One 9:e107857. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107857>.
3. Sévellec Y, Vignaud M-L, Granier SA, Lailler R, Feurer C, Le Hello S, Mistou M-Y, Cadel-Six S. 2018. Polyphyletic nature of *Salmonella enterica* serotype Derby and lineage-specific host-association revealed by genome-wide analysis. Front Microbiol 9:891. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00891>.
4. Grimont PAD, Weill FX. 2007. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars, 9th ed. WHO Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris, France.
5. Andrews S. 2010. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>.
6. Schmieder R, Edwards R. 2011. Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. Bioinformatics 27:863–864. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr026>.
7. Chin C-S, Alexander DH, Marks P, Klammer AA, Drake J, Heiner C, Clum A, Copeland A, Huddleston J, Eichler EE, Turner SW, Korlach J. 2013. Nonhybrid, finished microbial genome assemblies from long-read SMRT sequencing data. Nat Methods 10:563–569. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2474>.
8. Myers EW, Sutton GG, Delcher AL, Dew IM, Fasulo DP, Flanigan MJ, Kravitz SA, Mobarry CM, Reinert KH, Remington KA, Anson EL, Bolanos RA, Chou HH, Jordan CM, Halpern AL, Lonardi S, Beasley EM, Brandon RC, Chen L, Dunn PJ, Lai Z, Liang Y, Nusskern DR, Zhan M, Zhang Q, Zheng X, Rubin GM, Adams MD, Venter JC. 2000. A whole-genome assembly of *Drosophila*. Science 287:2196–2204. <https://doi.org/10.1126/science.287.5461.2196>.
9. Li H. 2011. A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data. Bioinformatics 27:2987–2993. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr509>.
10. Seemann T. 2014. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. Bioinformatics 30:2068–2069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153>.

4 Publication III : Phylogenomic analysis of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Derby circulating in Europe, Asia and the United States and associated with the poultry sector.

4.1 Résumé

Salmonella Derby est considéré à l'origine comme un sérovar adapté au porc. Cependant depuis plusieurs années, on observe en Europe une émergence de *S. Derby* chez les troupeaux d'engraissement de dinde (EFSA, 2015; 2016; 2017; EFSA and ECDC, 2018). Les souches reportées dans cette filière correspondent au profil MLST ST71.

J'ai séquencé au cours de ma thèse à l'aide des technologies Illumina et PacBio un génome complet correspondant à la lignée ST71 de *S. Derby* pour produire un génome de référence. J'ai conduit une analyse génomique sur une sélection de souches internationales (dont les génomes ont été extraits d'Enterobase (Alikhan et al., 2018)) et de souches issues de ma collection Enterobase afin, d'évaluer la diversité génétique et la résistance aux antibiotiques des souches de cette lignée et de comparer les souches humaines avec les souches issues de la volaille (dinde, poulet et caille).

Mes résultats montrent que le ST71 est isolé chez la volaille dans au moins 5 pays européens (France, Allemagne, Angleterre, Italie, Pologne) ainsi qu'en Asie et aux Etats Unis. Cette lignée peut être séparée en 3 clades statistiquement distincts correspondant chacun à une zone géographique : Europe, Asie et USA. Plusieurs souches isolées chez la dinde présentaient un profil de multirésistance aux antibiotiques avec notamment une émergence de la résistance aux quinolones chez les souches italiennes issues de la dinde. Des profils de résistances similaires avaient déjà été isolées en Espagne et au Royaume Uni (EFSA and ECDC, 2018). Un SGI-1A a également été mis en évidence chez les souches asiatiques porteuses de gènes de résistance aux antibiotiques. Une étude des phages portée par les différents clades du ST71 révèle des profils variés dépendant de l'origine géographique des souches.

4.2 Publication

Phylogenomic analysis of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Derby circulating in Europe, Asia and the United States and associated with the poultry sector.

Yann Sévellec¹, Arnaud Felten¹, Nicolas Radomski¹, Sophie A. Granier¹, Simon Le Hello², Liljana Petrovska³, Michel-Yves Mistou¹ and Sabrina Cadel-Six^{1*}

1. Université PARIS-EST, ANSES, Laboratory for Food Safety, F-94701 Maisons-Alfort, France.

2. Institut Pasteur, Centre National de Référence des *Salmonella*, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Paris, France.
3. Animal and Plant Health Agency, Addlestone, UK.

Running title: Phylogeny of *S. Derby* from poultry sector and humans.

Corresponding author: Sabrina Cadel-Six, sabrina.cadelsix@anses.fr

ANSES, Laboratory for Food Safety, 14 Rue Pierre et Marie Curie, 94701 Maisons-Alfort

Keywords: *Salmonella* Derby, reference genome ST71, phylogenetic analysis, poultry sector, human infection, antimicrobial resistance, phage analysis.

ABSTRACT

Salmonella Derby seems to be emerging in Europe as a predominant serovar in fattening turkey flocks. This serovar was recorded as predominant in the turkey sector in 2015 in the United Kingdom (UK). In 2017, only two years later, it was recorded in the turkey and broiler sectors in Europe by two other Member States (MSs) (Ireland and Spain). The genomic lineage corresponding to the MLST profile 71 seems to characterise these *S. Derby* isolates. In this study, for the first time, we explored the diversity of 30 *S. Derby* ST71 genomes isolated from poultry and humans in five of Europe's leading producing countries for turkey meat. We also included genomes from the United States and Asia (n=3). The phylogenomic analysis undertaken on the core genome underlined the presence of three clades of which one included all of the European strains. Our results showed that *S. Derby* ST71 notified for the turkey sector is circulating in at least five European MSs: the UK, Germany, Poland, Italy and France. This clone was also isolated in humans in the UK and France, showing its ability to cause gastroenteritis. Another matter of concern is that antimicrobial resistance investigated by genome sequencing showed, in Italian genomes, several mutations involved in resistance to quinolone. Interestingly, phage analysis revealed a variety of profiles that seemed related to geographic origin. These results constitute the baseline for following the routes of transmission within the poultry food trade of this emerging pathogen and identifying appropriate prevention measures of control.

IMPORTANCE. Given that Europe covers 36% of world turkey meat production and that *S. Derby* is known for its ability to infect humans, it is essential to characterize the clones emerging in the European turkey and broiler sectors. The results of this study show that the European *S. Derby* ST71 clones differs from the US and Asian ones by an average of 82 single-nucleotides polymorphism (SNPs) and a standard deviation (SD) of 64 SNPs. Even though the European genomes analysed are closely related with 35 SNPs and a SD of 16 SNPs, certain subtypes can be easily identified through an analysis of the genes involved in antimicrobial resistance (Resfinder) and the phages (PHASTER). The complete closed genome of one European *S. Derby* ST71 clone has been produced, providing a significant contribution to the understanding of this serotype for which no complete genome was available until now.

INTRODUCTION

The European Union (EU) is a major producer of turkey meat worldwide with 80% of production supplied by six Member States (MSs) (Germany, France, Poland, Italy, Spain and the United Kingdom (UK)). Since 2014, the UK has reported a high occurrence of *Salmonella* enterica subsp. enterica serovar Derby (*S. Derby*) in the turkey sector compared to the other MSs (1-3). These *Salmonella* Derby isolates seem to belong to the multilocus sequence typing (MLST) profile 71 (ST71) (4). This profile has been shown to characterise a genomic lineage of *S. Derby* strains isolated in the poultry sector in the UK and France (4, 5). Interestingly, in the EU in 2016, 21.0% of *S. Derby* isolates came from turkeys and 11.3% from broilers, immediately after pigs (64.4%). The most frequent serovar detected in fattening turkey flocks was *S. Derby* (21.8%). Multidrug resistance was reported in 35.7% of the 143 isolates collected by three MSs (the UK, Ireland and Spain). Extremely high levels of resistance (>70%) to sulfamethoxazole and tetracycline were found. Resistance to fluoroquinolone was detected in the UK and Spain. Even though the most common sources of *S. Derby* are pigs and pork meat (6-8), the emergence of a clone in the turkey and broiler sectors is to be expected. This emergence is especially a matter of concern since *S. Derby* ranks among the top five most commonly reported serovars in human cases in the EU and poultry meat is the main source of human contamination (1-3). According to data recorded by the World Health Organization between 2007 and 2015, the burden of pathogens commonly transmitted through the food chain increased worldwide and this global rise was mainly associated with the increased consumption of products of animal origin (9). Among these, white meat (pork and broiler meat) played a major role due to increased consumption in line with population growth and the economic crisis (10). *Salmonella* enterica subsp. enterica is one of the most common and widespread foodborne pathogens. The most frequent food vehicles, reported in Europe for several years and for 2016, were white meat and eggs (3). Serovars Typhimurium and Derby are strongly associated with white meat (2). In Europe in 2015, they ranked first and fifth, accounting for 23.4% and 5.3% of the 14,596 serotyped *Salmonella* isolates from food and animals, respectively. Furthermore, Typhimurium and Derby ranked among the seven serovars most frequently isolated from humans over the last decade in Europe, making them a major public health concern. However, while *S. Typhimurium* in the poultry sector is subject to European regulations, these do not apply for *S. Derby* isolates. Consequently, *S. Derby* clones carrying multiple pathogenicity and antimicrobial resistance traits can circulate within and across European MSs, escaping all measures of control.

This study aimed to explore the genomic diversity of *S. Derby* strains isolated from poultry and humans at the European and international levels. Using phylogenomic and statistical analyses based on single-nucleotide polymorphisms (SNPs), we analysed 30 genomes of *S. Derby* ST71 isolated primarily from the poultry sector (n=19) and from humans (n=11) in various European MSs as well as the United States and Asia. To identify potential genome signatures, we detected and characterised phages within the *Salmonella* Derby genome. Since *S. Derby* is

known to have multidrug-resistant strains (2, 7, 11-14), the identification of acquired antimicrobial resistance genes was also investigated.

RESULTS

The analysed *S. Derby* ST71 genomes were genetically closely related, with an average of 82 SNPs and a standard deviation (SD) of 64 SNPs even though the isolates came from different continents and origins (i.e. humans, animals and food). Nevertheless, the phylogenomic reconstruction showed that three different clades could be identified within this lineage. The pairwise association for each clade is given in Table S1. A Kolmogorov-Smirnov test confirmed statistical differences between the pairwise SNP differences of these three clades. We obtained p-values < 0.01 between the European and American strains as well as between the European and Asian strains. The UK *S. Derby* genomes were genetically related to the strains isolated in the other MSs with an average of 35 SNPs and a standard deviation (SD) of 15 SNPs (Fig. 1).

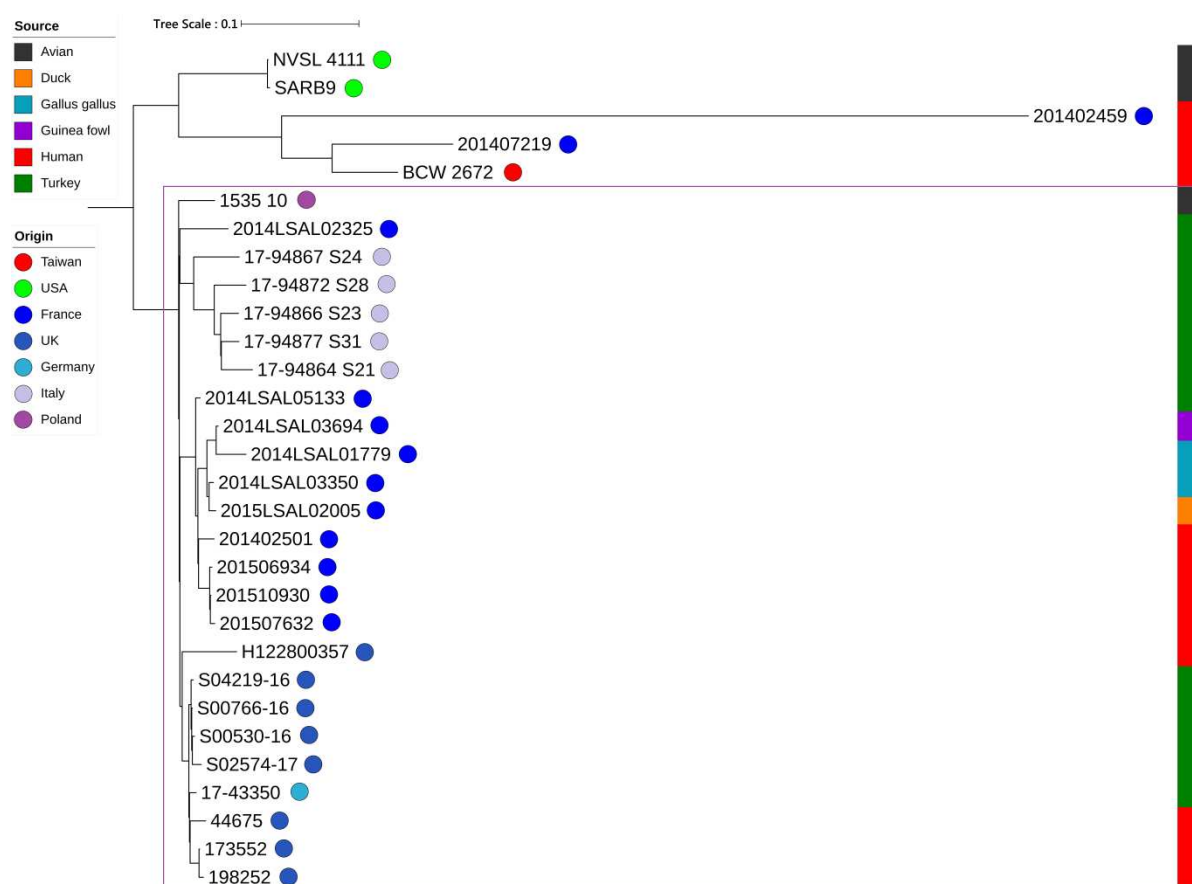


Figure 1. Phylogenetic reconstruction based on SNPs including strains of the ST71 profile and their geographic distributions and origins.

The maximum likelihood criterion and the GTR-gamma model were used. The scale bar indicates the number of substitutions per site. Three clades were identified; the European clade is highlighted by a violet box.

The complete and partial antimicrobial resistance genes identified in the 30 *S. Derby* genomes studied are listed in Table S2. No resistance gene was detected in 60% (18/30) of the 30 studied genomes. Thirty-three percent (10/30) could be classified as multidrug resistant as they harboured more than three different acquired resistance mechanisms, either by mutations or gene acquisitions. An S83Y *gyrA* mutation, known to mediate resistance to fluoroquinolones, was detected in four poultry-related strains from Italy. Interestingly, the two genomes from the USA displayed no known antimicrobial resistance mechanisms. Conversely, the Asian strain was resistant to aminoglycosides, beta-lactams, sulphonamides, tetracyclines and phenicols and the exact same mechanisms were identified in a French human isolate (Fig. 2).

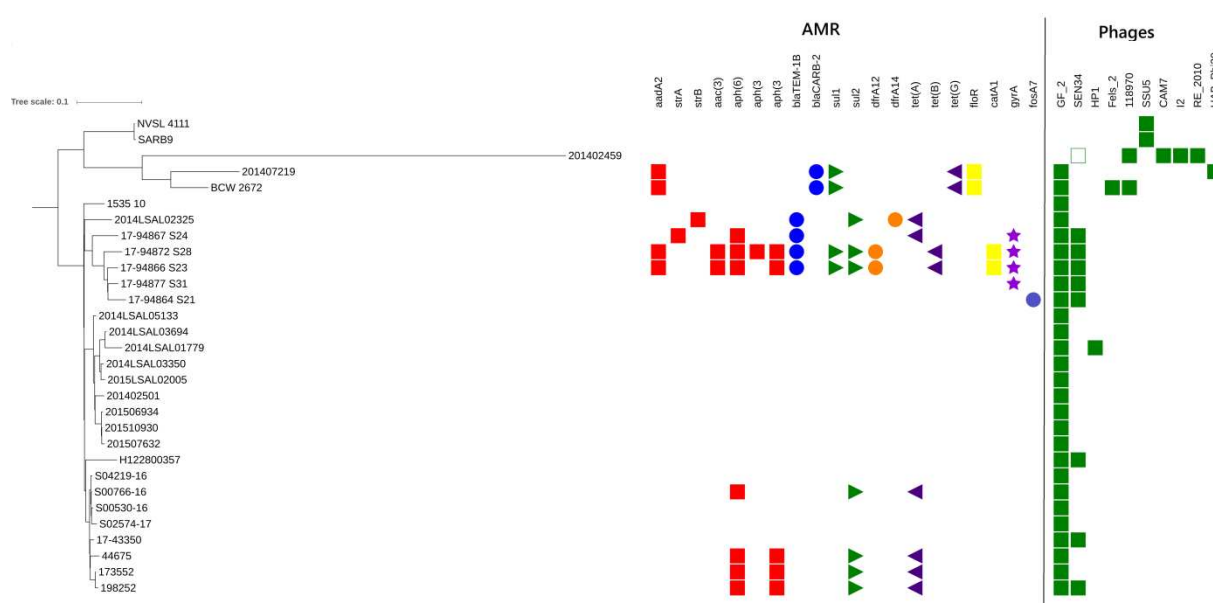


Figure 2. AMR and phage profiles according to the phylogeny.

The red cubes correspond to the resistance gene to aminoglycosides antibiotic, the blue circle to beta-lactam, the green triangle to sulfonamides, the orange circle to trimethoprim, the purple triangle to tetracycline, the yellow cube to phenicols, the purple stars correspond to a *gyrA* mutation conferring resistance to quinolones and the grey circle to resistance to fosfomycines.

PHASTER software was used to identify intact prophages and their integrase genes within the food-associated and clinical *Salmonella* isolates. A total of 10 intact prophages and 10 different integrase genes (PHASTER was unable to identify any integrase genes in some prophages and identified several in others) were identified and are listed in Table S3 and Fig. 2.

DISCUSSION

The three ST71 Derby clades obtained in this study were correlated with the geographic distribution of the strains (Fig. 1). The first clade contained two strains from the USA, the second had one strain from Asia and two from French patients, one of whom reported travel to Thailand, and the third included all strains from Europe (France, Germany, Poland, Italy and

the UK). The results of this study showed that the ST71 *S. Derby* isolated from turkeys in the UK were genetically related to the strains isolated in the other MSs. Approximately 36% of the world's turkey meat production originates in Europe, with only five countries producing 80% of this: Germany, France, Poland, the UK, Italy and Spain (15). The data on *S. Derby* in turkeys reported by EFSA in 2014 and 2015 for the UK (1, 2) may have been due to the particular attention paid by this country to the incidence of *S. Derby* related to white meat and the tendency of this serovar to become persistent in poultry houses (16). The UK has indeed been the second leading MS for the consumption of white meat after Spain since 2000 (15, 17). Moreover, more than 22 million turkeys are produced for meat each year in the UK and this large-scale activity is dominated by a small number of specialist producers (18). More than half of the farms (>50%) in the UK have a capacity of 50,000 animals (more than 2,400 m²), compared with only 6.7% of those in France (ITAVI, 2013). In France, the incidence of *S. Derby* in the turkey animal sector is higher than in *Gallus gallus* in keeping with the European trend. This supports the hypothesis that the “Derby turkey clone” is not confined to the UK but is also circulating within other MSs, suggesting the possibility of an earlier common source. Data from the Anses *Salmonella* Network (jointly with the National Reference Laboratory) show that this serovar is the most frequently isolated from pigs and turkeys in the animal sector in France. *S. Derby* ST71 has been shown to be responsible for human infections in France. Between 2014 and 2015, Institut Pasteur (National Reference Centre for *Salmonella* in France) reported six patients infected with *S. Derby* ST71 representing 2% of the infections due to *S. Derby*. Of these six patients, two were likely to have contracted the infection while travelling abroad (strains 201402459 and 201407219 in Fig. 1) and the remaining four in France. The strains isolated from these four patients were clustered with the French food strains 2015LSAL02005, 2014LSAL03350, 2014LSAL03694, 2014LSAL01779 (13 SNPs with an SD of 8) and 2014LSAL05133 (9 SNPs with an SD of 1). No resistance gene was detected in the French strains responsible for the four French human infections or the five related food strains in the cluster. Nevertheless, the French strain 2014LSAL02325 isolated from turkey meat presented genes involved in resistance to aminoglycosides, sulphonamides and tetracyclines. These genes were also carried by Italian and English strains isolated from patients and turkeys. The Italian strains isolated from turkeys revealed mutations involved in resistance to fluoroquinolones. Most human *Salmonella* infections are self-limiting gastrointestinal illnesses and do not require any antimicrobial treatment. However, in rare cases, infection may spread and lead to severe enteric disease or invasive infection. In such life-threatening cases, rapid and effective antimicrobial treatment is of utmost importance to prevent poor outcomes in patients. Fluoroquinolones are widely recommended to treat severe *Salmonella* infections in adults (21). The emergence of a fluoroquinolone-resistant lineage of the *S. Derby* ST71 European clade in turkey flocks observed in Italy is worrisome. It should be noted that 24% of the *S. Derby* isolated from fattening turkey flocks in Europe in 2016 were resistant to fluoroquinolones. They were identified in Spain and the UK (21).

Interestingly, in the clade associated with Asia, the French human strain 201407219 isolated in 2014 and the strain BCW_2672 isolated from patients in Taiwan in 2000 shared the same

genes conferring resistance to ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfamethoxazole and tetracycline. These two genomes showed the presence of a *Salmonella* genomic island (SGI-1) as already described in *S. Derby* by Beutlich et al. (22). Strain 201407219 displayed a partial sequence of the *sul1* gene. Remarkably, those two genomic islands were different from the SGI-1C recently identified in two ST40 French strains isolated from pork meat (14).

Additionally, PHASTER identified the presence of a wide variety of prophages in the food-associated isolates compared to the clinical isolates. We were able to identify three profiles within the EU clade, the first characterised by the phage GF-2 (Edward_GF_2_NC_026611) (France, Poland and UK genomes), the second by the phages GF-2 and SEN34 (Salmon_SEN34_NC_028699) (Germany, Italy and UK genomes) and the third by the phages GF-2 and HP1 (Haemop_HP1_NC_001697) (France genomes). Interestingly, with regards to the turkey isolates, we were able to identify only two of the three profiles described above: the profile GF-2 characterising the French and English isolates and the profile GF-2 + SEN34 characterising the German and Italian isolates. The sequence of the GF-2 phage was present in 90% (27/30) of the genomes analysed and in all of the EU genomes. Interestingly, the GF-2 phage, a myovirus lytic bacteriophage, was described for the first time by Yasuike et al. in 2015 (23). It was isolated from a cultured Japanese flounder that succumbed to *Edwardsiella tarda*, a gram-negative Enterobacteriaceae that is the most serious pathogen in both marine and freshwater fish farms worldwide. Since viruses are indeed the most abundant biological entity in aquatic ecosystems (24-27), it is possible that *Salmonella* Derby may be a natural host of this bacteriophage. Further infectivity tests are needed to confirm this hypothesis.

While the phylogenomic analysis performed on the core genome SNP was able to combine 25 genomes into one ST71 European clade, differences between those genomes were highlighted by the analysis of targeted elements from accessory genomes. Antimicrobial resistance genes and the presence of phages allowed us to distinguish different genomic signatures revealing a diversity of profiles that seemed related to geographic or animal origins. This study demonstrated the presence of an *S. Derby* clone ST71 circulating in Europe, not confined solely to the UK, apparently well adapted to turkey flocks and responsible for human salmonellosis. SNP analysis on the core genome is an undeniably efficient phylogenomic tool for clustering epidemic clones or identifying emerging successful clones. This study also highlighted the power of user-friendly web-based applications such as Resfinder and PHASTER, not requiring any highly qualified bioinformatics expertise, to readily rule out potential sources of contamination during foodborne outbreak investigations. Lastly, SNP analysis of the core genome enabled three *S. Derby* ST71 clades to be identified, one for EU, one for Asian and one for US strains. Analysis of the targeted elements from accessory genomes enabled the identification of potentially useful genomic signatures for monitoring transmission routes for foodborne microbiological hazards along the food chain.

MATERIAL AND METHODS

Whole genome sequencing. To investigate genetic diversity within the *S. Derby* lineage isolated in poultry, the strain 2014LSAL01779 isolated in 2014 from *Gallus gallus* carcasses in Brittany (France) presenting the MLST profile ST71 was sequenced with Illumina Hiseq (i.e. paired-end read sequencing) and PacBio® (i.e. long read sequencing) technologies and used as reference genome for the downstream analyses. Illumina Hiseq sequencing was performed by the Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (ICM) (Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris) (www.icm-institute.org) using NextEra XT technology and PacBio® sequencing was performed by Genoscreen (Lille). The quality of the Illumina and PacBio® reads was examined using fastQC V0.11.5 (28). Prinseq V0.20.4 (29) was used to select Illumina long reads of good quality (no undefined bases, phred > 30, length > 60). The PacBio® reads were assembled using SMRT analysis v2.3.0. In SMRT analysis, HGAP V3.0 (30) was invoked to correct the sub-reads (length > 1000 bases, read-Score 0.8) and Celera V8.3 (31) was used for the assembling (sub-reads length > 500 bases, deep coverage > 25x). Samtools V1.5 (32) was used to map the Illumina short paired-end reads against the PacBio assembly to correct potential assembly mistakes and to determine the depth of the final assembly. The final deep coverage obtained was 140x. A unique contig of 4.86Mb was obtained with GC-content of 51.12%. The genome was annotated using Prokka (33); it contained 4499 CDS and 90 tRNA. The reference genome as well as all the other genomes were paired-end sequenced as described above (i.e. Hiseq sequencing) and processed using the iVARCall2 workflow (34) excluding duplications and applying a second alignment around small insertions/deletions.

Accession number. The complete genome sequence of *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Derby strain 2014LSAL01779 included in this work has been submitted to NCBI under accession no. CP026609.

Worldwide *S. Derby* genome selection. Information about the analysed *S. Derby* genomes has been listed in Table S1. Apart from 16 genomes taken from the ANSES (14), Institut Pasteur and HAPA collections, the other full genomes with conventional taxonomic information were collected across public Enterobase databases (http://Enterobase.warwick.ac.uk/species/senterica/search_strains).

Phylogenetic analysis. The phylogenetic analysis was performed with the CSIPhylogeny tool provided by the Center for Genomic Epidemiology (CGE) (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/CSIPhylogeny/>) (35) using the maximum likelihood criterion and GTR-gamma model. The phylogenetic tree was visualised using iTOL (36).

Statistical analyses. The non-normality of the data (i.e. pairwise SNP differences) was checked using the Shapiro test (37) with R from the pairwise matrix generated by the iVARCall2 workflow described above. Equality of variances for pairwise SNP differences was rejected with the Fisher test (38). Distributions of pairwise SNP differences were compared with a Kolmogorov-Smirnov test (KS-test) (39).

Identification of acquired resistance genes. The whole panel of genomes was analysed using the ResFinder 2.1 application (40) on the CGE server. The threshold for reporting a match between a gene in the ResFinder database and the input *S. Derby* genome was set at 90% identity over at least 3/5 of the length of the resistance gene. For strains 201407219 and BCW_2672, SGI-1 coding sequences (NCBI: AF261825.2) were extracted and blasted against the dataset with the BioNumerics BLAST tool. The complete genomic sequence of SGI-1 was investigated using the BioNumerics alignment and sequence visualisation tools.

Detection and characterisation of phages and prophages. Each of the 30 assembled genomes was analysed by PHASTER to identify the presence of prophages and their integrase genes (41). Only prophages identified as “intact” or “questionable” were considered. The identity of all intact prophage sequences detected by PHASTER was confirmed by BLAST (42, 43).

Authors’ contributions

SCS piloted and administered the project. SCS and YS designed and developed the experiments. YS, SG and MLV carried out the experiments and the analyses. SCS, MYM, RL and CF provided acquisitions. YS, SCS, SG, MYM drafted the manuscript. SLH and CF participated in the discussion and reviewed the report.

Acknowledgments

This study was supported by the French Ministry of Agriculture, Food and Forestry and the European Union Horizon 2020 research and innovation program under grant agreement 643476 to the COMPARE project (<http://www.compare-europe.eu>). We are indebted to the *Salmonella* Network that provided the French food strains analyzed in the study. Yann Sévellec is the recipient of a doctoral fellowship (DGER-ANSES) co-financed by AgroParisTech and the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES).

REFERENCES

1. EFSA. 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. EFSA Journal 13:4329-n/a, 10.2903/j.efsa.2015.4329.
2. EFSA. 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA Journal 14:e04634-n/a, 10.2903/j.efsa.2016.4634.
3. EFSA. 2017. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. EFSA Journal 15:e05077, doi:10.2903/j.efsa.2017.5077.

4. Hayward MR, Petrovska L, Jansen VA, Woodward MJ. 2016. Population structure and associated phenotypes of *Salmonella* enterica serovars Derby and Mbandaka overlap with host range. BMC Microbiol 16:15, 10.1186/s12866-016-0628-4.
5. Hayward MR, AbuOun M, La Ragione RM, Tchorzewska MA, Cooley WA, Everest DJ, Petrovska L, Jansen VA, Woodward MJ. 2014. SPI-23 of *S. Derby*: role in adherence and invasion of porcine tissues. PLoS One 9:e107857, 10.1371/journal.pone.0107857.
6. EFSA. 2009. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in holdings with breeding pigs in the EU, 2008 - Part A: *Salmonella* prevalence estimates. EFSA Journal 7:1377-n/a, 10.2903/j.efsa.2009.1377.
7. Valdezate S, Vidal A, Herrera-Leon S, Pozo J, Rubio P, Usera MA, Carvajal A, Echeita MA. 2005. *Salmonella* Derby clonal spread from pork. Emerg Infect Dis 11:694-8, 10.3201/eid1105.041042.
8. Simon S, Trost E, Bender J, Fuchs S, Malorny B, Rabsch W, Prager R, Tietze E, Flieger A. 2017. Evaluation of WGS based approaches for investigating a food-borne outbreak caused by *Salmonella* enterica serovar Derby in Germany. Food Microbiol doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.08.017> <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.08.017>.
9. WHO. 2015. World Health Day 2015: Food safety, on WHO. <http://www.who.int/campaigns/world-health-day/2015/event/en/>. Accessed
10. IPCC. 2013. Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change doi:10.1017/CBO9781107415324. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, ISBN 978-1-107-66182-0.
11. Hauser E, Hebner F, Tietze E, Helmuth R, Junker E, Prager R, Schroeter A, Rabsch W, Fruth A, Malorny B. 2011. Diversity of *Salmonella* enterica serovar Derby isolated from pig, pork and humans in Germany. Int J Food Microbiol 151:141-9, 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.020.
12. Keelara S, Scott HM, Morrow WM, Gebreyes WA, Correa M, Nayak R, Stefanova R, Thakur S. 2013. Longitudinal study of distributions of similar antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars in pigs and their environment in two distinct swine production systems. Appl Environ Microbiol 79:5167-78, 10.1128/AEM.01419-13.
13. Kerouanton A, Rose V, Weill FX, Granier SA, Denis M. 2013. Genetic diversity and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* enterica serotype derby isolated from pigs, pork, and humans in France. Foodborne Pathog Dis 10:977-84, 10.1089/fpd.2013.1537.
14. Sévellec Y, Vignaud M-L, Granier SA, Lailier R, Feurer C, Le Hello S, Mistou M-Y, Cadel-Six S. 2018. Polyphyletic Nature of *Salmonella* enterica Serotype Derby and Lineage-Specific

Host-Association Revealed by Genome-Wide Analysis. *Front Microbiol* 9 10.3389/fmicb.2018.00891.

15. ITAVI. 2013. Structures et organisation des filières volailles de chair en Europe.
16. Mueller-Doblies D, Carrique-Mas JJ, Davies RH. 2014. A study of the dynamics of *Salmonella* infection in turkey breeding, rearing and finishing houses with special reference to elimination, persistence and introduction of *Salmonella*. *Avian Pathol* 43:146-154, 10.1080/03079457.2014.892569.
17. Malpel GP, Marigeaud M, Marty S. 2014. La filière volaille de chair.,
18. Martin J. 2009. The Commercialisation of British Turkey Production. *Rural History* 20:209-228, 10.1017/S0956793309990057.
19. DGAI. 2014. bilan 2014 des plans de surveillance et de contrôle. Surveillance sanitaire des denrées animales et végétales en France:69-74,
20. DGAI. 2015. bilan 2015 des plans de surveillance et de contrôle. Surveillance sanitaire des denrées animales et végétales en France:112-125,
21. EFSA, ECDC. 2018. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016. *EFSA Journal* 16:5182, 10.2903/j.efsa.2018.5182.
22. Beutlich J, Jahn S, Malorny B, Hauser E, Huhn S, Schroeter A, Rodicio MR, Appel B, Threlfall J, Mevius D, Helmuth R, Guerra B. 2011. Antimicrobial resistance and virulence determinants in European *Salmonella* genomic island 1-positive *Salmonella enterica* isolates from different origins. *Appl Environ Microbiol* 77:5655-64, 10.1128/aem.00425-11.
23. Yasuike M, Nishiki I, Iwasaki Y, Nakamura Y, Fujiwara A, Sugaya E, Kawato Y, Nagai S, Kobayashi T, Ototake M, Nakai T. 2015. Full-genome sequence of a novel myovirus, GF-2, infecting *Edwardsiella tarda*: comparison with other *Edwardsiella* myoviral genomes. *Arch Virol* 160:2129-33, 10.1007/s00705-015-2472-5.
24. Suttle C. 1994. The Significance of Viruses to Mortality in Aquatic Microbial Communities, vol 28,
25. Wommack KE, Colwell RR. 2000. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiol Mol Biol Rev* 64:69-114,
26. Bettarel Y, Amblard C, Sime-Ngando T, Carrias JF, Sargos D, Garabetian F, Lavandier P. 2003. Viral lysis, flagellate grazing potential, and bacterial production in Lake Pavin. *Microb Ecol* 45:119-27, 10.1007/s00248-002-1016-1.

27. Weinbauer MG. 2004. Ecology of prokaryotic viruses. FEMS Microbiol Rev 28:127-81, 10.1016/j.femsre.2003.08.001.
28. Andrews S. 2014. FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data,
29. Schmieder R, Edwards R. 2011. Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. Bioinformatics 27:863-4, 10.1093/bioinformatics/btr026.
30. Chin CS, Alexander DH, Marks P, Klammer AA, Drake J, Heiner C, Clum A, Copeland A, Huddleston J, Eichler EE, Turner SW, Korlach J. 2013. Nonhybrid, finished microbial genome assemblies from long-read SMRT sequencing data. Nat Methods 10:563-9, 10.1038/nmeth.2474.
31. Myers EW, Sutton GG, Delcher AL, Dew IM, Fasulo DP, Flanigan MJ, Kravitz SA, Mobarry CM, Reinert KH, Remington KA, Anson EL, Bolanos RA, Chou HH, Jordan CM, Halpern AL, Lonardi S, Beasley EM, Brandon RC, Chen L, Dunn PJ, Lai Z, Liang Y, Nusskern DR, Zhan M, Zhang Q, Zheng X, Rubin GM, Adams MD, Venter JC. 2000. A whole-genome assembly of *Drosophila*. Science 287:2196-204,
32. Li H. 2011. A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data. Bioinformatics 27:2987-93, 10.1093/bioinformatics/btr509.
33. Seemann T. 2014. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. Bioinformatics 30:2068-9, 10.1093/bioinformatics/btu153.
34. Felten A, Vila Nova M, Durimel K, Guillier L, Mistou M-Y, Radomski N. 2017. First gene-ontology enrichment analysis based on bacterial coregenome variants: insights into adaptations of *Salmonella* serovars to mammalian- and avian-hosts. BMC Microbiology 17:222, 10.1186/s12866-017-1132-1.
35. Kaas RS, Leekitcharoenphon P, Aarestrup FM, Lund O. 2014. Solving the Problem of Comparing Whole Bacterial Genomes across Different Sequencing Platforms. PLOS ONE 9:e104984, 10.1371/journal.pone.0104984.
36. Letunic I, Bork P. 2016. Interactive tree of life (iTOL) v3: an online tool for the display and annotation of phylogenetic and other trees. Nucleic Acids Res 44:W242-W245, 10.1093/nar/gkw290.
37. Royston P. 1995. Remark AS R94: A Remark on Algorithm AS 181: The W-test for Normality. Journal of the Royal Statistical Society Series C (Applied Statistics) 44:547-551, 10.2307/2986146.
38. Markowski CA, Markowski EP. 1990. Conditions for the Effectiveness of a Preliminary Test of Variance. The American Statistician 44:322-326, 10.2307/2684360.

39. Huang X, Huang Q, Dun Z, Huang W, Wu S, Liang J, Deng X, Zhang Y. 2016. Nontyphoidal *Salmonella* Infection, Guangdong Province, China, 2012. *Emerging Infectious Diseases* 22:726-729, 10.3201/eid2204.151372.
40. Zankari E, Hasman H, Cosentino S, Vestergaard M, Rasmussen S, Lund O, Aarestrup FM, Larsen MV. 2012. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *J Antimicrob Chemother* 67:2640-2644, 10.1093/jac/dks261.
41. Arndt D, Grant JR, Marcu A, Sajed T, Pon A, Liang Y, Wishart DS. 2016. PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool. *Nucleic Acids Res* 44:W16-21, 10.1093/nar/gkw387.
42. Camacho C, Coulouris G, Avagyan V, Ma N, Papadopoulos J, Bealer K, Madden TL. 2009. BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics* 10:421, 10.1186/1471-2105-10-421.
43. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. 1990. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215:403-10, 10.1016/s0022-2836(05)80360-2.

4.2.1 Supplementary material

Supplementary Table 1. *S. Derby* genomes information analyzed in this study.

Name	ST profiles	Database	Source Niche	Source Type	Source Details	Collection Year	Continent	Country	Sample ID
17-43350_S13	ST71	Enterobase	Food	Avian	Meleagris; Food, turkey meat	2015	Europe	Germany	SAMEA104379658
17-94867_S24	ST71	Enterobase	Poultry	Avian	Meleagris; Animal, animal	2011	Europe	Italy	SAMEA104379733
17-94864_S21	ST71	Enterobase	Poultry	Avian	Meleagris; Animal, swab	2011	Europe	Italy	SAMEA104379730
17-94877_S31	ST71	Enterobase	Wild animal	Avian	Meleagris; Animal, feces	2013	Europe	Italy	SAMEA104379740
17-94872_S28	ST71	Enterobase	Wild animal	Avian	Meleagris; Animal, feces	2012	Europe	Italy	SAMEA104379737
17-94866_S23	ST71	Enterobase	Wild animal	Avian	Meleagris; Animal, feces	2011	Europe	Italy	SAMEA104379732
1535_10	ST71	Enterobase	Poultry	Avian	NS	2010	Europe	Poland	SAMEA104437530
BCW_2672	ST71	Enterobase	Human	Human	Human; <i>Homo sapiens</i>	2000	Asia	Taiwan	SAMN02368552
44675	ST71	Enterobase	Human	Human	Human; <i>Homo sapiens</i>	2014	Europe	UK	SAMN03465613
H122800357	ST71	Enterobase	Human	Human	Human; <i>Homo sapiens</i>	2012	Europe	UK	SAMN03168996
173552	ST71	Enterobase	Human	Human	human; <i>Homo sapiens</i>	2015	Europe	UK	SAMN06680388
198252	ST71	Enterobase	Human	Human	human; <i>Homo sapiens</i>	2015	Europe	UK	SAMN06680393
SARB9 (Fidelma Boyd)	ST71	Enterobase	NS	Avian	Bird	1986	North America	United States	NA
NVSL 4111	ST71	Enterobase	Wild animal	Avian	NS	1986	North America	United States	SAMN02367710
2014LSAL02325	ST71	ANSES	Poultry	Avian	Meat from turkey - carcass	2014	Europe	France	SAMN07734901

Name	ST profiles	Database	Source Niche	Source Type	Source Details	Collection Year	Continent	Country	Sample ID
2014LSAL05133	ST71	ANSES	Poultry	Avian	Meat from turkey - carcass	2014	Europe	France	SAMN07734953
2015LSAL02005	ST71	ANSES	Poultry	Avian	Meat from duck - fresh	2015	Europe	France	SAMN07734993
2014LSAL03694	ST71	ANSES	Poultry	Avian	Meat from guinea fowl	2014	Europe	France	SAMN07734940
2014LSAL03350	ST71	ANSES	Poultry	Avian	Meat from broilers - <i>Gallus gallus</i> - carcass	2014	Europe	France	SAMN07734914
2014LSAL01779	ST71	ANSES	Poultry	Avian	Meat from broilers - <i>Gallus gallus</i> - carcass	2014	Europe	France	SAMN08470240
201402459	ST71	Institut Pasteur	Human	Human	Human; <i>Homo sapiens</i>	2014	Europe	France	SAMN09080915
201407219	ST71	Institut Pasteur	Human	Human	Human; <i>Homo sapiens</i>	2014	Europe	France	SAMN09080917
S00530-16	ST71	APHA	Poultry	Avian	<i>Meleagris</i>	2016	Europe	UK	ERR2230775
S00766-16	ST71	APHA	Poultry	Avian	<i>Meleagris</i>	2016	Europe	UK	ERR2230777
S02574-17	ST71	APHA	Poultry	Avian	<i>Meleagris</i>	2017	Europe	UK	ERR2230782
S04219-16	ST71	APHA	Poultry	Avian	<i>Meleagris</i>	2016	Europe	UK	ERR2230787
201402501	ST71	Institut Pasteur	Human	Human	Human; <i>Homo sapiens</i>	2014	Europe	France	SAMN09080916
201506934	ST71	Institut Pasteur	Human	Human	Human; <i>Homo sapiens</i>	2015	Europe	France	SAMN09080917
201507632	ST71	Institut Pasteur	Human	Human	Human; <i>Homo sapiens</i>	2015	Europe	France	SAMN09080919
201510930	ST71	Institut Pasteur	Human	Human	Human; <i>Homo sapiens</i>	2015	Europe	France	SAMN09080920

NS = not specified; NA = not available.

