



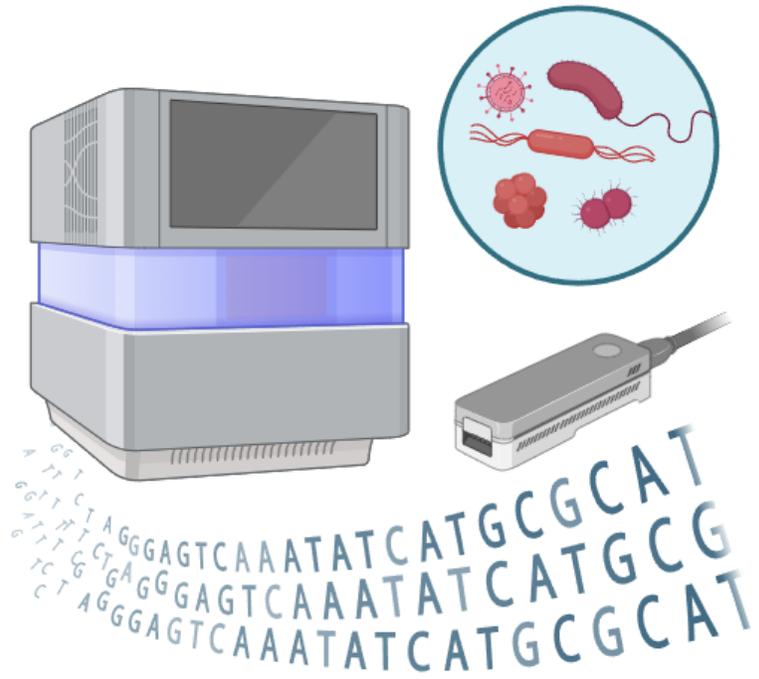
Intérêt de la génomique dans l'étude épidémiologique de la brucellose humaine en *Tunisie*

*Adnène Hammami MD, Pr Émérite de microbiologie
Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie*

*Fahmi Smaoui, Doctorant en Sciences Biologiques
LR MPH (LR03SP03)*

Laboratoire de Microbiologie CHU Habib Bourguiba - Sfax

Apport de la génomique en microbiologie clinique



Created in BioRender.com bio

Taxonomie: espèce, sous-espèce, clade, etc...

Typage moléculaire: MLST, cgMLST

Surveillance épidémiologique

Résistome

Virulome

Analyse des éléments génétiques mobiles:
plasmides, transposons, etc...

Expérience du Laboratoire de Microbiologie CHU HB de Sfax dans la génomique (2021-2025)

European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (2021) 40:597–606
<https://doi.org/10.1007/s10096-020-04055-8>

ORIGINAL ARTICLE



Comparison of conventional molecular and whole-genome sequencing methods for subtyping *Salmonella enterica* serovar Enteritidis strains from Tunisia

Boutheina Ksibi¹ • Sonia Ktari^{1,2} • Houcemeddine Othman³ • Kais Ghedira⁴ • Sonda Maalej¹ • Basma Mnif¹ • Mohamed salah Abbassi⁵ • Laetitia Fabre⁶ • Faouzia Rhimi¹ • Simon Le Hello^{6,7} • Adnene Hammami¹



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Current Research in Microbial Sciences

journal homepage: www.sciencedirect.com/journal/current-research-in-microbial-sciences



Antimicrobial resistance genes, virulence markers and prophage sequences in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolated in Tunisia using whole genome sequencing



Boutheina Ksibi^{a,b,*}, Sonia Ktari^{a,b}, Kais Ghedira^c, Houcemeddine Othman^d, Sonda Maalej^{a,b}, Basma Mnif^{a,b}, Laetitia Fabre^e, Faouzia Rhimi^{a,b}, Simon Le Hello^{e,f}, Adnene Hammami^{a,b}



International Journal of Infectious Diseases

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijid



Evidence of SARS-CoV-2 symptomatic reinfection in four healthcare professionals from the same hospital despite the presence of antibodies