Supplementary table 2. *S. Derby* antimicrobial resistance genes

Strain	Sector	Source Details	Localization	Aminoglycosides	Beta-lactams	Sulphonamides	Tetracyclines	Trimetoprim	Phenicol	Quinolones	Fosfomycines
17-43350_S13	Poultry	Meleagris; Food, turkey meat	Germany								
17-94864_S21	Poultry	Meleagris; Animal, swab	Italy								fosA7
17-94866_S23	Poultry	Meleagris; Animal, feces	Italy	aac(3)-IId; aadA2 ; aph(6)-Id; aph(3'')-Ib	blaTEM-1B	sul1; sul2	tet(B)	dfrA12	catA 1	gyrA p.S83 Y	
17-94867_S24	Poultry	Meleagris; Animal, Animal	Italy	strA; aph(6)-Id	blaTEM-1B		tet(A)			gyrA p.S83 Y	
17-94872_S28	Poultry	Meleagris; Animal, feces	Italy	aac(3)-IId; aadA2 ; aph(6)-Id; aph(3')-Ia; aph(3'')-Ib	blaTEM-1B	sul1; sul2	tet(B)	dfrA12	catA 1	gyrA p.S83 Y	
17-94877_S31	Poultry	Meleagris; Animal, feces	Italy							gyrA p.S83 Y	
H122800357	Human	Human; Homo sapiens	UK								

198252	Human	Human; Homo sapiens	UK	aph(3'')-Ib; aph(6)-Id;		sul2	tet(A)				
Strain	Sector	Source Details	Localization	Aminoglycosides	Beta-lactams	Sulphonamides	Tetracyclines	Trimetoprim	Phenicol	Quinolones	Fosfomycines
44675	Human	Human; Homo sapiens	UK	aph(3'')-Ib; aph(6)-Id;		sul2	tet(A)				
173552	Human	Human; Homo sapiens	UK	aph(3'')-Ib; aph(6)-Id;		sul2	tet(A)				
S00530-16	Poultry	Meleagris	UK								
S00766-16	Poultry	Meleagris	UK	aph(6)-Id		sul2	tet(A)				
S02574-17	Poultry	Meleagris	UK								
S04219-16	Poultry	Meleagris	UK								
1535_10	Avian	NS	Poland								
2014LSAL01779	Poultry	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	France								
2014LSAL02325	Poultry	Meat from turkey - carcass	France	ΔstrA + strB	blaTEM-1B	sul2	tet (A)	drfrA1 4			
2014LSAL03350	Poultry	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	France								

2014LSAL03694	Poultry	Meat from guinea fowl	France								
Strain	Sector	Source Details	Localization	Aminoglycosides	Beta-lactams	Sulphonamides	Tetracyclines	Trimetoprim	Phenicol	Quinolones	Fosfomycines
2014LSAL05133	Poultry	Meat from turkey - carcass	France								
2015LSAL02005	Poultry	Meat from duck - fresh	France								
201402501	Human	Human	France								
201506934	Human	Human	France								
201507632	Human	Human	France								
201510930	Human	Human	France								
201407219	Human	Human	France	aadA2	blaCARB-2	sul1	tet(G)		floR		
201402459	Human	Human	France								
BCW_2672	Human	Human; Homo sapiens	Taiwan	aadA2	blaCARB-2	sul1	tet(G)		floR		
NVSL_4111	Avian	NS	USA								
SARB9 (Fidelma Boyd)	Avian	Bird	USA								

NS = not specified. The European clade is underlined by a violet box

Supplementary table 3. *S. Derby's* phages.

Strain	Sector	Source Details	Localization	Profil name	Edward_GF_2_NC_026611	Haemop_HP1_NC_001697	Salmon_SEN34_NC_028699	Salmon_Fels_2_NC_010463	Salmon_118970_sal3_NC_031940	Salmon_SSU5_NC_018843	Synech_S_CAM7_NC_031927	Entero_I2_2_NC_001332	Salmon_RE_2010_NC_019488	Entero_UAB_Phi20_NC_031019
17-43350_S13	Poultry	Meleagris; Food, turkey meat	Germany	GF-2 and SEN34	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
17-94864_S21	Poultry	Meleagris; Animal, swab	Italy	GF-2 and SEN34	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
17-94866_S23	Poultry	Meleagris; Animal, feces	Italy	GF-2 and SEN34	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
17-94867_S24	Poultry	Meleagris; Animal, Animal	Italy	GF-2 and SEN34	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
17-94872_S28	Poultry	Meleagris; Animal, feces	Italy	GF-2 and SEN34	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
17-94877_S31	Poultry	Meleagris; Animal, feces	Italy	GF-2 and SEN34	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
H122800357	Human	Human; Homo sapiens	UK	GF-2 and SEN34	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
198252	Human	Human; Homo sapiens	UK	GF-2 and SEN34	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
44675	Human	Human; Homo sapiens	UK	GF-2 and SEN34	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0

173552	Huma n	Human; Homo sapiens	UK	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S00530-16	Poultr y	Meleagris	UK	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S00766-16	Poultr y	Meleagris	UK	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S02574-17	Poultr y	Meleagris	UK	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S04219-16	Poultr y	Meleagris	UK	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1535_10	Avian	NS	Poland	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Strain	Sector	Source Details	Localization	Profil name	Edward_GF_2_NC_026611	Haemop_HP1_NC_001697	Salmon_SEN34_NC_028699	Salmon_Fels_2_NC_010463	Salmon_118970_sal3_NC_031940	Salmon_SSU5_NC_018843	Synech_S_CAM7_NC_031927	Enterolj2_2_NC_001332	Salmon_RE_2010_NC_019488	Enterolj20_NC_031019	
2014LSAL01779	Poultr y	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	France	GF-2 and HP1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2014LSAL02325	Poultr y	Meat from turkey - carcass	France	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2014LSAL03350	Poultr y	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	France	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2014LSAL03694	Poultr y	Meat from guinea fowl	France	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2014LSAL05133	Poultr y	Meat from turkey - carcass	France	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2015LSAL02005	Poultry	Meat from duck - fresh	France	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
201402501	Human	Human; Homo sapiens	France	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
201506934	Human	Human; Homo sapiens	France	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
201507632	Human	Human; Homo sapiens	France	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
201510930	Human	Human; Homo sapiens	France	GF-2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
201407219	Human	Human; Homo sapiens	France	GF-2 and UAB	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
201402459	Human	Human; Homo sapiens	France	118970-CAM7-I2-RE	0	0	1	0	2	0	2	2	2	2	0	0	0
BCW_2672	Human	Human; Homo sapiens	Taiwan	Fels-118970	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0
NVSL_4111	Avian	NS	USA	SSU5	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
SARB9 (Fidelma Boyd)	Avian	Bird	USA	SSU5	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0

5 Publication IV : Source-attribution study of *S. Derby* sporadic cases in France (En préparation)

5.1 Résumé

Suite à la production des génomes de référence pour *S. Derby*, il a été possible de construire une phylogénie plus fine à partir d'une référence adaptée à la lignée majoritaire (ST40). Nous avons inclus l'ensemble des 302 souches humaines collectées en France en 2014-2015 afin de déterminer la source-attribution des souches humaines. Nos résultats montrent la présence, chez l'humain, des 4 lignées identifiées (ST39, ST40, ST71, ST682) dans les aliments. Cependant les lignées identifiées chez le porc (les ST40, ST39 et ST682) représentent 93% des cas humains, là où les souches issues du ST71 n'en représentent que 2% (6/302). 13 profils sporadiques propres aux souches humaines sont également identifiés correspondant essentiellement à des profils ST encore non définis.

5.2 Publication

Source-attribution study of *S. Derby* sporadic cases in France

Yann Sévellec¹, Sophie A. Granier¹, Simon Le Hello², Michel-Yves Mistou¹ and Sabrina Cadel-Six^{1*}

1. Université PARIS-EST, ANSES, Laboratory for Food Safety, F-94701 Maisons-Alfort, France.
2. Institut Pasteur, Centre National de Référence des *Salmonella*, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Paris, France.

Running title: Source-attribution study of *S. Derby*.

Corresponding author: Sabrina Cadel-Six, sabrina.cadelsix@anses.fr

ANSES, Laboratory for Food Safety, 14 Rue Pierre et Marie Curie, 94701 Maisons-Alfort

Keywords: *Salmonella* Derby, source-attribution study, human infection, antimicrobial resistance.

5.2.1 Introduction

Non-typhoid *Salmonella enterica* subsp. *enterica* is a major cause of food illness causing self-limiting gastroenteritis with 550 million people getting sick each year, including 220 children under 5 year old. *Salmonella* is one of the 4 main causes of gastroenteritis (WHO, 2018). Salmonellosis is usually characterized by acute onset of fever, abdominal pain, diarrhea, nausea and sometimes vomiting. The onset of disease symptoms occurs 6–72 hours (usually 12–36 hours) after ingestion of *Salmonella*, and illness lasts 2–7 days (WHO, 2018). Symptoms of salmonellosis are relatively mild and patients will make a recovery without specific treatment in most cases. However, in some cases, particularly in children and elderly patients, the associated dehydration can become severe and life-threatening.

Salmonella enterica subsp. *enterica* serotype Derby (*S. Derby*) is one of the serovars whose food poisoning mainly affects the population at risk (elderly or children). Apart from these cases, most of the *S. Derby* cases are considered sporadic. In 1946, *S. Derby* caused an epidemic in Australia in 68 infants and young children causing the death of 10 of them (Mushin, 1948). In 1963, an outbreak caused by egg contamination by *S. Derby* caused 822 cases in 53 hospitals in the United States (Sanders et al., 1963). More recently, between the end of 2013 and the beginning of 2014, *S. Derby* is responsible for an outbreak in Germany involving 145 patients, mostly elderly people in Berlin and the Brandenburg region in Germany (Simon et al., 2017). In China, *S. Derby* is the third most reported serovar in clinical cases (Ran et al., 2011) and the most reported serovar in infants and toddlers (Cui et al., 2009). Otherwise these outbreaks affecting immune depressed people, this serovar is mainly associated with sporadic cases: in the United States, from 2005, *S. Derby* causes an average of 120 cases each year (CDC, 2017). In Europe *S. Derby* is the 5th most isolated serovar in human with 570 cases in 2016 (EFSA, 2017). In France, *S. Derby* varied between the 8th to the 5th position (n =164 to 178 clinical isolates) of the most frequently isolated serotypes in humans since 2000 (Weill, 2014).

The principal reservoirs of this pathogen are pigs and poultry worldwide. *S. Derby* was recorded as the most abundant serovar isolated from slaughter pigs with a presence in 28.5% of the production holding in whole European Union in 2008 (European Food Safety, 2008). It is also the 4th most frequently isolated serovar in non-human sector in USA (Schmidt et al., 2012) and the main serovar isolated from slaughter pigs in China (Cai et al., 2016). From 2014, this serovar is also the most frequently isolated in turkey flocks in Europe (EFSA, 2015; 2016; 2017; Sévellec et al., 2018a).

This serovar adapted to pigs and poultry animals is frequently isolated from pork meat. Several studies have associated pork meat and *S. Derby* (Valdezate et al., 2005; Hauser et al., 2011; Kerouanton et al., 2013; Simon et al., 2017; Zheng et al., 2017). In Europe, *S. Derby* accounted for 22.9% of the isolates from pork meat, followed by monophasic strains of *S. Typhimurium* (22.3%) and *S. Typhimurium* (20.6%) (EFSA, 2016). Data from the ANSES *Salmonella* Network (jointly with the National Reference Laboratory) show that this serovar is mainly isolated from

pork and poultry meat in France with 242/598 (40%) and 63/598 (11%) isolates respectively between 2014 and 2015 (Leclerc et al., 2016).

According to a whole genomic analysis realized on a collection of 140 genomes, we identified three different genomic lineages in France for this serovar, ST40-ST39, ST682 and ST71; two of them associated to pork (ST40-ST39 and ST682) and one (ST71) to poultry sector (Sévellec et al., 2018a).

On the other hand, the high prevalence of *S. Derby* in pork and poultry sectors demonstrates the necessity to evaluate the genetic diversity of isolates to identify the source of human clinical cases and to evaluate the pathogenic potential of each lineage to infect humans. Previous attempts of subtyping of the *S. Derby* serovar and to link animal and food strains to human cases were either limited in scope and considered only the pork sector (Hauser et al., 2011; Kerouanton et al., 2013; Zheng et al., 2017) or lacked a representative collection of strains to encompass the real genetic diversity of *S. Derby* (Hayward et al., 2016). We undertook a source-attribution study by variant calling and MLST analyses on the whole *S. Derby* sporadic cases that occurred in France in 2014 and 2015 to identify the sources of contamination and the way of transmission of this serovar within the French territory. We analyzed also the antibiotic resistance potential of the whole collection, 442 *S. Derby* strains isolated from humans, pork and poultry sectors.

5.2.2 Material and methods

Genome Selection.

The 140 *S. Derby* genomes issues from strains isolated from pork and poultry sectors in France in 2014 and 2015 and described in previous publication (Sévellec et al., 2018a) were selected. Human French genomes were from the 302 strains recorded by the CNR (*Institut Pasteur*) and corresponding to the totality of the *S. Derby* clinical cases occurred in metropolitan France in 2014 and 2015. These 302 strains were identified as serotype Derby by glass slide agglutination, according to the White-Kauffmann-Le Minor scheme (Grimont and Weill, 2007) and their genomes were extracted and sequenced as previously described in Sévellec et al. 2018 (Sévellec et al., 2018a). The final human and non-human French collection used for the source-attribution and genome comparative studies comprised 442 genomes.

The metadata of the whole genomes used in this study are reported in **Annexe 2 of this memoire**.

Multilocus sequence typing (MLST).

All genomes were characterized by MLST using seven housekeeping genes *aroC*, *dnaN*, *hemD*, *hisD*, *purE*, *sucA* and *thrA* (Achtman et al., 2012). The seven housekeeping gene sequences for each strain were uploaded to the MLST service of the Center for Genomic Epidemiology (CGE) (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/MLST/>), which allowed us to determine the sequence type (ST) directly from the read files.

Single Nucleotide Polymorphism (SNP) and phylogenetic analyses.

The SNP analysis of the 442 French strains was conducted using the VARCall workflow (Felten et al., 2017). The 2014LSAL02547 *S. Derby* reference sequence (NCBI accession number CP029486) (Sévellec et al., 2018b) was used to generate the VCF files. Phylogenetic analyses on the dataset were computed using RaXml software (Stamatakis, 2014). The phylogenetic trees were constructed under the maximum likelihood criterion using the GTR-gamma model of nucleotide evolution. The phylogenetic analyses were based on the pseudogenome obtained using the GATK. The phylogenetic data were visualised using interactive Tree Of Life (iTOL <https://itol.embl.de/>) (Letunic and Bork, 2016).

Statistical analyses.

The non-normality of the data (number of paired SNP differences) for analyses of both French and international collections, was assessed using Shapiro test (Royston, 1995) on R from the pairwise matrix obtained. The comparison between the paired SNP differences was tested by a Kolmogorov-Smirnov test (KS-test) (Huang et al., 2016) being the variance of the distribution by paired SNP proven significantly unequal by the Fisher test (Markowski and Markowski, 1990).

Identification of acquired resistance genes.

The French collection of genomes was analyzed by ResFinder 2.1 application (Zankari et al., 2012) on the CGE server as described in previous publication (Sévellec et al., 2018a). The localization of resistance gene inside the assembled genomes was tested by running a blast on Bionumerics V. 7.6.1. To verify the presence of a class 1 integron we used the INTEGRALL (Moura et al., 2009) database to identify a class 1 integron for *S. Derby* (NCBI: HG314953.2) to test with BLAST.

Antimicrobial susceptibility tests.

Antibiotic susceptibility of the 140 French non-human strains was described in Sévellec et al. in 2018 (Sévellec et al., 2018a). Antibiotic susceptibility of the 302 French human strains were determined using the disc diffusion method as recommended by the Clinical and laboratory standards institute (CLSI) (CLSI, 2015; 2016). Fifteen antimicrobials (Bio-Rad, Marne-la-coquette, France) were tested: amoxicillin/clavulanic acid (AMC; 30 µg), ampicillin (AMP; 10 µg), cephalothin (CEF; 30 µg), cefotaxime (CTX; 30 µg), ceftazidime (CAZ; 30 µg), chloramphenicol (CHL, 30 µg), sulfonamides (SSS; 300 µg), trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT; 1.25+23.75 µg), streptomycin (STR, 10 U), gentamicin (GEN; 10 µg), kanamycin (KAN; 30 UI), tetracycline (TET; 30 UI), nalidixic acid (NAL; 30 µg), ciprofloxacin (CIP; 5 µg), pefloxacin (PEF, 5 µg). Colistin disk (CST; 10 µg) was used on each plate on quality management purposes to ensure the absence of contamination and assess the bacterial identification. Automatic readings were performed using the BIOMIC® V3 system (Giles Scientific Inc., Santa Barbara, California). Isolates were classified as “susceptible”, “intermediate” or “resistant” according to the clinical interpretative criteria recommended by the CLSI (CLSI, 2016).

5.2.3 Results

Genetic diversity and source-attribution study of the French collection.

As shown in **figure 1** the SNPs analysis clustered the French human and non-human genomes in four main groups. These four groups are consistent with the ones already identify by Sévellec et al. (Sévellec et al., 2018a) and identified by MLST analysis (100% identity), indeed, to simplify the comprehension of the results, we have decided to call these 4 SNPs analysis's groups ST39, 40, 71 and 682.

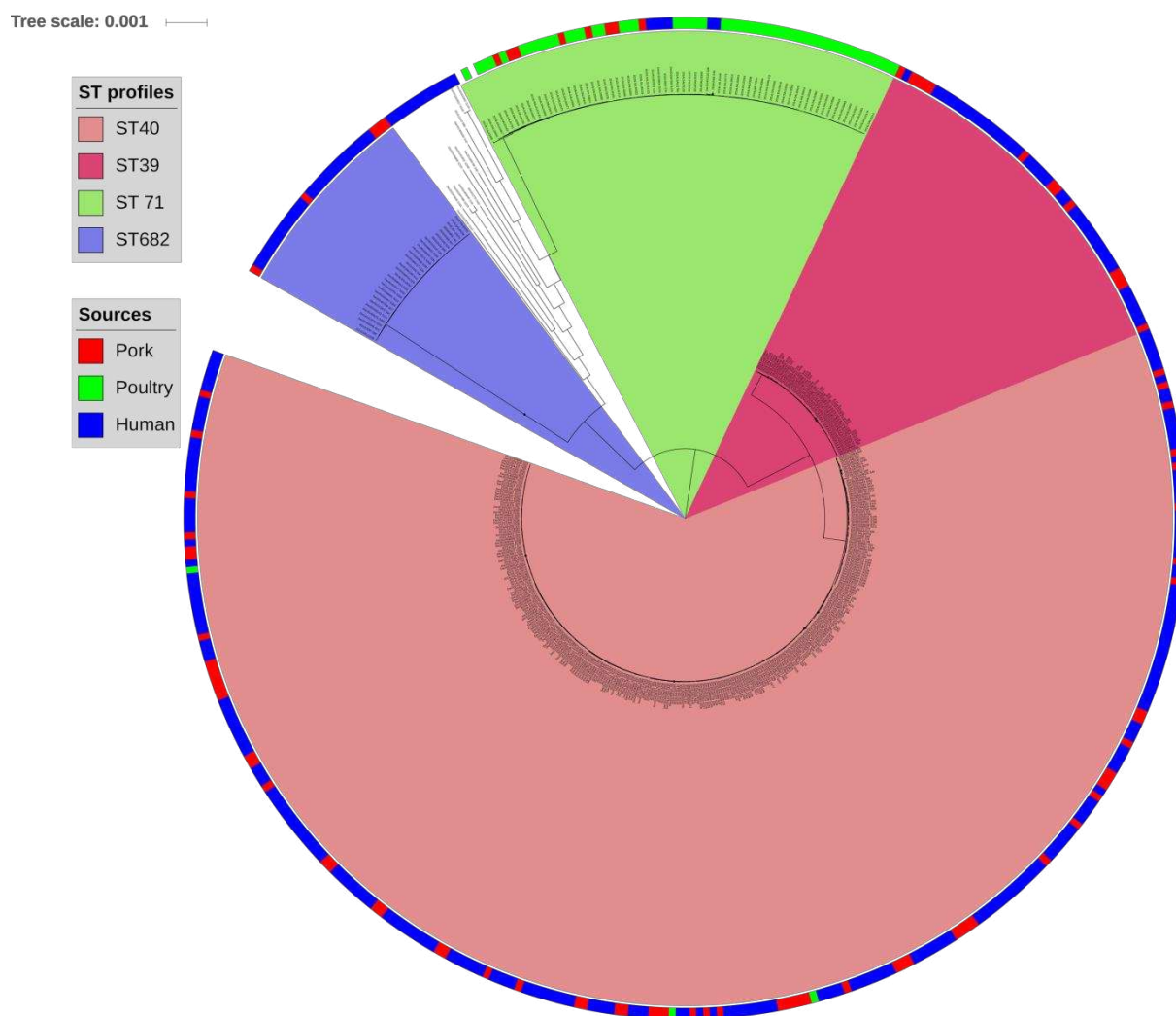


Figure 1: Phylogenetic tree of the French *Salmonella* Derby human and non-human isolates.

Within each of these groups, genomes were found to differ by less than 300 SNPs. The genomes belonging to ST39 were most closely related to ST40 genomes with an average of 3962 SNPs and a standard deviation (SD) of 20 SNPs. The strains belonging to the ST71 cluster were distant from the ones belonging to ST40 by 26,957 SNPs, with an SD of 1,583. The ST682 was the most genetically distant from ST39, ST40 and ST71 with an average of 33,961 (SD of 4,102 SNP). Considering epidemiological information, there was no evidence of a relationship

between the genomic proximity and geographical localization for the different lineages. Closely related strains could have very different geographical origins and *vice versa*. It is also the case for the ST39 and ST682 lineages, which grouped together only 13 and 5 genomes respectively. These lineages presented a very wide geographic distribution, clustering together strains from Pays-de-la-Loire, Bourgogne, Languedoc-Roussillon and Centre. Region Pays-de-la-Loire, however, presented considerable diversity in terms of ST profiles with strains from the four different lineages. Consistent with the distribution of the pork and poultry food production chains in France, ST40 was geographically more widespread than ST71. As previously described by Sévellec et al. (Sévellec et al., 2018a), we can clearly associate three genetic groups with the pork sector (ST39, ST40, and ST682) and one with the poultry sector (ST71).

94% of the French human strains clustered in the genetic groups associated to pork ST39 (54/442), ST40 (284/442) and ST682 (30/442) with 71% of the total human strains belonging to the ST40 alone. Only 6 strains (2% of the human strains) belong to group ST71 related to poultry. The remaining human strains 4% (n=12) belong to various ST profiles already described for *S. Derby* (ST683, ST2639, ST3135) or new ST profiles (10 strains) identified and validated by the CNR for *Salmonella*.

Antimicrobial resistance.

Complete and partial resistance genes identified in the 442 genomes included in this study is reported in the supplementary table 2. No resistance gene were detected for 42% of the strains (188/442) with most of the susceptible strains belonging to the ST71 and ST682 with respectively 97% (62/64) and 93% (28/30) of the strains found to be carrying no resistance gene. Only 17% of the ST40 strains (48/275) presented no resistance genes. In the ST40 64% the strains were carrying simultaneously the *aadA2*, *sul1* and *tetA* genes corresponding to the majoritarian resistance profiles to aminoglycosides, sulfonamides and tetracyclines (STR-SSS-TET) which correspond to 62% of the human strains and 82% of the strains isolated from pork. Twenty strains presented resistance for 4 antibiotic families or more, 16 from the ST40, 2 from ST71 and 2 from ST39. All ST39 are carrying the *fosA7* gene conferring resistance to fosfomycin, this gene is present in the ST40 with a sequence identity of 97%.

5.2.4 Discussion

Genetic diversity of *Salmonella* Derby in France.

In this study, two collections of genomes were compared to investigate the genetic diversity of *S. Derby* in France. The polyphyletic nature of the Derby serovar in food sources have been established in previous studies (Hayward et al., 2016; Zheng et al., 2017; Sévellec et al., 2018a) but this is the first attempts to our knowledge to investigate the diversity of the whole Derby serovar at this scale.

In France, 4 STs are presents in non-human strains forming 3 genomic lineages, the ST39-40, ST71 and ST682 (Sévellec et al., 2018a). The human stains were characterized by a higher diversity in ST profiles. Thirteen other, profiles were identified within human strains, corresponding to 1 or 2 strains each. For these STs no food sources were identified.

This can be due either to the panel of non-human strains analyzed not including bovine and ovine sources, either to the specificity of this ST for human contamination and invasion. More analysis would be needed to confirm these hypotheses. On the 302 strains isolated from human clinical cases, 93% are associated to STs associated with the pork sector. Among them indeed the ST40 is responsible for 71% of the human clinical cases and both clades (1 and 2) of the ST40 are associated with human clinical cases. The ST71 associated with the poultry sector accounts only for 2% of the human cases, two of the clinical cases associated with ST71 were caused by strains of the “Asian clade” of the ST71 one of those cases is associated with travel in Thailand.

Surprisingly, there are few chronological or geographical links between human isolates and the most closely related food isolates. This can be explained by the structure of the pork sector in France where most of the slaughtering is done in a few slaughterhouses that handle industrial transformation and provide retail sale nationwide. Slaughterhouses represent a vulnerable spot for microbiological contamination as described by multiple publications (Rostagno et al., 2003; Botteldoorn et al., 2004; Sofos, 2008; Fois et al., 2017). The industrialization and the globalization of the food sector promotes a geographical dispersion of contaminated products or animal which facilitates the dissemination of pathogen, thus makes the localization of the origin of an outbreak more difficult (Newell et al., 2010; Ercsey-Ravasz et al., 2012). The congelation of the stock may also to take in account as *Salmonella* survive congelation (Chaves et al., 2011). Nonetheless, we were able to link cluster of human strains to a specific food strain. As an example, In the ST71, the human strains 201506934 and 201507632 are linked to strains associated with *Gallus Gallus* isolated in Brittany. In the ST40, 5 clinical strains are linked to the food strain 2014LSAL04065 collected from pepper sausage.

Studying the genetic diversity of the population of a given pathogen of interest provides valuable information about the potential sources of contamination and help to direct future investigations of outbreaks. The WGS technology have been proven in this study a valuable tool for the source-attribution of human cases as reported in previous publications (Gilchrist et al., 2015; Dunn, 2016; Ferrari et al., 2017).

Antimicrobial susceptibility of the French strains.

Antimicrobial use within animal sectors constitutes an evident evolutionary pressure for this pathogen as 67% of the strains analyzed present at least one resistance gene in their genome. As reported in previous study (Sévellec et al., 2018a), most of the susceptible strains belong to the ST682 (28/30 strains) and the ST71 (62/64 strains). The strains of the ST40 are in majority resistant to at least on class of antibiotic with a majoritarian resistance profiles (STR SSS TET) is present in 64% of the isolates. This resistance profile is specific of the clade 2 of the

ST40 and is carried by an SGI-1 specific of *S. Derby* described as SGI-1C (Beutlich et al., 2011; Sévellec et al., 2018a). Aminoglycosides, sulfonamides and tetracycline being the most used antibiotics in the pork sector (Méheust et al., 2016), this resistance profile might explain the success of this particular clade (ST40) (Newell et al., 2010). This resistance profile was already reported in Spain in 2005 (Valdezate et al., 2005). In France, in 2013, this resistance profiles was reported in pigs (Kerouanton et al., 2013) and is widespread in Europe in *S. Derby* strains from the pork sector or human cases (Bonardi, 2017).

The SGI-1 present in the genome of the dominant clade of ST40 in the pork sector carries also a mercuric resistance operon *mer*. Resistance to heavy metals such as mercury have been demonstrated as a co-selection factor for antimicrobial resistance as they are often carried by the same transposons (Baker-Austin et al., 2006; Pal et al., 2015; Deng et al., 2017b). The presence of resistance to heavy metals was already observed in the major clone in Europe of monophasic variant of *Salmonella* Typhimurium (Petrovska et al., 2016).

The presence of a resistance gene for fosfomycin: *fosA7* (Rehman et al., 2017) was detected in all isolates from the ST39 and a variant with 97% of identity is present in all the strains of the ST40. Those genes were not reported in previous prediction (Sévellec et al., 2018a) as it was included recently in the Resfinder database. This demonstrates the importance of keeping track of the updates in public databases since some resistance gene can go unnoticed in previous predictions. The resistance to fosfomycin was not tested nor in our antimicrobial susceptibility test or in previous publications at our knowledge should further antimicrobial susceptibility tests be performed to verify the functionality of the *fosA7* gene both in ST39 and in ST40.

Conclusion.

We were able to distinguish, in France, four major genetically distant STs in the *S. Derby* serovar (ST39, ST40, ST71 and ST682) in pork and poultry sectors and in human. The ST39, ST40 and ST682 are mainly associated to pork strains and represent 93% of the total human strains collected by *Pasteur Institute* in 2014-2015. The pork source is the main source for human contamination. The structure of the pork sector in France and the consumption habit in France were able to explain the spread and the sporadic pattern of the human cases associated with the food sources.

6 Publication V: Investigation of the host specificity of *S. Derby*. (En préparation)

6.1 Résumé

Suite au constat de la très faible proportion des souches isolées depuis le secteur volailles parmi les cas cliniques humains, nous avons voulu étudier la pathogénicité des différentes lignées de *S. Derby* identifiées lors de cette étude afin de pouvoir comprendre les différences

d'hôtes entre les lignées de ce sérovar. Nos questions de recherche étaient : quelle est la gamme d'hôtes des différentes lignées de *Salmonella* Derby ? Les souches du ST71 ont-elles une capacité atténuée à infecter l'humain ?

Pour y répondre nous avons étudié les variations génomiques concernant des facteurs de virulence identifiées de *Salmonella* en les comparant à *S. Typhimurium* -le sérovar généraliste par excellence- et l'un des mieux étudiés. Nous avons également fait une étude du pan génome de *S. Derby* afin d'identifier les principales différences génétiques entre les lignées. Enfin nous avons confirmé nos résultats par une étude de la capacité d'invasion cellulaire des lignées ST40, ST71 et ST682 chez l'humain, le porc et la volaille. Nos résultats montrent une capacité d'invasion cellulaire réduite des souches du ST71 chez l'ensemble des souches du ST71.

6.2 Publication

Investigation of the host specificity of *S. Derby*.

Yann Sévellec¹, Sylvie M. Roche², Sophie A. Granier¹, Isabelle Virlogeux-Payant², Simon Le Hello³, Laurent Guilliet¹, Michel-Yves Mistou¹ and Sabrina Cadel-Six^{1*}

1. Université PARIS-EST, ANSES, Laboratory for Food Safety, F-94701 Maisons-Alfort, France.
2. ISP, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), UMR 1282, Université de Tours, Paris, France
3. Institut Pasteur, Centre National de Référence des *Salmonella*, Unité des Bactéries Pathogènes Entériques, Paris, France.

Running title: Host specificity of *S. Derby*.

Corresponding author: Sabrina Cadel-Six, sabrina.cadelsix@anses.fr

ANSES, Laboratory for Food Safety, 14 Rue Pierre et Marie Curie, 94701 Maisons-Alfort

Keywords: *Salmonella* Derby, host specificity, core genome, pan genome.

6.2.1 Introduction

Salmonella displays an important diversity in host range dependent of the serovar. The different serovar can be distinguished between serovar that are host restricted (e.g. *S. Typhi* in humans), host adapted (e.g. *S. Choleraesuis* and the pork) or broad range as *S. Typhimurium* (Yue et al., 2012; Yue et al., 2015). These serovars possess very diverse pathogenicity patterns determined by variation in virulence factors especially in the *Salmonella* pathogenicity island

(Sabbagh et al., 2010), in adhesion factor (Yue et al., 2012) or even in the allelic variation of key virulence factor (Eswarappa et al., 2008; Yue et al., 2015).

Several studies have reported differences in host association inside the *S. Derby* serovar with a lineage (ST71) associated with poultry (Hayward et al., 2016; Sévellec et al., 2018a; Sévellec et al., 2018c). Zheng et al. reported the ST71 in China but this serovar was not associated with human cases (Zheng et al., 2017). In Uruguay Betancor et al. reported the presence of a lineages of *S. Derby* in eggs which was not found in human, those strains were however not associated with an ST profiles (Betancor et al., 2010). A previous study demonstrated differences in virulence factors of the different lineages of *S. Derby* identified in France, with the presence in the ST39-ST40 lineage of the SPI-23 associated with pork invasion capacity (Sévellec et al., 2018a). The result of our source-attribution study described in the part 5 of the results suggested also a lack in pathogenicity for the strains of the ST71 associated with poultry.

Several studies (Betancor et al., 2010; Hauser et al., 2011; Hayward et al., 2013) have investigated the set of virulence factors in *S. Derby*'s genomes but those studies were limited to specific lineages of this serovar and did not provide a comprehensive view of the pathogenicity of *S. Derby*. We reported in previous publication (Sévellec et al., 2018a) differences in allelic variations and in the structure of the SPI-1 to -5 and the presence of the SPI-23 in specific lineages of *S. Derby* but this investigation was incomplete and did not revealed critical differences that could explain the difference in host association between the different *S. Derby* lineages.

The aim of this study was to identify the genomic signatures able to explain the divergence of behavior between these pathogens (*Derby* and *Typhimurium*) and between the different lineages of *S. Derby*. We made a detailed comparison study of the genome sequences associated to the virulence factors between the three different *S. Derby* lineages (ST39-ST40, ST682 and ST71) and compared to *S. Typhimurium* serovar which is the most frequently associated with outbreaks worldwide. The results of this genomic analysis were confirmed by *in vitro* adhesion, invasion assay on epithelial cells from human, pork and *Gallus Gallus*.

6.2.2 Material and Methods

Genome Selection.

We used the collection of 442 *S. Derby* described in 4.5 to constitute a collection of assembled genomes using Spades V 3.9.1. (Bankevich et al., 2012). Due to poor quality of the assembly of several genomes of human strains, we limited the collection to 288 human clinical cases for a total of 428 strains (see annexe 3).

Pan-genome investigation of the French lineages.

Pan genome analysis was performed on the genomes belonging to the well described lineages ST39-ST40, ST682 and ST71 (Sévellec et al., 2018a; Sévellec et al., 2018b; Sévellec et al.,

2018c). The 428 genomes were processed using Prokka software (V. 1.11) (Seemann, 2014) to produce annotation of the CDS. The pan genome content was analyzed using ROARY (V. 3.8.0) (Page et al., 2015). Specific traits were then tested using Scoary software (V. 1.6.16) (Brynildsrud et al., 2016). Pan genome comparisons were performed using different traits: the sector the strain was isolate from, the lineage the strains belongs to and the cluster of each ST40 strain.

Virulence factors identification.

SPI-1 to -19; SPI-23 and CS54 were researched within the 442 genomes of *S. Derby* French collection using blastn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) with a cut-off of 90% of identity. The references for the SPI-1 to -5 and the SPI-23 were extracted as described in previous work (Sévellec et al., 2018a). SPI 6 to 19 were extracted using the pathogenicity island database (PAI DB) (Yoon et al., 2015). CDS were extracted from reference genomes. The references used to extract the SPI are reported in the Annexe 4.

Additional virulence related genes were extracted from the virulence factor database (VFDB) (Chen et al., 2012).

Cell lines and culture conditions.

Human adenocarcinoma HT-29 cell line (ECACC no. 85061109, Salisbury, UK) was grown in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM with 4.5 g/L glucose (Gibco) supplemented with 2 mM L-glutamine (Gibco) and 10% fetal calf serum (SVF) (Gibco). Chicken hepatoma LMH cell line (ATCC CRL-2117) was grown in Williams' Medium E (Lonza) supplemented with 10% SVF. New-born piglet intestinal IPEC-1 cell line (Gonzalez-Vallina et al., 1996) was cultured in DMEM-F12 (Lonza) supplemented with 5% SVF, 2 mM L-glutamine, 10 µg/mL insulin - 5 µg/mL transferrin - 5 ng/mL sodium selenate (ITS – Sigma), 5 ng/mL epidermal growth factor. Cells were routinely grown in 75 cm² plastic tissue culture flasks at 37 °C under 5% CO₂. Throughout this study, cells were grown without antimicrobial compounds.

Adhesion-invasion assays.

Adhesion-invasion assays were performed as previously described (Roche et al., 2005) on 4 *S. Derby* strains: two from the ST40 (2014LSAL02547 and 07CR553 one from the ST71 2014LSAL01779 and one from the ST682 2014LSAL03787). Briefly, 24-well tissue culture plates were seeded five days before infection in order to obtain confluent monolayers for the day of infection. Bacteria were grown overnight in TSB medium at 37 °C without shaking. Each experiment used three plates: one to determine the total number of adhered and invaded bacteria (total-cell associated (TCA) assay), the second the invaded bacteria only (invasion assay) and the third one for the multiplication assay. Cell monolayers were incubated in medium for 24 h and then infected for 1.5 h, 3 h or 24h at 37 °C with 10⁷ CFU in 300 µL (multiplicity of infection 10). For TCA assays, the cell monolayers were gently washed six times with phosphate buffered saline (PBS) (pH 7.3) and then disrupted with 1 mL cold distilled water (4 °C). Viable bacteria (intra- and extracellular) were counted after plating serial dilutions on TSA (Difco). For the invasion and multiplication assays, the plates were washed

once with appropriate medium and incubated in culture medium containing 100 µg/mL gentamicin. After 1.5 h at 37 °C, the plate for the invasion assay was washed once with PBS and lysed with 1 mL cold distilled water (4 °C). Viable intracellular bacteria were assessed by serial dilutions plated on TSA. For the multiplication assay, the plate was washed once with appropriate medium and incubated in culture medium containing 10 µg/mL gentamicin. After 21 h at 37 °C, the plate was washed once with PBS and lysed with 1 mL cold distilled water (4 °C). Viable intracellular bacteria were assessed by serial dilutions plated on TSA. Results were expressed as mean ± SD of the number of bacteria for 10⁷ CFU. Experiments were carried out in duplicate and repeated third for each strain.

6.2.3 Results

Adhesion-invasion assays.

The strains 2014LSAL01779 belonging to the ST71, the 2014LSAL03785 belonging to the ST682 and the strains 2014LSAL02547 and 07CR553 (Kerouanton et al., 2015) belonging to the ST40 were tested against *S. Typhimurium* 14028 to evaluate their adhesion and invasion capability on epithelial cells HT29 (human), IPEC-1 (Porc) and LMH (*Gallus gallus* epithelial cell). The results are shown in **figure 1**.

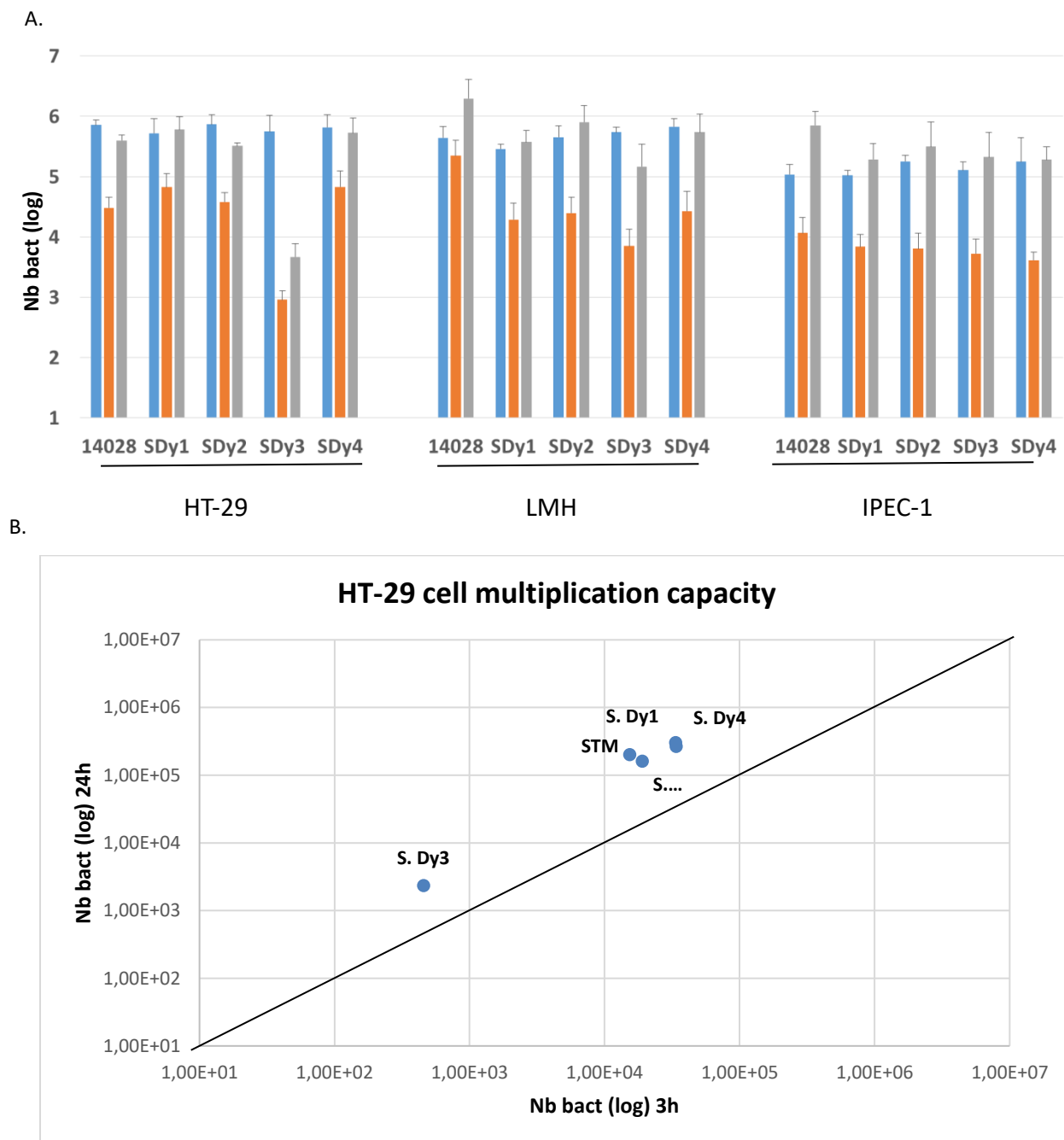


Figure 1: Differences in adhesion, invasion and multiplication capacity of the ST40, ST71 and ST682 lineages of *S. Derby* on human (HT 29), *Gallus gallus* (LMH) and pig (IPEC-1) epithelial cells.

14028: STM14028; SDy1: 2014LSAL02547; SDy2: 2014LSAL03785; SDy3 2014LSAL01779; S. Dy407CR553.

A: capacity on adhesion, invasion and multiplication of the different lineages of *S. Derby*. In blue: adhesion; in orange: invasion; in gray: multiplication.

B: Correlation between the invasion and multiplication capacity of the different *S. Derby* lineages. The strain *S. Dy3* (ST71) present a significantly lower invasion capacity leading to decreased multiplication in human HT 29 epithelial cells. The diagonal correspond to the $X=Y$ function as a comparison point.

All the *S. Derby* strains have a similar adhesion capacity on all the three epithelial cell type. Those adhesion capacities were statistically similar to *S. Typhimurium* 14028.

At the invasion stage, the three *S. Derby* STs showed the same invasion capacity for pork epithelial cells IPEC-1 (similar to STM14028) and *Gallus Gallus* epithelial cells LMH (which was 1 log lower than STM14028). The strains from ST71 presented 1 log decrease in CFU at the invasion stage on HT 29 cells compared to STM14028 and the other *S. Derby* of the ST40 and ST682. The multiplication capacity was similar for all the epithelial cell type and all the tested strains.

A second experiment was performed to assess the in vitro invasion capacity on 6 strains of *S. Derby* ST71 lineages from poultry (strains 2014LSAL01779 and 2014LSAL05133) and for human strains from the European (strains 201402501 and 201510930) and Asia clade (strains 201402459 and 201407239) of the ST71. The results were consistent with the experiment presented in the figure 1 for all the tested strains except the strain 201402501 which showed impaired invasion capacity compared to the other ST71 strains.

The results of this experiment are presented in the annexe 5.

Virulence factors.

As demonstrated in previous study (Sévellec et al., 2018a), all *S. Derby* STs shared the SPI-1 to 5 with a high identity (superior to 98%) for most of the genes. All the *S. Derby* analyzed also possessed then SPI-9 and fragments of the SPI-6, -11, -13, -16 and -19 as reported in the table 2. As for the SPI-1 to -5, the genes present in the different ST groups of *S. Derby* revealed an identity of 98% or more to the reference. Some key virulence factor present nonetheless some more important variation between the 4 STs of *S. Derby* as exposed in **Table 1**.

Table 1: Presence of known SPI in the different *S. Derby* lineages.

*Absent or present at an identity cutoff of 90%. ^a presence of fimbriae operon; ^b absence of sugR gene.

<i>Salmonella</i> pathogenicity island	length (kpb)	genes nb	ST40-ST39*	ST71*	ST682*
SPI-1	38	39	39/39	39/39	39/39
SPI-2 common region	12	10	10/10	10/10	10/10
SPI-2 specific region	25	31	31/31	31/31	31/31
SPI-3	16	10	8/10 ^a	8/10 ^a	9/10 ^b
SPI-4	27	10	10/10	10/10	10/10
SPI-5	9	8	8/8	8/8	8/8
SPI-6	47	52	34/52	34/52	37/52
SPI-7	134	75	2/75	0/75	1/75
SPI-8	8	12	2/14	14/14	8/14
SPI-9	16	4	4/4	4/4	4/4
SPI-10	33	24	0/24	0/24	0/24
SPI-11	14	19	12/19	12/19	12/19
SPI-12	16	12	9/12	9/12	10/12
SPI-13	25	19	13/19	13/19	13/19
SPI-14	9	6	0/6	0/6	0/6
SPI-15	6,5	5	0/5	0/5	0/5
SPI-16	4,5	6	0/6	0/6	0/6
SPI-17	5	7	1/7	6/7	0/7
SPI-18	2	2	0/2	0/2	0/2
SPI-19	42	30	3/30	4/30	5/30
SPI-23	36	41	41/41	0/41	0/41
CS54	25	8	5/8	6/8	8/8

In the SPI-6 all ST groups lacked the *safA* gene from the *saf* fimbrial operon, the whole *tcr* operon from *S. Typhi* and the *tinR* revolvase but possessed a functional T6SS operon.

The SPI-17 was only complete for the ST71 with the 6 CDSs present in the reference and an additional hypothetical protein between *gtrA* and the IS256 transposase corresponding to STY2626. Only 1 CDSs was present in the ST40 and ST39 (STY2631, corresponding to an IS256 transposase). The SPI-17 was absent in the ST682.

The SPI-13 was present in all the genomes with the genes *SG3012* to *SG3017* missing. In the ST71 and ST682 this locus contained instead the SPI-8 from *S. Typhi*. The ST71 presented a complete SPI-8 with 14 CDS (12 from the reference and 2 additional CDS coding for a partial T4SS system). The ST682 presented a SPI-8 more closely related to *S. Typhi* CT18 except the missing genes *STY3289* to *STY3292*. In the ST40 and ST39 2 genes only (*STY3291* and *STY3292* coding for hypothetical protein) were present in the genomes but the two lineages presented a new insertion at this locus containing 5 genes included an iron reductase as presented in the Annexe 6. The SPI-9, -10, -14, -15 and -18 are totally absent in all lineages.

The locus CS54 was complete for the ST682. The ST71 present an 802 bp deletion in *shdA* and lack the *ratB* and *ratC* gene. The ST40 and ST39 lack the *ratB*, *ratC* and the *sinI* genes is not detected at a cutoff of 90% of identity.

If we considerate the comparison between *S. Derby* and Typhimurium serovars, the main diversities are in the SPI-6, -11, -12, -13 partial in the different lineages of *S. Derby* analyzed and the absence of the SPI-14 and -16 in *S. Derby* lineages.

The **table 2** summarizes the presence or absence of several *Salmonella* virulence factors.

Table 2: Presence of known virulence factors in the different *S. Derby* lineages.

**Absent or present based on an identity cutoff of 90%; partial^a : corresponds to at least 20% of the genes missing for gifsy1 and gifsy2; LT2: Salmonella Typhimurium LT2 (NC_003197.2). In red: virulence factor which present differences between the lineages.*

Virulence factor	Role	ST40-ST39*	ST71*	ST682*	Reference used
virulence plasmid	Plasmid	absent	absent	absent	plasmid (AB040415.1)
gifsy1	Phage	absent	absent	partial ^a	425..48,265 (NC_010392.1)
gifsy2	Phage	absent	absent	partial ^a	42..42,753 (NC_010393.1)
misL	Adhesion factor	present	present	present	3,954,765..3,957,640 (LT2)
ratB	Adhesion factor (CS54)	absent	absent	present	2634402..2641709 (LT2)
shdA	Adhesion factor (CS54)	present	present	present	2627589..2633708 (LT2)
sinH	Adhesion factor (CS54)	present	present	present	2648609..2650801 (LT2)
bcf	Fimbriae (adhesion)	present	present	present	24,469..32,119 (LT2)
csg	Fimbriae (adhesion)	present	present	present	1,228,014..1,232,462 (LT2)
fim	Fimbriae (adhesion)	present	present	present	604,118..613,305 (LT2)
lpf	Fimbriae (adhesion)	absent	present	present	3,823,024..3,827,461 (LT2)
pef	Fimbriae (adhesion)	absent	absent	absent	7,904..14,362 (LT2)
saf*	Fimbriae (adhesion)	present	present	present	342,210..346,569 (LT2)
(safA absent)					
stb	Fimbriae (adhesion)	present	present	present	378,982..384,940 (LT2)
stc	Fimbriae (adhesion)	ST39 only	absent	absent	2,242,830..2,247,625 (LT2)
stf	Fimbriae (adhesion)	present	present	present	230,658..236,265 (LT2)
sti	Fimbriae (adhesion)	present	present	present	203,991..208,922 (LT2)
stj	Fimbriae (adhesion)	absent	present	absent	4,826,485..4,829,614 (LT2)
tiv (typhi)	immune evasion (antigen)	absent	absent	absent	4,516,537..4,524,140 (typhi CT18)
vex (typhi)	immune evasion (antigen)	absent	absent	absent	4,510,583..4,515,425 (typhi CT18)
rck	Adhesion/invasion factor	absent	absent	absent	plasmid (AB040415.1)
pagN	Invasion factor	present	present	present	STM0306 (LT2)
sinR	transcription regulator	present	present	present	348,611..349,558 (LT2)
ssel	Cellular survival	present	present	present	gifsy2 - 42..42,753 (NC_010393.1)
sseJ	T3SS effector	present	present	present	gifsy2 - 42..42,753 (NC_010393.1)
sopE	T3SS effector	ST40 only	absent	absent	4,481,801..4,482,523 (typhi CT18)
sopE2	T3SS effector	present	present	present	1,952,009..1,952,738 (LT2)
pipB2	T3SS effector	present	present	present	2,926,806..2,927,863 (LT2)
sifA	T3SS effector	present	present	present	1,309,834..1,310,844 (LT2)
sifB	T3SS effector	present	present	present	1,692,171..1,693,125 (LT2)
sopD	T3SS effector	present	present	present	1,054,059..1,055,023 (LT2)
sopD2	T3SS effector	present	present	absent	3,087,148..3,088,108 (LT2)

Most virulence factors are either absent (at a 90% identity cutoff) in all lineages or present with an identity to the reference higher than 98%. With the exception of several adhesion factors: the *ratB* gene from the genomic island CS54 is only present in ST682. The fimbriae

operon *csg* corresponding to the *agf* aggregative fimbriae is absent in the ST40 and ST39. The *stc* fimbriae operon is only present in the ST39 and the *stj* fimbriae operon is only present in the ST71. The *sopE* effector of the SPI-1 is only present in the ST40.

The virulence factors with an identity to the reference inferior to 98% to at least one lineage are: *sseC* (95%), *sseD* (96%), *sseF* (97%), *sseJ* (96%), *sopD2* (between 78% and 95%), *pipB2* (93%) and *sopE2* (97%).

According to the comparison with *S. Typhimurium* the main differences are the absence in all the ST groups of *S. Derby* analyzed of the *pef* (fimbriae-adhesion) gene. Other differences observed according to the ST groups are within the *ipf*, *stc* and *stj* genes.

Several virulence-associated genes from SPI or outside of SPI presented significant allelic variations as presented in the **table 3**. Those genes are adhesion factor (*safB*) or T3SS effector (*sseJ*, *sifA*, *pipB2*, *sopD2*) *sseD* is part of the translocon of the T3SS-2.

Table 3: Identity Variation between the lineages of *S. Derby* in several virulence related gene.

Virulence factor	Function	ST40 vs ST39	ST40 vs ST71	ST40 vs ST682	ST71 vs ST682
<i>sseD</i>	T3SS-2 translocon	100%	98%	98%	96%
<i>sifA</i>	T3SS-2 effector	96%	95%	98%	94%
<i>safB</i>	Fimbriae (adhesion)	99%	93%	92%	99%
<i>sseJ</i>	T3SS-2 effector	100%	98%	96%	97%
<i>pipB2</i>	T3SS effector	98%	96%	94%	94%
<i>sopD2</i>	T3SS-2 effector	100%	93%	78%	78%

Pan genome analysis.

From the ROARY analysis, the *core* genome of the Derby serovar was constituted of 3 501 genes (3 214 genes plus 287 genes present in more than 95% of the strains). 1 464 additional genes were part of the shell genome (present in more than 15% of the strains) and 13 184 genes constituted the cloud genome, present in less than 15% of the strains.

Figure 2 summarizes the genes that are specific to the different *S. Derby* lineages. The main differences in the accessory genome concern hypothetical proteins. Other important group of protein function was: phage associated genes, defense mechanisms, membrane protein, included fimbriae related genes, DNA recombination proteins and signal transduction mechanisms. The ST39 and ST40 hypothetical protein include the genes associated with SPI-23. The details are presented in annexe 7.

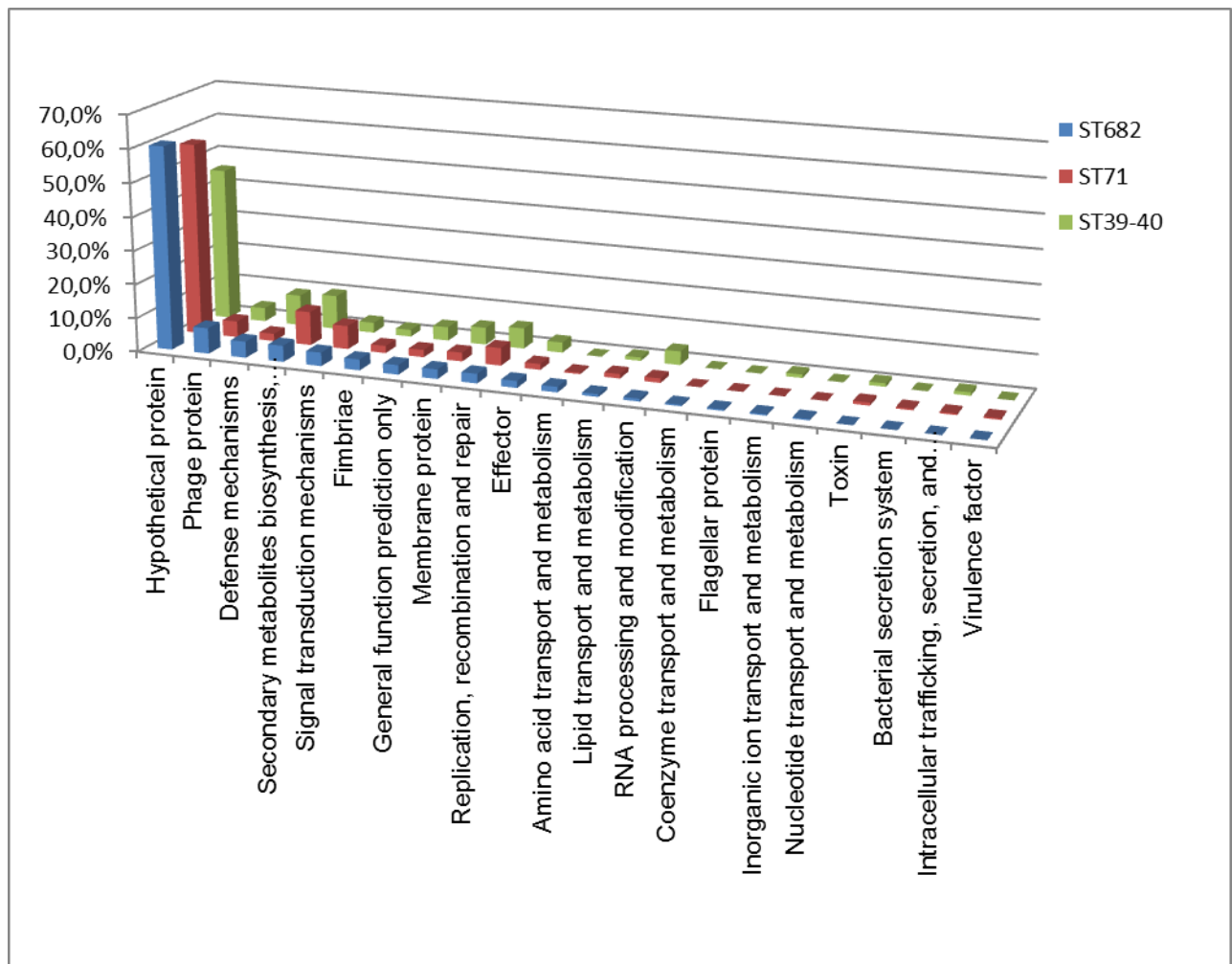


Figure 2: general function of lineages specific genes.

The Scoary analysis demonstrates that the operon *yehABCD* can be used to discriminate the ST39 from the other ST groups.

ST682 can be characterized by the *tfaE* gene associated with phage tail fiber assembly protein and by several genes (*yteP* and *garK*) associated with sugar metabolism. The *yafA* gene is also specific in the ST682. This gene was previously reported as absent of the Derby lineage (Anjum et al., 2005).

ST40 is characterized by the presence of several integrases associated with the SPI-23: *tnpA*. And by the presence of a second copy of the *lexA* gene associated to the repression of DNA repair proteins. Between the clade 1 and 2 of ST40, all characteristic differences are genes from the SGI-1, characteristic of the clade 2.

ST71 is characterized by the present of the *rrrD* gene coding for a lysozyme associated with the DLP12 prophage and by the *ddrA* gene associated with phage SJ46.

We tested the characteristic differences between the strains isolated from the poultry sector and the pork sector. The *sopD2* variant of the ST71 was associated to the poultry sector with a P-value $>1 \times 10^{-26}$. As well as the beta lactamase precursor *hcp* and the gene *ugpA* coding for a sn-glycerol-3-phosphate transport system permease protein. Pork strains were characterized by the *rayT* gene coding for a REP-associated tyrosine transposase and by hypothetical proteins.

6.2.4 Discussion

Pathogenicity potential of the different *S. Derby* lineages.

The source-attribution studies on the different lineages of *S. Derby* demonstrated that the poultry related ST71 lineage is marginally present in human. As the poultry meat represents 28 % of the French meat consumption comparable with the 33 % of the pork sector, we may suppose that the relative burden of strains isolated from the poultry and pork sector would better be explained by a difference in pathogenicity between the strains.

The results of the invasion assays seem to confirm this hypothesis. Significant differences were found in the invasion capacity for human epithelial cells between the ST71 and the other *S. Derby* lineages. All the lineages presented the same adhesion and multiplication capacities. Those results are consistent with population structure detailed in this study as well as the results reported by Zheng et al. which does not reported ST71 strains in human (Zheng et al., 2017).

In order to understand the genomics factor that can explain the differences in invasion assay we investigated key virulence factors and performed pan genome analysis. We found that all *S. Derby* lineages lacked the *S. Typhi* associated SPI-7, -10, -15 and -18 as reported by Hayward et al. in 2013 (Hayward et al., 2013). The SPI-14, and -19 (except a few hypotheticals proteins) present in *S. Typhimurium* a ubiquitous serovar, were absent in all *S. Derby* lineages as well as the *Salmonella* virulence plasmid and presented a fragmented SPI-16 which is associated with immune evasion through the modification of the O-antigen (Ilyas et al., 2017; Singh et al., 2018). The absence of the SPI-16 in the ST71 could lead to a decrease in long term survival in the eukaryotic cells and to an impaired systemic invasion capacity (Ilyas et al., 2017). The fragmentation of the SPI-16 could explain the presumed low pathogenicity of *S. Derby* compared to *S. Typhimurium* in our invasion assays but this hypothesis should be investigated further to assess the long-term survivability of *S. Derby* and understand the differences in pathogenicity between *S. Derby* and *S. Typhimurium*.

The SPI-1 to -5 and -9 were present in all lineages as well with few variations in the sequences of tested CDS. The SPI-6, -11, -12 and -13 were found incomplete in all lineages. The known virulence related gene of the SPI-11 were present in all lineages. The SPI-12 lacked the *sspH2* gene coding for an effector of the T3SS-2 except for the ST71. All lineages lacked the *safA* gene of the *saf* fimbriae operon and the *tcf* fimbriae operon associated to host specificity in *S. Typhi*. Those results were reported in previous studies (Betancor et al., 2010).

The CS54 was incomplete in the ST39, ST40 and ST71, as well with the genes *ratB* (involved in *Salmonella* colonization of the intestine) and *ratC* incomplete in those 3 lineages as reported by Hayward et al. (Hayward et al., 2013). The *sinI* gene coding for an outer membrane protein is only present in ST682 and ST71 but the role of this gene in virulence has not been demonstrated (Kingsley et al., 2003).

All the lineages present a deletion of the genes *SG3012-SG3017* of *S. Gallinarum* 287/91 in the SPI-13, this locus is known to have undergone multiple recombination events in *Salmonella* (Espinoza et al., 2017). The main difference in the SPI structure of the different Derby lineages was the presence of 3 different insertions in this locus. The ST71 presented the SPI-8 at the location of those genes, similarly to *S. Typhi*. The SPI-8 present in the ST71 contained 14 CDS including 2 genes coding for an incomplete T4SS and 2 bacteriocin immunity genes previously identified in *S. Typhi* (Sabbagh et al., 2010). The ST682 presented a partial SPI-8 with 10 CDS including the 2 bacteriocin immunity protein. The ST40 and ST39 possess, at this locus, an insertion of 7 CDS including the *lysR* regulator and a gene coding for an iron reductase. Similar results were reported by Betancor et al. (Betancor et al., 2010) with missing elements of the SPI-13.

ST71 also possesses the SPI-17 from *S. Typhi* with the *gtrA* and *gtrB2* gene involved in LPS O-antigen modification (Singh et al., 2018).

All the lineages present differences in the set of fimbriae operon but those differences seem not been translated in difference of the adhesion capacity for human, porcine and *Gallus Gallus* epithelial cells, during the *in vitro* test. The variation of fimbriae was reported a marker of adaptation to different host ranges we can infer that the differences lineages of *S. Derby* is an evolution to a different set of hosts (Yue et al., 2012) but this hypothesis must be further investigated by different adhesion assays to understand the host range of each *S. Derby* lineages. the complete fimbriome of *S. Derby* remain to be systematically investigated as well as this study focused only of fimbrial adhesion factors present in *S. Typhimurium* or SPI and cannot be considered exhaustive.

As for virulence factors, the most important differences between the lineages of *S. Derby* concern the effector of the T3SS that are located outside of the SPIs. With the *sopE* gene only present in ST40. This gene is involved in the T3SS-1 as the SopE protein mediate invasion by stimulating the membrane ruffling of epithelial cells (Friebel et al., 2001). SopE is also a promoter of intracellular and extracellular inflammation (Ramos-Morales, 2012; Vonaesch et al., 2014) and plays an important role in the early intracellular multiplication of *Salmonella*. The presence of *sopE* could explain the greater invasion capacity of ST40 over ST71 but the similarities in invasion capacity between ST40, ST39 and ST682 have yet to be explained.

The ST682 lacked also the *sopD2* gene and the ST40-ST39 allele of this gene presented important allelic variations compared to the ST71 allele, with an identity of 93% between the two alleles. The variants of the gene *sifA*, *sseJ* and *pipB2* were also important (table 4).

The SifA and SseJ effector synergize together into a complex with the mammalian protein SKIP/RHoA to promote the stabilization of the *Salmonella* Containing Vacuole (SCV) and intracellular multiplication of *Salmonella*. SifA is also known to interact with pipB2 and sopD2 as antagonist (Ramos-Morales, 2012). The allelic variations of those 4 genes could have an important impact on the multiplication of *S. Derby* in macrophages and epithelial cells and thus explain the difference in pathogenicity of the different *S. Derby* lineages.

The impact of the variations of those effectors is beyond the scope of this study but should provide valuable information about the pathogenicity mechanism of *S. Derby*.

Pan genome analysis.

Most of the genetic differences between the lineages correspond to hypothetical proteins, to mobile elements (as phage proteins or genes coding for DNA binding proteins), to membrane proteins or to secondary metabolism genes mostly associated to carbohydrate metabolism. The ST682 and ST39-ST40 also possess an important proportion of specific defense mechanisms. The ST40 and ST39 shared most of their genes in common.

Specific genomic component associated with the different lineages were identified. Most of the genes specific to a lineage was either a hypothetical protein or phage associated genes. The investigation of the phage contents of the different lineages of *S. Derby* could provide valuable information and should be investigated more deeply.

The ST39 is characterized by the presence of the *yehABCD* operon coding for the stc fimbriae. The SGI-1 was also confirmed as the distinctive genomic feature between the clade 1 and 2 of ST40. More interestingly the *sopD2* gene was confirmed to be a distinctive feature between the pork and human associated lineage and the poultry associated lineage ST71.

No significant feature was reported between the pork and clinical *S. Derby* strains apart for gene linked to assembly gaps, confirming the proximity of the human strains with the pork strains.

Conclusion.

The *in vitro* epithelial cells invasion assays demonstrated a hindered invasion capacity for ST71 lineage associated with poultry strains. Genomic analysis demonstrated differences in pan genome and key virulence factors between the different lineages of *Salmonella* Derby and in allelic variations.

Discussion générale et conclusion

***Salmonella* Derby : un sérovar polyphylétique**

Le sérovar Derby est connu pour son association au secteur porcin où il représente l'un des sérovats les plus fréquemment isolés (EFSA, 2009; 2015; 2016; 2017; EFSA and ECDC, 2018). Malgré la prévalence importante de *S. Derby* dans le secteur porcin, et bien que des études récentes aient révélé une forte prévalence de *S. Derby* dans la filière dinde (EFSA 2014; 2015; 2017), aucune disposition n'a été prise au niveau réglementaire pour lutter contre ce sérovar. Cela tient aux difficultés pour le sous-typage de *Salmonella* Derby via les techniques traditionnelles (Valdezate et al., 2005; Kerouanton et al., 2013). Plusieurs études ont mis en évidence l'existence de groupes de *Salmonella* Derby associés à des souches différentes sur de petits jeux de données (Hayward et al., 2016; Zheng et al., 2017) mais aucune étude systématique de la structure de population de *Salmonella* Derby n'avait été entreprise.

L'essor du séquençage de nouvelle génération permet un accès rapide et peu onéreux à de grandes collections de génomes permettant ainsi d'étudier la structure des populations d'un sérovar par WGS. Ces séquences peuvent être rendues publiques sur des bases de données génomiques internationales. Le WGS peut être considéré comme un outil puissant pour le typage de souches bactériennes car il offre un pouvoir de discrimination supérieur aux techniques de typage traditionnelles (Ruppitsch, 2016; Taboada et al., 2017) tout en offrant des informations sur les caractéristiques génétiques des souches étudiées telles que la résistance aux antibiotiques ou le profil des facteurs de virulence (Dunn, 2016).

Question 1 : Quelle est la diversité génétique de *Salmonella* Derby dans les différentes filières françaises ?

Diversité des souches de *S. Derby*. Au cours de ma thèse, j'ai appliqué le WGS et plus particulièrement l'analyse des SNP, à l'étude de la diversité génétique de *S. Derby* en France en comparant les souches des filières porcines et avicoles avec les souches humaines pour les années 2014 et 2015.

La répartition géographique des souches de la collection suivant les filières est détaillée dans l'annexe 8.

Diversité des souches françaises.

L'étude de la diversité génétique de *S. Derby* en France a permis de montrer le caractère polyphylétique de ce sérovar. En France, j'ai pu trouver 4 STs de *Salmonella* Derby : les ST39, ST40, ST71, et ST682. Les souches des ST39 et ST682 présentaient une population homogène.

Le ST71 présente 3 clades statistiquement distincts qui correspondent aux aires de répartition géographique (Amérique du Nord, Asie, Europe) comme présenté sur la **figure 1 de la partie 4.2 des résultats**. Il est présent chez la dinde et le poulet avec notamment la présence d'une lignée de souches multi-résistantes isolées dans la filière dinde en France, en Italie et en Allemagne. Les souches françaises et anglaises issues du poulet comprennent essentiellement des souches multi-sensibles aux antibiotiques testés.

Des souches multirésistantes ont également été identifiées en Asie, porteuses d'un variant du SGI-1, le SGI-A (Beutlich et al., 2011), qui porte des gènes de résistance à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la streptomycine, au sulfomethoxazole et à la tétracycline.

Le ST40 ne présente pas cette répartition géographique, les différents clades se distinguant essentiellement par leurs propriétés génétiques. Le clade 2 du ST40 correspond à la lignée majoritaire et possède un SGI-1 qui lui confère une résistance aux aminosides, sulphonamides et à la tétracycline via les gènes *aadA2*, *sul1* et *tet(A)* ; une potentielle résistance aux ammoniums quaternaires via le gène *qacEdelta1* ainsi que l'opéron de résistance au mercure *merACEPRT*. Le clade 1 du ST40 présente des profils de résistance plus divers.

En considérant les souches alimentaires, ces quatre STs présentent une gamme d'hôtes de prédilection marquée. Les STs 39, 40 et 682 sont isolées majoritairement dans le secteur porcin, là où le ST71 est spécifique du secteur avicole. Si l'on inclut les souches humaines, seule 2% des souches (soit 6 souches au total) correspondent au ST71. Deux de ces souches appartiennent au clade asiatique du ST71 et l'une des deux a pu être reliée à un voyage en Thaïlande (Sévellec et al., 2018c). A l'inverse, 93% des 302 souches humaines appartiennent aux lignes spécifiques de la filière porcine. On peut donc en conclure que la principale source de transmission de *S. Derby* de l'animal à l'homme est le porc : le ST40 constituait la lignée majoritaire tant chez le porc que chez l'humain et le ST71 constituait la lignée majoritaire dans les filières poulet de chair et dinde.

Les souches cliniques incluent également des souches isolées appartenant aux profils ST683, ST2639 et ST3135 retrouvés chez une poignée d'isolats humains à l'international ainsi que 10 souches présentant un profil ST inconnu.

Ces résultats sont difficiles à corréler avec d'autres études car les différentes études sur la diversité génétique de *S. Derby* n'incluaient que des souches issues de l'humain et du porc, ce sérovar étant généralement relié à l'hôte porcin (Valdezate et al., 2005; Hauser et al., 2011; Kerouanton et al., 2013). Ces études ne permettent d'identifier qu'un profil majoritaire dont les caractéristiques d'antibiorésistance correspondent au clade 2 du ST40. En Allemagne ce ST est supplanté par le ST39 (Hauser et al., 2011), les autres STs ne sont mentionnés que de façon sporadique et correspondent à des profils minoritaires ne regroupant qu'une poignée de souches. En Allemagne toujours, le ST682 a été identifié comme responsable d'une épidémie affectant 145 personnes au Brandebourg entre Novembre 2013 et janvier 2014 (Simon et al., 2017).

L'étude de Zheng et al. en Chine a permis d'isoler des souches du ST40 et ST71 dans la filière porcine (Zheng et al., 2017). Les souches du ST40 avaient été retrouvées à toutes les étapes de la filière et chez l'humain tandis que les souches du ST71 collectées étaient limitées aux étapes d'abattage et de vente au détail, aucune souche du ST71 n'étant retrouvée chez l'animal ou chez l'humain. Enfin les souches de *S. Derby* isolées par Betancor et al. en Uruguay, étaient présentes dans les œufs mais n'étaient pas retrouvées chez l'humain dans le même laps de temps (Betancor et al., 2010). Tous ces éléments conduisent à penser à l'existence de lignées plus ou moins virulentes chez *Salmonella* Derby ; les premières pouvant être reliés à la filière porcine et les secondes plutôt à la filière avicole, plus particulièrement aux filières poulet de chair et dinde.

Au niveau de la répartition des souches, aucun lien géographique n'a pu être trouvé entre les différents groupes de souches humaines et non humaines au sein de chaque lignée. Les souches du ST71 sont majoritairement isolées en Bretagne, mais ces résultats ne sont pas surprenants considérant que le bassin de production Ouest, basé essentiellement en Bretagne et en Pays de la Loire, concentre 76% de la production française et 80% des abattages. Quant aux lignées spécifiques de la filière porc, elles sont réparties sur l'ensemble du territoire pour les cas humains.

Ces résultats sont le reflet de l'organisation de la filière porcine en France. En effet, le gros des abattages se concentre sur des structures traitant des volumes importants, souvent de l'ordre de 600 à 800 porcs par heure (IFIP, 2014; Agrimer, 2017), qui traitent l'abattage des animaux mais également la transformation industrielle des carcasses. Des accords existent entre la grande distribution et les abattoirs favorisant la dispersion des lots sur l'ensemble du territoire français.

De nombreuses études ont établi que l'étape d'abattage était une étape critique pour la contamination croisée des animaux et de la viande qui en est issue (Rostagno et al., 2003; Botteldoorn et al., 2004; Sofos, 2008). Une étude récente en Italie a montré une contamination croisée pour 71.5% des carcasses retrouvées positive à *Salmonella* (Fois et al., 2017) les outils de découpe pouvant participer à la contamination croisée des carcasses. La congélation de la viande peut également expliquer la large échelle de temps entre deux isolats reliés entre eux, la salmonelle survivant à la congélation (Chaves et al., 2011).

La **figure 37** illustre ce phénomène par un exemple issu d'un sous-groupe de souches du ST40.

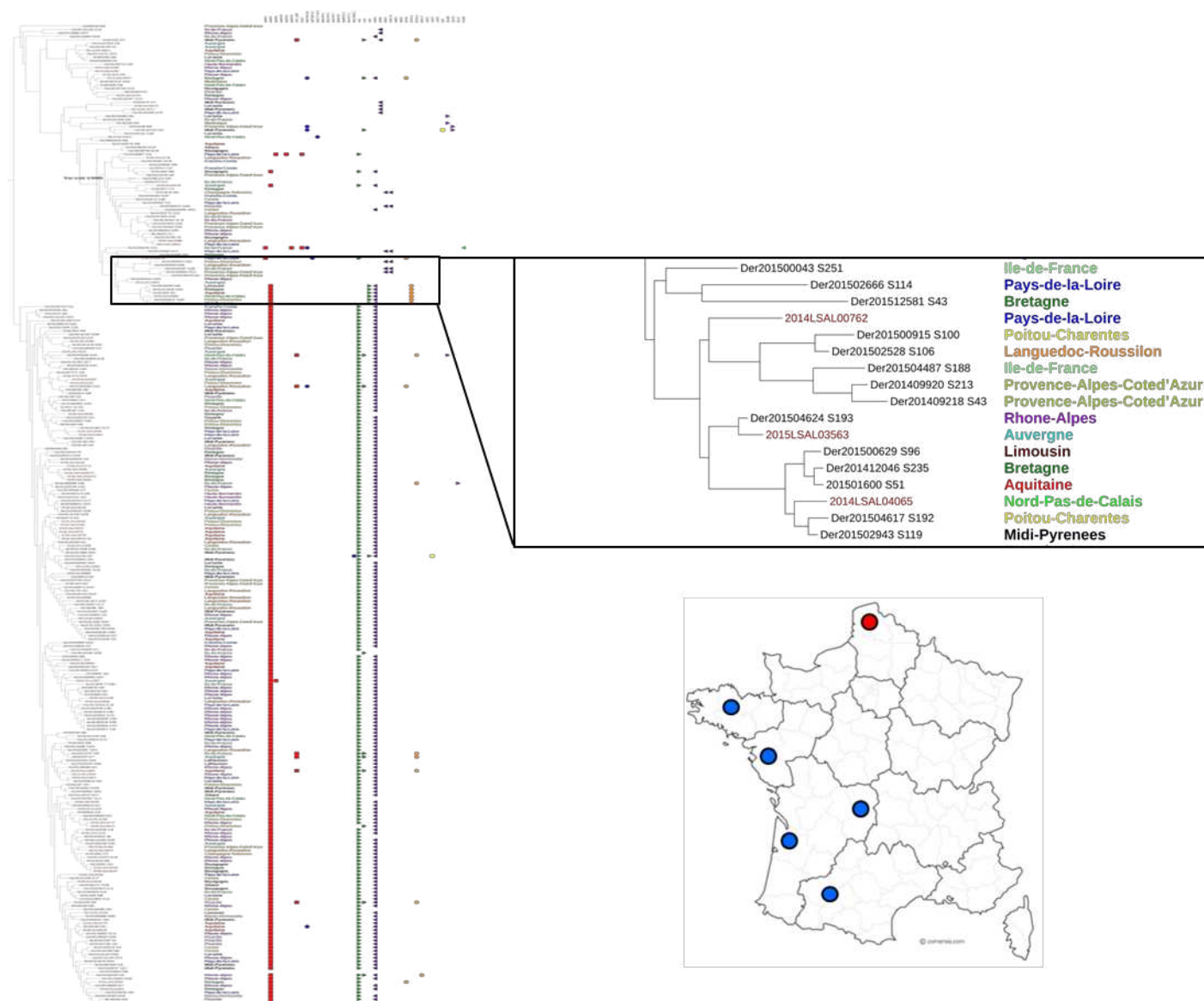


Figure 37. Exemple de source-attribution sur un cluster du clade 1 du ST40.

La souche 2014LSAL04065 issue du porc et isolée depuis une miche au poivre au Pas-de-Calais (en rouge sur la carte) est statistiquement reliée à 5 souches humaines (en bleu) partageant le même profil d'antibiorésistance (STR SMX TET TMP) isolées dans l'Ouest de la France sur la seconde moitié de l'année 2014 et sur l'année 2015.

De même, l'analyse WGS a permis d'isoler en France deux souches appartenant au clade asiatique du ST71 dont une seule a pu être reliée à un voyage ; démontrant la capacité du WGS à discriminer et relier de façon précise et rapide les souches isolées sur le terrain et considérées comme étant à l'origine de cas sporadiques.

Afin d'explorer plus en détail les liens phylogénétiques entre le ST40 et le ST39, il serait nécessaire de construire un nouveau jeu de données incluant des souches historiques et les

celles issues des lignées où *S. Derby* n'a qu'une présence marginale afin d'effectuer une exploration systématique de ces deux ST et de comprendre leur évolution dans le temps.

La répartition des principaux STs au niveau international est encore mal connue. Aucune étude exhaustive n'a, à ma connaissance, pas été entreprise sur le sérovar Derby. L'analyse des souches disponibles dans Enterobase au 29/09/2018 montre que le porc est la lignée majoritaire pour les souches des ST39 et ST40 (respectivement 38/78, 505/1090 souches correspondant à cette source. Le ST71 est quant à lui majoritairement associé à la volaille avec 65/156 souches associées à cette origine. L'origine des souches du ST682 n'a pas été renseignée dans la majorité des cas.

Une étude portant sur la prévalence de *Salmonella* dans les œufs en Uruguay (Amérique du sud) (Betancor et al., 2010) montrait qu'une lignée avirulente de *S. Derby* était le sérovar dominant dans les œufs, mais aucune de ces souches n'ayant été séquencée, leur diversité génétique n'a pas pu être élucidée. Une autre étude de prévalence au Ghana (Afrique) décrit *S. Derby* comme le 3^{ème} sérovar le plus fréquemment isolé chez l'humain (Andoh et al., 2017) mais encore une fois aucune étude génétique ne supporte cette analyse. *S. Derby* semble donc être un sérovar très répandu au niveau mondial et l'élucidation des STs présents en Afrique, Amérique du Sud et en Océanie permettrait d'avoir une vision plus complète de la diversité génomique de ce sérovar et apporterait des informations importantes sur la prévalence des différents STs de *S. Derby* au niveau mondial. Une collection de souches internationales issue d'Enterobase est actuellement en constitution afin d'étudier la diversité de ce sérovar à l'international.

L'étude de la diversité génétique de *Salmonella* Derby en France que j'ai menée au cours de cette thèse rassemble de façon cohérente les résultats entrevus dans les études précédentes (Hauser et al., 2011; Kerouanton et al., 2013; Hayward et al., 2016; Zheng et al., 2017). Elle constitue une base pour une source-attribution rapide des souches de *S. Derby*. Elle souffre cependant d'une fenêtre de temps limitée et du fait qu'elle laisse de côté les souches de *S. Derby* dans les secteurs où la prévalence de ce sérovar est faible, or des souches de ce sérovar ont pu être isolées quoique de façon minoritaire dans d'autres filières d'élevages dans l'environnement et chez les végétaux.

Lors de cette étude, les analyses génomiques ont démontré leur capacité à un sous typage plus détaillé que les techniques de sous-typage de référence. Permettant de mettre en évidence l'existence de populations génétiquement distinctes au sein du même sérovar. Cette nature polphyllétique des sérovares de *Salmonella* a déjà été rencontrée pour le sérovar Newport (Sangal, 2010). Les techniques d'analyses basées sur le WGS permettent de démontrer le fait que certains sérovares regroupent des populations génétiques distinctes et présentant des différences aussi bien dans leur gamme d'hôte que dans leur virulence. Ce constat permet de mesurer l'apport du WGS pour le typage des salmonelles et l'estimation du risque posé par les différentes populations au sein d'un sérovar.

Ce constat met en évidence la nécessité du typage au-delà du sérovar des isolats de *Salmonelles* d'une part et d'autre part la nécessité d'étudier les capacités de virulences des lignées distinctes (Alikhan et al., 2018). Cependant, le WGS reste une technologie demandant des investissements importants et ne saurait à l'heure actuelle se substituer au sérotypage traditionnel (Yachison, 2017). Le typage des salmonelles, basé sur le chemin de sérotypage de Kaufmann White Le Minor (Grimont et al., 2007), est encore reconnu comme le typage de référence à l'international et reste le plus accessible (en terme de coûts et de délai de réponse) aux laboratoires sur le terrain.

Pour appréhender la dynamique des populations de *S. Derby* en France, une étude des souches historiques et des réservoirs minoritaires pour ce sérovar permettrait d'approfondir notre connaissance de ce sérovar et de mieux comprendre la gamme d'hôte de chacune des lignées identifiées ainsi que de découvrir d'éventuelles lignées encore inconnues. A cette fin j'ai participé au montage d'une étude sur la diversité génomique de *S. Derby* au sein de la collection du Réseau *Salmonella*.