Saba Gargouri^a, Amal Souissi^b, Nabil Abid^{c,e}, Amel Chtourou^a, Lamia Feki-Berrajah^a, Rim Karray^d, Hana Kossentini^d, Ikhlass Ben Ayed^b, Fatma Abdelmoula^b, Olfa Chakroun^d, Abdennour Nasri^d, Adnène Hammami^a, Noureddine Rekiq^d, Saber Masmoudi^b, Hela Karray-Hakim^a, Ahmed Rebai^{b,*}



RESEARCH ARTICLE
December 2024 Volume 12 Issue 12 e01471-24
<https://doi.org/10.1128/spectrum.01471-24>

Clinical Microbiology | Research Article | 25 October 2024



Extended-spectrum beta-lactamase- and carbapenemase-producing *Escherichia coli* isolates causing hospital- and community-acquired infections in Tunisia (2001–2019): expansion of CTX-M-15-C2 and CTX-M-27-C1 ST131 subclades

Authors: Nesrine Sallem, Noura Ben Mansour, Hana Amri, Mohamed Boudaoura, Olfa Gargouri, Faouzia Mahjoubi, Adnene Hammami, Basma Mnif
[AUTHORS INFO & AFFILIATIONS](#)

Ksibi et al. *BMC Microbiology* (2025) 25:98
<https://doi.org/10.1186/s12866-025-03802-1>

BMC Microbiology

RESEARCH

Open Access

Genomic analysis of *Brucella melitensis* isolates recovered from humans in south Tunisia over 35 years between 1988 and 2022



Boutheina Ksibi^{1,2*}, Fahmi Smaoui^{1,2,3}, Nourelhouda Ben Ayed^{1,2,3}, Manel Guetat³, Senda Mezghani^{1,2,3}, Sonia Ktari^{1,2,3}, Faouzia Mahjoubi^{1,2,3}, Mounir Ben Jemaa⁴, Héli Karray^{1,2,3} and Adnene Hammami^{1,2,3}

MICROBIAL GENOMICS

RESEARCH ARTICLE

Smaoui et al., *Microbial Genomics* 2025;11:001362
DOI 10.1099/mgen.0.001362



Molecular epidemiology of a multidrug-resistant *Shigella sonnei* outbreak in Tunisia (2022–2023) using whole-genome sequencing

Fahmi Smaoui^{1,2*}, Boutheina Ksibi^{1,2}, Senda Mezghani^{1,2}, Eya Guermazi¹, Fatma Charfi³, Sonia Ktari^{1,2}, Nourelhouda Ben Ayed^{1,2}, Thouraya Kammoun³, Héli Karray^{1,2} and Adnene Hammami^{1,2}