Plus de 400 souches issues d'isolements sur tous les secteurs et sur une fenêtre temporelle de dix ans ont été analysées en MLVA. Cette étude a abouti au développement d'une méthode de screening rapide de *S. Derby* (la méthode MLVA) et à l'analyse de l'évolution spatio-temporelle de cet agent pathogène en France. Un article dans lequel je suis 2^{ème} auteur est actuellement en préparation.

Question n°2 : Quel est le potentiel de virulence et la gamme d'hôtes des différentes lignées de *S. Derby* isolées en France ?

Les résultats de cette thèse démontrent une différence en termes de gamme d'hôtes et de virulence entre les différentes lignées de *S. Derby*.

Pour mieux comprendre ces résultats, j'ai effectué une analyse comparative des génomes de ces différentes lignées afin d'établir la virulence et la gamme d'hôte de *S. Derby* par l'étude de facteurs clés de virulence et d'association à l'hôte. Les essais d'invasions cellulaires révèlent une capacité amoindrie des souches du ST71 à envahir la lignée de cellules épithéliales humaines HT-29.

Une étude d'invasion sur des mutants de *S. Typhimurium* a démontré le caractère T3SS-1 dépendant du processus d'invasion sur cette lignée (Roche et al., 2018), les résultats sur les cellules IPEC-1 pour lesquels le T3SS-1 n'est pas un facteur déterminant (Roche et al., 2018) présente des capacités d'invasion similaires chez toutes les lignées de *S. Derby*. On peut donc supposer que la lignée ST71 présente soit un T3SS-1 déficient soit un jeu de facteurs de virulence réduisant sa spécificité à un hôte humain. Afin de valider ces hypothèses, l'expression du T3SS-1 et de ses effecteurs lors de l'invasion des cellules épithéliales pourra

être vérifiée *in vitro* via le marquage de composants du T3SS (Gong et al. , 2010) et de ses principaux effecteur, notamment SopE spécifique du ST40.

L'étude du pan génome révèle que les différentes lignées de *S. Derby* diffèrent notablement par une forte proportion de gènes liés aux phages. L'étude des phages présents dans les différentes lignées permettrait de mieux caractériser les différences génétiques en dehors des facteurs de virulence car des outils de détection des gènes de phage performants et rapides sont disponibles en ligne (Arndt et al., 2016). Cela permettrait de mieux caractériser les différentes lignées de *S. Derby*.

Différences entre les lignées de *S. Derby* au niveau des SPI.

Toutes les lignées de *S. Derby* isolées en France possèdent les SPI-1, -2, -3 -4 -5 et -9 ainsi que des fragments des SPI-6, -11, -12 et du CS54. Les SPI-7, -10, -14, -15, -18 et -19 sont absents chez toutes les lignées de *S. Derby*. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Hayward et al. lors d'une étude sur deux souches du ST40 (Hayward et al., 2013) à l'exception du SPI-12 qui avait été trouvé complet par Hayward et al. mais qui est partiel chez toutes les lignées françaises de *S. Derby*. Les deux gènes du SPI-12 absents chez toutes les lignées françaises codent pour des protéines de phages. Le ST682 ne possède pas un locus additionnel (SC2248) codant pour une protéine hypothétique. Enfin, le SPI-18, qui est présent chez les souches décrites par Hayward et al. est absent chez toutes les lignées françaises.

Les principales différences entre le sérovar Derby dans son ensemble et *S. Typhimurium* au niveau des SPI concerne les SPI-14 et -16, tous deux présents chez *S. Typhimurium* et absents chez *S. Derby*. Le rôle du SPI-14 sur la virulence n'a pas encore été élucidé tandis que le SPI-16 porte des gènes impliqués dans la modification de l'antigène O qui permettent à la salmonelle d'échapper au système immunitaire (Singh et al., 2018). L'absence du SPI-16 impacte la survie à long terme de *Salmonella* dans le système digestif, son absence chez *S. Derby* pourrait expliquer la pathogénicité réduite décrite pour ce sérovar car il serait plus facilement reconnu par le système immunitaire adaptatif de l'hôte ce qui limiterait le portage à long terme de ce sérovar. Les ST40 et ST39 ne possèdent pas non plus l'opéron *lpf* codant pour un fimbriae impliqué dans la formation de biofilm et l'évasion du système immunitaire (Kingsley et al., 2002b; Laniewski et al., 2017), ce qui pourrait renforcer cet effet et expliquer le fait que *S. Derby* ne semble provoquer des toxi-infections collectives que chez des personnes âgées, des enfants et les personnes immunodéprimés (Rubbo, 1948; Simon et al., 2017). Cette hypothèse reste cependant à vérifier car des facteurs de régulation inconnus pourraient remplacer le rôle de ce SPI. Accessoirement, les ST40 et ST39 ont une persistance avérée chez le porc (EFSA, 2009).

Toutes les lignées de *S. Derby* possèdent également le SPI-9 de *S. Typhi* qui code pour un facteur d'adhésion aux cellules épithéliales (Velasquez et al., 2016).

Dans le SPI-6, l'opéron *saf* codant pour un fimbriae est absent ainsi que l'opéron fimbrial *tcf*. Dans le SPI-11, 7 loci sont absents chez toutes les lignées, parmi lesquelles le gène *sopB* ainsi

que 5 protéines hypothétiques et le gène *mppA*. Toutes les souches possèdent les gènes de virulence *pagC*, *pagD* et *msgA* impliqués dans la survie chez les macrophages. La copie du gène *sopB* porté par le SPI-5 est également bien conservée chez toutes les souches. Chez le SPI-12, deux gènes codant pour des protéines de phages sont absents ainsi qu'une protéine hypothétique dans le cas du ST682. Aucun de ces éléments n'a d'impact connu sur la virulence des souches de *Salmonella* (Sabbagh et al., 2010). Toutes les lignées manquent cependant de l'effecteur SspH2 du T3SS-2 porté sur le SPI-12, dont le rôle est encore mal connu (Ramos-Morales, 2012; Singh et al., 2018).

Les principales différences entre les lignées de *S. Derby* en termes de SPI, concernent les SPI-8 et SPI-17 décrits chez *S. Typhi* et le CS54. Le SPI-8 code pour deux protéines d'immunité aux bactériocines (Sabbagh et al., 2010; Singh et al., 2018) qui sont présentes chez les ST682 et ST71 mais absentes chez les ST40 et ST39. L'impact de ces gènes sur la survie dans le milieu intestinal reste à évaluer. Les ST40 et ST39 possèdent un élément d'insertion dans ce même locus incluant une réductase du fer. Le SPI-17 code pour des protéines impliquées dans la modification des LPS.

Les lignées ST40 et ST39 se caractérisent également par la présence du SPI-23 impliqué dans la colonisation de l'intestin chez le porc (Hayward et al., 2013; Hayward et al., 2014), expliquant potentiellement l'affinité de ces deux lignées pour la filière porcine. Aucune différence n'a cependant pu être observée lors des essais d'invasion cellulaire entre les différentes lignées de *S. Derby*.

Le CS54, associé à la colonisation intestinale, n'est complet que chez le ST682. Les ST40, ST39 et ST71 ne possèdent pas le gène *ratB* impliqué dans la virulence de *S. Typhimurium* (Kingsley et al., 2003) en plus des gènes *ratC* et *sinI* dont le rôle est encore mal compris (Hayward et al., 2013). Le ST71 présente en plus une délétion de 802 pb dans le gène *shdA* codant pour un facteur d'adhésion impliqué dans la persistance de *S. Typhimurium*. Cela ne semble pas avoir d'impact sur l'adhésion *in vitro* des différentes lignées de *S. Derby*, mais une capacité de persistance décriée pourrait réduire la pathogénicité des souches. Cependant, les travaux de thèse de Maria Cevallos ont démontré une bonne persistance des lignées de *S. Derby* associé à la filière porcine (Cevallos, 2018). Une étude similaire incluant des souches du ST682 permettrait d'évaluer de manière plus fine les différences dans la persistance des lignées ST682 et ST40-ST39 chez le porc et d'évaluer leur dynamique d'excrétion.

Parmi les SPI retrouvés chez toutes les salmonelles, le SPI-3 est celui qui subi les variations les plus importantes (Amavisit et al., 2003). C'est le cas notamment chez *S. Derby* : les gènes *sugR* et *rhuM* sont remplacés par une insertion déjà décrite pour *S. Derby* (Amavisit et al., 2003) codant pour un opéron fimbrial chez les lignées ST39-40 et ST71 suggérant que cette recombinaison a eu lieu avant la séparation de ces lignées. Chez le ST682, le gène *rhuM* seul est présent. Cette distinction au sein du SPI-3 permet une rapide discrimination de la lignée ST682 des autres lignées françaises. La présence du gène *rhuM* contribue vraisemblablement

à la capacité d'invasion du ST682 comparativement aux autres lignées et plus particulièrement au ST71 (Tenor et al., 2004).

Autres facteurs de virulence.

Les séquences codantes des différents gènes communs à toutes les lignées sont très similaires (identité de plus de 98%) avec ceux portés par les références utilisées pour la comparaison, les différences alléliques concernant la plupart des facteurs de virulences connus sont également faibles entre les différentes lignées de *Salmonella* Derby. De manière générale, les ST40 et ST39 partagent les mêmes allèles pour la plupart des SPI à l'exception du SPI-5 où ils présentent des variations alléliques dans 5 locus sur 8. Ces variations alléliques au sein du SPI-5 constituent un autre facteur permettant de différencier les lignées de *S. Derby* par PCR, même si la méthode reste à implémenter. Les lignées de *S. Derby* présentent cependant des variations importantes pour le gène *sseD* codant pour le transposon du SPI-2 déjà décrit comme un marqueur de la spécificité à l'hôte et jouant un rôle essentiel dans la prolifération de *Salmonella* dans les cellules hôtes (Eswarappa et al., 2008). L'impact des mutations de *sseD* n'a pas été évalué lors de cette thèse mais l'application de la méthodologie décrite par Yue et al. (Yue et al., 2015) pour étudier l'impact des mutations non synonymes sur la conformation de la protéine permettrait de mieux comprendre les préférences d'hôtes des lignées de *S. Derby*.

Au niveau des facteurs d'adhésion, les différentes lignées présentent un jeu différent de facteurs d'adhésions. Mon étude du pan-génome montre que la présence de l'opéron fimbriale *yeh* codant pour les fimbriae *stc* caractérise la lignée ST39 par rapport aux autres lignées et plus particulièrement permet de différencier cette lignée du ST40.

Des études ont démontré que la diversification des facteurs d'adhésion de la salmonelle conduit à une gamme d'hôtes et à la virulence des différents sérovar ou lignées (Weening et al., 2005; Yue et al., 2012; Yue et al., 2015). Toutes les lignées testées de *S. Derby* présentent néanmoins des capacités d'adhésion similaires pour les cellules épithéliales humaines HT-29, porcines IPEC-1 et de poulet LMH. Cependant, ces premiers résultats doivent être confirmés par des essais plus approfondis sur la gamme d'hôtes ainsi que sur l'impact de ces gammes de facteurs d'adhésion sur la persistance de *S. Derby* dans le système digestif de différents hôtes ainsi que leur impact sur la virulence et la transmission des souches.

Les ST39 et ST40 ne possèdent pas l'opéron *lpf* impliqué dans la formation de biofilm. Cela permettrait d'expliquer les différences observées quant à la capacité à former des biofilms des lignées ST40 et ST71 reportée par Hayward et al. (Hayward et al., 2013) où le ST40 s'était révélé incapable de produire des biofilms. Des études similaires avaient démontré une faible capacité de *S. Derby* à former des biofilms mais sans indication sur la lignée des souches incluses dans ces études (Wang et al., 2013). Cela permet de supposer une meilleure adaptation du ST71 à la survie dans l'environnement, confirmé par les observations réalisées sur la persistance de ce sérovar dans les élevages de dinde au Royaume-Uni (Mueller-Doblies

et al., 2014). Cette hypothèse nécessite cependant une confirmation expérimentale dans des conditions proches de celles rencontrées lors des étapes d'abattage et de transformation de la viande (Castelijns et al., 2013; Wang et al., 2013).

La lignée ST682 présente des variations significatives du gène *fimH* codant pour le facteur d'adhésion des fimbriae de type 1, les fimbriae les plus exprimées par *Salmonella*. Yue et al. a démontré un lien fort entre les variations alléliques de *fimH* et l'adaptation à l'hôte (Yue et al., 2015). Le variant de FimH retrouvé chez le ST682 est fortement apparenté à celui des deux sérovars spécialistes du porc : *S. Typhimurium* et *S. Choleraesuis* (Yue et al., 2015; Sévellec et al., 2018a). Cela pourrait expliquer l'affinité du ST682 pour le porc malgré sa forte distance génétique comparée à l'autre lignée de la filière porcine l'ST39-40. On peut émettre l'hypothèse d'une adaptation à l'hôte porcin basée sur deux stratégies différentes : le ST39-40 possédant le SPI-23 présenterait un meilleur tropisme dans l'intestin du porc ce qui lui garantirait une meilleure persistance (Hayward et al., 2014) tandis que le ST682 serait en phase de spécialisation pour l'hôte porcin. L'impact des variations de *fimH* et du SPI-23 *in vivo* ainsi que d'autres facteurs de virulence différenciant ces lignées (tel que celles observées dans le SPI-3 et le CS54) permettrait de mieux comprendre les différents mécanismes d'adaptation à l'hôte de *S. Derby*.

La principale différence entre les lignées de *S. Derby* se retrouve au niveau des effecteurs des T3SS qui ne sont pas portés sur les SPI : le gène *sopE* codant pour un effecteur du T3SS-1 n'est présent que dans le génome des souches du ST40 (Ramos-Morales, 2012). L'impact sur les capacités d'invasion du ST40 pourrait-être évalué en vérifiant l'expression de ce gène pendant l'invasion des cellules par RT-PCR, puis, en induisant des mutations inactivant ce gène et en comparant la capacité d'invasion de la souches sauvage avec ce mutant. L'effecteur SopE joue un rôle important dans l'invasion T3SS-1 dépendante et dans la promotion de la réponse inflammatoire intestinale par *Salmonella* (Friebel et al., 2001; Zhang et al., 2002; Hapfelmeier et al., 2004; Vonaesch et al., 2014), et pourrait expliquer les différences dans les capacités d'invasion observées entre le ST40 et le ST71.

Cependant les lignées ST39 et ST682 ne possèdent pas l'effecteur SopE non plus et une étude de l'impact de SopE sur les capacités d'invasion des différentes lignées de *S. Derby* est nécessaire avant de pouvoir tirer une conclusion définitive à ce sujet.

Les lignées ST682, ST71 et ST39-ST40 présentent également des variations alléliques importantes (avec une identité inférieure à 98 %) sur les gènes codant pour les effecteurs PipB2, SifA, SseJ et SopD2 (absent chez le ST682 à un seuil d'identité à 90%). L'impact des variations alléliques de ces effecteurs reste à évaluer notamment via l'études des capacités de survie des lignées de *S. Derby* chez les macrophages (Velge, 2014).

Tous ces effecteurs interagissent entre eux et jouent un rôle important pour la stabilisation de la VCS et donc pour la survie et la multiplication intra-cellulaire de *Salmonella* (Ramos-Morales, 2012). Leur impact sur la virulence des différentes lignées de *S. Derby* n'a cependant

pas pu être évalué au cours de ma thèse. Des modifications de ces effecteurs pourraient avoir une influence importante sur la virulence des différentes lignées de *S. Derby* qui devront être évaluées afin de comprendre le potentiel pathogène réel des différentes lignées entre elles et par rapport à *S. Typhimurium*.

En conclusion, les différentes lignées de *S. Derby* se différencient substantiellement au niveau des facteurs de virulence et du pan génome avec l'absence ou la présence de gènes impliqués dans la virulence en fonction des lignées. Ces différences peuvent être utilisées pour distinguer entre elles toutes les lignes françaises de *S. Derby* en se concentrant particulièrement sur les SPI-3 (permettant de différencier le ST682 des autres lignées), les SPI-8 et SPI-17 (permettant de différencier le ST71) et SPI-23 (caractéristiques de la lignée ST39-ST40) ainsi que sur les opérons fimbriaux stc (caractéristique du ST39) et les effecteurs SopD2 (absent du ST682) et SopE (caractéristique du ST40). La variation allélique d'effecteurs clés du T3SS-2 impliqué dans la survie intracellulaire de *S. Derby* souligne la nécessité d'évaluer la persistance des différentes lignées de *S. Derby* chez ses hôtes d'une part et, d'autre part, à évaluer leur capacité à survivre dans les macrophages afin de pouvoir comparer de façon exhaustive le potentiel de virulence de chaque lignée comparé à *S. Typhimurium*.

Nos essais d'invasion cellulaires ont révélé une capacité d'invasion atténuée pour les souches du ST71 chez l'humain, ce qui explique la faible proportion des souches issues de la filière volaille observée chez l'humain et confirme une origine porcine des souches cliniques humaines.

Fiche Assurance qualité



Dispositions particulières pour la traçabilité des travaux de recherche	
Laboratoire	Sécurité des Aliments
Unité	Salmonella et Listeria
Activités concernées	Projet DerbyClone

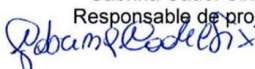
1. Informations à consigner

	Information	Support d'enregistrement	Commentaires
1. Identification du projet	☒ Titre, acronyme ☒ Description ☐ Hypothèses/questions de recherche ☒ Chef de projet ☒ Équipe de recherche associée ☒ Partenaires de recherche associés	LSA-FGE-0117 Désignation du responsable de projet Lettre d'intention, fiches de définition de projet partenaires Cahiers de laboratoire, formulaire de suivi des expérimentations LSA-FGE-0117 Désignation du responsable de projet LSA-FGE-0120 et 0121 Equipe projet et comité de pilotage	X:\DPTMIC\USEL4_Equipe_Salmonella\13_Stagiaires et Thésards\Yann SEVELLEC\Qualité
2. Protocole	☒ Date de début et fin de l'expérimentation ☒ Indication du protocole, du choix de la méthode ☐ Modifications des protocoles standards ☒ Identification du concepteur et/ou manipulateur ☒ Calculs et méthodes de traitement des données ☐ Références des travaux/expérimentations précédents (n° de cahier, pages) ☐ Liens entre les phases de l'expérimentation	LSA-FGE-0118 Planification du projet LSA-FGE-0119 Planning des jalons <u>Type de support utilisé :</u> ☒ Cahiers de laboratoire ☐ LSA-FGE- 0122 Suivi des expérimentations ☐ Méthodes d'analyses : ☐ Autres (procédure, etc.) :	Cahier de laboratoire n°Z026563 Fiches dans : X:\DPTMIC\USEL4_Equipe_Salmonella\13_Stagiaires et Thésards\Yann SEVELLEC\Qualité
3. Ressources (identification, qualification)	☒ Équipements ☒ Réactifs ☒ Échantillons ☐ Environnement (locaux)	LSA-FGE-0116 liste récapitulative des matériels utilisés dans le projet et suivi métrologique <u>Type de support utilisé :</u> ☒ Cahiers de laboratoire ☐ LSA-FGE- 0122 Suivi des expérimentations ☐ Méthodes d'analyses : ☐ Liste des consommables utilisés ☐ Autres (procédure, etc.) :	Cahier de laboratoire n°Z026563 Fiches dans : X:\DPTMIC\USEL4_Equipe_Salmonella\13_Stagiaires et Thésards\Yann SEVELLEC\Qualité
4. Mesures	☐ Relevés de mesures ☐ Valeurs de réglages, conditions opératoires ☒ Références et localisation de documents, photos, fichiers, données liées ☒ Description du déroulement des manipulations, même si elles n'ont pas abouti (fausses pistes) ☒ Faits et observations marquants ou inhabituels	<u>Type de support utilisé :</u> ☒ Cahiers de laboratoire ☐ LSA-FGE- 0122 Suivi des expérimentations ☐ Formulaires de suivi analytique : ☐ Autres (procédure, etc.) :	Cahier de laboratoire n°Z026563

5. Analyses	☐ Interprétations et commentaires sur les résultats obtenus (confirmations, non-confirmations, controverses) ☒ Nouvelles hypothèses de travail (idées, pistes, astuces ou résultats de réflexions collectives) ☒ Critique des résultats et idées d'amélioration	<u>Type de support utilisé :</u> ☒ Cahiers de laboratoire ☐ LSA-FGE- 0122 Suivi des expérimentations ☒ Compte-rendu de réunion (comité de pilotage1 et 2, compte-rendu copil 1 et 2) ☒ Autres (procédure, etc.) : Publications Sévellec et al., 2018a et 2018b	Cahier de laboratoire n°Z026563 ; Compte-rendu de réunions COPIL : X:\DPTMIC\USEL4_Equipe_Salmonella\13_Stagiaires et Thésards\Yann SEVELLEC\Qualité
6. Autres éléments	☐ Compétence des personnels ☒ Bilan et diffusion des connaissances ☐ Assurance Qualité d'un partenaire de projet	☐ Programme d'habilitation : ☐ Autre (procédure, etc.) : ☐ LSA-FGE-0127 Valorisation ☒ Rapport final / mémoire ☐ Dossier de validation de méthodes ☒ Publication ☐ Autres :	Compte-rendu de réunions COPIL et publications : X:\DPTMIC\USEL4_Equipe_Salmonella\13_Stagiaires et Thésards\Yann SEVELLEC\Qualité

2. Règles d'enregistrements

	Finalité	Moyens	Dispositions spécifiques
1	Donner confiance dans la réalité des enregistrements	Faire intervenir un témoin ☒ désigné ☐ qui atteste ce qu'il a examiné ☐ à des moments définis	Le chef de projet est identifié via la fiche de nomination de projet LSA-FGE-0117 Nomination du chef de projet Types de supports à signer : ☒ Cahiers de laboratoire ☐ Formulaire de suivi des expérimentations (LSA-FGE-0122) ☐ Autre : Périodicité définie dans le formulaire de nomination de chef de projet LSA-FGE-0117 Périodicité prévue : hebdomadaire en fonction des besoins
2	Donner confiance dans l'authenticité des enregistrements	☒ Papier : signature ☒ Papier : règles d'écriture ☒ Informatique : identifiant ☒ Informatique : sécurisation des contenus ☐ Dispositif d'authentification complémentaire	Le rédacteur indique son nom sur les formulaires renseignés ou sur le cahier (en début si un seul rédacteur ou à chaque expérimentation/manipulation si plusieurs rédacteurs). L'utilisation du blanc correcteur est interdite. Toute modification a posteriori (rajouts ou correction) est visée et datée. - utiliser une encre indélébile. Les corrections doivent être clairement barrées afin de rester lisibles. - signaler, dater, signer tout ajout ou modification. - ne pas arracher de pages - signaler tout saut de page ou page blanche intentionnelle par un trait en travers de la page - ne pas laisser d'espaces vides (susceptibles d'être remplis après signature) Cf. charte informatique, login individuel Cf. engagement de confidentialité signé LSA-FGE-0005 Sauvegarde journalière sur réseau Cf. Procédure ANSES/PG/0070 « dispositions de sauvegarde »
3	Donner confiance dans le rattachement des documents joints	☒ Rattachement des documents (papier photos, graphiques,...)	X:\DPTMIC\USEL4_Equipe_Salmonella\13_Stagiaires et Thésards\Yann SEVELLEC

		☒ Rattachement des documents informatiques	sas-vp-nasbio1\PROJETS\Salmonella\DERBYCLONE Y:\LS-Aliments\CEB\Bionumerics\2-Bases courantes sansiege4\derbyclone_genemap
4	Faciliter la lecture des enregistrements	☒ Mention des sigles et acronymes ☐ Utilisation de sommaires	Page dédiée en début de cahier
5	Maîtriser l'accès aux informations	☒ Consultation des données par des tiers / envoi de copies de données ☒ Envoi de données hors du laboratoire ☐ Dispositions particulières liées à la nature des données détenues	Selon la convention collaboration scientifique ANSES/IP/IFIP - données informatique : cf. charte informatique et recommandations de la DTI
6	Conserver les informations	☒ Conservation des enregistrements papier ☒ Conservation des enregistrements informatiques	- lieu de conservation : bureau 213 - durée de conservation : 5 ans - durée de conservation : 5 ans
7	Donner l'assurance de la maîtrise de la traçabilité	☐ Organisation des enregistrements ☐ Réalisation d'audits internes	Deux réunions ont été organisées : l'une au démarrage du projet DerbyClone pour présenter le système qualité et les démarches à suivre (novembre 2015), l'autre le mois de septembre 2018 pour parcourir et vérifier les démarches qualité suivies.
Le		Le 12/10/2018	Le 12/10/2018
SANS OBJET Nom du signataire, Directeur du laboratoire		Sabrina Cadel-Six, Responsable de projet 	 Mistor Michel-Yves, Chef de département

RAPPORT QUALITE POUR UN MEMOIRE DE THESE

Le laboratoire de sécurité des aliments de l'Anses a progressivement déployé une démarche d'assurance qualité pour l'ensemble de ses activités de référence et de recherche. Pour cela, il s'est doté d'une mission *Qualité* et a nommé un responsable Qualité. Dans le cadre de ses activités d'appui scientifique auprès des tutelles et de ses mandats nationaux et européens de référence, le laboratoire a mis en place un management de la qualité et est accrédité par le COFRAC selon le référentiel NF EN ISO 17025 pour un ensemble de programmes « Essais » correspondant à ses activités d'analyse de contaminants microbiologiques et physico-chimiques dans les aliments (Accréditation essais N° 1-2246 pour le site d'Alfort et portée 1-5959 pour le site de Boulogne/Mer – cf. portée disponible sur www.cofrac.fr). Plus récemment, le laboratoire a entrepris une démarche de qualité en recherche et a suivi en cela les recommandations de la commission AFNOR sur l'assurance qualité en recherche (référentiel : NF X50-553 Juillet 2014-*Management des activités de recherche*). Un système de management a été mis en place et s'applique ainsi à l'ensemble des activités du laboratoire, y compris aux travaux de thèse. Les dispositions pour la conduite et la traçabilité des travaux de recherche sont plus spécifiquement définies dans un plan Qualité recherche (PQ R) auquel les unités accueillant des doctorants doivent se référer. Une animation qualité est assurée par les missions *Qualité* et *Soutien et Valorisation de la recherche* et un programme d'audits internes pouvant inclure l'audit de travaux de thèse est établi chaque année.

Le présent rapport qualité décrit l'environnement qualité entourant la réalisation de la thèse, la sensibilisation du doctorant à la démarche qualité et son implication dans la mise en place de la traçabilité des travaux de thèse. La fiche Anses PR3_A_01-02 « *Dispositions particulières pour la traçabilité des travaux de recherche* » placée en annexe est un document qualité du laboratoire qui objective le travail de traçabilité effectué par le doctorant tout au long de son projet de thèse. Le rapport qualité ne concerne que les travaux réalisés à l'Anses.

Acronyme Thèse	DerbyClone
Sujet de Thèse	Typage moléculaire à haute résolution de <i>Salmonella enterica</i> sérotype Derby isolée de l'animal à l'homme
Unité d'accueil	ANSES-Laboratoire de sécurité des aliments (<i>Directeur</i> : L. Laloux), Département Microbiologie (Chef de département : M-Y Mistou), Unité <i>Salmonella</i> et <i>Listeria</i> (Chef d'Unité : J-C Leblanc), équipe Recherche (responsable d'équipe : L. Guillier)
Date début de thèse	01/11/2015
Direction de thèse	M-Y Mistou (titulaire HDR), chef du département de microbiologie
Co-encadrant	S Cadel-Six, chef projet <i>Salmonella</i> au sein de l'Unité <i>Salmonella</i> et <i>Listeria</i>
Ecole doctorale	ABIES
Comité de pilotage	Voir la fiche : F MQ R VII.05 - Composition du comité de pilotage_DerbyClone.docx

Initiation à l'assurance Qualité (ex. entretien, formation, appropriation du système qualité, personnes rencontrées ; habilitation technique le cas échéant...)

Entretiens avec la correspondante qualité de l'unité ainsi qu'avec la directrice de la recherche scientifique du laboratoire dès mon arrivée au laboratoire en Novembre 2015 et à la fin de thèse en Septembre 2018.

Environnement Qualité (unité ou analyses sous accréditation Cofrac, échanges avec le CQ, séminaires d'animation, autres points remarquables...)

Nous avons fait des point bimensuel avec l'encadrante de la thèse

Organisation de la traçabilité du projet de thèse (utilisation de la documentation qualité ; placer en annexe fiche Anses PR3_A_01-02 : présenter brièvement le contenu de la fiche ; autres points remarquables en relation avec le sujet de thèse ...)

Cahier de laboratoire numéro Z026563 les documents qualité sont dans le dossier:
 X:\DPTMIC\USEL4_Equipe_Salmonella\13_Stagiaires et Thésards\Yann SEVELLEC\Qualité

Anses LSAI	FORMULAIRE LSA-FGE-0386 (LSA-MM-0003 – Plan Qualité Recherche)	Révision	00	1/2
---------------	---	----------	----	-----

Analyse/conclusion de la conduite du projet de thèse en termes de traçabilité (facilité et/ou difficultés rencontrées)

La démarche de traçabilité a été appliquée en routine, ce qui facilite grandement l'organisation de la thèse et la rédaction du mémoire.

La thèse a-t-elle fait l'objet d'un audit interne ?

☐ Oui

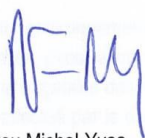
☒ Non

▪ Date :

▪ Auditeurs :

Quelles en ont été les principales conclusions ? (ou joindre une copie des conclusions du rapport d'audit)

Fait à Maisons-Alfort, le 16/10/2018



Mistou Michel-Yves

Directeur de thèse

Anses-Laboratoire de sécurité des aliments



Sévellec Yann

Doctorant

Anses-Laboratoire de sécurité des aliments

Anses LSAI	FORMULAIRE LSA-FGE-0386 (LSA-MM-0003 – Plan Qualité Recherche)	Révision	00	2/2
---------------	---	----------	----	-----

Références

- Achtman, M., Wain, J., Weill, F.X., Nair, S., Zhou, Z., Sangal, V., et al. (2012). Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in *Salmonella enterica*. *PLoS Pathog* 8(6), e1002776. doi: 10.1371/journal.ppat.1002776.
- Acuna-Soto, R., Stahle, D.W., Cleaveland, M.K., and Therrell, M.D. (2002). Megadrought and Megadeath in 16th Century Mexico. *Emerging Infectious Diseases* 8(4), 360-362. doi: 10.3201/eid0804.010175.
- Agrimer, F. (2017). *Les fiches de FranceAgriMer élevage filière porc* [Online]. Available: <http://www.franceagrimer.fr/fam/content/download/55683/538388/file/fiche%20porcine.pdf> [Accessed 27/08/2018 2018].
- Alikhan, N.-F., Zhou, Z., Sergeant, M.J., and Achtman, M. (2018). A genomic overview of the population structure of *Salmonella*. *PLOS Genetics* 14(4), e1007261. doi: 10.1371/journal.pgen.1007261.
- Allard, M.W., Strain, E., Melka, D., Bunning, K., Musser, S.M., Brown, E.W., et al. (2016). Practical Value of Food Pathogen Traceability through Building a Whole-Genome Sequencing Network and Database. *J Clin Microbiol* 54(8), 1975-1983. doi: 10.1128/jcm.00081-16.
- Amar, C.F., Arnold, C., Bankier, A., Dear, P.H., Guerra, B., Hopkins, K.L., et al. (2008). Real-time PCRs and fingerprinting assays for the detection and characterization of *Salmonella* Genomic Island-1 encoding multidrug resistance: application to 445 European isolates of *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Shigella*, and *Proteus*. *Microb Drug Resist* 14(2), 79-92. doi: 10.1089/mdr.2008.0812.
- Amavisit, P., Lightfoot, D., Browning, G.F., and Markham, P.F. (2003). Variation between pathogenic serovars within *Salmonella* pathogenicity islands. *Journal of bacteriology* 185(12), 3624-3635. doi: 10.1128/jb.185.12.3624-3635.2003.
- Ammon, A., and Tauxe, R.V. (2007). Investigation of multi-national foodborne outbreaks in Europe: some challenges remain. *Epidemiol Infect* 135(6), 887-889. doi: 10.1017/s0950268807008898.
- Andino, A., and Hanning, I. (2015). *Salmonella enterica*: survival, colonization, and virulence differences among serovars. *ScientificWorldJournal* 2015, 520179. doi: 10.1155/2015/520179.
- Andoh, L.A., Ahmed, S., Olsen, J.E., Obiri-Danso, K., Newman, M.J., Opintan, J.A., et al. (2017). Prevalence and characterization of *Salmonella* among humans in Ghana. *Tropical Medicine and Health* 45(1), 3. doi: 10.1186/s41182-017-0043-z.
- Anjum, M.F., Marooney, C., Fookes, M., Baker, S., Dougan, G., Ivens, A., et al. (2005). Identification of Core and Variable Components of the *Salmonella enterica* Subspecies I Genome by Microarray. *Infection and Immunity* 73(12), 7894-7905. doi: 10.1128/IAI.73.12.7894-7905.2005.
- Anonymous (2009). *procédure sérotypage de Salmonella* [Online]. Available: <http://www.techmicrobio.eu/index.php/53-maq/accueil/236-m4006-serogroupe-des-salmonella> [Accessed 12/08/2018 2018].
- Anonymous (2018). *Assembly of type 1 pili from Escherichia coli* [Online]. Available: <http://www.glockshubergroup.ethz.ch/research/fim-project.html> [Accessed 15/03/2018 2018].

- Ao, T.T., Feasey, N.A., Gordon, M.A., Keddy, K.H., Angulo, F.J., and Crump, J.A. (2015). Global burden of invasive nontyphoidal *Salmonella* disease, 2010. *Emerg Infect Dis* 21(6). doi: 10.3201/eid2106.140999.
- Arndt, D., Grant, J.R., Marcu, A., Sajed, T., Pon, A., Liang, Y., et al. (2016). PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool. *Nucleic Acids Res* 44(W1), W16-21. doi: 10.1093/nar/gkw387.
- Ashton, P.M., Nair, S., Peters, T.M., Bale, J.A., Powell, D.G., Painset, A., et al. (2016). Identification of *Salmonella* for public health surveillance using whole genome sequencing. *PeerJ* 4, e1752. doi: 10.7717/peerj.1752.
- Baker-Austin, C., Wright, M.S., Stepanauskas, R., and McArthur, J.V. (2006). Co-selection of antibiotic and metal resistance. *Trends in Microbiology* 14(4), 176-182. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2006.02.006>.
- Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A.A., Dvorkin, M., Kulikov, A.S., et al. (2012). SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol* 19(5), 455-477. doi: 10.1089/cmb.2012.0021.
- Barlag, B., and Hensel, M. (2015). The giant adhesin SiiE of *Salmonella* enterica. *Molecules* 20(1), 1134-1150. doi: 10.3390/molecules20011134.
- Barrangou, R., Fremaux, C., Deveau, H., Richards, M., Boyaval, P., Moineau, S., et al. (2007). CRISPR Provides Acquired Resistance Against Viruses in Prokaryotes. *Science* 315(5819), 1709-1712. doi: 10.1126/science.1138140.
- Barth, S., and Bauerfeind, R. (2005). [Virulence plasmids of *Salmonella* enterica--incidence and properties]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 118(1-2), 8-23.
- Bäumler, A., and Fang, F.C. (2013). Host Specificity of Bacterial Pathogens. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 3(12), a010041. doi: 10.1101/cshperspect.a010041.
- Baumler, A.J., Tsolis, R.M., Ficht, T.A., and Adams, L.G. (1998). Evolution of host adaptation in *Salmonella* enterica. *Infect Immun* 66(10), 4579-4587.
- Bäumler, A.J., Tsolis, R.M., and Heffron, F. (1996). The lpf fimbrial operon mediates adhesion of *Salmonella* typhimurium to murine Peyer's patches. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93(1), 279-283. doi: 10.1073/pnas.93.1.279.
- Betancor, L., Pereira, M., Martinez, A., Giossa, G., Fookes, M., Flores, K., et al. (2010). Prevalence of *Salmonella* enterica in poultry and eggs in Uruguay during an epidemic due to *Salmonella* enterica serovar Enteritidis. *J Clin Microbiol* 48(7), 2413-2423. doi: 10.1128/jcm.02137-09.
- Beutlich, J., Jahn, S., Malorny, B., Hauser, E., Huhn, S., Schroeter, A., et al. (2011). Antimicrobial resistance and virulence determinants in European *Salmonella* genomic island 1-positive *Salmonella enterica* isolates from different origins. *Appl Environ Microbiol* 77(16), 5655-5664. doi: 10.1128/aem.00425-11.
- Blumer, C., Kleefeld, A., Lehnen, D., Heintz, M., Dobrindt, U., Nagy, G., et al. (2005). Regulation of type 1 fimbriae synthesis and biofilm formation by the transcriptional regulator LrhA of *Escherichia coli*. *Microbiology* 151(Pt 10), 3287-3298. doi: 10.1099/mic.0.28098-0.
- Bollet, A.J. (2002). *Civil War Medicine: Challenges and Triumphs*,. Tuscon, Montana: Galen Press (ed.),.
- Bonardi, S. (2017). *Salmonella* in the pork production chain and its impact on human health in the European Union. *Epidemiol Infect* 145(8), 1513-1526. doi: 10.1017/s095026881700036x.

- Boumart, Z., Velge, P. & Wiedemann, A. (2014). Multiple invasion mechanisms and different intracellular Behaviors: a new vision of *Salmonella*–host cell interaction. *FEMS Microbiol Lett* 361, 1–7. doi: 10.1111/1574-6968.12614
- Botteldoorn, N., Herman, L., Rijpens, N., and Heyndrickx, M. (2004). Phenotypic and molecular typing of *Salmonella* strains reveals different contamination sources in two commercial pig slaughterhouses. *Appl Environ Microbiol* 70(9), 5305-5314. doi: 10.1128/AEM.70.9.5305-5314.2004.
- Boyd, D., Peters, G.A., Cloeckaert, A., Boumedine, K.S., Chaslus-Dancla, E., Imberechts, H., et al. (2001). Complete nucleotide sequence of a 43-kilobase genomic island associated with the multidrug resistance region of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 and its identification in phage type DT120 and serovar Agona. *J Bacteriol* 183(19), 5725-5732. doi: 10.1128/jb.183.19.5725-5732.2001.
- Brandl, M.T. (2006). Fitness of human enteric pathogens on plants and implications for food safety. *Annu Rev Phytopathol* 44, 367-392. doi: 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143359.
- Brenner, F.W., Villar, R.G., Angulo, F.J., Tauxe, R., and Swaminathan, B. (2000). *Salmonella* nomenclature. *J Clin Microbiol* 38(7), 2465-2467.
- Brown, E.D., and Wright, G.D. (2016). Antibacterial drug discovery in the resistance era. *Nature* 529, 336. doi: 10.1038/nature17042.
- Brown, S.M. (2016). *Sequencing-by-Synthesis: Explaining the Illumina Sequencing Technology* [Online]. Available: <https://bitesizebio.com/13546/sequencing-by-synthesis-explaining-the-illumina-sequencing-technology/> [Accessed 12/07/2018 2018].
- Brynildsrud, O., Bohlin, J., Scheffer, L., and Eldholm, V. (2016). Rapid scoring of genes in microbial pan-genome-wide association studies with Scoary. *Genome Biology* 17(1), 238. doi: 10.1186/s13059-016-1108-8.
- Cai, Y., Tao, J., Jiao, Y., Fei, X., Zhou, L., Wang, Y., et al. (2016). Phenotypic characteristics and genotypic correlation between *Salmonella* isolates from a slaughterhouse and retail markets in Yangzhou, China. *Int J Food Microbiol* 222, 56-64. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.020.
- Carattoli, A. (2003). Plasmid-mediated antimicrobial resistance in *Salmonella enterica*. *Curr Issues Mol Biol* 5(4), 113-122.
- Carattoli, A. (2013). Plasmids and the spread of resistance. *Int J Med Microbiol* 303(6-7), 298-304. doi: 10.1016/j.ijmm.2013.02.001.
- Castelijn, G.A.A., Parabirsing, J.-A., Zwietering, M.H., Moezelaar, R., and Abee, T. (2013). Surface behaviour of *S. Typhimurium*, *S. Derby*, *S. Brandenburg* and *S. Infantis*. *Veterinary Microbiology* 161(3), 305-314. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.07.047>.
- CDC (2013). *Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE)* [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/pulsenet/pathogens/pfge.html> [Accessed 2018].
- CDC (2016). *Typhoid fever -symptoms and treatment* [Online]. CDC. Available: <https://www.cdc.gov/typhoid-fever/symptoms.html> [Accessed 60/06/2018 2018].
- CDC (2017). "National Enteric Disease Surveillance: *Salmonella* Annual Report, 2015", (ed.) CDC.).
- Cevallos, M. (2018). *Salmonella en filière porcine : dynamique d'infection, pouvoir colonisateur et virulence*. UNIVERSITÉ DE RENNES 1.
- CGAAER (2012). "Bilan Diagnostic des bassins de production de volailles de chair", (ed.) CGAAER.).