Brucellose en Tunisie: Une menace persistante

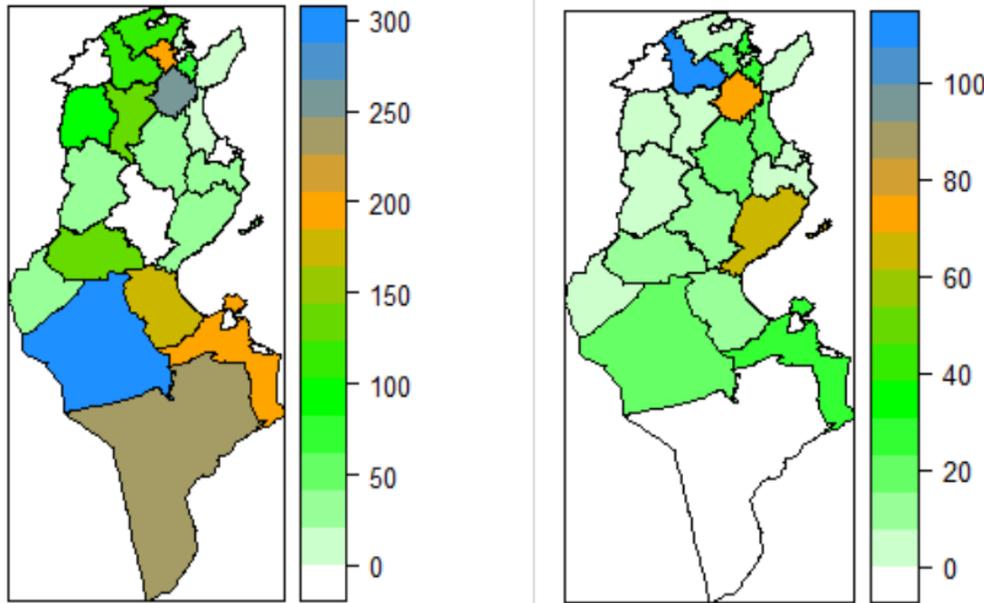


En Tunisie, malgré la mise en place d'un programme de lutte depuis plusieurs années, la brucellose constitue **toujours une source de préoccupation** aussi bien pour la santé publique que pour la santé animale. Elle est classée **parmi les maladies prioritaires** en raison du risque zoonotique et de son impact économique et social.