- Chaves, B.D., Han, I.Y., Dawson, P.L., and Northcutt, J.K. (2011). Survival of artificially inoculated *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium on the surface of raw poultry products subjected to crust freezing. *Poultry Science* 90(12), 2874-2878. doi: 10.3382/ps.2011-01640.
- Chen, L., Xiong, Z., Sun, L., Yang, J., and Jin, Q. (2012). VFDB 2012 update: toward the genetic diversity and molecular evolution of bacterial virulence factors. *Nucleic Acids Research* 40(D1), D641-D645. doi: 10.1093/nar/gkr989.
- Cianfanelli, F.R., Monlezun, L., and Coulthurst, S.J. (2016). Aim, Load, Fire: The Type VI Secretion System, a Bacterial Nanoweapon. *Trends in Microbiology* 24(1), 51-62. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.10.005>.
- CLSI (2015). "Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard-twelfth Edition. CLSI document M02-A12". (Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute).
- CLSI (2016). "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 26th ed. CLSI supplement M100S". (Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute).
- Cogan, T.A., and Humphrey, T.J. (2003). The rise and fall of *Salmonella* Enteritidis in the UK. *Journal of Applied Microbiology* 94(s1), 114-119. doi: doi:10.1046/j.1365-2672.94.s1.13.x.
- Costa, T.R.D., Felisberto-Rodrigues, C., Meir, A., Prevost, M.S., Redzej, A., Trokter, M., et al. (2015). Secretion systems in Gram-negative bacteria: structural and mechanistic insights. *Nature Reviews Microbiology* 13, 343. doi: 10.1038/nrmicro3456.
- Crump, J.A., and Mintz, E.D. (2010). Global Trends in Typhoid and Paratyphoid Fever. *Clinical Infectious Diseases* 50(2), 241-246. doi: 10.1086/649541.
- Cui, S., Li, J., Sun, Z., Hu, C., Jin, S., Li, F., et al. (2009). Characterization of *Salmonella* enterica isolates from infants and toddlers in Wuhan, China. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 63(1), 87-94. doi: 10.1093/jac/dkn452.
- D'Aoust, J.-Y. (1994). *Salmonella* and the international food trade. *International Journal of Food Microbiology* 24(1), 11-31. doi: [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90103-1](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90103-1).
- D'Aoust, J.Y. (1991). Pathogenicity of foodborne *Salmonella*. *Int J Food Microbiol* 12(1), 17-40.
- Dalebroux, Z.D., and Miller, S.I. (2014). *Salmonellae* PhoPQ regulation of the outer membrane to resist innate immunity. *Curr Opin Microbiol* 17, 106-113. doi: 10.1016/j.mib.2013.12.005.
- David, J., Danan, C., Chauvin, C., Chazel, M., Souillard, R., Brisabois, A., et al. (2011). *Structure of the French farm-to-table surveillance system for Salmonella*.
- David, J.M., Sanders, P., Bemrah, N., Granier, S.A., Denis, M., Weill, F.X., et al. (2013). Attribution of the French human Salmonellosis cases to the main food-sources according to the type of surveillance data. *Preventive Veterinary Medicine* 110(1), 12-27. doi: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.02.002>.
- de Jong, H.K., Parry, C.M., van der Poll, T., and Wiersinga, W.J. (2012). Host-pathogen interaction in invasive Salmonellosis. *PLoS Pathog* 8(10), e1002933. doi: 10.1371/journal.ppat.1002933.
- Deng, W., Marshall, N.C., Rowland, J.L., McCoy, J.M., Worrall, L.J., Santos, A.S., et al. (2017a). Assembly, structure, function and regulation of type III secretion systems. *Nature Reviews Microbiology* 15, 323. doi: 10.1038/nrmicro.2017.20.
- Deng, W., Quan, Y., Yang, S., Guo, L., Zhang, X., Liu, S., et al. (2017b). Antibiotic Resistance in *Salmonella* from Retail Foods of Animal Origin and Its Association with Disinfectant and

- Heavy Metal Resistance. *Microbial Drug Resistance* 24(6), 782-791. doi: 10.1089/mdr.2017.0127.
- Denis, M., Houard, E., Fablet, A., Rouxel, S., and Salvat, G. (2013). Distribution of serotypes and genotypes of *Salmonella enterica* species in French pig production. *Vet Rec* 173(15), 370. doi: 10.1136/vr.101901.
- DGAI (2014). bilan 2014 des plans de surveillance et de contrôle. *Surveillance sanitaire des denrées animales et végétales en France*, 69-74.
- DGAI (2015). bilan 2015 des plans de surveillance et de contrôle. *Surveillance sanitaire des denrées animales et végétales en France*, 112-125.
- Doolittle, R.F., Feng, D.-F., Tsang, S., Cho, G., and Little, E. (1996). Determining Divergence Times of the Major Kingdoms of Living Organisms with a Protein Clock. *Science* 271(5248), 470-477. doi: 10.1126/science.271.5248.470.
- Dorsey, C.W., Laarakker, M.C., Humphries, A.D., Weening, E.H., and Baumler, A.J. (2005). *Salmonella enterica* serotype Typhimurium MisL is an intestinal colonization factor that binds fibronectin. *Mol Microbiol* 57(1), 196-211. doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.04666.x.
- Doublet, B., Boyd, D., Mulvey, M.R., and Cloeckaert, A. (2005). The *Salmonella* genomic island 1 is an integrative mobilizable element. *Mol Microbiol* 55(6), 1911-1924. doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.04520.x.
- Dunn, J.R. (2016). Whole-Genome Sequencing: Opportunities and Challenges for Public Health, Food-borne Outbreak Investigations, and the Global Food Supply. *The Journal of Infectious Diseases* 213(4), 499-501. doi: 10.1093/infdis/jiv298.
- ECDC (2016). " ECDC roadmap for integration of molecular and genomic typing into European-level surveillance and epidemic preparedness – Version 2.1, 2016-19. ", (ed.) ECDC. (Stockholm).
- EFSA (2008). Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs, in the EU, 2006–2007 - Part A: *Salmonella* prevalence estimates. *EFSA Journal* 6(6), 135r-n/a. doi: 10.2903/j.efsa.2008.135r.
- EFSA (2009). Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in holdings with breeding pigs in the EU, 2008 - Part A: *Salmonella* prevalence estimates. *EFSA Journal* 7(12), 1377-n/a. doi: 10.2903/j.efsa.2009.1377.
- EFSA (2014). *Les zoonoses expliquées par l'EFSA - Salmonella* [Online]. Available: https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/factsheet_salmonellafr.pdf [Accessed 09/07/2018 2018].
- EFSA (2015). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. *EFSA Journal* 13(12), 4329-n/a. doi: 10.2903/j.efsa.2015.4329.
- EFSA (2016). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal* 14(12), e04634-n/a. doi: 10.2903/j.efsa.2016.4634.
- EFSA (2017). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal* 15(12), e05077. doi: doi:10.2903/j.efsa.2017.5077.
- EFSA, and ECDC (2018). The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016. *EFSA Journal* 16, 5182. doi: 10.2903/j.efsa.2018.5182.

- Ellington, M.J., Ekelund, O., Aarestrup, F.M., Canton, R., Doumith, M., Giske, C., et al. (2017). The role of whole genome sequencing in antimicrobial susceptibility testing of bacteria: report from the EUCAST Subcommittee. *Clinical Microbiology and Infection* 23(1), 2-22. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.11.012>.
- Ercsey-Ravasz, M., Toroczkai, Z., Lakner, Z., and Baranyi, J. (2012). Complexity of the International Agro-Food Trade Network and Its Impact on Food Safety. *PLOS ONE* 7(5), e37810. doi: 10.1371/journal.pone.0037810.
- Espinoza, R.A., Silva-Valenzuela, C.A., Amaya, F.A., Urrutia, Í.M., Contreras, I., and Santiviago, C.A. (2017). Differential roles for pathogenicity islands SPI-13 and SPI-8 in the interaction of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhi with murine and human macrophages. *Biological Research* 50, 5. doi: 10.1186/s40659-017-0109-8.
- Eswarappa, S.M., Janice, J., Nagarajan, A.G., Balasundaram, S.V., Karnam, G., Dixit, N.M., et al. (2008). Differentially evolved genes of *Salmonella* pathogenicity islands: insights into the mechanism of host specificity in *Salmonella*. *PLoS One* 3(12), e3829. doi: 10.1371/journal.pone.0003829.
- Evangelopoulou, G.D., Bourriel, A., and Spyrou, V. (2018). *A concise history of Salmonella spp. nomenclature*.
- Fabre, L., Zhang, J., Guigon, G., Le Hello, S., Guibert, V., Accou-Demartin, M., et al. (2012). CRISPR Typing and Subtyping for Improved Laboratory Surveillance of *Salmonella* Infections. *PLoS ONE* 7(5), e36995. doi: 10.1371/journal.pone.0036995.
- Feasey, N.A., Dougan, G., Kingsley, R.A., Heyderman, R.S., and Gordon, M.A. (2012). Invasive non-typhoidal *salmonella* disease: an emerging and neglected tropical disease in Africa. *Lancet* 379(9835), 2489-2499. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61752-2.
- Felsenfeld, O., and Young, V.M. (1947). The geography of *salmonella*. *The American Journal of Digestive Diseases* 14(2), 47-52. doi: 10.1007/BF03001481.
- Felten, A., Vila Nova, M., Durimel, K., Guillier, L., Mistou, M.-Y., and Radomski, N. (2017). First gene-ontology enrichment analysis based on bacterial coregenome variants: insights into adaptations of *Salmonella* serovars to mammalian- and avian-hosts. *BMC Microbiology* 17(1), 222. doi: 10.1186/s12866-017-1132-1.
- Ferrari, R.G., Panzenhagen, P.H.N., and Conte-Junior, C.A. (2017). Phenotypic and Genotypic Eligible Methods for *Salmonella* Typhimurium Source Tracking. *Frontiers in Microbiology* 8(2587). doi: 10.3389/fmicb.2017.02587.
- Fink, S.L., and Cookson, B.T. (2007). Pyroptosis and host cell death responses during *Salmonella* infection. *Cell Microbiol* 9(11), 2562-2570. doi: 10.1111/j.1462-5822.2007.01036.x.
- Fois, F., Piras, F., Torpdahl, M., Mazza, R., Consolati, S.G., Spanu, C., et al. (2017). Occurrence, Characterization, and Antimicrobial Susceptibility of *Salmonella enterica* in Slaughtered Pigs in Sardinia. *Journal of Food Science* 82(4), 969-976. doi: 10.1111/1750-3841.13657.
- Foley, S.L., and Lynne, A.M. (2008). Food animal-associated *Salmonella* challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance. *J Anim Sci* 86(14 Suppl), E173-187. doi: 10.2527/jas.2007-0447.
- Fookes, M., Schroeder, G.N., Langridge, G.C., Blondel, C.J., Mammina, C., Connor, T.R., et al. (2011). *Salmonella bongori* Provides Insights into the Evolution of the Salmonellae. *PLoS Pathogens* 7(8), e1002191. doi: 10.1371/journal.ppat.1002191.
- Franceagrimer (2018a). "Les fiches de FranceAgriMer élevage filière volaille".).
- Franceagrimer (2018b). "Les produits carnés et laitiers Données statistiques 2017 France / Union européenne / Monde", in: *Les données statistiques de FranceAgriMer / Marchés, études et prospective / édition 2018.*).

- Friebel, A., Ilchmann, H., Aepfelbacher, M., Ehrbar, K., Machleidt, W., and Hardt, W.D. (2001). SopE and SopE2 from *Salmonella typhimurium* activate different sets of RhoGTPases of the host cell. *J Biol Chem* 276(36), 34035-34040. doi: 10.1074/jbc.M100609200.
- Gallique, M., Bouteiller, M., and Merieau, A. (2017). The Type VI Secretion System: A Dynamic System for Bacterial Communication? *Frontiers in Microbiology* 8, 1454. doi: 10.3389/fmicb.2017.01454.
- Gerlach, R.G., Jäckel, D., Stecher, B., Wagner, C., Lupas, A., Hardt, W.-D., et al. (2007). *Salmonella* Pathogenicity Island 4 encodes a giant non-fimbrial adhesin and the cognate type 1 secretion system. *Cellular Microbiology* 9(7), 1834-1850. doi: doi:10.1111/j.1462-5822.2007.00919.x.
- Gerner-Smidt, P., Hise, K., Kincaid, J., Hunter, S., Rolando, S., Hyytiä-Trees, E., et al. (2006). PulseNet USA: a five-year update. *Foodborne Pathog Dis* 3(1), 9-19. doi: 10.1089/fpd.2006.3.9.
- Gilchrist, C.A., Turner, S.D., Riley, M.F., Petri, W.A., Jr., and Hewlett, E.L. (2015). Whole-genome sequencing in outbreak analysis. *Clin Microbiol Rev* 28(3), 541-563. doi: 10.1128/cmr.00075-13.
- Gong, H., Vu, G. P., Bai, Y., Yang, E., Liu, F., & Lu, S. (2010). Differential expression of *Salmonella* type III secretion system factors InvJ, PrgJ, SipC, SipD, SopA and SopB in cultures and in mice. *Microbiology (Reading, England)*, 156(Pt 1), 116-27.
- Gonzalez-Vallina, R., Wang, H., Zhan, R., Berschneider, H.M., Lee, R.M., Davidson, N.O., et al. (1996). Lipoprotein and apolipoprotein secretion by a newborn piglet intestinal cell line (IPEC-1). *American Journal of Physiology* 271(2 Pt 1), G249-259.
- Gordon, M.A. (2008). *Salmonella* infections in immunocompromised adults. *J Infect* 56(6), 413-422. doi: 10.1016/j.jinf.2008.03.012.
- Goswami, N., Hussain, M.I., and Borah, P. (2018). Molecular dynamics approach to probe the antigenicity of PagN – an outer membrane protein of *Salmonella* Typhi. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 36(8), 2131-2146. doi: 10.1080/07391102.2017.1343156.
- Grimont, P., and Weill, F.-X. (2007). *Antigenic formulae of the Salmonella serovars. 9th edition* [Online]. Paris: WHO collaborating center for reference and research on *Salmonella*, Institut Pasteur. Available: https://www.pasteur.fr/sites/www.pasteur.fr/files/wklm_fr.pdf [Accessed 25/10/2016].
- Grzymajlo, K., Ugorski, M., Kolenda, R., Kedzierska, A., Kuzminska-Bajor, M., and Wieliczko, A. (2013). FimH adhesin from host unrestricted *Salmonella* Enteritidis binds to different glycoprotein ligands expressed by enterocytes from sheep, pig and cattle than FimH adhesins from host restricted *Salmonella* Abortus-ovis, *Salmonella* Choleraesuis and *Salmonella* Dublin. *Vet Microbiol* 166(3-4), 550-557. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.07.004.
- Grzymajlo, K., Ugorski, M., Suchanski, J., Kedzierska, A.E., Kolenda, R., Jarzab, A., et al. (2017). The Novel Type 1 Fimbriae FimH Receptor Calreticulin Plays a Role in *Salmonella* Host Specificity. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 7(326). doi: 10.3389/fcimb.2017.00326.
- Gunn, J.S. (2008). The *Salmonella* PmrAB regulon: lipopolysaccharide modifications, antimicrobial peptide resistance and more. *Trends Microbiol* 16(6), 284-290. doi: 10.1016/j.tim.2008.03.007.

- Hansmeier, N., Miskiewicz, K., Elpers, L., Liss, V., Hensel, M., and Sterzenbach, T. (2017). Functional expression of the entire adhesiome of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Scientific Reports* 7(1), 10326. doi: 10.1038/s41598-017-10598-2.
- Hapfelmeier, S., Ehrbar, K., Stecher, B., Barthel, M., Kremer, M., and Hardt, W.D. (2004). Role of the *Salmonella* pathogenicity island 1 effector proteins SipA, SopB, SopE, and SopE2 in *Salmonella enterica* subspecies 1 serovar Typhimurium colitis in streptomycin-pretreated mice. *Infect Immun* 72(2), 795-809.
- Haraga, A., Ohlson, M.B., and Miller, S.I. (2008). Salmonellae interplay with host cells. *Nat Rev Microbiol* 6(1), 53-66. doi: 10.1038/nrmicro1788.
- Harris, J.R., Bergmire-Sweat, D., Schlegel, J.H., Winpisinger, K.A., Klos, R.F., Perry, C., et al. (2009). Multistate outbreak of *Salmonella* infections associated with small turtle exposure, 2007-2008. *Pediatrics* 124(5), 1388-1394. doi: 10.1542/peds.2009-0272.
- Hauser, E., Hebner, F., Tietze, E., Helmuth, R., Junker, E., Prager, R., et al. (2011). Diversity of *Salmonella enterica* serovar Derby isolated from pig, pork and humans in Germany. *Int J Food Microbiol* 151(2), 141-149. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.020.
- Hayward, M.R., AbuOun, M., La Ragione, R.M., Tchorzewska, M.A., Cooley, W.A., Everest, D.J., et al. (2014). SPI-23 of *S. Derby*: role in adherence and invasion of porcine tissues. *PLoS One* 9(9), e107857. doi: 10.1371/journal.pone.0107857.
- Hayward, M.R., Jansen, V., and Woodward, M.J. (2013). Comparative genomics of *Salmonella enterica* serovars Derby and Mbandaka, two prevalent serovars associated with different livestock species in the UK. *BMC Genomics* 14, 365. doi: 10.1186/1471-2164-14-365.
- Hayward, M.R., Petrovska, L., Jansen, V.A., and Woodward, M.J. (2016). Population structure and associated phenotypes of *Salmonella enterica* serovars Derby and Mbandaka overlap with host range. *BMC Microbiol* 16(1), 15. doi: 10.1186/s12866-016-0628-4.
- Hendriksen, R.S., Vieira, A.R., Karlsmose, S., Lo Fo Wong, D.M., Jensen, A.B., Wegener, H.C., et al. (2011). Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. *Foodborne Pathog Dis* 8(8), 887-900. doi: 10.1089/fpd.2010.0787.
- Hensel, M. (2004). Evolution of pathogenicity islands of *Salmonella enterica*. *Int J Med Microbiol* 294(2-3), 95-102. doi: 10.1016/j.ijmm.2004.06.025.
- Hoffman, S., Batz, M.B., and Glenn Morris, J. (2012). Annual Cost of Illness and Quality-Adjusted Life Year Losses in the United States Due to 14 Foodborne Pathogens. *Journal of Food Protection* 75(7), 1292-1302. doi: 10.4315/0362-028x.Jfp-11-417.
- Hong, S., Rovira, A., Davies, P., Ahlstrom, C., Muellner, P., Rendahl, A., et al. (2016). Serotypes and Antimicrobial Resistance in *Salmonella enterica* Recovered from Clinical Samples from Cattle and Swine in Minnesota, 2006 to 2015. *PLOS ONE* 11(12), e0168016. doi: 10.1371/journal.pone.0168016.
- Hopkins, K.L., Peters, T.M., de Pinna, E., and Wain, J. 2011. Standardisation of multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) for subtyping of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* [Online], 16(32). Available: <http://europepmc.org/abstract/MED/21871223> [Accessed 2018].
- Huang, X., Huang, Q., Dun, Z., Huang, W., Wu, S., Liang, J., et al. (2016). Nontyphoidal *Salmonella* Infection, Guangdong Province, China, 2012. *Emerging Infectious Diseases* 22(4), 726-729. doi: 10.3201/eid2204.151372.

- Hume, P.J., Singh, V., Davidson, A.C., and Koronakis, V. (2017). Swiss Army Pathogen: The *Salmonella* Entry Toolkit. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 7(348). doi: 10.3389/fcimb.2017.00348.
- Hurley, D., McCusker, M.P., Fanning, S., and Martins, M. (2014). *Salmonella*–Host Interactions – Modulation of the Host Innate Immune System. *Frontiers in Immunology* 5, 481. doi: 10.3389/fimmu.2014.00481.
- IFIP (2014). *Le porc par les chiffres 2014-2015*.
- Ilyas, B., Tsai, C.N., and Coombes, B.K. (2017). Evolution of *Salmonella*-Host Cell Interactions through a Dynamic Bacterial Genome. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 7(428). doi: 10.3389/fcimb.2017.00428.
- ITAVI (2013). "Structures et organisation des filières volailles de chair en Europe", (ed.) Franceagrimer.).
- ITAVI (2015). *les volailles de chair* [Online]. Available: <https://www.itavi.asso.fr/content/les-volailles-de-chair> [Accessed 27/08/2018 2018].
- ITAVI (2016). Chiffres clés | volaille-francaise.fr.
- Jarvelainen, H.A., Galmiche, A., and Zychlinsky, A. (2003). Caspase-1 activation by *Salmonella*. *Trends Cell Biol* 13(4), 204-209.
- Jones, T.F., Ingram, L.A., Cieslak, P.R., Vugia, D.J., Tobin-D'Angelo, M., Hurd, S., et al. (2008). Salmonellosis outcomes differ substantially by serotype. *J Infect Dis* 198(1), 109-114. doi: 10.1086/588823.
- Kaur, J., and Jain, S.K. (2012). Role of antigens and virulence factors of *Salmonella enterica* serovar Typhi in its pathogenesis. *Microbiol Res* 167(4), 199-210. doi: 10.1016/j.micres.2011.08.001.
- Kerouanton, A., Hirchaud, E., Rose, V., Esnault, E., Naquin, D., and Denis, M. (2015). First Complete Genome Sequence of a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Derby Strain Associated with Pork in France. *Genome Announcements* 3(4), e00853-00815. doi: 10.1128/genomeA.00853-15.
- Kerouanton, A., Marault, M., Lailier, R., Weill, F.X., Feurer, C., Espie, E., et al. (2007). Pulsed-field gel electrophoresis subtyping database for foodborne *Salmonella enterica* serotype discrimination. *Foodborne Pathog Dis* 4(3), 293-303. doi: 10.1089/fpd.2007.0090.
- Kerouanton, A., Rose, V., Weill, F.X., Granier, S.A., and Denis, M. (2013). Genetic diversity and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella enterica* serotype derby isolated from pigs, pork, and humans in France. *Foodborne Pathog Dis* 10(11), 977-984. doi: 10.1089/fpd.2013.1537.
- Khan, C.M. (2014). The Dynamic Interactions between *Salmonella* and the Microbiota, within the Challenging Niche of the Gastrointestinal Tract. *Int Sch Res Notices* 2014, 846049. doi: 10.1155/2014/846049.
- Kidgell, C., Reichard, U., Wain, J., Linz, B., Torpdahl, M., Dougan, G., et al. (2002). *Salmonella typhi*, the causative agent of typhoid fever, is approximately 50,000 years old. *Infect Genet Evol* 2(1), 39-45.
- Kingsley, R.A., and Baumler, A.J. (2000). Host adaptation and the emergence of infectious disease: the *Salmonella* paradigm. *Mol Microbiol* 36(5), 1006-1014.
- Kingsley, R.A., Humphries, A.D., Weening, E.H., De Zoete, M.R., Winter, S., Papaconstantinopoulou, A., et al. (2003). Molecular and phenotypic analysis of the CS54 island of *Salmonella enterica* serotype typhimurium: identification of intestinal colonization and persistence determinants. *Infect Immun* 71(2), 629-640.

- Kingsley, R.A., Keestra, A.M., de Zoete, M.R., and Baumler, A.J. (2004). The ShdA adhesin binds to the cationic cradle of the fibronectin 13FnIII repeat module: evidence for molecular mimicry of heparin binding. *Mol Microbiol* 52(2), 345-355. doi: 10.1111/j.1365-2958.2004.03995.x.
- Kingsley, R.A., Santos, R.L., Keestra, A.M., Adams, L.G., and Baumler, A.J. (2002a). *Salmonella enterica* serotype Typhimurium ShdA is an outer membrane fibronectin-binding protein that is expressed in the intestine. *Mol Microbiol* 43(4), 895-905.
- Kingsley, R.A., Weening, E.H., Keestra, A.M., and Baumler, A.J. (2002b). Population heterogeneity of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium resulting from phase variation of the *Ipf* operon in vitro and in vivo. *J Bacteriol* 184(9), 2352-2359.
- Kirk, M.D., Pires, S.M., Black, R.E., Caipo, M., Crump, J.A., Devleeschauwer, B., et al. (2015). World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis. *PLOS Medicine* 12(12), e1001921. doi: 10.1371/journal.pmed.1001921.
- Kisiela, D., Sapeta, A., Kuczkowski, M., Stefaniak, T., Wieliczko, A., and Ugorski, M. (2005). Characterization of FimH adhesins expressed by *Salmonella enterica* serovar Gallinarum biovars Gallinarum and Pullorum: reconstitution of mannose-binding properties by single amino acid substitution. *Infect Immun* 73(9), 6187-6190. doi: 10.1128/iai.73.9.6187-6190.2005.
- Korsak, N., Clinquart, A., and Daube, G. (2004). *Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique ? *Ann. Méd. Vét* 148, 174-193.
- Kosarewicz, A., Königsmaier, L., and Marlovits, T.C. (2012). The blueprint of the type-3 injectisome. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 367(1592), 1140-1154. doi: 10.1098/rstb.2011.0205.
- Ktari, S., Ksibi, B., Gharsallah, H., Mnif, B., Maalej, S., Rhimi, F., et al. (2016). Molecular epidemiological characteristics of *Salmonella enterica* serovars Enteritidis, Typhimurium and Livingstone strains isolated in a Tunisian university hospital. *Apmis* 124(3), 194-200. doi: 10.1111/apm.12484.
- Kuhle, V., and Hensel, M. (2004). Cellular microbiology of intracellular *Salmonella enterica*: functions of the type III secretion system encoded by *Salmonella* pathogenicity island 2. *Cell Mol Life Sci* 61(22), 2812-2826. doi: 10.1007/s00018-004-4248-z.
- Lambert, M.A., and Smith, S.G. (2008). The PagN protein of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is an adhesin and invasin. *BMC Microbiology* 8(1), 142. doi: 10.1186/1471-2180-8-142.
- Lambert, M.A., and Smith, S.G. (2009). The PagN protein mediates invasion via interaction with proteoglycan. *FEMS Microbiol Lett* 297(2), 209-216. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01666.x.
- Laniewski, P., Baek, C.H., Roland, K.L., and Curtiss, R., 3rd (2017). Analysis of Spleen-Induced Fimbria Production in Recombinant Attenuated *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Vaccine Strains. *MBio* 8(4). doi: 10.1128/mBio.01189-17.
- Leclerc, V., Moury, F., Noel, V., Berta-Vanrullen, I., Cadel-Six, S., and Lailier, R. (2016). Le réseau *Salmonella*, un dispositif de surveillance des salmonelles sur la chaîne alimentaire : bilan 2015. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* 77, 75-81.
- Letunic, I., and Bork, P. (2016). Interactive tree of life (iTOL) v3: an online tool for the display and annotation of phylogenetic and other trees. *Nucleic Acids Research* 44(W1), W242-W245. doi: 10.1093/nar/gkw290.

- Levings, R.S., Lightfoot, D., Partridge, S.R., Hall, R.M., and Djordjevic, S.P. (2005). The genomic island SGI1, containing the multiple antibiotic resistance region of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 or variants of it, is widely distributed in other *S. enterica* serovars. *J Bacteriol* 187(13), 4401-4409. doi: 10.1128/jb.187.13.4401-4409.2005.
- Lindstedt, B.A., Heir, E., Gjernes, E., and Kapperud, G. (2003). DNA fingerprinting of *Salmonella enterica subsp. enterica* serovar typhimurium with emphasis on phage type DT104 based on variable number of tandem repeat loci. *J Clin Microbiol* 41(4), 1469-1479.
- Lindstedt, B.A., Vardund, T., Aas, L., and Kapperud, G. (2004). Multiple-locus variable-number tandem-repeats analysis of *Salmonella enterica subsp. enterica* serovar Typhimurium using PCR multiplexing and multicolor capillary electrophoresis. *J Microbiol Methods* 59(2), 163-172. doi: 10.1016/j.mimet.2004.06.014.
- Liu, F., Barrangou, R., Gerner-Smidt, P., Ribot, E.M., Knabel, S.J., and Dudley, E.G. (2011). Novel virulence gene and clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) multilocus sequence typing scheme for subtyping of the major serovars of *Salmonella enterica subsp. enterica*. *Appl Environ Microbiol* 77(6), 1946-1956. doi: 10.1128/aem.02625-10.
- MacKenzie, K.D., Palmer, M.B., Köster, W.L., and White, A.P. (2017). Examining the Link between Biofilm Formation and the Ability of Pathogenic *Salmonella* Strains to Colonize Multiple Host Species. *Frontiers in Veterinary Science* 4(138). doi: 10.3389/fvets.2017.00138.
- Majowicz, S.E., Musto, J., Scallan, E., Angulo, F.J., Kirk, M., O'Brien, S.J., et al. (2010). The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. *Clin Infect Dis* 50(6), 882-889. doi: 10.1086/650733.
- Malik Kale, P., Jolly, C., Lathrop, S., Winfree, S., Luterbach, C., and Steele-Mortimer, O. (2011). *Salmonella* – At Home in the Host Cell. *Frontiers in Microbiology* 2(125). doi: 10.3389/fmicb.2011.00125.
- Mambu, J., Virlogeux-Payant, I., Holbert, S., Grépinet, O., Velge, P., and Wiedemann, A. (2017). An Updated View on the Rck Invasin of *Salmonella*: Still Much to Discover. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 7, 500. doi: 10.3389/fcimb.2017.00500.
- Marcus, S.L., Brumell, J.H., Pfeifer, C.G., and Finlay, B.B. (2000). *Salmonella* pathogenicity islands: big virulence in small packages. *Microbes and Infection* 2(2), 145-156. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)00273-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579(00)00273-2).
- Marineli, F., Tsoucalas, G., Karamanou, M., and Androutsos, G. (2013). Mary Mallon (1869-1938) and the history of typhoid fever. *Annals of Gastroenterology : Quarterly Publication of the Hellenic Society of Gastroenterology* 26(2), 132-134.
- Markowski, C.A., and Markowski, E.P. (1990). Conditions for the Effectiveness of a Preliminary Test of Variance. *The American Statistician* 44(4), 322-326. doi: 10.2307/2684360.
- McClelland, M., Sanderson, K.E., Clifton, S.W., Latreille, P., Porwollik, S., Sabo, A., et al. (2004). Comparison of genome degradation in Paratyphi A and Typhi, human-restricted serovars of *Salmonella enterica* that cause typhoid. *Nature Genetics* 36, 1268. doi: 10.1038/ng1470
- <https://www.nature.com/articles/ng1470#supplementary-information>.
- McClelland, M., Sanderson, K.E., Spieth, J., Clifton, S.W., Latreille, P., Courtney, L., et al. (2001). Complete genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2. *Nature* 413(6858), 852-856. doi: 10.1038/35101614.

- McQuiston, J.R., Waters, R.J., Dinsmore, B.A., Mikoleit, M.L., and Fields, P.I. (2011). Molecular Determination of H Antigens of *Salmonella* by Use of a Microsphere-Based Liquid Array. *Journal of Clinical Microbiology* 49(2), 565-573. doi: 10.1128/JCM.01323-10.
- Méheust, D., Chevance, A., and Moulin, G. (2016). Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2015. *Anses – Agence nationale du médicament vétérinaire*.
- Michael, H. (2000). *Salmonella* Pathogenicity Island 2. *Molecular Microbiology* 36(5), 1015-1023. doi: doi:10.1046/j.1365-2958.2000.01935.x.
- Millemann, Y. (2008). "Maladies des bovins. Manuel pratique, édition France agricole 4^e édition.."), 56-65.
- Moura, A., Soares, M., Pereira, C., Leitao, N., Henriques, I., and Correia, A. (2009). INTEGRALL: a database and search engine for integrons, integrases and gene cassettes. *Bioinformatics* 25(8), 1096-1098. doi: 10.1093/bioinformatics/btp105.
- Mueller-Doblies, D., Carrique-Mas, J.J., and Davies, R.H. (2014). A study of the dynamics of *Salmonella* infection in turkey breeding, rearing and finishing houses with special reference to elimination, persistence and introduction of *Salmonella*. *Avian Pathology* 43(2), 146-154. doi: 10.1080/03079457.2014.892569.
- Mushin, R. (1948). An outbreak of gastro-enteritis due to *Salmonella* derby. *Journal of Hygiene* 46(2), 151-157. doi: 10.1017/S0022172400036238.
- Newell, D.G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., et al. (2010). Food-borne diseases - the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *Int J Food Microbiol* 139 Suppl 1, S3-15. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.021.
- Ochman, H., Elwyn, S., and Moran, N.A. (1999). Calibrating bacterial evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96(22), 12638-12643. doi: 10.1073/pnas.96.22.12638.
- Ochman, H., and Wilson, A.C. (1987). Evolution in bacteria: evidence for a universal substitution rate in cellular genomes. *J Mol Evol* 26(1-2), 74-86.
- Page, A.J., Cummins, C.A., Hunt, M., Wong, V.K., Reuter, S., Holden, M.T.G., et al. (2015). Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis. *Bioinformatics* 31(22), 3691-3693. doi: 10.1093/bioinformatics/btv421.
- Pal, C., Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., and Larsson, D.G.J. (2015). Co-occurrence of resistance genes to antibiotics, biocides and metals reveals novel insights into their co-selection potential. *BMC Genomics* 16(1), 964. doi: 10.1186/s12864-015-2153-5.
- Palmera-Suarez, R., Garcia, P., Garcia, A., Barrasa, A., and Herrera, D. (2007). *Salmonella* Kottbus outbreak in infants in Gran Canaria (Spain), caused by bottled water, August-November 2006. *Euro Surveill* 12(7), E070712.070712.
- Papagrigorakis, M.J., Yapijakis, C., and Synodinos, P.N. (2008). "Typhoid Fever Epidemic in Ancient Athens," in *Paleomicrobiology: Past Human Infections*, eds. D. Raoult & M. Drancourt. (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), 161-173.
- Parry, C.M., and Threlfall, E.J. (2008). Antimicrobial resistance in typhoidal and nontyphoidal salmonellae. *Curr Opin Infect Dis* 21(5), 531-538. doi: 10.1097/QCO.0b013e32830f453a.
- Pasteur, Institut (2012). *Fièvres typhoïde et paratyphoïde* [Online]. Institut Pasteur. Available: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/fievres-typhoide-paratyphoide> [Accessed 08/06/2018 2018].

- Peckham, C.F., and Savage, W.G. (1923). An Outbreak of Pork Pie Poisoning at Derby. *Journal of Hygiene* 22(1), 69-76. doi: 10.1017/S0022172400008068.
- Peters, T., Bertrand, S., Bjorkman, J.T., Brandal, L.T., Brown, D.J., Erdosi, T., et al. (2017). Multi-laboratory validation study of multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) for *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, 2015. *Euro Surveill* 22(9). doi: 10.2807/1560-7917.Es.2017.22.9.30477.
- Petrovska, L., Mather, A.E., AbuOun, M., Branchu, P., Harris, S.R., Connor, T., et al. (2016). Microevolution of Monophasic *Salmonella* Typhimurium during Epidemic, United Kingdom, 2005–2010. *Emerging Infectious Diseases* 22(4), 617-624. doi: 10.3201/eid2204.150531.
- Pilla, G., and Tang, C.M. (2018). Going around in circles: virulence plasmids in enteric pathogens. *Nature Reviews Microbiology* 16(8), 484-495. doi: 10.1038/s41579-018-0031-2.
- Pires, S.M., Evers, E.G., van Pelt, W., Ayers, T., Scallan, E., Angulo, F.J., et al. (2009). Attributing the human disease burden of foodborne infections to specific sources. *Foodborne Pathog Dis* 6(4), 417-424. doi: 10.1089/fpd.2008.0208.
- Pires, S.M., Vieira, A.R., Hald, T., and Cole, D. (2014). Source-attribution of human salmonellosis: an overview of methods and estimates. *Foodborne Pathog Dis* 11(9), 667-676. doi: 10.1089/fpd.2014.1744.
- Que, F., Wu, S., and Huang, R. (2013). *Salmonella* pathogenicity island 1 (SPI-1) at work. *Current microbiology* 66(6), 582-587. doi: 10.1007/s00284-013-0307-8.
- Ramos-Morales, F. (2012). *Impact of Salmonella enterica Type III Secretion System Effectors on the Eukaryotic Host Cell*.
- Ran, L., Wu, S., Gao, Y., Zhang, X., Feng, Z., Wang, Z., et al. (2011). Laboratory-based surveillance of nontyphoidal *Salmonella* infections in China. *Foodborne Pathog Dis* 8(8), 921-927. doi: 10.1089/fpd.2010.0827.
- Rehman, M.A., Yin, X., Persaud-Lachhman, M.G., and Diarra, M.S. (2017). First Detection of a Fosfomycin Resistance Gene, *fosA7*, in *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg Isolated from Broiler Chickens. *Antimicrob Agents Chemother* 61(8). doi: 10.1128/aac.00410-17.
- Reilly, R.F. (2016). Medical and surgical care during the American Civil War, 1861-1865. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 29(2), 138-142.
- Roche, S.M., Gracieux, P., Milohanic, E., Albert, I., Virlogeux-Payant, I., Temoin, S., et al. (2005). Investigation of specific substitutions in virulence genes characterizing phenotypic groups of low-virulence field strains of *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology* 71(10), 6039-6048. doi: 10.1128/AEM.71.10.6039-6048.2005.
- Roche, S.M., Holbert, S., Trotureau, J., Schaeffer, S., Georgeault, S., Virlogeux-Payant, I., et al. (2018). *Salmonella* Typhimurium Invalidated for the Three Currently Known Invasion Factors Keeps Its Ability to Invade Several Cell Models. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 8(273). doi: 10.3389/fcimb.2018.00273.
- Rosselin, M., Virlogeux-Payant, I., Roy, C., Bottreau, E., Sizaret, P.Y., Mijouin, L., et al. (2010). Rck of *Salmonella enterica*, subspecies enterica serovar enteritidis, mediates zipper-like internalization. *Cell Res* 20(6), 647-664. doi: 10.1038/cr.2010.45.
- Rostagno, M.H., Hurd, H.S., McKean, J.D., Ziemer, C.J., Gailey, J.K., and Leite, R.C. (2003). Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. *Appl Environ Microbiol* 69(8), 4489-4494.

- Royston, P. (1995). Remark AS R94: A Remark on Algorithm AS 181: The W-test for Normality. *Journal of the Royal Statistical Society. Series C (Applied Statistics)* 44(4), 547-551. doi: 10.2307/2986146.
- Rubbo, S.D. (1948). Cross-infection in hospital due to *Salmonella* derby. *Journal of Hygiene* 46(2), 158-163. doi: 10.1017/S002217240003624X.
- Ruppitsch, W. (2016). *Molecular typing of bacteria for epidemiological surveillance and outbreak investigation / Molekulare Typisierung von Bakterien für die epidemiologische Überwachung und Ausbruchsabklärung.*
- Sabbagh, S.C., Forest, C.G., Lepage, C., Leclerc, J.-M., and Daigle, F. (2010). So similar, yet so different: uncovering distinctive features in the genomes of *Salmonella* enterica serovars Typhimurium and Typhi. *FEMS Microbiology Letters* 305(1), 1-13. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.01904.x.
- Sana, T.G., Flaughnatti, N., Lugo, K.A., Lam, L.H., Jacobson, A., Baylot, V., et al. (2016). *Salmonella* Typhimurium utilizes a T6SS-mediated antibacterial weapon to establish in the host gut. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113(34), E5044-5051. doi: 10.1073/pnas.1608858113.
- Sanders, E., Sweeney, F.J., Jr, Friedman, E.A., Boring, J.R., Randall, E.L., et al. (1963). An outbreak of hospital-associated infections due to *salmonella* derby. *JAMA* 186(11), 984-986. doi: 10.1001/jama.1963.03710110036007.
- Sangal, V., Harbottle, H., Mazzoni, C. J., Helmuth, R., Guerra, B., Didelot, X., et al. (2010). Evolution and population structure of *Salmonella* enterica serovar Newport. *Journal of bacteriology*, 192(24), 6465-76.
- Schmidt, J.W., Brichta-Harhay, D.M., Kalchayanand, N., Bosilevac, J.M., Shackelford, S.D., Wheeler, T.L., et al. (2012). Prevalence, Enumeration, Serotypes, and Antimicrobial Resistance Phenotypes of *Salmonella enterica* Isolates from Carcasses at Two Large United States Pork Processing Plants. *Applied and Environmental Microbiology* 78(8), 2716-2726. doi: 10.1128/aem.07015-11.
- Schroeder, N., Henry, T., de Chastellier, C., Zhao, W., Guilhon, A.A., Gorvel, J.P., et al. (2010). The virulence protein SopD2 regulates membrane dynamics of *Salmonella*-containing vacuoles. *PLoS Pathog* 6(7), e1001002. doi: 10.1371/journal.ppat.1001002.
- Seemann, T. (2014). Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics* 30(14), 2068-2069. doi: 10.1093/bioinformatics/btu153.
- Sévellec, Y., Vignaud, M.L., Granier, S.A., Lailler, R., Feurer, C., Le Hello, S., et al. (2018a). Polyphyletic Nature of *Salmonella enterica* Serotype Derby and Lineage-Specific Host-Association Revealed by Genome-Wide Analysis. *Front Microbiol* 9(891), 891. doi: 10.3389/fmicb.2018.00891.
- Sévellec, Y., Granier, S.A., Radomski, N., Felten, A., Le Hello, S., Feurer, C., et al. (2018b). Complete Genome Sequence of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serotype Derby, Associated with the Pork Sector in France. *Microbiology Resource Announcements* 7(12).
- Sévellec, Y., Felten, A., Radomski, N., Granier, S.A., Le Hello, S., Petrovska, L., et al. (2018c). Phylogenomic analysis of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Derby circulating in Europe, Asia and the United States and associated with the poultry sector. (in revision). *PLoS Pathog*.
- Shariat, N., and Dudley, E.G. (2014). CRISPRs: molecular signatures used for pathogen subtyping. *Appl Environ Microbiol* 80(2), 430-439. doi: 10.1128/aem.02790-13.
- Simon, S., Trost, E., Bender, J., Fuchs, S., Malorny, B., Rabsch, W., et al. (2017). Evaluation of WGS based approaches for investigating a food-borne outbreak caused by *Salmonella*

- enterica* serovar Derby in Germany. *Food Microbiology*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.08.017>.
- Singh, Y., Saxena, A., Kumar, R., and Kumar Saxena, M. (2018). "Virulence System of *Salmonella* with Special Reference to *Salmonella enterica*," in *salmonella-a-re-emerging-pathogen*, ed. IntechOpen.).
- Sofos, J.N. (2008). Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Sci* 78(1-2), 3-13. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.07.027.
- Srikanth, C.V., Mercado-Lubo, R., Hallstrom, K., and McCormick, B.A. (2011). *Salmonella* effector proteins and host-cell responses. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 68(22), 3687-3697. doi: 10.1007/s00018-011-0841-0.
- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30(9), 1312-1313. doi: 10.1093/bioinformatics/btu033.
- Su, L.-H., Chiu, C.-H., Chu, C., and Ou, J.T. (2004). Antimicrobial Resistance in Nontyphoid *Salmonella* Serotypes: A Global Challenge. *Clinical Infectious Diseases* 39(4), 546-551. doi: 10.1086/422726.
- Swanson, S.J., Snider, C., Braden, C.R., Boxrud, D., Wunschmann, A., Rudroff, J.A., et al. (2007). Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium associated with pet rodents. *N Engl J Med* 356(1), 21-28. doi: 10.1056/NEJMoa060465.
- Szalo, I.M., Taminiau, B., and Mainil, J. (2006). *Escherichia coli* lipopolysaccharide: Structure, biosynthesis and roles.
- Taboada, E.N., Graham, M.R., Carriço, J.A., and Van Domselaar, G. (2017). Food Safety in the Age of Next Generation Sequencing, Bioinformatics, and Open Data Access. *Frontiers in Microbiology* 8, 909. doi: 10.3389/fmicb.2017.00909.
- Tenor, J.L., McCormick, B.A., Ausubel, F.M., and Aballay, A. (2004). Caenorhabditis elegans-Based Screen Identifies *Salmonella* Virulence Factors Required for Conserved Host-Pathogen Interactions. *Current Biology* 14(11), 1018-1024. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.05.050>.
- The *Salmonella* Subcommittee of the Nomenclature Committee of the International Society for, M. (1934). The Genus *Salmonella* Lignières, 1900. *The Journal of Hygiene* 34(3), 333-350.
- Thomson, N.R., Clayton, D.J., Windhorst, D., Vernikos, G., Davidson, S., Churcher, C., et al. (2008). Comparative genome analysis of *Salmonella* Enteritidis PT4 and *Salmonella* Gallinarum 287/91 provides insights into evolutionary and host adaptation pathways. *Genome Res* 18(10), 1624-1637. doi: 10.1101/gr.077404.108.
- Timme, R.E., Pettengill, J.B., Allard, M.W., Strain, E., Barrangou, R., Wehnes, C., et al. (2013). Phylogenetic Diversity of the Enteric Pathogen *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Inferred from Genome-Wide Reference-Free SNP Characters. *Genome Biology and Evolution* 5(11), 2109-2123. doi: 10.1093/gbe/evt159.
- Tindall, B.J., Grimont, P.A., Garrity, G.M., and Euzéby, J.P. (2005). Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. *Int J Syst Evol Microbiol* 55(Pt 1), 521-524. doi: 10.1099/ijs.0.63580-0.
- Vågene, Å.J., Herbig, A., Campana, M.G., Robles García, N.M., Warinner, C., Sabin, S., et al. (2018). *Salmonella enterica* genomes from victims of a major sixteenth-century epidemic in Mexico. *Nature Ecology & Evolution* 2(3), 520-528. doi: 10.1038/s41559-017-0446-6.

- Valdezate, S., Vidal, A., Herrera-Leon, S., Pozo, J., Rubio, P., Usera, M.A., et al. (2005). *Salmonella* Derby clonal spread from pork. *Emerg Infect Dis* 11(5), 694-698. doi: 10.3201/eid1105.041042.
- Van Cauteren, D., Le Strat, Y., Sommen, C., Bruyand, M., Tourdjman, M., Da Silva, N.J., et al. (2017). Estimated Annual Numbers of Foodborne Pathogen-Associated Illnesses, Hospitalizations, and Deaths, France, 2008-2013. *Emerg Infect Dis* 23(9), 1486-1492. doi: 10.3201/eid2309.170081.
- van der Oost, J., Westra, E.R., Jackson, R.N., and Wiedenheft, B. (2014). Unravelling the structural and mechanistic basis of CRISPR-Cas systems. *Nat Rev Microbiol* 12(7), 479-492. doi: 10.1038/nrmicro3279.
- Velasquez, J.C., Hidalgo, A.A., Villagra, N., Santiviago, C.A., Mora, G.C., and Fuentes, J.A. (2016). SPI-9 of *Salmonella* enterica serovar Typhi is constituted by an operon positively regulated by RpoS and contributes to adherence to epithelial cells in culture. *Microbiology* 162(8), 1367-1378. doi: 10.1099/mic.0.000319.
- Velge, P., Cloeckert, A., and Barrow, P. (2005). Emergence of *Salmonella* epidemics: the problems related to *Salmonella* enterica serotype Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. *Vet Res* 36(3), 267-288. doi: 10.1051/vetres:2005005.
- Velge, P., Wiedemann, A., Rosselin, M., Abed, N., Boumart, Z., Chaussé, A.M., et al. (2012a). Multiplicity of *Salmonella* entry mechanisms, a new paradigm for *Salmonella* pathogenesis. *MicrobiologyOpen* 1(3), 243-258. doi: 10.1002/mbo3.28.
- Velge, P., Wiedemann, A., Rosselin, M., Abed, N., Boumart, Z., M Chaussé, A., et al. (2012b). *Multiplicity of Salmonella entry mechanisms, a new paradigm for Salmonella pathogenesis.*
- Vignaud, M.-L., Cherchame, E., Marault, M., Chaing, E., Le Hello, S., Michel, V., et al. (2017). MLVA for *Salmonella* enterica subsp. enterica Serovar Dublin: Development of a Method Suitable for Inter-Laboratory Surveillance and Application in the Context of a Raw Milk Cheese Outbreak in France in 2012. *Frontiers in Microbiology* 8, 295. doi: 10.3389/fmicb.2017.00295.
- Vonaesch, P., Sellin, M.E., Cardini, S., Singh, V., Barthel, M., and Hardt, W.D. (2014). The *Salmonella* Typhimurium effector protein SopE transiently localizes to the early SCV and contributes to intracellular replication. *Cell Microbiol* 16(12), 1723-1735. doi: 10.1111/cmi.12333.
- Wagner, C., and Hensel, M. (2011). Adhesive mechanisms of *Salmonella* enterica. *Adv Exp Med Biol* 715, 17-34. doi: 10.1007/978-94-007-0940-9_2.
- Wang, H., Ding, S., Dong, Y., Ye, K., Xu, X., and Zhou, G. (2013). Biofilm formation of *Salmonella* serotypes in simulated meat processing environments and its relationship to cell characteristics. *J Food Prot* 76(10), 1784-1789. doi: 10.4315/0362-028x.Jfp-13-093.
- Wangdi, T., Winter, S.E., and Baumler, A.J. (2012). Typhoid fever: "you can't hit what you can't see". *Gut Microbes* 3(2), 88-92. doi: 10.4161/gmic.18602.
- Wattiau, P., Boland, C., and Bertrand, S. (2011). Methodologies for *Salmonella* enterica subsp. enterica subtyping: gold standards and alternatives. *Appl Environ Microbiol* 77(22), 7877-7885. doi: 10.1128/aem.05527-11.
- Weening, E.H., Barker, J.D., Laarakker, M.C., Humphries, A.D., Tsolis, R.M., and Baumler, A.J. (2005). The *Salmonella* enterica serotype Typhimurium lpf, bcf, stb, stc, std, and sth fimbrial operons are required for intestinal persistence in mice. *Infect Immun* 73(6), 3358-3366. doi: 10.1128/iai.73.6.3358-3366.2005.

- Wegener, H.C., Hald, T., Lo Fo Wong, D., Madsen, M., Korsgaard, H., Bager, F., et al. (2003). *Salmonella* control programs in Denmark. *Emerg Infect Dis* 9(7), 774-780. doi: 10.3201/eid0907.030024.
- Weill, F., Le Hello, S. (2014). *Bilan des Activités 2013 du Centre National de Référence des Escherichia coli, Shigella et Salmonella* [Online]. Centre National de Référence des *Escherichia coli, Shigella et Salmonella*. Available: <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/escherichia-coli-shigella-salmonella/rapports-d-activite> [Accessed 12/12/2016 2016].
- Weill, FX, Fabre-Berland, L, Guibert, V, Diancourt, L, and S., B. (2007). *Molecular typing and subtyping of Salmonella by identification of the variable nucleotide sequences of the CRISPR loci*. France patent application.
- WHO (2018). *Salmonella (non-typhoidal) - Fact sheet* [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/> [Accessed 20/02/2018 2018].
- Wiedemann, A., Mijouin, L., Ayoub, M.A., Barilleau, E., Canepa, S., Teixeira-Gomes, A.P., et al. (2016). Identification of the epidermal growth factor receptor as the receptor for *Salmonella* Rck-dependent invasion. *Faseb j* 30(12), 4180-4191. doi: 10.1096/fj.201600701R.
- Wiedemann, A., Virlogeux-Payant, I., Chaussé, A.-M., Schikora, A., and Velge, P. (2015). Interactions of *Salmonella* with animals and plants. *Frontiers in Microbiology* 5(791). doi: 10.3389/fmicb.2014.00791.
- Wille, T., Wagner, C., Mittelstadt, W., Blank, K., Sommer, E., Malengo, G., et al. (2014). SiiA and SiiB are novel type I secretion system subunits controlling SPI4-mediated adhesion of *Salmonella enterica*. *Cell Microbiol* 16(2), 161-178. doi: 10.1111/cmi.12222.
- Winter, S., and Baumler, A. (2011). *Salmonella Exploits Suicidal Behavior of Epithelial Cells*.
- Winter, S.E., Thiennimitr, P., Winter, M.G., Butler, B.P., Huseby, D.L., Crawford, R.W., et al. (2010). Gut inflammation provides a respiratory electron acceptor for *Salmonella*. *Nature* 467(7314), 426-429. doi: 10.1038/nature09415.
- Winter, S.E., Winter, M.G., Poon, V., Keestra, A.M., Sterzenbach, T., Faber, F., et al. (2014). *Salmonella enterica* Serovar Typhi conceals the invasion-associated type three secretion system from the innate immune system by gene regulation. *PLoS Pathog* 10(7), e1004207. doi: 10.1371/journal.ppat.1004207.
- Yachison, C.A., Yoshida, C., Robertson, J., Nash, J.H.E., Kruczkiewicz, P., Taboada, E.N., et al. (2017). The Validation and Implications of Using Whole Genome Sequencing as a Replacement for Traditional Serotyping for a National Salmonella Reference Laboratory. *Frontiers in Microbiology* 8(1044). doi: 10.3389/fmicb.2017.01044.
- Yang, Y., Wan, C., Xu, H., Aguilar, Z.P., Tan, Q., Xu, F., et al. (2013). Identification of an outer membrane protein of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium as a potential vaccine candidate for Salmonellosis in mice. *Microbes and Infection* 15(5), 388-398. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2013.02.005>.
- Yoon, S.H., Park, Y.-K., and Kim, J.F. (2015). PAIDB v2.0: exploration and analysis of pathogenicity and resistance islands. *Nucleic Acids Research* 43(Database issue), D624-D630. doi: 10.1093/nar/gku985.
- Yoshida, C.E., Kruczkiewicz, P., Laing, C.R., Lingohr, E.J., Gannon, V.P., Nash, J.H., et al. (2016). The *Salmonella* In Silico Typing Resource (SISTR): An Open Web-Accessible Tool for Rapidly Typing and Subtyping Draft *Salmonella* Genome Assemblies. *PLoS One* 11(1), e0147101. doi: 10.1371/journal.pone.0147101.

- Yue, M., Han, X., Masi, L.D., Zhu, C., Ma, X., Zhang, J., et al. (2015). Allelic variation contributes to bacterial host specificity. *Nature Communications* 6, 8754. doi: 10.1038/ncomms9754.
- Yue, M., Rankin, S.C., Blanchet, R.T., Nulton, J.D., Edwards, R.A., and Schifferli, D.M. (2012). Diversification of the *Salmonella* Fimbriae: A Model of Macro- and Microevolution. *PLOS ONE* 7(6), e38596. doi: 10.1371/journal.pone.0038596.
- Zankari, E., Hasman, H., Cosentino, S., Vestergaard, M., Rasmussen, S., Lund, O., et al. (2012). Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 67(11), 2640-2644. doi: 10.1093/jac/dks261.
- Zhang, S., Kingsley, R.A., Santos, R.L., Andrews-Polymenis, H., Raffatellu, M., Figueiredo, J., et al. (2003). Molecular pathogenesis of *Salmonella* enterica serotype typhimurium-induced diarrhea. *Infect Immun* 71(1), 1-12.
- Zhang, S., Santos, R.L., Tsolis, R.M., Stender, S., Hardt, W.D., Baumler, A.J., et al. (2002). The *Salmonella* enterica serotype typhimurium effector proteins SipA, SopA, SopB, SopD, and SopE2 act in concert to induce diarrhea in calves. *Infect Immun* 70(7), 3843-3855.
- Zhang, Y., Higashide, W.M., McCormick, B.A., Chen, J., and Zhou, D. (2006). The inflammation-associated *Salmonella* SopA is a HECT-like E3 ubiquitin ligase. *Molecular Microbiology* 62(3), 786-793. doi: doi:10.1111/j.1365-2958.2006.05407.x.
- Zheng, H., Hu, Y., Li, Q., Tao, J., Cai, Y., Wang, Y., et al. (2017). Subtyping *Salmonella enterica* serovar Derby with multilocus sequence typing (MLST) and clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPRs). *Food Control* 73, Part B, 474-484. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.051>.

(Yachison et al., 2017)

Annexes

Annexe 1 : Donnée épidémiologiques des souches de la collection

Annexe 2 : Collection de génomes pour la publication: “ Source-attribution of the French *S. Derby*” (en préparation)

Annexe 3 : Collection de souches pour l’analyse pan-génome des souches françaises de *S. Derby*

Annexe 4 : références utilisée pour les différents SPI

Annexe 5 : résultats de l’invasion cellulaire sur les souches du ST71

Annexe 6 : Classement fonctionnel des gènes unique aux différentes lignées de *S. Derby*

Annexe 7 : Différences observées au locus correspondant au SPI-8

Annexe 8 : répartition géographique des souches de la collection

Annexe 1 : Donnée épidémiologiques des souches de la collection

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
201400280	08/01/2014	Midi-Pyrenees	Tarn - 81	clinical	clinical	blood
201400370	10/01/2014	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	Urines
201400414	13/01/2014	Franche-Comte	Haute-Saone - 70	clinical	clinical	feces
201400492	13/01/2014	Aquitaine	Gironde - 33	clinical	clinical	feces
201400598	10/01/2014	Rhone-Alpes	Savoie - 73	clinical	clinical	feces
201400670	21/01/2014	Midi-Pyrenees	Haute-Garonne - 31	clinical	clinical	feces
201400722	25/01/2014	Rhone-Alpes	Isere - 38	clinical	clinical	feces
201400726	27/01/2014	Rhone-Alpes	Savoie - 73	clinical	clinical	feces
201400731	22/01/2014	Rhone-Alpes	Savoie - 73	clinical	clinical	feces
201400869	29/01/2014	Pays de la Loire	Vendee - 85	clinical	clinical	feces
201401198	06/02/2014	Picardie	Somme - 80	clinical	clinical	feces
201401230	13/02/2014	Midi-Pyrenees	Tarn - 81	clinical	clinical	feces
201401437	26/02/2014	Midi-Pyrenees	Tarn - 81	clinical	clinical	feces
201401549	25/02/2014	Rhone-Alpes	Isere - 38	clinical	clinical	feces
201401562	28/02/2014	Picardie	Oise - 60	clinical	clinical	feces
201401693	08/03/2014	Aquitaine	Landes - 40	clinical	clinical	feces
201401716	07/03/2014	Poitou-Charentes	Charente-Maritime - 17	clinical	clinical	feces
201401756	05/03/2014	Languedoc-Roussillon	Lozere - 48	clinical	clinical	feces
201401857	13/03/2014	Ile-de-France	Paris - 75	clinical	clinical	feces
201401891	04/03/2014	Languedoc-Roussillon	Herault - 34	clinical	clinical	feces
201401917	12/03/2014	Basse-Normandie	Calvados - 14	clinical	clinical	Feces

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
201401922	14/03/2014	Aquitaine	Gironde - 33	clinical	clinical	feces
201402407	06/04/2014	Ile-de-France	Val-De-Marne - 94	clinical	clinical	feces
201402459	04/04/2014	Ile-de-France	Paris - 75	clinical	clinical	feces
201402462	03/04/2014	Bourgogne	Saone-Et-Loire - 71	clinical	clinical	feces
201402484	08/04/2014	Centre	Loir-Et-Chers - 41	clinical	clinical	feces
201402501	07/04/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	clinical	clinical	feces
201402511	09/04/2014	Alsace	bas-Rhin - 67	clinical	clinical	feces
201402568	02/04/2014	Martinique	Martinique - 972	clinical	clinical	feces
201402773	16/04/2014	Auvergne	Puy-De-Dome - 63	clinical	clinical	feces
201403341	06/05/2014	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	clinical	clinical	feces
201403705	16/05/2014	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	clinical	clinical	feces
201403921	23/05/2014	Rhone-Alpes	Loire - 42	clinical	clinical	feces
201404154	31/05/2014	Bretagne	Finistere - 29	clinical	clinical	feces
201404239	30/05/2014	Rhone-Alpes	Loire - 42	clinical	clinical	feces
201404339	05/06/2014	Languedoc-Roussillon	Herault - 34	clinical	clinical	feces
201404572	14/06/2014	Ile-de-France	Haut-De-Seine - 92	clinical	clinical	feces
201405022	30/06/2014	Pays de la Loire	Sarthe - 72	clinical	clinical	feces
201405217	08/06/2014	Rhone-Alpes	Isere - 38	clinical	clinical	feces
201405226	04/07/2014	Basse-Normandie	Orne - 61	clinical	clinical	feces
201405345	26/06/2014	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201405445	07/07/2014	Rhone-Alpes	Loire - 42	clinical	clinical	feces
201405538	11/07/2014	Nord-Pas-de-Calais	Nord - 59	clinical	clinical	feces
201405595	16/07/2014	Ile-de-France	Seine-Et-Marne - 77	clinical	clinical	feces
201405843	21/07/2014	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	clinical	clinical	Urines
201405871	17/07/2014	Languedoc-Roussillon	Herault - 34	clinical	clinical	Feces

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
201405900	23/07/2014	Ile-de-France	Yvelynes - 78	clinical	clinical	feces
201406406	23/07/2014	Picardie	Aisne - 02	clinical	clinical	feces
201406583	24/07/2014	Aquitaine	Gironde - 33	clinical	clinical	feces
201406688	30/07/2014	Rhone-Alpes	Haute-Savoie - 74	clinical	clinical	feces
201406995	06/08/2014	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201407050	04/08/2014	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201407098	06/08/2014	Pays de la Loire	Mayenne - 53	clinical	clinical	feces
201407219	11/08/2014	Ile-de-France	Seine-Saint-Denis - 93	clinical	clinical	feces
201407237	07/08/2014	Haute-Normandie	Eure - 27	clinical	clinical	feces
201407354	12/08/2014	Picardie	Somme - 80	clinical	clinical	feces
201407381	15/08/2014	Picardie	Somme - 80	clinical	clinical	feces
201407546	12/08/2014	Midi-Pyrenees	Haute-Garonne - 31	clinical	clinical	feces
201407672	19/08/2014	Poitou-Charentes	Vienne - 86	clinical	clinical	feces
201407779	18/08/2014	Haute-Normandie	Eure - 27	clinical	clinical	feces
201407908	20/08/2014	Centre	Eure-et-Loir - 28	clinical	clinical	feces
201408509	02/09/2014	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201408715	01/09/2014	Haute-Normandie	Seine_Maritime - 76	clinical	clinical	feces
201408728	06/09/2014	Centre	Eure-et-Loir - 28	clinical	clinical	feces
201408798	05/09/2014	Rhone-Alpes	Ardeche - 07	clinical	clinical	feces
201409015	10/09/2014	Centre	Eure-et-Loir - 28	clinical	clinical	feces
201409182	11/09/2014	Ile-de-France	Seine-Saint-Denis - 93	clinical	clinical	feces
201409218	07/09/2014	Provence-Alpes-Cote d'Azur	Vaucluse - 84	clinical	clinical	feces
201409231	12/09/2014	Languedoc-Roussillon	Pyrenees-Orientales - 66	clinical	clinical	feces
201409275	09/09/2014	Haute-Normandie	Seine_Maritime - 76	clinical	clinical	feces
201409279	10/09/2014	Poitou-Charentes	Charente - 16	clinical	clinical	Urine
201409280	15/09/2014	Poitou-Charentes	Charente - 16	clinical	clinical	feces

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
201409585	20/09/2014	Basse-Normandie	Manche - 50	clinical	clinical	feces
201409774	23/09/2014	Centre	Indre-Et-Loire - 37	clinical	clinical	feces
201409880	26/09/2014	Pays de la Loire	Mayenne - 53	clinical	clinical	feces
201409907	22/09/2014	Rhone-Alpes	Isere - 38	clinical	clinical	feces
201409920	22/09/2014	Provence-Alpes-Cote d'Azur	Vaucluse - 84	clinical	clinical	feces
201410130	27/09/2014	Ile-de-France	Val-D'Oise - 95	clinical	clinical	feces
201410132	30/09/2014	Ile-de-France	Essonne - 91	clinical	clinical	feces
201410145	29/09/2014	Pays de la Loire	Sarthe - 72	clinical	clinical	feces
201410308	07/10/2014	Centre	Loir-Et-Chers - 41	clinical	clinical	feces
201410475	03/10/2014	Rhone-Alpes	Loire - 42	clinical	clinical	feces
201410586	09/10/2014	Rhone-Alpes	Isere - 38	clinical	clinical	feces
201410751	14/10/2014	Nord-Pas-de-Calais	Pas-De-Calais - 62	clinical	clinical	feces
201410756	15/10/2014	Pays de la Loire	Sarthe - 72	clinical	clinical	feces
201410757	14/10/2014	Nord-Pas-de-Calais	Pas-De-Calais - 62	clinical	clinical	feces
201410778	14/10/2014	Haute-Normandie	Seine_Maritime - 76	clinical	clinical	feces
201410957	22/10/2014	Rhone-Alpes	Savoie - 73	clinical	clinical	feces
201411020	25/10/2014	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201411400	06/11/2014	Pays de la Loire	Mayenne - 53	clinical	clinical	feces
201411406	03/11/2014	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201411591	09/11/2014	Ile-de-France	Yvelynes - 78	clinical	clinical	Urines
201411667	12/11/2014	Poitou-Charentes	Charente-Maritime - 17	clinical	clinical	feces
201411672	15/11/2014	Languedoc-Roussillon	Pyrenees-Orientales - 66	clinical	clinical	feces
201411751	14/11/2014	Poitou-Charentes	Vienne - 86	clinical	clinical	blood
201411878	19/11/2014	Basse-Normandie	Calvados - 14	clinical	clinical	Urines
201411996	24/11/2014	Midi-Pyrenees	Aveyron - 12	clinical	clinical	feces
201412029	26/11/2014	Ile-de-France	Val-D'Oise - 95	clinical	clinical	feces

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
201412046	26/11/2014	Bretagne	Ille-Et-Vilaine - 35	clinical	clinical	feces
201412048	27/11/2014	Ile-de-France	Haut-De-Seine - 92	clinical	clinical	feces
201412102	26/11/2014	Lorraine	Vosges - 88	clinical	clinical	feces
201412122	27/11/2014	Languedoc-Roussillon	Herault - 34	clinical	clinical	feces
201412140	29/11/2014	Lorraine	Moselle - 57	clinical	clinical	feces
201412149	08/11/2014	Rhone-Alpes	Haute-Savoie - 74	clinical	clinical	feces
201412178	02/12/2014	Poitou-Charentes	Charente-Maritime - 17	clinical	clinical	feces
201412300	03/12/2014	Provence-Alpes-Cote d'Azur	Vaucluse - 84	clinical	clinical	feces
201412323	04/12/2014	Basse-Normandie	Manche - 50	clinical	clinical	feces
201412326	03/12/2014	Rhone-Alpes	Ain - 01	clinical	clinical	Urines
201412502	11/12/2014	Midi-Pyrenees	Aveyron - 12	clinical	clinical	feces
201412615	16/12/2014	Alsace	bas-Rhin - 67	clinical	clinical	feces
201412831	27/12/2014	Ile-de-France	Seine-Saint-Denis - 93	clinical	clinical	feces
201412853	15/12/2014	Ile-de-France	Seine-Et-Marne - 77	clinical	clinical	feces
201500035	01/01/2015	Picardie	Oise - 60	clinical	clinical	feces
201500043	25/12/2014	Ile-de-France	Haut-De-Seine - 92	clinical	clinical	feces
201500113	03/01/2015	Ile-de-France	Val-De-Marne - 94	clinical	clinical	feces
201500189	04/01/2015	Auvergne	Allier - 03	clinical	clinical	feces
201500261	08/01/2015	Centre	Eure-et-Loir - 28	clinical	clinical	feces
201500264	12/01/2015	Rhone-Alpes	Ardeche - 07	clinical	clinical	feces
201500314	10/01/2015	Midi-Pyrenees	Aveyron - 12	clinical	clinical	feces
201500377	11/01/2015	Lorraine	Moselle - 57	clinical	clinical	feces
201500546	07/01/2015	La Reunion	La Reunion - 974	clinical	clinical	feces
201500587	16/01/2015	Aquitaine	Gironde - 33	clinical	clinical	feces
201500614	17/01/2015	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	Urines
201500621	16/01/2015	Midi-Pyrenees	Aveyron - 12	clinical	clinical	feces

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
201500629	16/01/2015	Limousin	Haute-Vienne - 87	clinical	clinical	feces
201500639	20/01/2015	Midi-Pyrenees	Haute-Garonne - 31	clinical	clinical	feces
201500733	22/01/2015	Aquitaine	Gironde - 33	clinical	clinical	feces
201500827	23/01/2015	Poitou-Charentes	Charente-Maritime - 17	clinical	clinical	Urines
201500915	31/01/2015	Poitou-Charentes	Charente - 16	clinical	clinical	feces
201500958	27/01/2015	Ile-de-France	Val-D'Oise - 95	clinical	clinical	Urines
201501250	14/02/2015	Lorraine	Moselle - 57	clinical	clinical	feces
201501275	13/02/2015	Ile-de-France	Val-De-Marne - 94	clinical	clinical	feces
201501287	14/02/2015	Poitou-Charentes	Charente - 16	clinical	clinical	feces
201501340	14/02/2015	Poitou-Charentes	Charente-Maritime - 17	clinical	clinical	Urines
201501354	12/02/2015	Languedoc-Roussillon	Herault - 34	clinical	clinical	feces
201501456	19/02/2015	Midi-Pyrenees	Aveyron - 12	clinical	clinical	feces
201501496	23/02/2015	Nord-Pas-de-Calais	Pas-De-Calais - 62	clinical	clinical	Urines
201501530	24/02/2015	Picardie	Aisne - 02	clinical	clinical	feces
201501600	28/02/2015	Aquitaine	Gironde - 33	clinical	clinical	Urines
201501639	28/02/2015	Picardie	Oise - 60	clinical	clinical	feces
201501915	13/03/2015	Bretagne	Ille-Et-Vilaine - 35	clinical	clinical	feces
201502038	14/03/2015	Corse	Corse - 20	clinical	clinical	feces
201502185	23/03/2015	Aquitaine	Pyrenes-Atlantique - 64	clinical	clinical	feces
201502215	17/03/2015	Guyane	Guyane - 973	clinical	clinical	feces
201502248	23/03/2015	Midi-Pyrenees	Haute-Pyrenees - 65	clinical	clinical	feces
201502336	27/03/2015	Rhone-Alpes	Haute-Savoie - 74	clinical	clinical	feces
201502433	26/03/2015	Nord-Pas-de-Calais	Pas-De-Calais - 62	clinical	clinical	feces
201502495	03/04/2015	Nord-Pas-de-Calais	Pas-De-Calais - 62	clinical	clinical	feces
201502500	31/03/2015	La Reunion	La Reunion - 974	clinical	clinical	feces
201502528	06/04/2015	Languedoc-Roussillon	Herault - 34	clinical	clinical	feces

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
201502533	31/03/2015	Auvergne	Allier - 03	clinical	clinical	feces
201502549	30/03/2015	Limousin	Haute-Vienne - 87	clinical	clinical	feces
201502572	04/04/2015	Picardie	Somme - 80	clinical	clinical	feces
201502610	11/02/2015	Rhone-Alpes	Loire - 42	clinical	clinical	feces
201502623	09/04/2015	Ile-de-France	Val-D'Oise - 95	clinical	clinical	feces
201502624	07/04/2015	Bourgogne	Saone-Et-Loire - 71	clinical	clinical	feces
201502655	08/04/2015	Centre	Loiret - 45	clinical	clinical	feces
201502666	10/03/2015	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	clinical	clinical	feces
201502733	10/04/2015	Languedoc-Roussillon	Herault - 34	clinical	clinical	feces
201502817	14/04/2015	Ile-de-France	Paris - 75	clinical	clinical	feces
201502827	12/04/2015	Ile-de-France	Yvelynes - 78	clinical	clinical	feces
201502838	14/04/2015	Languedoc-Roussillon	Gard - 30	clinical	clinical	feces
201502943	20/04/2015	Midi-Pyrenees	Lot - 46	clinical	clinical	feces
201502965	17/04/2015	Ile-de-France	Paris - 75	clinical	clinical	feces
201502967	17/04/2015	Nord-Pas-de-Calais	Nord - 59	clinical	clinical	feces
201503047	20/04/2015	Languedoc-Roussillon	Herault - 34	clinical	clinical	feces
201503101	20/04/2015	Haute-Normandie	Seine_Maritime - 76	clinical	clinical	feces
201503142	23/04/2015	Ile-de-France	Seine-Et-Marne - 77	clinical	clinical	feces
201503204	28/04/2015	Franche-Comte	Haute-Saone - 70	clinical	clinical	feces
201503251	30/04/2015	Ile-de-France	Seine-Et-Marne - 77	clinical	clinical	feces
201503310	04/05/2015	Pays de la Loire	Vendee - 85	clinical	clinical	feces
201503321	01/05/2015	Franche-Comte	Jura - 39	clinical	clinical	feces
201503418	30/04/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	Var - 83	clinical	clinical	feces
201503426	04/05/2015	Pays de la Loire	Vendee - 85	clinical	clinical	feces
201503447	04/05/2015	Pays de la Loire	Vendee - 85	clinical	clinical	feces
201503568	16/05/2015	Basse-Normandie	Manche - 50	clinical	clinical	feces

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
201503587	13/05/2015	Bretagne	Ille-Et-Vilaine - 35	clinical	clinical	feces
201503593	12/05/2015	Ile-de-France	Paris - 75	clinical	clinical	feces
201503756	19/05/2015	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201503838	09/05/2015	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201503841	16/05/2015	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201503842	09/05/2015	Rhone-Alpes	Ain - 01	clinical	clinical	feces
201503845	09/05/2015	Rhone-Alpes	Loire - 42	clinical	clinical	feces
201503849	19/05/2015	Pays de la Loire	Sarthe - 72	clinical	clinical	feces
201503879	21/05/2015	Rhone-Alpes	Ain - 01	clinical	clinical	feces
201504075	23/05/2015	Midi-Pyrenees	Gers - 32	clinical	clinical	feces
201504172	01/06/2015	Ile-de-France	Yvelynes - 78	clinical	clinical	feces
201504287	02/06/2015	Midi-Pyrenees	Aveyron - 12	clinical	clinical	feces
201504437	08/06/2015	Aquitaine	Gironde - 33	clinical	clinical	feces
201504487	06/06/2015	Ile-de-France	Val-D'Oise - 95	clinical	clinical	feces
201504515	06/06/2015	Lorraine	Meurthe-Et-Moselle - 54	clinical	clinical	feces
201504525	04/06/2015	Languedoc-Roussillon	Gard - 30	clinical	clinical	feces
201504535	15/06/2015	Lorraine	Meurthe-Et-Moselle - 54	clinical	clinical	feces
201504617	17/06/2015	Poitou-Charentes	Vienne - 86	clinical	clinical	feces
201504624	10/06/2015	Rhone-Alpes	Loire - 42	clinical	clinical	feces
201504717	18/06/2015	Nord-Pas-de-Calais	Pas-De-Calais - 62	clinical	clinical	feces
201504722	19/06/2015	Centre	Indre-Et-Loire - 37	clinical	clinical	Urines
201504777	15/06/2015	Alsace	bas-Rhin - 67	clinical	clinical	articulatory
201504798	21/06/2015	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201504919	27/06/2015	Bretagne	Morbihan - 56	clinical	clinical	Urines
201504928	23/06/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	Var - 83	clinical	clinical	feces
201505111	02/07/2015	Lorraine	Moselle - 57	clinical	clinical	feces

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
201505354	08/07/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	Bouches-Du-Rhone - 13	clinical	clinical	feces
201505671	17/07/2015	Lorraine	Moselle - 57	clinical	clinical	feces
201505685	11/07/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	Bouches-Du-Rhone - 13	clinical	clinical	feces
201505837	23/07/2015	Languedoc-Roussillon	Pyrenees-Orientales - 66	clinical	clinical	feces
201505847	25/07/2015	Haute-Normandie	Seine_Maritime - 76	clinical	clinical	feces
201505858	25/07/2015	Poitou-Charentes	Vienne - 86	clinical	clinical	feces
201505866	23/07/2015	Franche-Comte	Haute-Saone - 70	clinical	clinical	feces
201505937	27/07/2015	Nord-Pas-de-Calais	Pas-De-Calais - 62	clinical	clinical	feces
201505986	27/07/2015	Ile-de-France	Paris - 75	clinical	clinical	Urine
201506082	21/07/2015	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201506135	25/07/2015	Centre	Loiret - 45	clinical	clinical	feces
201506175	28/07/2015	La Reunion	La Reunion - 974	clinical	clinical	feces
201506254	01/08/2015	Alsace	bas-Rhin - 67	clinical	clinical	blood
201506375	05/08/2015	Lorraine	Meurthe-Et-Moselle - 54	clinical	clinical	feces
201506447	04/08/2015	Rhone-Alpes	Loire - 42	clinical	clinical	feces
201506534	09/08/2015	Pays de la Loire	Vendee - 85	clinical	clinical	feces
201506601	08/08/2015	Auvergne	Allier - 03	clinical	clinical	feces
201506695	07/08/2015	Ile-de-France	Haut-De-Seine - 92	clinical	clinical	feces
201506701	11/08/2015	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	clinical	clinical	blood
201506707	30/07/2015	Midi-Pyrenees	Aveyron - 12	clinical	clinical	feces
201506750	12/08/2015	Bourgogne	Saone-Et-Loire - 71	clinical	clinical	feces
201506934	14/08/2015	Ile-de-France	Val-D'Oise - 95	clinical	clinical	feces
201507137	18/08/2015	Martinique	Martinique - 972	clinical	clinical	feces
201507240	21/08/2015	Bourgogne	Nievre - 58	clinical	clinical	feces
201507419	21/08/2015	Aquitaine	Pyrenes-Atlantique - 64	clinical	clinical	feces
201507458	24/08/2015	Ile-de-France	Val-De-Marne - 94	clinical	clinical	feces

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
201507546	20/08/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	hautes-Alpes - 05	clinical	clinical	feces
201507632	24/08/2015	Pays de la Loire	Mayenne - 53	clinical	clinical	Urines
201507709	13/08/2015	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	clinical	clinical	feces
201507829	27/08/2015	Midi-Pyrenees	Haute-Garonne - 31	clinical	clinical	feces
201507861	28/08/2015	Midi-Pyrenees	Tarn - 81	clinical	clinical	feces
201507910	29/08/2015	Franche-Comte	Doubs - 25	clinical	clinical	feces
201508052	30/08/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	Bouches-Du-Rhone - 13	clinical	clinical	feces
201508203	31/08/2015	Haute-Normandie	Seine_Maritime - 76	clinical	clinical	feces
201508243	02/09/2015	Auvergne	Cantal - 15	clinical	clinical	Urines
201508312	31/08/2015	Lorraine	Vosges - 88	clinical	clinical	feces
201508416	01/09/2015	Rhone-Alpes	Loire - 42	clinical	clinical	feces
201508420	29/08/2015	Nord-Pas-de-Calais	Nord - 59	clinical	clinical	feces
201508491	05/08/2015	Ile-de-France	Paris - 75	clinical	clinical	Urines
201508541	03/09/2015	Ile-de-France	Paris - 75	clinical	clinical	feces
201508609	04/09/2015	Rhone-Alpes	Isere - 38	clinical	clinical	blood
201508643	04/09/2015	Midi-Pyrenees	Tarn - 81	clinical	clinical	feces
201508754	09/09/2015	Midi-Pyrenees	Tarn - 81	clinical	clinical	Peritoneal
201508783	08/09/2015	Pays de la Loire	Sarthe - 72	clinical	clinical	feces
201508799	08/09/2015	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	clinical	clinical	feces
201508967	10/09/2015	Pays de la Loire	Maine-Et-Loire - 49	clinical	clinical	feces
201509065	10/09/2015	Nord-Pas-de-Calais	Nord - 59	clinical	clinical	Urines
201509142	11/09/2015	Aquitaine	Gironde - 33	clinical	clinical	feces
201509256	09/09/2015	Rhone-Alpes	Ain - 01	clinical	clinical	feces
201509385	19/09/2015	Centre	Cher - 18	clinical	clinical	feces
201509386	15/09/2015	Centre	Indre - 36	clinical	clinical	feces
201509427	18/09/2015	Midi-Pyrenees	Aveyron - 12	clinical	clinical	feces

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
201509541	20/09/2015	Bourgogne	Cote-D'Or - 21	clinical	clinical	feces
201509601	14/09/2015	Rhone-Alpes	Isere - 38	clinical	clinical	feces
201509794	25/09/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	Var - 83	clinical	clinical	feces
201509828	24/09/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	Bouches-Du-Rhone - 13	clinical	clinical	feces
201509855	25/09/2015	Languedoc-Roussillon	Herault - 34	clinical	clinical	Urethral
201510029	30/09/2015	Champagne-Ardenne	Aube - 10	clinical	clinical	feces
201510137	30/09/2015	Midi-Pyrenees	Tarn - 81	clinical	clinical	feces
201510168	02/10/2015	Picardie	Somme - 80	clinical	clinical	feces
201510223	05/10/2015	Midi-Pyrenees	Aveyron - 12	clinical	clinical	feces
201510274	05/10/2015	Ile-de-France	Val-D'Oise - 95	clinical	clinical	feces
201510727	13/10/2015	Nord-Pas-de-Calais	Nord - 59	clinical	clinical	feces
201510824	16/10/2015	Bretagne	Ille-Et-Vilaine - 35	clinical	clinical	feces
201510872	14/10/2015	Champagne-Ardenne	Ardenne - 08	clinical	clinical	feces
201510905	17/10/2015	Auvergne	Puy-De-Dome - 63	clinical	clinical	feces
201510930	15/10/2015	Pays de la Loire	Maine-Et-Loire - 49	clinical	clinical	feces
201511007	15/10/2015	Martinique	Martinique - 972	clinical	clinical	feces
201511240	23/10/2015	Bourgogne	Saone-Et-Loire - 71	clinical	clinical	blood
201511433	11/10/2015	Rhone-Alpes	Haute-Savoie - 74	clinical	clinical	Urine
201511573	01/11/2015	Lorraine	Moselle - 57	clinical	clinical	feces
201511640	08/11/2015	Bourgogne	Saone-Et-Loire - 71	clinical	clinical	feces
201511678	02/11/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	Vaucluse - 84	clinical	clinical	feces
201511707	04/11/2015	Ile-de-France	Paris - 75	clinical	clinical	Urine
201511813	07/11/2015	Ile-de-France	Seine-Saint-Denis - 93	clinical	clinical	feces
201511872	12/11/2015	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201511935	10/11/2015	Lorraine	Vosges - 88	clinical	clinical	feces
201511948	12/11/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	Alpes-Maritimes - 06	clinical	clinical	feces

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
201512015	09/11/2015	Rhone-Alpes	Haute-Savoie - 74	clinical	clinical	feces
201512087	13/11/2015	Lorraine	Moselle - 57	clinical	clinical	feces
201512424	26/11/2015	Ile-de-France	Seine-Et-Marne - 77	clinical	clinical	Pus
201512455	29/11/2015	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201512483	28/11/2015	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201512534	04/12/2015	Aquitaine	Gironde - 33	clinical	clinical	feces
201512581	05/12/2015	Bretagne	Ille-Et-Vilaine - 35	clinical	clinical	feces
201512675	08/12/2015	Pays de la Loire	Sarthe - 72	clinical	clinical	feces
201512711	10/12/2015	Bourgogne	Saone-Et-Loire - 71	clinical	clinical	Pus
201512754	09/12/2015	Bourgogne	Nievre - 58	clinical	clinical	feces
201512756	09/12/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	Alpes-Maritimes - 06	clinical	clinical	feces
201512780	03/12/2015	Nord-Pas-de-Calais	Nord - 59	clinical	clinical	feces
201512808	11/12/2015	Rhone-Alpes	Rhone - 69	clinical	clinical	feces
201512811	09/12/2015	Basse-Normandie	Calvados - 14	clinical	clinical	feces
201512822	11/12/2015	Aquitaine	Lot-Et-Garonne - 47	clinical	clinical	feces
201512840	10/12/2015	Basse-Normandie	Calvados - 14	clinical	clinical	feces
201512881	14/12/2015	Basse-Normandie	Calvados - 14	clinical	clinical	Urines
201512893	16/12/2015	Lorraine	Meurthe-Et-Moselle - 54	clinical	clinical	feces
201512926	04/12/2015	Ile-de-France	Haut-De-Seine - 92	clinical	clinical	feces
201513031	25/11/2015	Midi-Pyrenees	Haute-Garonne - 31	clinical	clinical	Urines
201513069	23/12/2015	Rhone-Alpes	Ain - 01	clinical	clinical	feces
201513113	22/12/2015	Aquitaine	Gironde - 33	clinical	clinical	feces
201513193	26/12/2015	Centre	Loiret - 45	clinical	clinical	feces
2014LSAL00238	07/01/2014	Rhone-Alpes	Haute-Savoie - 74	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - fresh
2014LSAL00274	09/01/2014	Lorraine	Meurthe-Et-Moselle - 54	Porc	retail sale	Meat from pig - meat products - raw but intended to be eaten cooked