Approche One Health/WHO

Epidémiologie de la brucellose en Tunisie

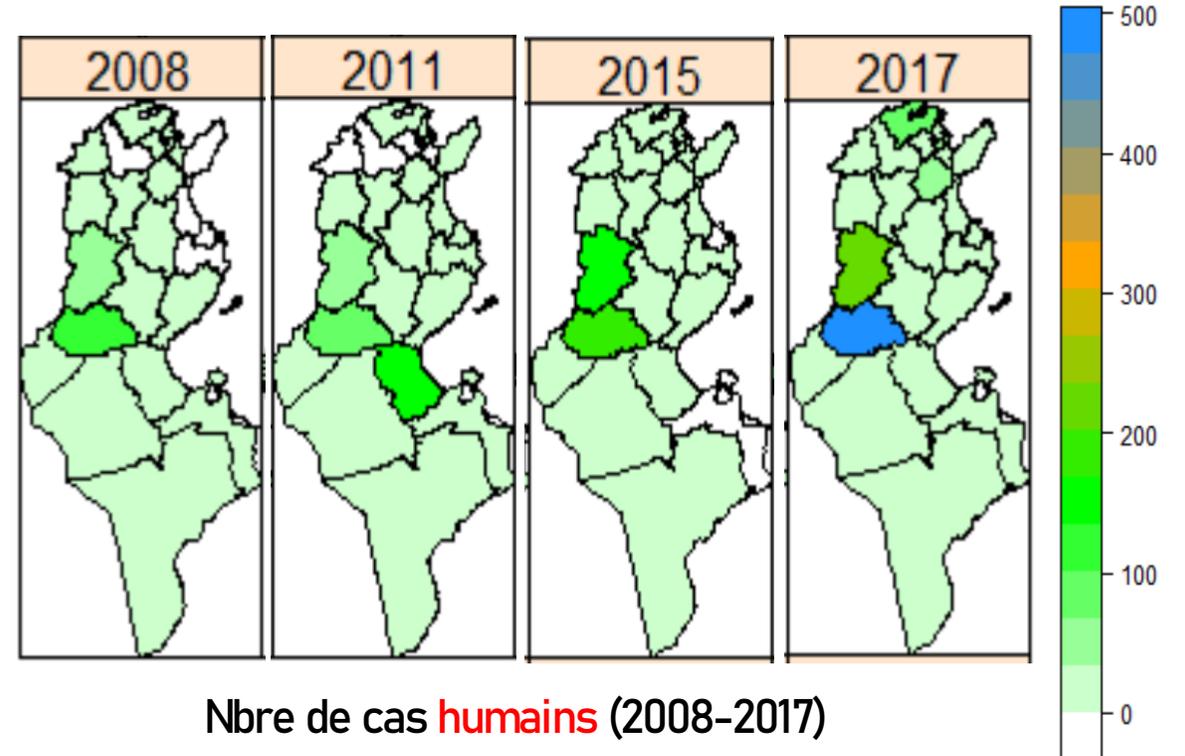
Brucellose animale



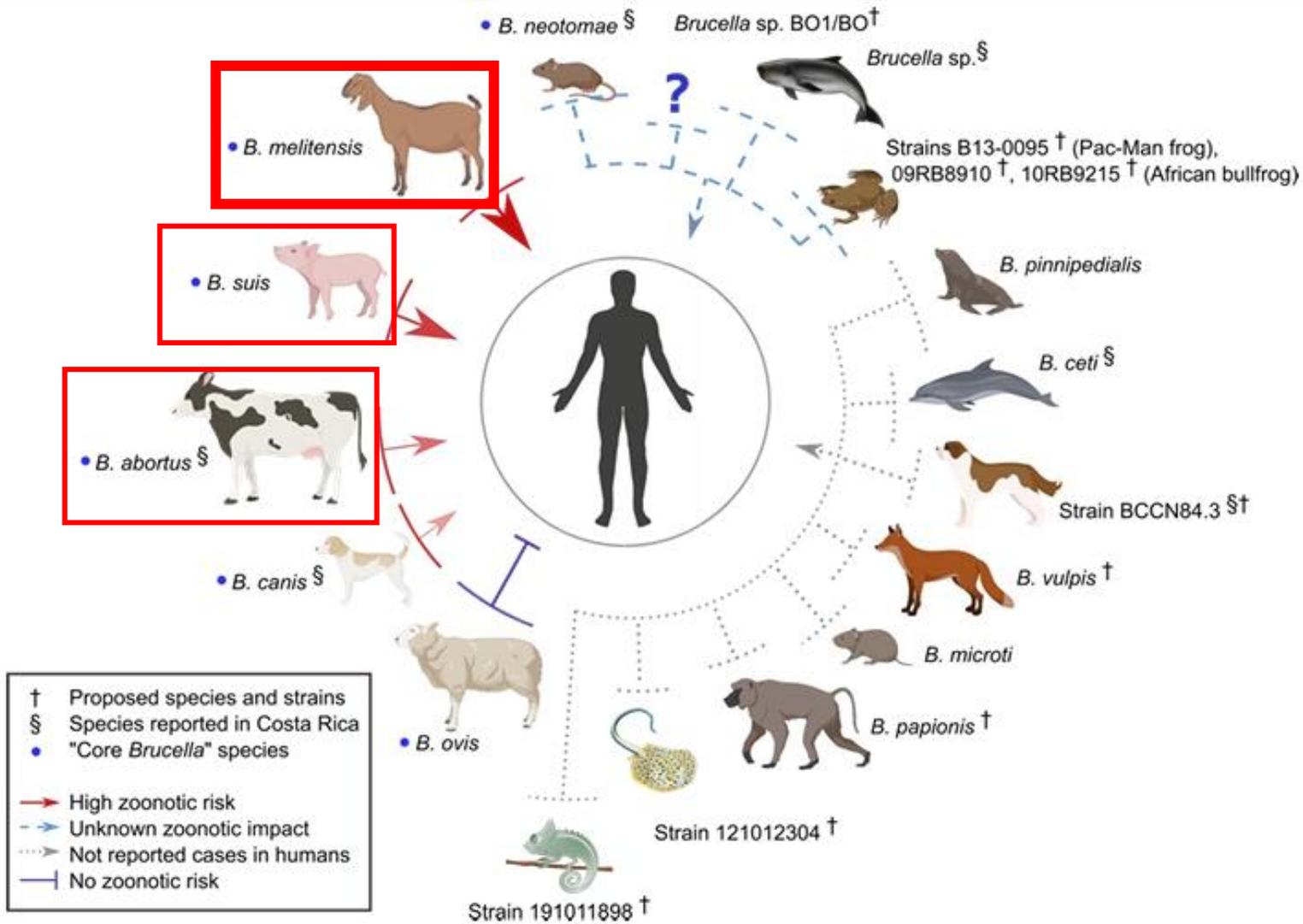
Nbre de cas chez les petits ruminants (2005-2018)

Nbre de cas chez les bovins (2005-2018)

Brucellose humaine



Nbre de cas humains (2008-2017)



One of the most intriguing aspects of the brucellae is that the various species show a ~97% similarity at the genome level

Zoonotic potential of the various *Brucella* species.