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
2014LSAL00337	14/01/2014	Pays de la Loire	Maine-Et-Loire - 49	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation intended to be eaten cooked
2014LSAL00455	15/01/2014	Poitou-Charentes	Deux-Sevres - 79	Porc	Slaughter	Meat from pig - fresh
2014LSAL00717	11/02/2014	Midi-Pyrenees	Lot - 46	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2014LSAL00762	18/02/2014	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - fresh
2014LSAL00814	28/01/2014	Aquitaine	Dordogne - 24	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2014LSAL00873	17/02/2014	Bretagne	Morbihan - 56	Porc	Unspecified	Meat from pig - fresh
2014LSAL00980	05/03/2014	Bretagne	Morbihan - 56	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - fresh
2014LSAL01158	14/03/2014	Pays de la Loire	Maine-Et-Loire - 49	Porc	retail sale	Meat from pig - offal
2014LSAL01220	17/03/2014	Rhone-Alpes	Savoie - 73	Porc	Slaughter	Meat from pig - fresh
2014LSAL01256	13/03/2014	Provence-Alpes-Cote d'Azur	hautes-Alpes - 05	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2014LSAL01306	24/03/2014	Limousin	Correze - 19	Porc	retail sale	Meat from pig - offal
2014LSAL01311	16/03/2014	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	Poultry	Slaughter	Meat from duck - carcass
2014LSAL01383	26/03/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL01467	04/04/2014	Auvergne	Allier - 03	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2014LSAL01499	01/04/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL01651	09/04/2014	Pays de la Loire	Sarthe - 72	Porc	retail sale	Meat from pig - offal
2014LSAL01779	24/04/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL01780	24/04/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL01781	24/04/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL01894	28/04/2014	Aquitaine	Dordogne - 24	Porc	Slaughter	Meat from pig
2014LSAL02051	21/05/2014	Bretagne	Ille-Et-Vilaine - 35	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2014LSAL02073	13/05/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
2014LSAL02163	20/05/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL02205	04/06/2014	Poitou-Charentes	Deux-Sevres - 79	Poultry	Livestock farming	Gallus gallus - fowl - broilers
2014LSAL02278	06/01/2014	Aquitaine	Pyrenes-Atlantique - 64	Porc	Slaughter	Meat from pig - fresh
2014LSAL02285	21/05/2014	Poitou-Charentes	Vienne - 86	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2014LSAL02325	02/06/2014	Rhone-Alpes	Rhone - 69	Poultry	Slaughter	Meat from turkey - carcass
2014LSAL02431	18/06/2014	Nord-Pas-de-Calais	Nord - 59	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - carcass
2014LSAL02441	18/06/2014	Bretagne	Morbihan	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL02463	20/06/2014	Auvergne	Puy-De-Dome - 63	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - fresh
2014LSAL02547	18/06/2014	Poitou-Charentes	Deux-Sevres - 79	Porc	Slaughter	Meat from pig - fresh
2014LSAL02838	11/07/2014	Languedoc-Roussillon	Lozere - 48	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2014LSAL03150	15/07/2014	Bretagne	Morbihan - 56	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh
2014LSAL03218	30/07/2014	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - mechanically separated meat - MSM
2014LSAL03309	02/04/2014	Pays de la Loire	Mayenne - 53	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03340	05/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03342	04/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03344	05/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03348	11/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03350	11/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03355	11/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
2014LSAL03356	11/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03383	17/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03388	17/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03390	17/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03393	17/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03396	17/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03398	17/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03401	24/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03404	24/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03407	24/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03409	24/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03410	24/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03414	02/07/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03416	02/07/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03420	02/07/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03463	09/07/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03465	09/07/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
2014LSAL03470	15/07/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03478	15/07/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03510	30/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03521	22/07/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03524	30/06/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL03616	13/08/2014	Auvergne	Puy-De-Dome - 63	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation
2014LSAL03694	08/08/2014	Bretagne	Morbihan - 56	Poultry	Industrial transformation	Meat from guinea fowl
2014LSAL03785	27/08/2014	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	Porc	Slaughter	Meat from pig - offal
2014LSAL03787	27/08/2014	Pays de la Loire	Maine-Et-Loire - 49	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - offal
2014LSAL03926	27/08/2014	Bretagne	Morbihan - 56	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - fresh
2014LSAL03973	07/08/2014	Aquitaine	Dordogne - 24	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation
2014LSAL03974	07/08/2014	Aquitaine	Dordogne - 24	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2014LSAL03985	15/09/2014	Rhone-Alpes	Drome - 26	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2014LSAL04065	17/09/2014	Nord-Pas-de-Calais	Pas-De-Calais - 62	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - meat products
2014LSAL04466	01/10/2014	Pays de la Loire	Maine-Et-Loire - 49	Porc	retail sale	Meat from pig - meat preparation intended to be cooked
2014LSAL04673	06/10/2014	Rhone-Alpes	Rhone - 69	Porc	Industrial transformation	Meat from pig
2014LSAL04833	17/09/2014	Auvergne	Cantal - 15	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - minced meat - intended to be eaten cooked
2014LSAL05133	05/11/2014	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Poultry	Slaughter	Meat from turkey - carcass
2014LSAL05213	12/11/2014	Bretagne	Morbihan	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2014LSAL05495	29/10/2014	Languedoc-Roussillon	Aveyron - 12	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - minced meat - intended to be eaten cooked

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
2014LSAL05538	01/12/2014	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	Porc	livestock farming	Meat from pig - fresh
2014LSAL05735	06/11/2014	Ile-de-France	Paris - 75	Porc	retail sale	Meat from pig - fresh
2015LSAL00134	27/10/2014	Aquitaine	Pyrenes-Atlantique - 64	Porc	Slaughter	Meat from pig - fresh
2015LSAL00137	17/12/2014	Poitou-Charentes	Charente - 16	Porc	Slaughter	Meat from pig - fresh
2015LSAL00190	18/12/2014	Lorraine	Meurthe-Et-Moselle - 54	Porc	retail sale	Meat from pig - meat products - raw but intended to be eaten cooked
2015LSAL00219	30/12/2014	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh
2015LSAL00314	09/10/2014	Languedoc-Roussillon	Lozere - 48	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL00428	02/06/2014	Bretagne	Ille-Et-Vilaine - 35	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL00429	02/06/2014	Bretagne	Ille-Et-Vilaine - 35	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL00452	10/06/2014	Bretagne	Ille-Et-Vilaine - 35	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL00465	10/06/2014	Bretagne	Ille-Et-Vilaine - 35	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL00477	21/01/2015	Bretagne	Morbihan - 56	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh
2015LSAL00641	30/01/2015	Centre	Eure-et-Loir - 28	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - fresh
2015LSAL00691	03/02/2015	Auvergne	Cantal - 15	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - carcass
2015LSAL00728	13/02/2015	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation destinee a etre consommee cuite
2015LSAL00981	05/03/2015	Auvergne	Cantal - 15	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - carcass
2015LSAL00989	02/03/2015	Languedoc-Roussillon	Lozere - 48	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL00990	16/02/2015	Languedoc-Roussillon	Lozere - 48	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL01029	10/03/2015	Pays de la Loire	Mayenne - 53	Porc	retail sale	Meat from pig - meat preparation destinee a etre consommee cuite
2015LSAL01058	17/03/2015	Languedoc-Roussillon	Herault - 34	Porc	Slaughter	Meat from pig – carcass

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
2015LSAL01075	17/03/2015	Bretagne	Morbihan	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh
2015LSAL01179	25/03/2015	Bretagne	Morbihan	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh
2015LSAL01314	23/03/2015	Centre	Loir-Et-Chers - 41	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL01334	24/03/2015	Rhone-Alpes	Drome - 26	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL01341	01/04/2015	Lorraine	Vosges	Poultry	Livestock farming	Gallus gallus - fowl - broilers
2015LSAL01474	15/04/2015	Bretagne	Morbihan	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - mechanically separated meat - MSM
2015LSAL01578	22/04/2015	Pays de la Loire	Vendee - 85	Porc	Industrial transformation	Meat from pig
2015LSAL01591	28/04/2015	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh
2015LSAL01697	13/05/2015	Bretagne	Finistere - 29	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL01713	17/03/2015	Auvergne	Haute-Loire - 43	Porc	Industrial transformation	Meat from pig
2015LSAL01716	24/03/2015	Auvergne	Haute-Loire - 43	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL01748	20/04/2015	Aquitaine	Dordogne - 24	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL01817	28/04/2015	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL01821	19/05/2015	Bretagne	Cotes-D'Armor - 22	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL01829	27/05/2015	Bretagne	Morbihan - 56	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh
2015LSAL01973	30/04/2015	Midi-Pyrenees	Aveyron - 12	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation
2015LSAL02005	04/06/2015	bretagne	Morbihan	Poultry	Industrial transformation	Meat from duck - fresh
2015LSAL02462	07/07/2015	Languedoc-Roussillon	Lozere - 48	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL02588	23/06/2015	Aquitaine	Aveyron - 12	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - minced meat - intended to be eaten cooked
2015LSAL02717	28/07/2015	Rhone-Alpes	Drome - 26	Porc	Slaughter	Meat from pig – carcass

Key	Sampling date	Region	Departement	Sector	Stage of prelevement	Matrix
2015LSAL03121	17/08/2015	Aquitaine	Dordogne - 24	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL03260	02/09/2015	Rhone-Alpes	Ain - 01	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL03284	11/08/2015	Bretagne	Morbihan - 56	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL03285	17/08/2015	Bretagne	Morbihan - 56	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL03548	09/06/2015	Bretagne	Finistere - 29	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL03550	08/06/2015	Bretagne	Finistere - 29	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL03563	21/09/2015	Auvergne	Allier - 03	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL03564	14/09/2015	Rhone-Alpes	Loire - 42	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - fresh
2015LSAL03879	14/10/2015	Languedoc-Roussillon	Lozere - 48	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL03891	02/10/2015	Auvergne	Cantal - 15	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - carcass
2015LSAL03910	05/08/2015	Bretagne	Morbihan - 56	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL04018	22/10/2015	Rhone-Alpes	Drome - 26	Poultry	Livestock farming	Gallus gallus - fowl - broilers
2015LSAL04150	07/10/2015	Limousin	Haute-Vienne - 87	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass
2015LSAL04158	28/10/2015	Auvergne	Allier - 03	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL04225	03/11/2015	Bourgogne	Cote-D'Or - 21	Porc	retail sale	Meat from pig - fresh
2015LSAL04227	26/10/2015	Bourgogne	Cote-D'Or - 21	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2015LSAL04332	03/11/2015	Pays de la Loire	Loire-Atlantique - 44	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh
2015LSAL04562	31/08/2015	Pays de la Loire	Mayenne - 53	Porc	Slaughter	Meat from pig - carcass
2016LSAL00028	22/12/2015	Pays de la Loire	Maine-Et-Loire - 49	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - fresh
2016LSAL00056	30/11/2015	Aquitaine	Dordogne - 24	Porc	Industrial transformation	Meat from pig - offal

Annexe 2 : Collection de génomes pour la publication : “ Source-attributionstudy of *S. Derby* in France” (en préparation)

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
2014LSAL00238	07/01/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07267519	273	91.92%	682
2014LSAL00274	09/01/2014	Lorraine	49.0163	6.6165	Pork	Retail sale	Meat from pig - meat products - raw but intended to be eaten cooked	SAMN07734874	113	91.4%	40
2014LSAL00337	14/01/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation intended to be eaten cooked	SAMN07734875	129	91.38%	40
2014LSAL00455	15/01/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	Pork	Slaughter	Meat from pig - fresh	SAMN07734876	75	91.41%	40
2014LSAL00717	11/02/2014	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734877	235	91.0%	40
2014LSAL00762	18/02/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07734878	282	91.28%	40
2014LSAL00814	28/01/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734879	307	91.42%	40
2014LSAL00873	17/02/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Unspecified	Meat from pig - fresh	SAMN07734880	221	91.34%	40
2014LSAL00980	05/03/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07734881	99	91.4%	40
2014LSAL01158	14/03/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Retail sale	Meat from pig - offal	SAMN07734882	142	91.56%	682
2014LSAL01220	17/03/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Slaughter	Meat from pig - fresh	SAMN07734883	244	91.43%	40
2014LSAL01256	13/03/2014	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734884	139	91.36%	40
2014LSAL01306	24/03/2014	Limousin	45.7388	1.6891	Pork	Retail sale	Meat from pig - offal	SAMN07734885	51	91.28%	40
2014LSAL01311	16/03/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Poultry	Slaughter	Meat from duck - carcass	SAMN07734886	164	92.55%	71
2014LSAL01383	26/03/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734887	376	92.55%	71

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
2014LSAL01467	04/04/2014	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734888	227	91.46%	39
2014LSAL01499	01/04/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734889	309	92.53%	71
2014LSAL01651	09/04/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Retail sale	Meat from pig - offal	SAMN07734890	140	91.4%	40
2014LSAL01779	24/04/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734891	236	92.58%	71
2014LSAL01780	24/04/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734892	251	92.57%	71
2014LSAL01781	24/04/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734893	190	92.51%	71
2014LSAL01894	28/04/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig	SAMN07734894	252	91.43%	40
2014LSAL02051	21/05/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734895	229	91.4%	40
2014LSAL02073	13/05/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734896	101	92.39%	71
2014LSAL02163	20/05/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734897	208	92.47%	71
2014LSAL02205	04/06/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	Poultry	Livestock farming	Gallus gallus - fowl - broilers	SAMN07734898	247	91.4%	40
2014LSAL02278	06/01/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - fresh	SAMN07734899	178	91.42%	40
2014LSAL02285	21/05/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734900	238	91.36%	40
2014LSAL02325	02/06/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Poultry	Slaughter	Meat from turkey - carcass	SAMN07734901	275	92.55%	71
2014LSAL02431	18/06/2014	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - carcass	SAMN07734902	182	91.48%	40
2014LSAL02441	18/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734903	281	92.53%	71
2014LSAL02463	20/06/2014	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07734904	257	91.38%	40
2014LSAL02547	18/06/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	Pork	Slaughter	Meat from pig - fresh	SAMN07734905	240	91.5%	40
2014LSAL02838	11/07/2014	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734906	250	91.37%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
2014LSAL03150	15/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734907	239	92.51%	71
2014LSAL03218	30/07/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - mechanically separated meat - MSM	SAMN07734908	217	92.96%	71
2014LSAL03309	02/04/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734909	152	92.51%	71
2014LSAL03340	05/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734910	250	92.54%	71
2014LSAL03342	04/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734911	229	92.51%	71
2014LSAL03344	05/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734912	238	92.55%	71
2014LSAL03348	11/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734913	232	92.53%	71
2014LSAL03350	11/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734914	226	92.52%	71
2014LSAL03355	11/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734915	245	92.5%	71
2014LSAL03356	11/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734916	240	92.53%	71
2014LSAL03383	17/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734917	251	92.53%	71
2014LSAL03388	17/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734918	238	92.53%	71
2014LSAL03390	17/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734919	214	92.54%	71
2014LSAL03393	17/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734920	233	92.52%	71
2014LSAL03396	17/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734921	225	92.53%	71
2014LSAL03398	17/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734922	205	92.53%	71
2014LSAL03401	24/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734923	238	92.53%	71

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
2014LSAL03404	24/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734924	229	92.67%	71
2014LSAL03407	24/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734926	233	92.53%	71
2014LSAL03409	24/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734927	253	92.53%	71
2014LSAL03410	24/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734928	205	92.56%	71
2014LSAL03414	02/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734929	228	92.56%	71
2014LSAL03416	02/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734930	193	92.55%	71
2014LSAL03420	02/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734931	265	92.52%	71
2014LSAL03463	09/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734932	251	92.54%	71
2014LSAL03465	09/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734933	278	92.55%	71
2014LSAL03470	15/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734934	251	92.51%	71
2014LSAL03478	15/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734935	256	92.55%	71
2014LSAL03510	30/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734936	279	92.55%	71
2014LSAL03521	22/07/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734937	236	92.54%	71
2014LSAL03524	30/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734938	227	92.5%	71
2014LSAL03616	13/08/2014	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation	SAMN07734939	214	91.37%	40
2014LSAL03694	08/08/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from guinea fowl	SAMN07734940	297	92.55%	71
2014LSAL03785	27/08/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Slaughter	Meat from pig - offal	SAMN07734941	271	91.92%	682
2014LSAL03787	27/08/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - offal	SAMN07734942	350	91.92%	682

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
2014LSAL03926	27/08/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07734943	329	97.39%	39
2014LSAL03973	07/08/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation	SAMN07734944	248	91.34%	40
2014LSAL03974	07/08/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734945	269	91.41%	40
2014LSAL03975	07/08/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734946	194	91.42%	40
2014LSAL03976	07/08/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734947	210	91.41%	40
2014LSAL03985	15/09/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734948	119	92.3%	71
2014LSAL04065	17/09/2014	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - meat products	SAMN07734949	247	91.28%	40
2014LSAL04466	01/10/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Retail sale	Meat from pig - meat preparation intended to be cooked	SAMN07734950	174	91.41%	40
2014LSAL04673	06/10/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Industrial transformation	Meat from pig	SAMN07734951	258	92.45%	71
2014LSAL04833	17/09/2014	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - minced meat - intended to be eaten cooked	SAMN07734952	135	91.38%	40
2014LSAL05133	05/11/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from turkey - carcass	SAMN07734953	206	93.35%	71
2014LSAL05213	12/11/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - carcass	SAMN07734954	193	92.58%	71
2014LSAL05495	29/10/2014	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - minced meat - intended to be eaten cooked	SAMN07734955	211	91.43%	40
2014LSAL05538	01/12/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	livestock farming	Meat from pig - fresh	SAMN07734956	290	91.33%	39
2014LSAL05735	06/11/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	Pork	Retail sale	Meat from pig - fresh	SAMN07734957	244	92.5%	71
2015LSAL00134	27/10/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - fresh	SAMN07734958	265	91.47%	40
2015LSAL00137	17/12/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	Pork	Slaughter	Meat from pig - fresh	SAMN07734959	227	91.38%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
2015LSAL00190	18/12/2014	Lorraine	49.0163	6.6165	Pork	Retail sale	Meat from pig - meat products - raw but intended to be eaten cooked	SAMN07734960	286	91.45%	40
2015LSAL00219	30/12/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734961	257	92.54%	71
2015LSAL00314	09/10/2014	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734962	251	91.52%	39
2015LSAL00428	02/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734963	236	91.42%	40
2015LSAL00429	02/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734964	243	91.41%	40
2015LSAL00452	10/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734965	241	91.4%	40
2015LSAL00465	10/06/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734966	189	91.39%	40
2015LSAL00477	21/01/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734967	216	92.5%	71
2015LSAL00641	30/01/2015	Centre	47.7947	2.3483	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07734968	254	93.62%	39
2015LSAL00691	03/02/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - carcass	SAMN07734969	282	91.32%	40
2015LSAL00728	13/02/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation destinee a etre consomsee cuite	SAMN07734970	237	91.34%	40
2015LSAL00981	05/03/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - carcass	SAMN07734971	257	91.34%	40
2015LSAL00989	02/03/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734972	262	91.43%	40
2015LSAL00990	16/02/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734973	205	91.4%	40
2015LSAL01029	10/03/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Retail sale	Meat from pig - meat preparation destinee a etre consomsee cuite	SAMN07734974	233	91.42%	40
2015LSAL01058	17/03/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734975	212	91.4%	40
2015LSAL01075	17/03/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734976	156	92.53%	71
2015LSAL01179	25/03/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734977	130	92.56%	71

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
2015LSAL01314	23/03/2015	Centre	47.7947	2.3483	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734978	224	91.4%	40
2015LSAL01334	24/03/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734979	220	91.38%	40
2015LSAL01341	01/04/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	Poultry	Livestock farming	Gallus gallus - fowl - broilers	SAMN07734980	307	91.42%	40
2015LSAL01474	15/04/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from broilers - Gallus gallus - mechanically separated meat - MSM	SAMN07734981	321	92.53%	71
2015LSAL01578	22/04/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Industrial transformation	Meat from pig	SAMN07734982	215	91.39%	40
2015LSAL01591	28/04/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734983	229	92.53%	71
2015LSAL01697	13/05/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734984	192	91.38%	40
2015LSAL01713	17/03/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig	SAMN07734985	221	91.41%	40
2015LSAL01716	24/03/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734986	176	92.49%	71
2015LSAL01748	20/04/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734987	224	91.29%	40
2015LSAL01817	28/04/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734988	186	91.28%	39
2015LSAL01821	19/05/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734989	214	91.2%	39
2015LSAL01829	27/05/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07734990	211	92.51%	71
2015LSAL01973	30/04/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - meat preparation	SAMN07734992	246	91.92%	682
2015LSAL02005	04/06/2015	bretagne	48.0083	-1.2387	Poultry	Industrial transformation	Meat from duck - fresh	SAMN07734993	238	92.53%	71
2015LSAL02462	07/07/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734994	221	91.4%	40
2015LSAL02588	23/06/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - minced meat - intended to be eaten cooked	SAMN07734995	234	92.52%	71
2015LSAL02717	28/07/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734997	205	91.36%	40
2015LSAL03121	17/08/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734998	238	91.35%	39

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
2015LSAL03260	02/09/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07734999	117	91.25%	40
2015LSAL03284	11/08/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735000	226	91.15%	39
2015LSAL03285	17/08/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735001	209	91.13%	39
2015LSAL03548	09/06/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735002	129	91.25%	40
2015LSAL03550	08/06/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735003	138	91.21%	40
2015LSAL03563	21/09/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735004	175	92.91%	40
2015LSAL03564	14/09/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07735005	231	91.42%	40
2015LSAL03879	14/10/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735006	265	91.43%	40
2015LSAL03891	02/10/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - carcass	SAMN07735007	204	91.47%	39
2015LSAL04018	22/10/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	Poultry	Livestock farming	Gallus gallus - fowl - broilers	SAMN07735008	212	91.42%	40
2015LSAL04158	28/10/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735009	232	91.52%	39
2015LSAL04225	03/11/2015	Bourgogne	47.214	5.4822	Pork	Retail sale	Meat from pig - fresh	SAMN07735010	140	91.39%	40
2015LSAL04227	26/10/2015	Bourgogne	47.214	5.4822	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735011	233	91.37%	40
2015LSAL04264	05/11/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	na	238	91.36%	40
2015LSAL04332	03/11/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Poultry	Slaughter	Meat from broilers - Gallus gallus - fresh	SAMN07735013	222	92.52%	71
2015LSAL04562	31/08/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	SAMN07735014	107	91.22%	40
2015LSAL04574	03/08/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	Pork	Slaughter	Meat from pig - carcass	na	243	92.4%	71
2016LSAL00028	22/12/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - fresh	SAMN07735015	274	91.34%	39
2016LSAL00056	30/11/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	Pork	Industrial transformation	Meat from pig - offal	SAMN07735016	165	91.33%	40
201400280	08/01/2014	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	blood	na	165	91.32%	39

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201400370	10/01/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	Urines	na	146	90.75%	40
201400414	13/01/2014	Franche-Comte	47.1906	6.0233	human	Clinical	feces	na	90	91.0%	40
201400492	13/01/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	human	Clinical	feces	na	100	91.21%	40
201400598	10/01/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	141	91.15%	40
201400670	21/01/2014	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	na	na	40
201400722	25/01/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	134	91.3%	39
201400726	27/01/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	142	91.14%	40
201400731	22/01/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	186	90.58%	40
201400869	29/01/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	na	na	39
201401198	29/01/2014	Picardie	49.8442	2.2961	human	Clinical	feces	na	61	91.1%	40
201401230	06/02/2014	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	101	90.89%	40
201401437	13/02/2014	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	106	90.89%	40
201401549	26/02/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	119	91.11%	40
201401562	25/02/2014	Picardie	49.8442	2.2961	human	Clinical	feces	na	237	91.27%	40
201401693	25/02/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	human	Clinical	feces	na	189	90.99%	40
201401716	28/02/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	human	Clinical	feces	na	174	91.0%	40
201401756	08/03/2014	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	145	91.09%	40
201401857	07/03/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	139	91.07%	40
201401891	05/03/2014	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	144	90.66%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201401917	13/03/2014	Basse-Normandie	49.1305	-0.3708	human	Clinical	feces	na	137	90.19%	40
201401922	04/03/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	human	Clinical	feces	na	125	90.58%	40
201402407	12/03/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	129	90.82%	40
201402459	14/03/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	138	92.77%	71
201402462	06/04/2014	Bourgogne	47.214	5.4822	human	Clinical	feces	na	114	90.27%	40
201402484	04/04/2014	Centre	47.7947	2.3483	human	Clinical	feces	na	134	89.8%	39
201402501	03/04/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	human	Clinical	feces	na	128	90.85%	71
201402511	08/04/2014	Alsace	48.5212	7.7536	human	Clinical	feces	na	55	91.35%	39
201402568	07/04/2014	Martinique	14.5291	-61.0703	human	Clinical	feces	na	172	91.15%	40
201402773	09/04/2014	Auvergne	45.6716	3.5211	human	Clinical	feces	na	124	90.52%	40
201403341	02/04/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	39	90.94%	39
201403705	16/04/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	146	90.42%	40
201403921	06/05/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	71	90.9%	40
201404154	16/05/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	human	Clinical	feces	na	59	91.08%	40
201404239	23/05/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	69	90.91%	40
201404339	31/05/2014	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	72	91.02%	40
201404572	14/06/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	na	na	39
201405022	05/06/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	57	90.92%	40
201405217	14/06/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	54	90.89%	40
201405226	30/06/2014	Basse-Normandie	49.1305	-0.3708	human	Clinical	feces	na	63	91.1%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201405345	08/06/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	53	91.65%	682
201405445	04/07/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	45	91.31%	STNEW
201405538	26/06/2014	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	human	Clinical	feces	na	54	90.65%	40
201405595	16/07/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	na	na	40
201405843	11/07/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	Urine	na	45	90.85%	40
201405871	16/07/2014	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	59	91.92%	39
201405900	21/07/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	67	91.19%	40
201406406	17/07/2014	Picardie	49.8442	2.2961	human	Clinical	feces	na	55	91.09%	40
201406583	23/07/2014	Aquitaine	44.7253	-0.1401	human	Clinical	feces	na	65	91.19%	39
201406688	23/07/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	42	90.97%	40
201406995	24/07/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	56	91.06%	40
201407050	30/07/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	76	91.23%	39
201407098	30/07/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	50	91.7%	682
201407219	06/08/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	68	92.36%	71
201407237	04/08/2014	Haute-Normandie	49.1017	0.1813	human	Clinical	feces	na	47	91.08%	40
201407264	06/08/2014	Auvergne	45.6716	3.5211	human	Clinical	blood	na	31	90.94%	40
201407354	11/08/2014	Picardie	49.8442	2.2961	human	Clinical	feces	na	51	91.21%	39
201407381	07/08/2014	Picardie	49.8442	2.2961	human	Clinical	feces	na	30	91.01%	40
201407546	08/08/2014	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	49	90.86%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201407672	12/08/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	human	Clinical	feces	na	42	90.9%	40
201407779	15/08/2014	Haute-Normandie	49.1017	0.1813	human	Clinical	feces	na	56	91.0%	40
201407908	12/08/2014	Centre	47.7947	2.3483	human	Clinical	feces	na	58	91.12%	40
201408509	19/08/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	61	91.73%	40
201408715	18/08/2014	Haute-Normandie	49.1017	0.1813	human	Clinical	feces	na	40	90.96%	40
201408728	20/08/2014	Centre	47.7947	2.3483	human	Clinical	feces	na	96	91.21%	40
201408798	02/09/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	39	91.07%	STNEW
201409015	01/09/2014	Centre	47.7947	2.3483	human	Clinical	feces	na	63	91.09%	40
201409182	06/09/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	80	91.74%	STNEW
201409218	05/09/2014	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	49	90.42%	40
201409231	10/09/2014	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	63	90.74%	STNEW_noProv
201409275	11/09/2014	Haute-Normandie	49.1017	0.1813	human	Clinical	feces	na	139	91.56%	682
201409279	07/09/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	human	Clinical	Urine	na	128	90.52%	39
201409280	12/09/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	human	Clinical	feces	na	142	90.55%	40
201409585	09/09/2014	Basse-Normandie	49.1305	-0.3708	human	Clinical	feces	na	140	90.27%	40
201409774	10/09/2014	Centre	47.7947	2.3483	human	Clinical	feces	na	118	91.03%	40
201409880	15/09/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	114	91.29%	39
201409907	20/09/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	108	91.19%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201409920	23/09/2014	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	79	91.07%	40
201410130	26/09/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	89	91.11%	40
201410132	22/09/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	107	91.03%	39
201410145	22/09/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	115	90.94%	40
201410308	27/09/2014	Centre	47.7947	2.3483	human	Clinical	feces	na	127	90.98%	40
201410475	30/09/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	107	91.11%	40
201410586	29/09/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	119	91.12%	40
201410751	07/10/2014	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	human	Clinical	feces	na	106	91.12%	682
201410756	03/10/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	88	91.43%	39
201410757	09/10/2014	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	human	Clinical	feces	na	79	92.51%	682
201410778	14/10/2014	Haute-Normandie	49.1017	0.1813	human	Clinical	feces	na	93	91.92%	682
201410957	15/10/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	133	91.26%	40
201411020	14/10/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	93	91.3%	40
201411400	14/10/2014	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	105	90.25%	40
201411406	22/10/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	88	91.12%	40
201411591	25/10/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	Urine	na	133	90.78%	40
201411667	06/11/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	human	Clinical	feces	na	109	90.82%	39
201411672	03/11/2014	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	121	91.88%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201411751	09/11/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	human	Clinical	blood	na	124	90.62%	40
201411878	12/11/2014	Basse-Normandie	49.1305	-0.3708	human	Clinical	Urine	na	115	90.57%	39
201411996	15/11/2014	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	106	90.54%	40
201412029	14/11/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	142	90.97%	40
201412046	19/11/2014	Bretagne	48.0083	-1.2387	human	Clinical	feces	na	99	91.07%	40
201412048	24/11/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	121	91.18%	40
201412102	26/11/2014	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	107	90.62%	40
201412122	26/11/2014	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	158	90.92%	40
201412140	27/11/2014	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	112	90.65%	40
201412149	28/11/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	115	90.82%	40
201412178	26/11/2014	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	human	Clinical	feces	na	120	90.41%	40
201412300	27/11/2014	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	116	91.03%	40
201412323	29/11/2014	Basse-Normandie	49.1305	-0.3708	human	Clinical	feces	na	108	90.88%	40
201412326	08/11/2014	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	Urine	na	121	90.88%	40
201412502	02/12/2014	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	140	90.7%	40
201412615	03/12/2014	Alsace	48.5212	7.7536	human	Clinical	feces	na	98	91.18%	40
201412831	04/12/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	100	91.66%	STNEW
201412853	03/12/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	109	90.59%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201500035	06/11/2014	Picardie	49.8442	2.2961	human	Clinical	feces	na	147	90.6%	40
201500043	25/12/2014	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	177	91.03%	40
201500113	03/01/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	126	91.67%	682
201500189	04/01/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	human	Clinical	feces	na	127	91.0%	40
201500261	08/01/2015	Centre	47.7947	2.3483	human	Clinical	feces	na	208	91.02%	40
201500264	12/01/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	153	90.84%	40
201500314	10/01/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	130	90.73%	40
201500377	11/01/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	146	90.87%	40
201500546	07/01/2015	La Reunion	-20.9525	55.448	human	Clinical	feces	na	121	90.21%	40
201500614	17/01/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	Urines	na	140	90.95%	39
201500621	16/01/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	131	90.94%	40
201500629	16/01/2015	Limousin	45.7388	1.6891	human	Clinical	feces	na	99	90.92%	40
201500639	20/01/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	73	91.27%	39
201500733	22/01/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	human	Clinical	feces	na	131	90.45%	40
201500827	23/01/2015	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	human	Clinical	Urines	na	97	91.12%	40
201500915	31/01/2015	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	human	Clinical	feces	na	92	90.9%	40
201500958	27/01/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	Urines	na	119	90.54%	40
201501250	14/02/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	73	91.18%	40
201501275	13/02/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	157	92.44%	STNEW
201501287	14/02/2015	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	human	Clinical	feces	na	88	91.18%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201501340	14/02/2015	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	human	Clinical	Urines	na	159	91.18%	40
201501354	12/02/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	121	91.23%	40
201501456	19/02/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	155	90.9%	40
201501496	23/02/2015	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	human	Clinical	Urines	na	135	90.95%	40
201501530	24/02/2015	Picardie	49.8442	2.2961	human	Clinical	feces	na	154	91.04%	40
201501600	28/02/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	human	Clinical	Urines	na	107	90.69%	40
201501639	28/02/2015	Picardie	49.8442	2.2961	human	Clinical	feces	na	196	91.24%	40
201501915	13/03/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	human	Clinical	feces	na	101	89.98%	40
201502038	14/03/2015	Corse	41.8685	8.7369	human	Clinical	feces	na	91	91.75%	682
201502185	23/03/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	human	Clinical	feces	na	81	91.62%	682
201502215	17/03/2015	Guyane	4.857	-52.3306	human	Clinical	feces	na	87	91.17%	40
201502248	23/03/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	131	91.12%	40
201502336	27/03/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	132	90.87%	40
201502433	26/03/2015	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	human	Clinical	feces	na	141	90.83%	39
201502495	01/04/2015	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	human	Clinical	feces	na	115	90.85%	40
201502500	03/04/2015	La Reunion	-20.9525	55.448	human	Clinical	feces	na	80	91.18%	40
201502528	31/03/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	127	90.37%	40
201502533	06/04/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	human	Clinical	feces	na	95	91.21%	2639
201502549	31/03/2015	Limousin	45.7388	1.6891	human	Clinical	feces	na	129	91.05%	39
201502572	30/03/2015	Picardie	49.8442	2.2961	human	Clinical	feces	na	127	90.84%	40
201502610	04/04/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	89	91.16%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201502623	11/02/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	134	90.75%	40
201502624	09/04/2015	Bourgogne	47.214	5.4822	human	Clinical	feces	na	80	91.11%	40
201502655	07/04/2015	Centre	47.7947	2.3483	human	Clinical	feces	na	69	91.2%	40
201502666	08/04/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	66	91.0%	40
201502733	10/03/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	102	90.46%	40
201502817	10/04/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	117	91.39%	STNEW_noProv
201502827	14/04/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	102	90.74%	40
201502838	12/04/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	104	90.6%	40
201502943	14/04/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	146	90.63%	40
201502965	20/04/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	119	91.67%	STNEW_noProv
201502967	17/04/2015	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	human	Clinical	feces	na	107	90.76%	40
201503047	17/04/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	94	91.34%	39
201503101	20/04/2015	Haute-Normandie	49.1017	0.1813	human	Clinical	feces	na	100	91.27%	40
201503142	20/04/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	104	91.61%	682
201503204	23/04/2015	Franche-Comte	47.1906	6.0233	human	Clinical	feces	na	82	91.1%	40
201503251	28/04/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	84	91.24%	40
201503310	30/04/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	77	91.28%	40
201503321	04/05/2015	Franche-Comte	47.1906	6.0233	human	Clinical	feces	na	134	90.52%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201503418	01/05/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	83	91.14%	40
201503426	30/04/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	79	91.01%	40
201503447	04/05/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	86	91.16%	40
201503568	04/05/2015	Basse-Normandie	49.1305	-0.3708	human	Clinical	feces	na	87	91.29%	39
201503587	16/05/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	human	Clinical	feces	na	88	91.22%	40
201503593	13/05/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	100	91.11%	40
201503756	12/05/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	94	91.11%	40
201503838	19/05/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	100	91.26%	40
201503841	09/05/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	112	90.6%	40
201503842	16/05/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	105	91.05%	40
201503845	09/05/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	72	91.25%	40
201503849	09/05/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	73	91.02%	STNEW
201503879	19/05/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	92	91.37%	40
201504075	21/05/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	115	90.76%	40
201504172	23/05/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	92	91.18%	40
201504287	01/06/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	113	90.96%	40
201504437	02/06/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	human	Clinical	feces	na	160	91.19%	40
201504487	08/06/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	85	91.14%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201504515	06/06/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	80	91.38%	39
201504525	06/06/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	157	91.87%	682
201504535	04/06/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	119	91.07%	40
201504617	15/06/2015	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	human	Clinical	feces	na	127	90.81%	40
201504624	17/06/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	112	90.88%	40
201504717	10/06/2015	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	human	Clinical	feces	na	136	91.21%	682
201504722	18/06/2015	Centre	47.7947	2.3483	human	Clinical	Urine	na	124	90.88%	40
201504777	19/06/2015	Alsace	48.5212	7.7536	human	Clinical	articular	na	188	90.71%	40
201504798	15/06/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	181	90.84%	40
201504928	27/06/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	126	90.66%	40
201505111	23/06/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	102	90.49%	40
201505354	02/07/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	111	90.83%	40
201505671	07/07/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	116	91.01%	39
201505685	08/07/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	66	91.27%	39
201505837	16/07/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	feces	na	192	90.73%	40
201505847	17/07/2015	Haute-Normandie	49.1017	0.1813	human	Clinical	feces	na	120	91.51%	682
201505858	11/07/2015	Poitou-Charentes	46.4719	0.7745	human	Clinical	feces	na	124	90.83%	39
201505866	21/07/2015	Franche-Comte	47.1906	6.0233	human	Clinical	feces	na	96	90.96%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201505937	23/07/2015	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	human	Clinical	feces	na	175	91.17%	682
201505986	25/07/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	Urine	na	192	91.21%	39
201506082	25/07/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	171	90.73%	40
201506135	23/07/2015	Centre	47.7947	2.3483	human	Clinical	feces	na	141	90.87%	39
201506175	27/07/2015	La Reunion	-20.9525	55.448	human	Clinical	feces	na	130	91.4%	682
201506254	27/07/2015	Alsace	48.5212	7.7536	human	Clinical	blood	na	129	90.66%	40
201506375	21/07/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	141	90.93%	40
201506447	25/07/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	106	90.93%	40
201506534	28/07/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	146	91.09%	40
201506601	01/08/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	human	Clinical	feces	na	117	91.32%	682
201506695	05/08/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	112	91.77%	683
201506701	04/08/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	blood	na	96	91.21%	40
201506707	04/08/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	141	90.43%	40
201506750	09/08/2015	Bourgogne	47.214	5.4822	human	Clinical	feces	na	85	91.1%	40
201506934	08/08/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	172	92.35%	71
201507137	07/08/2015	Martinique	14.5291	-61.0703	human	Clinical	feces	na	188	91.01%	40
201507240	11/08/2015	Bourgogne	47.214	5.4822	human	Clinical	feces	na	194	90.75%	40
201507419	30/07/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	human	Clinical	feces	na	229	91.17%	40
201507458	12/08/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	120	91.33%	STNEW
201507546	10/08/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	107	91.04%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201507632	14/08/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	Urines	na	159	92.34%	71
201507709	18/08/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	113	91.08%	40
201507829	21/08/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	91	92.51%	40
201507861	21/08/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	75	91.24%	40
201507910	24/08/2015	Franche-Comte	47.1906	6.0233	human	Clinical	feces	na	97	91.08%	40
201508052	20/08/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	97	91.11%	39
201508203	24/08/2015	Haute-Normandie	49.1017	0.1813	human	Clinical	feces	na	102	90.55%	39
201508243	13/08/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	human	Clinical	Urines	na	122	91.16%	40
201508312	27/08/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	103	90.97%	40
201508416	28/08/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	108	90.54%	40
201508420	29/08/2015	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	human	Clinical	feces	na	58	91.09%	40
201508491	31/08/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	Urines	na	65	91.16%	39
201508541	30/08/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	66	91.61%	682
201508609	31/08/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	blood	na	100	91.11%	40
201508643	02/09/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	87	91.19%	40
201508754	31/08/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	Peritoneal	na	89	91.77%	682
201508783	01/09/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	139	91.2%	40
201508799	29/08/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	human	Clinical	feces	na	103	91.15%	39

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201508967	05/08/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	102	90.7%	40
201509065	03/09/2015	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	human	Clinical	Urine	na	111	91.08%	39
201509142	04/09/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	human	Clinical	feces	na	117	91.13%	40
201509256	04/09/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	78	91.24%	39
201509385	09/09/2015	Centre	47.7947	2.3483	human	Clinical	feces	na	118	91.07%	40
201509386	08/09/2015	Centre	47.7947	2.3483	human	Clinical	feces	na	98	91.55%	40
201509427	08/09/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	94	91.28%	40
201509541	08/09/2015	Bourgogne	47.214	5.4822	human	Clinical	feces	na	128	91.05%	40
201509601	10/09/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	114	91.02%	40
201509794	25/09/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	na	na	40
201509828	24/09/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	na	na	39
201509855	09/09/2015	Languedoc-Roussillon	43.4968	4.3176	human	Clinical	Urethral	na	175	91.73%	682
201510029	18/09/2015	Champagne-Ardenne	48.9054	4.3643	human	Clinical	feces	na	95	91.22%	40
201510137	20/09/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	93	91.69%	682
201510168	14/09/2015	Picardie	49.8442	2.2961	human	Clinical	feces	na	77	91.09%	40
201510223	05/10/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	feces	na	na	na	40
201510274	05/10/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	na	na	40
201510727	24/09/2015	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	human	Clinical	feces	na	164	90.98%	40

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201510824	25/09/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	human	Clinical	feces	na	130	90.77%	40
201510872	22/09/2015	Champagne-Ardenne	48.9054	4.3643	human	Clinical	feces	na	126	90.91%	40
201510905	26/09/2015	Auvergne	45.6716	3.5211	human	Clinical	feces	na	130	90.94%	40
201510930	30/09/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	137	92.25%	71
201511007	30/09/2015	Martinique	14.5291	-61.0703	human	Clinical	feces	na	186	91.2%	40
201511240	02/10/2015	Bourgogne	47.214	5.4822	human	Clinical	blood	na	128	91.25%	682
201511433	05/10/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	Urine	na	145	90.88%	40
201511573	05/10/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	125	90.91%	39
201511640	14/10/2015	Bourgogne	47.214	5.4822	human	Clinical	feces	na	129	90.6%	40
201511678	17/10/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	100	91.3%	40
201511707	15/10/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	Urine	na	93	91.02%	40
201511813	15/10/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	48	91.31%	39
201511935	28/10/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	113	90.4%	40
201511948	11/10/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	103	91.1%	40
201512015	01/11/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	120	90.89%	40
201512087	06/11/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	88	91.75%	682
201512424	07/11/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	Pus	na	188	91.74%	682
201512455	08/11/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	96	90.72%	40
201512483	02/11/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	222	91.39%	39

Key	Sampling date	Region	Latitude	Longitude	Sector	Sampling stage	Matrix	NCBI accession	Deep coverage	Deep breadth	ST profiles
201512534	04/11/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	human	Clinical	feces	na	108	90.74%	40
201512581	07/11/2015	Bretagne	48.0083	-1.2387	human	Clinical	feces	na	82	90.57%	40
201512675	12/11/2015	Pays de la Loire	47.1094	-1.1124	human	Clinical	feces	na	67	91.77%	682
201512711	10/11/2015	Bourgogne	47.214	5.4822	human	Clinical	Pus	na	89	91.33%	39
201512756	09/11/2015	Provence-Alpes-Cote d'Azur	43.1811	5.809	human	Clinical	feces	na	105	90.36%	40
201512780	17/11/2015	Nord-Pas-de-Calais	50.5361	3.5019	human	Clinical	feces	na	90	91.09%	40
201512808	13/11/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	80	91.27%	39
201512811	26/11/2015	Basse-Normandie	49.1305	-0.3708	human	Clinical	feces	na	118	90.77%	39
201512840	28/11/2015	Basse-Normandie	49.1305	-0.3708	human	Clinical	feces	na	95	91.32%	39
201512881	04/12/2015	Basse-Normandie	49.1305	-0.3708	human	Clinical	Urines	na	67	91.24%	39
201512893	05/12/2015	Lorraine	49.0163	6.6165	human	Clinical	feces	na	87	91.36%	40
201512926	08/12/2015	Ile-de-France	48.7508	2.7905	human	Clinical	feces	na	93	91.49%	40
201513031	10/12/2015	Midi-Pyrenees	43.4888	1.8842	human	Clinical	Urines	na	124	91.95%	40
201513069	09/12/2015	Rhone-Alpes	45.6486	5.2817	human	Clinical	feces	na	238	91.26%	40
201513113	09/12/2015	Aquitaine	44.7253	-0.1401	human	Clinical	feces	na	160	92.25%	3135
201513193	03/12/2015	Centre	47.7947	2.3483	human	Clinical	feces	na	101	90.71%	682

Annexe 3 : Collection pour l'analyse pan-génome des souches françaises de *S. Derby*.

Strain	ST	source	localization
201400280	39	clinical	Midi-Pyrenees
201400370	40	clinical	Rhone-Alpes
201400414	40	clinical	Franche-Comte
201400492	40	clinical	Aquitaine
201400598	40	clinical	Rhone-Alpes
201400722	39	clinical	Rhone-Alpes
201400726	40	clinical	Rhone-Alpes
201400731	40	clinical	Rhone-Alpes
201401198	40	clinical	Picardie
201401230	40	clinical	Midi-Pyrenees
201401437	40	clinical	Midi-Pyrenees
201401549	40	clinical	Rhone-Alpes
201401562	40	clinical	Picardie
201401693	40	clinical	Aquitaine
201401716	40	clinical	Poitou-Charentes
201401756	40	clinical	Languedoc-Roussillon
201401857	40	clinical	Ile-de-France
201401891	40	clinical	Languedoc-Roussillon
201401917	40	clinical	Basse-Normandie
201401922	40	clinical	Aquitaine
201402407	40	clinical	Ile-de-France
201402459	71	clinical	Ile-de-France
201402462	40	clinical	Bourgogne
201402484	39	clinical	Centre
201402501	71	clinical	Bretagne
201402511	39	clinical	Alsace
201402568	40	clinical	Martinique
201402773	40	clinical	Auvergne
201403341	39	clinical	Pays de la Loire
201403705	40	clinical	Pays de la Loire
201403921	40	clinical	Rhone-Alpes
201404154	40	clinical	Bretagne
201404239	40	clinical	Rhone-Alpes
201404339	40	clinical	Languedoc-Roussillon
201405022	40	clinical	Pays de la Loire
201405217	40	clinical	Rhone-Alpes
201405226	40	clinical	Basse-Normandie
201405345	682	clinical	Rhone-Alpes
201405445	STNEW	clinical	Rhone-Alpes
201405538	40	clinical	Nord-Pas-de-Calais
201405843	40	clinical	Pays de la Loire
201405871	39	clinical	Languedoc-Roussillon

Strain	ST	source	localization
201405900	40	clinical	Ile-de-France
201406406	40	clinical	Picardie
201406583	39	clinical	Aquitaine
201406688	40	clinical	Rhone-Alpes
201406995	40	clinical	Rhone-Alpes
201407050	39	clinical	Rhone-Alpes
201407098	682	clinical	Pays de la Loire
201407219	71	clinical	Ile-de-France
201407237	40	clinical	Haute-Normandie
201407264	40	clinical	Auvergne
201407354	39	clinical	Picardie
201407381	40	clinical	Picardie
201407546	40	clinical	Midi-Pyrenees
201407672	40	clinical	Poitou-Charentes
201407779	40	clinical	Haute-Normandie
201407908	40	clinical	Centre
201408509	40	clinical	Rhone-Alpes
201408715	40	clinical	Haute-Normandie
201408728	40	clinical	Centre
201408798	STNEW	clinical	Rhone-Alpes
201409015	40	clinical	Centre
201409182	STNEW	clinical	Ile-de-France
201409218	40	clinical	Provence-Alpes-Cote d'Azur
201409231	STNEW_noProv	clinical	Languedoc-Roussillon
201409275	682	clinical	Haute-Normandie
201409279	39	clinical	Poitou-Charentes
201409280	40	clinical	Poitou-Charentes
201409585	40	clinical	Basse-Normandie
201409774	40	clinical	Centre
201409880	39	clinical	Pays de la Loire
201409907	40	clinical	Rhone-Alpes
201409920	40	clinical	Provence-Alpes-Cote d'Azur
201410130	40	clinical	Ile-de-France
201410132	39	clinical	Ile-de-France
201410145	40	clinical	Pays de la Loire
201410308	40	clinical	Centre
201410475	40	clinical	Rhone-Alpes
201410586	40	clinical	Rhone-Alpes
201410751	682	clinical	Nord-Pas-de-Calais
201410756	39	clinical	Pays de la Loire
201410757	682	clinical	Nord-Pas-de-Calais
201410778	682	clinical	Haute-Normandie
201410957	40	clinical	Rhone-Alpes
201411020	40	clinical	Rhone-Alpes

Strain	ST	source	localization
201411400	40	clinical	Pays de la Loire
201411406	40	clinical	Rhone-Alpes
201411591	40	clinical	Ile-de-France
201411667	39	clinical	Poitou-Charentes
201411672	40	clinical	Languedoc-Roussillon
201411751	40	clinical	Poitou-Charentes
201411878	39	clinical	Basse-Normandie
201411996	40	clinical	Midi-Pyrenees
201412029	40	clinical	Ile-de-France
201412046	40	clinical	Bretagne
201412048	40	clinical	Ile-de-France
201412102	40	clinical	Lorraine
201412122	40	clinical	Languedoc-Roussillon
201412140	40	clinical	Lorraine
201412149	40	clinical	Rhone-Alpes
201412178	40	clinical	Poitou-Charentes
201412300	40	clinical	Provence-Alpes-Cote d'Azur
201412323	40	clinical	Basse-Normandie
201412326	40	clinical	Rhone-Alpes
201412502	40	clinical	Midi-Pyrenees
201412615	40	clinical	Alsace
201412831	STNEW	clinical	Ile-de-France
201412853	40	clinical	Ile-de-France
201500035	40	clinical	Picardie
201500043	40	clinical	Ile-de-France
201500113	682	clinical	Ile-de-France
201500189	40	clinical	Auvergne
201500261	40	clinical	Centre
201500264	40	clinical	Rhone-Alpes
201500314	40	clinical	Midi-Pyrenees
201500377	40	clinical	Lorraine
201500546	40	clinical	La Reunion
201500614	39	clinical	Rhone-Alpes
201500621	40	clinical	Midi-Pyrenees
201500629	40	clinical	Limousin
201500639	39	clinical	Midi-Pyrenees
201500733	40	clinical	Aquitaine
201500827	40	clinical	Poitou-Charentes
201500915	40	clinical	Poitou-Charentes
201500958	40	clinical	Ile-de-France
201501250	40	clinical	Lorraine
201501275	STNEW	clinical	Ile-de-France
201501287	40	clinical	Poitou-Charentes
201501340	40	clinical	Poitou-Charentes

Strain	ST	source	localization
201501354	40	clinical	Languedoc-Roussillon
201501456	40	clinical	Midi-Pyrenees
201501496	40	clinical	Nord-Pas-de-Calais
201501530	40	clinical	Picardie
201501600	40	clinical	Aquitaine
201501639	40	clinical	Picardie
201501915	40	clinical	Bretagne
201502038	682	clinical	Corse
201502185	682	clinical	Aquitaine
201502215	40	clinical	Guyane
201502248	40	clinical	Midi-Pyrenees
201502336	40	clinical	Rhone-Alpes
201502433	39	clinical	Nord-Pas-de-Calais
201502495	40	clinical	Nord-Pas-de-Calais
201502500	40	clinical	La Reunion
201502528	40	clinical	Languedoc-Roussillon
201502533	2639	clinical	Auvergne
201502549	39	clinical	Limousin
201502572	40	clinical	Picardie
201502610	40	clinical	Rhone-Alpes
201502623	40	clinical	Ile-de-France
201502624	40	clinical	Bourgogne
201502655	40	clinical	Centre
201502666	40	clinical	Pays de la Loire
201502733	40	clinical	Languedoc-Roussillon
201502817	STNEW_noProv	clinical	Ile-de-France
201502827	40	clinical	Ile-de-France
201502838	40	clinical	Languedoc-Roussillon
201502943	40	clinical	Midi-Pyrenees
201502965	STNEW_noProv	clinical	Ile-de-France
201502967	40	clinical	Nord-Pas-de-Calais
201503047	39	clinical	Languedoc-Roussillon
201503101	40	clinical	Haute-Normandie
201503142	682	clinical	Ile-de-France
201503204	40	clinical	Franche-Comte
201503251	40	clinical	Ile-de-France
201503310	40	clinical	Pays de la Loire
201503321	40	clinical	Franche-Comte
201503418	40	clinical	Provence-Alpes-Cote d'Azur
201503426	40	clinical	Pays de la Loire
201503447	40	clinical	Pays de la Loire
201503568	39	clinical	Basse-Normandie
201503587	40	clinical	Bretagne
201503593	40	clinical	Ile-de-France

Strain	ST	source	localization
201503756	40	clinical	Rhone-Alpes
201503838	40	clinical	Rhone-Alpes
201503841	40	clinical	Rhone-Alpes
201503842	40	clinical	Rhone-Alpes
201503845	40	clinical	Rhone-Alpes
201503849	STNEW	clinical	Pays de la Loire
201503879	40	clinical	Rhone-Alpes
201504075	40	clinical	Midi-Pyrenees
201504172	40	clinical	Ile-de-France
201504287	40	clinical	Midi-Pyrenees
201504437	40	clinical	Aquitaine
201504487	40	clinical	Ile-de-France
201504515	39	clinical	Lorraine
201504525	682	clinical	Languedoc-Roussillon
201504535	40	clinical	Lorraine
201504617	40	clinical	Poitou-Charentes
201504624	40	clinical	Rhone-Alpes
201504717	682	clinical	Nord-Pas-de-Calais
201504722	40	clinical	Centre
201504777	40	clinical	Alsace
201504798	40	clinical	Rhone-Alpes
201504928	40	clinical	Provence-Alpes-Cote d'Azur
201505111	40	clinical	Lorraine
201505354	40	clinical	Provence-Alpes-Cote d'Azur
201505671	39	clinical	Lorraine
201505685	39	clinical	Provence-Alpes-Cote d'Azur
201505837	40	clinical	Languedoc-Roussillon
201505847	682	clinical	Haute-Normandie
201505858	39	clinical	Poitou-Charentes
201505866	40	clinical	Franche-Comte
201505937	682	clinical	Nord-Pas-de-Calais
201505986	39	clinical	Ile-de-France
201506082	40	clinical	Rhone-Alpes
201506135	39	clinical	Centre
201506175	682	clinical	La Reunion
201506254	40	clinical	Alsace
201506375	40	clinical	Lorraine
201506447	40	clinical	Rhone-Alpes
201506534	40	clinical	Pays de la Loire
201506601	682	clinical	Auvergne
201506695	683	clinical	Ile-de-France
201506701	40	clinical	Pays de la Loire
201506707	40	clinical	Midi-Pyrenees
201506750	40	clinical	Bourgogne

Strain	ST	source	localization
201506934	71	clinical	Ile-de-France
201507137	40	clinical	Martinique
201507240	40	clinical	Bourgogne
201507419	40	clinical	Aquitaine
201507458	STNEW	clinical	Ile-de-France
201507546	40	clinical	Provence-Alpes-Cote d'Azur
201507632	71	clinical	Pays de la Loire
201507709	40	clinical	Pays de la Loire
201507829	40	clinical	Midi-Pyrenees
201507861	40	clinical	Midi-Pyrenees
201507910	40	clinical	Franche-Comte
201508052	39	clinical	Provence-Alpes-Cote d'Azur
201508203	39	clinical	Haute-Normandie
201508243	40	clinical	Auvergne
201508312	40	clinical	Lorraine
201508416	40	clinical	Rhone-Alpes
201508420	40	clinical	Nord-Pas-de-Calais
201508491	39	clinical	Ile-de-France
201508541	682	clinical	Ile-de-France
201508609	40	clinical	Rhone-Alpes
201508643	40	clinical	Midi-Pyrenees
201508754	682	clinical	Midi-Pyrenees
201508783	40	clinical	Pays de la Loire
201508799	39	clinical	Bretagne
201508967	40	clinical	Pays de la Loire
201509065	39	clinical	Nord-Pas-de-Calais
201509142	40	clinical	Aquitaine
201509256	39	clinical	Rhone-Alpes
201509385	40	clinical	Centre
201509386	40	clinical	Centre
201509427	40	clinical	Midi-Pyrenees
201509541	40	clinical	Bourgogne
201509601	40	clinical	Rhone-Alpes
201509855	682	clinical	Languedoc-Roussillon
201510029	40	clinical	Champagne-Ardenne
201510137	682	clinical	Midi-Pyrenees
201510168	40	clinical	Picardie
201510727	40	clinical	Nord-Pas-de-Calais
201510824	40	clinical	Bretagne
201510872	40	clinical	Champagne-Ardenne
201510905	40	clinical	Auvergne
201510930	71	clinical	Pays de la Loire
201511007	40	clinical	Martinique
201511240	682	clinical	Bourgogne

Strain	ST	source	localization
201511433	40	clinical	Rhone-Alpes
201511573	39	clinical	Lorraine
201511640	40	clinical	Bourgogne
201511678	40	clinical	Provence-Alpes-Cote d'Azur
201511707	40	clinical	Ile-de-France
201511813	39	clinical	Ile-de-France
201511935	40	clinical	Lorraine
201511948	40	clinical	Provence-Alpes-Cote d'Azur
201512015	40	clinical	Rhone-Alpes
201512087	682	clinical	Lorraine
201512424	682	clinical	Ile-de-France
201512455	40	clinical	Rhone-Alpes
201512483	39	clinical	Rhone-Alpes
201512534	40	clinical	Aquitaine
201512581	40	clinical	Bretagne
201512675	682	clinical	Pays de la Loire
201512711	39	clinical	Bourgogne
201512756	40	clinical	Provence-Alpes-Cote d'Azur
201512780	40	clinical	Nord-Pas-de-Calais
201512808	39	clinical	Rhone-Alpes
201512811	39	clinical	Basse-Normandie
201512840	39	clinical	Basse-Normandie
201512881	39	clinical	Basse-Normandie
201512893	40	clinical	Lorraine
201512926	40	clinical	Ile-de-France
201513031	40	clinical	Midi-Pyrenees
201513069	40	clinical	Rhone-Alpes
201513113	3135	clinical	Aquitaine
201513193	682	clinical	Centre
2014LSAL00238	682	Pork	Rhone-Alpes
2014LSAL00274	40	Pork	Lorraine
2014LSAL00337	40	Pork	Pays de la Loire
2014LSAL00455	40	Pork	Poitou-Charentes
2014LSAL00717	40	Pork	Midi-Pyrenees
2014LSAL00762	40	Pork	Pays de la Loire
2014LSAL00814	40	Pork	Aquitaine
2014LSAL00873	40	Pork	Bretagne
2014LSAL00980	40	Pork	Bretagne
2014LSAL01158	682	Pork	Pays de la Loire
2014LSAL01220	40	Pork	Rhone-Alpes
2014LSAL01256	40	Pork	Provence-Alpes-Cote d'Azur
2014LSAL01306	40	Pork	Limousin
2014LSAL01311	71	Poultry	Pays de la Loire
2014LSAL01383	71	Poultry	Bretagne

Strain	ST	source	localization
2014LSAL01467	39	Pork	Auvergne
2014LSAL01499	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL01651	40	Pork	Pays de la Loire
2014LSAL01779	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL01780	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL01781	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL01894	40	Pork	Aquitaine
2014LSAL02051	40	Pork	Bretagne
2014LSAL02073	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL02163	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL02205	40	Poultry	Poitou-Charentes
2014LSAL02278	40	Pork	Aquitaine
2014LSAL02285	40	Pork	Poitou-Charentes
2014LSAL02325	71	Poultry	Rhone-Alpes
2014LSAL02431	40	Pork	Nord-Pas-de-Calais
2014LSAL02441	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL02463	40	Pork	Auvergne
2014LSAL02547	40	Pork	Poitou-Charentes
2014LSAL02838	40	Pork	Languedoc-Roussillon
2014LSAL03150	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03218	71	Poultry	Pays de la Loire
2014LSAL03309	71	Poultry	Pays de la Loire
2014LSAL03340	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03342	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03344	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03348	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03350	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03355	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03356	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03383	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03388	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03390	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03393	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03396	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03398	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03401	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03404	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03407	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03409	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03410	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03414	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03416	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03420	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03463	71	Poultry	Bretagne

Strain	ST	source	localization
2014LSAL03470	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03478	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03510	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03521	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03524	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03616	40	Pork	Auvergne
2014LSAL03694	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL03785	682	Pork	Pays de la Loire
2014LSAL03787	682	Pork	Pays de la Loire
2014LSAL03926	39	Pork	Bretagne
2014LSAL03974	40	Pork	Aquitaine
2014LSAL03975	40	Pork	Aquitaine
2014LSAL03976	40	Pork	Aquitaine
2014LSAL03985	71	Pork	Rhone-Alpes
2014LSAL04065	40	Pork	Nord-Pas-de-Calais
2014LSAL04466	40	Pork	Pays de la Loire
2014LSAL04673	71	Pork	Rhone-Alpes
2014LSAL04833	40	Pork	Auvergne
2014LSAL05133	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL05213	71	Poultry	Bretagne
2014LSAL05495	40	Pork	Languedoc-Roussillon
2014LSAL05538	39	Pork	Pays de la Loire
2014LSAL05735	71	Pork	Ile-de-France
2015LSAL00134	40	Pork	Aquitaine
2015LSAL00137	40	Pork	Poitou-Charentes
2015LSAL00190	40	Pork	Lorraine
2015LSAL00219	71	Poultry	Pays de la Loire
2015LSAL00314	39	Pork	Languedoc-Roussillon
2015LSAL00429	40	Pork	Bretagne
2015LSAL00452	40	Pork	Bretagne
2015LSAL00465	40	Pork	Bretagne
2015LSAL00477	71	Poultry	Bretagne
2015LSAL00641	39	Pork	Centre
2015LSAL00691	40	Pork	Auvergne
2015LSAL00728	40	Pork	Pays de la Loire
2015LSAL00981	40	Pork	Auvergne
2015LSAL00989	40	Pork	Languedoc-Roussillon
2015LSAL00990	40	Pork	Languedoc-Roussillon
2015LSAL01029	40	Pork	Pays de la Loire
2015LSAL01058	40	Pork	Languedoc-Roussillon
2015LSAL01075	71	Poultry	Bretagne
2015LSAL01179	71	Poultry	Bretagne
2015LSAL01314	40	Pork	Centre
2015LSAL01334	40	Pork	Rhone-Alpes

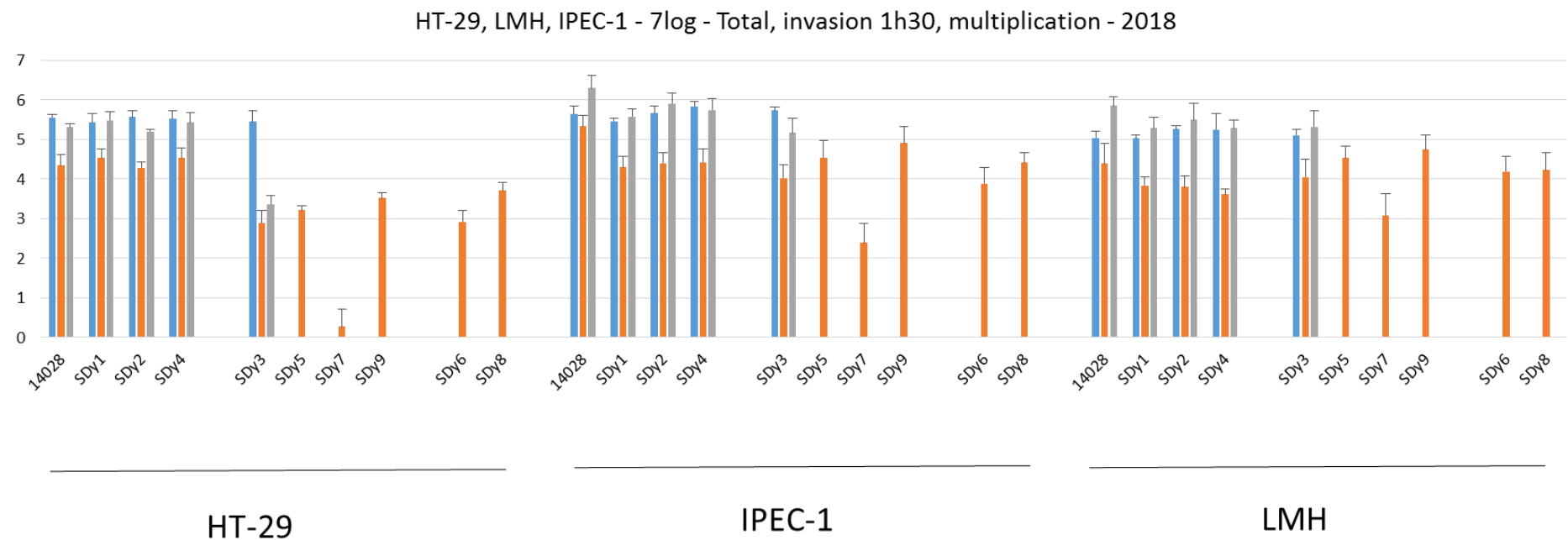
Strain	ST	source	localization
2015LSAL01341	40	Poultry	Lorraine
2015LSAL01578	40	Pork	Pays de la Loire
2015LSAL01591	71	Poultry	Pays de la Loire
2015LSAL01697	40	Pork	Bretagne
2015LSAL01713	40	Pork	Auvergne
2015LSAL01716	71	Pork	Auvergne
2015LSAL01748	40	Pork	Aquitaine
2015LSAL01817	39	Pork	Bretagne
2015LSAL01821	39	Pork	Bretagne
2015LSAL01829	71	Poultry	Bretagne
2015LSAL01973	682	Pork	Midi-Pyrenees
2015LSAL02005	71	Poultry	bretagne
2015LSAL02462	40	Pork	Languedoc-Roussillon
2015LSAL02588	71	Pork	Aquitaine
2015LSAL02717	40	Pork	Rhone-Alpes
2015LSAL03121	39	Pork	Aquitaine
2015LSAL03260	40	Pork	Rhone-Alpes
2015LSAL03284	39	Pork	Bretagne
2015LSAL03285	39	Pork	Bretagne
2015LSAL03548	40	Pork	Bretagne
2015LSAL03550	40	Pork	Bretagne
2015LSAL03563	40	Pork	Auvergne
2015LSAL03564	40	Pork	Rhone-Alpes
2015LSAL03879	40	Pork	Languedoc-Roussillon
2015LSAL03891	39	Pork	Auvergne
2015LSAL04018	40	Poultry	Rhone-Alpes
2015LSAL04158	39	Pork	Auvergne
2015LSAL04225	40	Pork	Bourgogne
2015LSAL04227	40	Pork	Bourgogne
2015LSAL04332	71	Poultry	Pays de la Loire
2015LSAL04562	40	Pork	Pays de la Loire
2016LSAL00028	39	Pork	Pays de la Loire
2016LSAL00056	40	Pork	Aquitaine

Annexe 4 : références utilisée pour les différents SPI

<i>Salmonella</i> pathogenicity island	length (kpb)	genes nb	organism	accession number
spi1	38	39	<i>S. Typhimurium</i>	KP279311.1
spi2 common	12	10	<i>S. Typhimurium</i>	AJ224978.1
spi2 specific	25	31	<i>S. Typhimurium</i>	KP258194.1
spi3	16	10	<i>S. Typhimurium</i>	AF106566.1
spi4	27	10	<i>S. Typhimurium</i>	KP234070.1
spi5	9	8	<i>S. Typhimurium</i>	AY144492.1
spi6	47	52	<i>S. Typhi</i>	AL513382.1
spi7	134	75	<i>S. Typhi</i>	AL513382.1
spi8	8	12	<i>S. Typhi</i>	AL513382.1
spi9	16	4	<i>S. Typhi</i>	AL513382.1
spi10	33	24	<i>S. Typhi</i>	AL513382.1
spi11	14	19	<i>S. Choleraesuis</i>	AE017220.1
spi12	16	12	<i>S. Choleraesuis</i>	AE017220.1
spi13	25	19	<i>S. gallinarum</i>	AM933173.1
spi14	9	6	<i>S. Typhimurium</i>	AE006468.2
spi15	6,5	5	<i>S. Typhi</i>	AL513382.1
spi16	4,5	6	<i>S. Typhimurium</i>	AE006468.2
spi17	5	7	<i>S. Typhi</i>	AL513382.1
spi18	2	2	<i>S. Typhi</i>	AL513382.1
spi19	42	30	<i>S. gallinarum</i>	AM933173.1
spi23	36	41	<i>S. Derby</i>	LAZB00000000
CS54	25	8	<i>S. Typhimurium</i>	AE006468.2

Annexe 5 : résultats de l'invasion cellulaire sur les souches du ST71

SDY 1	2014LSAL02547 ST40	SDY 6	2014022459 ST71 - Asie
SDY 2	2014LSAL03785 ST682	SDY 7	201402501 ST71 - Europe
SDY 3	2014LSAL01779 ST71	SDY 8	20147219 ST71 - Asie
SDY 4	07 CR 553 ST40	SDY 9	201510930 ST71 - Europe
SDY 5	2014LSAL05133 ST71 - Europe		



En bleu: adhésion cellulaire.
En orange: invasion.
En Gris multiplication après 24H.

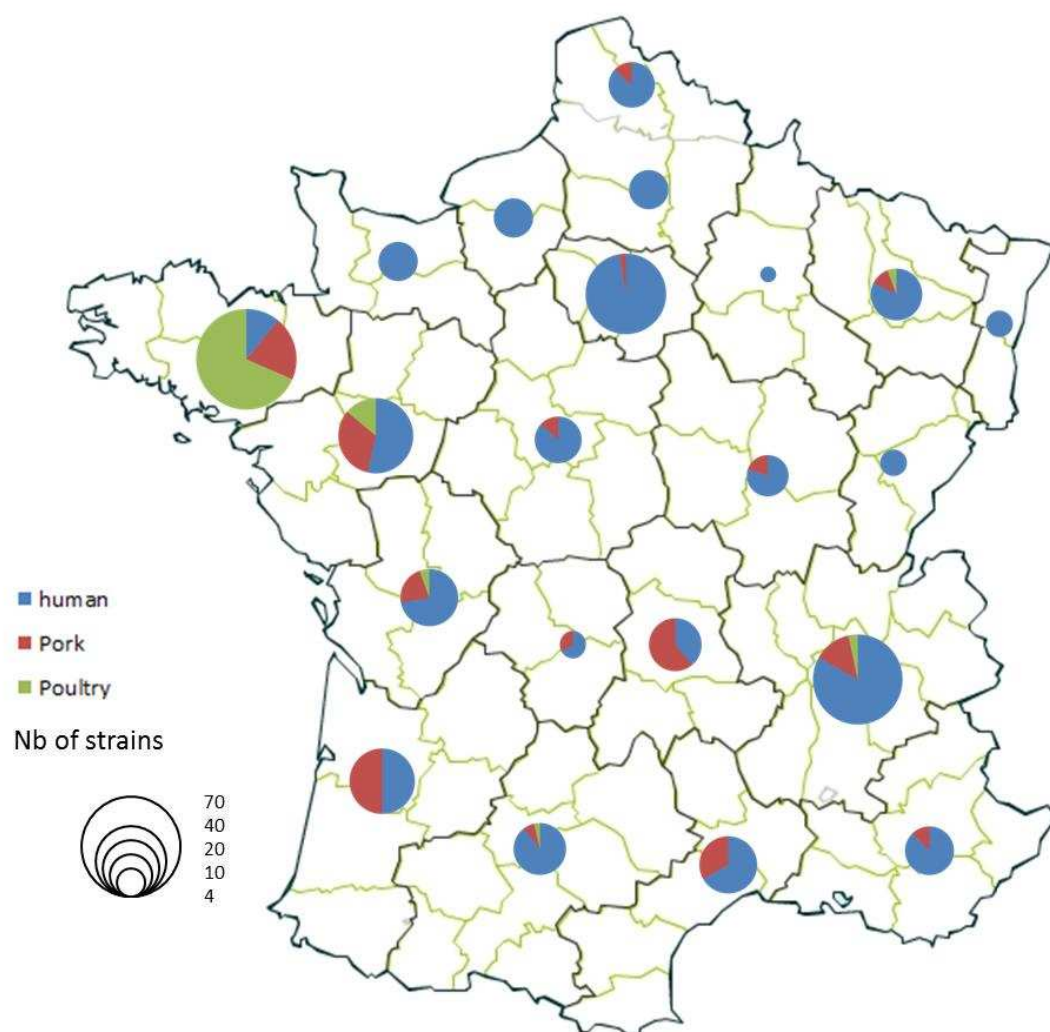
Annexe 6: Classement fonctionnel des gènes unique aux différentes lignées de *S. Derby*.

FUNCTION	ST682	ST71	ST39-40
Hypothetical protein	60,4%	57,1%	45,5%
Phage protein	7,6%	4,8%	4,0%
Defense mechanisms	4,8%	2,2%	9,1%
Secondary metabolites biosynthesis, transport, and catabolism	4,8%	10,0%	10,1%
Signal transduction mechanisms	4,0%	6,9%	3,0%
Fimbriae	3,2%	2,2%	2,0%
General function prediction only	2,8%	2,2%	4,0%
Membrane protein	2,8%	2,6%	5,1%
Replication, recombination and repair	2,8%	5,2%	6,1%
Effector	2,0%	1,7%	3,0%
Amino acid transport and metabolism	1,6%	0,4%	0,0%
Lipid transport and metabolism	0,8%	1,3%	1,0%
RNA processing and modification	0,8%	1,3%	4,0%
Coenzyme transport and metabolism	0,4%	0,0%	0,0%
Flagellar protein	0,4%	0,0%	0,0%
Inorganic ion transport and metabolism	0,4%	0,0%	1,0%
Nucleotide transport and metabolism	0,4%	0,0%	0,0%
Toxin	0,0%	0,9%	1,0%
Bacterial secretion system	0,0%	0,4%	0,0%
Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport	0,0%	0,4%	1,0%
Virulence factor	0,0%	0,4%	0,0%
Total	100%	100,00%	100%

Annexe 7 : Différences observées au locus correspondant au SPI-8.

ST71 - 2014LSAL01779			
	CDS	protein	position
1	C4I14_21205	pseudo	4175648..4175862
2	C4I14_21210	pseudo	4175899..4176105
3	C4I14_21215	hypothetical protein	4176555..4177181
4	C4I14_21220	DUF943 domain	4177183..4177713
5	C4I14_21225	DUF3289 domain	4177910..4178095
6	C4I14_21230	hypothetical protein	4178354..4178857
7	C4I14_21235	type IV secretion system PAAR protein	4178990..4179274
8	C4I14_21240	hypothetical protein	4179513..4179965
9	C4I14_21245	bacteriocin immunity protein	4180307..4180585
10	hcp	type IV secretion tube Hcp	4180600..4180818
11	C4I14_21255	colicin immunity	4180828..4181094
12	C4I14_21260	hypothetical protein	4181091..4181408
13	C4I14_21265	hypothetical protein	4181477..4181780
14	C4I14_21270	hypothetical protein	4181765..4181952
ST682 - 2014LSAL03785			
	CDS	protein	position
1	NR	pseudo	
2	NR	pseudo	
3	NR	pseudo	
4	PROKKA_03141	type IV secretion system PAAR protein	3289276..3289430
5	imm_1	colicin immunity	3289591..3289857
6	imm_2	colicin immunity	3290101..3290379
7	NR	pseudo	
8	NR	pseudo	
ST40-ST39 (2014LSAL02547-2014LSAL01467)			
	CDS	protein	position
1	DAD50_06200	hypothetical protein	1215772..1215972
2	DAD50_06205	hypothetical protein	1215981..1216207
3	DAD50_06210	hypothetical protein	1216232..1216438
4	DAD50_06215	iron reductase	1217167..1218486
5	DAD50_06220	DUF1471 domain	1218562..1218825
6	DAD50_06225	FnHM dependant NADH ayoreductase	1218851..1219474
7	DAD50_06230	LysR regulator	1219575..1220780

Annexe 8: réparation géographique des souches de la collection



Title : Genetic diversity of *Salmonella* Derby in France

Keywords : *Salmonella* Derby, genetic diversity, WGS, GWAS, phylogeny, source-attribution, virulence factor, pork, poultry, clinical cases

Abstract :

Salmonella enterica is the leading cause of human zoonosis in the European Union and represents a major public health issue. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Derby (*S. Derby*) is one of the most frequently isolated serovar in food and more particularly in the pig and poultry sectors. It also belongs to the 5 most frequently isolated serovars from human clinical cases in Europe. Despite the threat posed by Derby serovar to human health, the genetic structure of the *S. Derby* population is poorly understood. This is due to the low discriminating power of the reference technique (PFGE) used for the *Salmonella* subtyping against Derby serovar but also to the lack of representativity of the collections that have been selected in previous studies.

The objectives of my study are: 1/ to study the genetic diversity and structure of the *Salmonella* Derby population in France by sequencing the entire genome 2/ to use genomic data to conduct effective and accurate subtyping of sporadic cases attributed to *S. Derby* and 3/ to advance the understanding of *S. Derby* transmission from animal to human and its host specificity for pig and poultry.

A collection of strains representative of the genetic diversity of *S. Derby* has been compiled with a one health approach, including both human clinical strains and strains isolated in the two animal sectors where *Salmonella* Derby has a higher prevalence. From the strain Collections of LSAI and *Institut Pasteur*, 140 food and 302 human strains of *S. Derby* respectively, have been selected for the years 2014 and 2015.

The genomes of 442 strains were sequenced and the analysis of variants of the core genome (SNP, single nucleotide substitution) allowed us to study their genetic diversity. The results demonstrate the polyphyletic nature of the Derby serovar with 3 genetically distant lineages. Four different MLST profiles were identified within the strains analysed (ST39, ST40, ST71 and ST682).

In France, *S. Derby* is divided into 3 lineages that we chose to call ST39-40, ST71 and ST682 with reference to the MLST profiles identified. These lineages are separated by an average of 15k SNP. The ST40, associated with the pork industry, accounts for 71% of human cases. On the other hand, ST71, associated with the poultry sector, accounts for only 2% of human cases. This study enabled us to attribute 93% of human clinical cases to *S. Derby* to the pig sector.

To explain these results, a bioinformatics study of the pangenome of the strains in the collection was conducted. The genetic diversity of key *Salmonella* virulence factors as well as antibiotic

resistance profiles were studied to determine the virulence potential of each lineage and to propose molecular hypotheses on their adaptation to the two hosts: pig and poultry. These genomic investigations were supplemented by cell invasion tests on human, porcine and avian epithelial cells.

Pangenome analysis confirms significant differences in the presence or absence of virulence genes, and highlights allelic differences for genes associated with host specificity and intracellular survival. A major antibiotic resistance profile is present within the ST40 strains and ST39-40 lineage is characterized by a unique pathogenicity island, the SPI-23, known to facilitate invasion in pigs. Cell invasion tests confirm a limited ability of ST71 strains to invade human epithelial cells

Titre : Diversité génomique de *Salmonella* Derby en France

Mots-clés : *Salmonella* Derby, diversité génétique, WGS, GWAS, phylogénie, source-attribution, facteurs de virulence, porc, volaille, cas cliniques

Résumé :

Salmonella enterica est la première cause de zoonose humaine dans l'Union Européenne et représente un enjeu majeur de santé publique. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Derby (*S. Derby*) est l'un des sérovars les plus fréquemment isolés dans l'alimentation humaine et plus particulièrement dans les filières porcines et aviaires. Il appartient également aux 5 sérovars les plus fréquemment isolés des cas cliniques humains en Europe. Malgré la menace que pose le sérovar Derby pour la santé humaine la structure génétique de la population de *S. Derby* est mal connue. Cela est dû au faible pouvoir discriminant de la technique de référence (PFGE) utilisée pour le sous-typage des salmonelles vis-à-vis du sérovar Derby mais également au manque de représentativité des collections qui ont été sélectionnées dans des études précédentes.

Notre étude a comme objectifs : 1/ l'étude de la diversité génétique et la structure de la population de *Salmonella* Derby en France par séquençage du génome complet 2/ l'utilisation des données génomiques pour mener un sous-typage efficace et précis des cas sporadiques attribué à *S. Derby* et 3/ la meilleure compréhension d'une part de la transmission de *S. Derby* de l'animal à l'humain et, d'autre part, de la spécificité de ce pathogène aux hôtes porcins et aviaires.

Une collection de souches représentative de la diversité génétique de *S. Derby* a été constituée avec une approche *One Health* regroupant tout à la fois des souches isolées dans le domaine clinique et dans les filières porcines et aviaires où *S. Derby* possède une forte prévalence. A partir de la collection de souches du Laboratoire de santé des aliments (LSAL) de l'ANSES et de l'Institut Pasteur, 302 souches humaines et 140 souches alimentaires de *S. Derby* ont été sélectionnées pour les années 2014 et 2015.

Les génomes de 442 souches ont été séquencés et l'analyse des variants du core génome (SNP, *single nucleotide substitution*) nous a permis d'en étudier la diversité génétique. Les résultats démontrent la nature polyphylétique du sérovar Derby avec 3 lignées génétiquement distantes caractérisées par 4 profils MLST (ST39, ST40, ST71 and ST682). Les souches caractérisées par les profils MLST 39 et 40 constituant une lignée génomique, les souches ST71 et ST682 les deux restantes.

En France le sérovar Derby est divisé entre 3 lignées distantes de 15 k SNP en moyenne. Le ST40, associé à la filière porcine, regroupant à lui seul 71% des cas humains. A l'inverse le ST71, associé à la filière volaille, regroupe seulement 2% des cas humains. Cette étude permet d'attribuer 93% des cas cliniques humains aux lignées de *S. Derby* issues du secteur porcine.

Pour expliquer ces résultats, une étude bioinformatique du pangénome des souches de la collection a été effectuée. La diversité génétique des facteurs de virulence clés de *Salmonella* ainsi que le profil d'antibio-résistance ont été étudiés afin de déterminer le potentiel de virulence de chaque lignée et avancer des hypothèses moléculaires sur la spécificité de ces lignées à leur hôte. Ces investigations génomiques ont été complétées par des essais d'invasion cellulaire sur cellules épithéliales humaine, porcine et aviaire.

L'analyse du pan génome confirme des différences importantes en termes de présence ou absence de gènes de virulence, et met en évidence des différences alléliques pour des gènes associés à la spécificité à l'hôte et à la survie intracellulaire. Un profil d'antibio-résistance majoritaire, est présent au sein du ST40. Enfin, la lignée ST40 et ST39 est caractérisée par un îlot de pathogénicité unique : le SPI-23, connu pour faciliter l'invasion chez le porc. Les essais d'invasion cellulaire confirment une capacité d'invasion des cellules épithéliales humaines limitée pour l'ensemble des souches du ST71.