The colors and arrow sizes represent the zoonotic risk displayed by each species isolated from its preferred host..

Emerging Microbes & Infections
2024, VOL. 13, 2290839 (15 pages)
<https://doi.org/10.1080/22221751.2023.2290839>



REVIEW ARTICLE

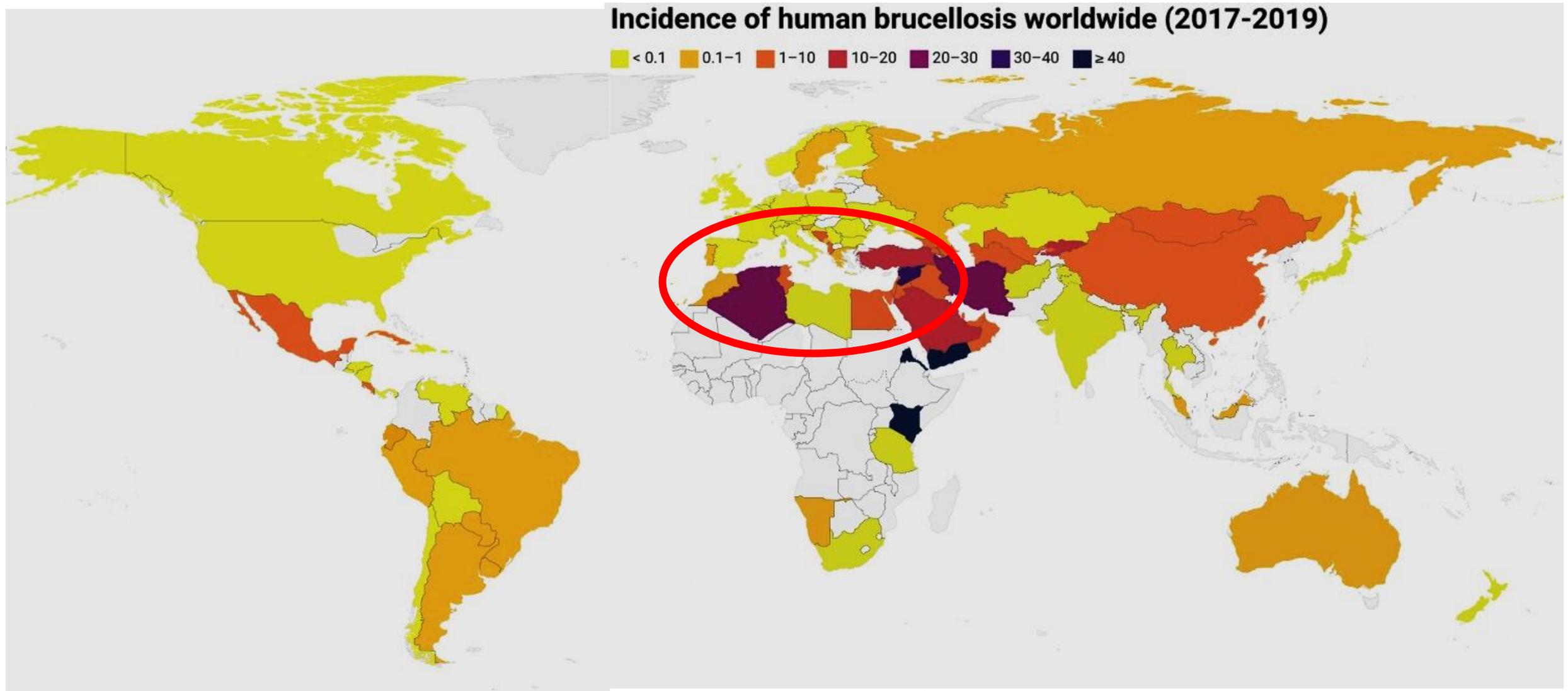
OPEN ACCESS Check for updates

Long ignored but making a comeback: a worldwide epidemiological evolution of human brucellosis

Zhiguo Liu^{a*}, Liping Gao^{b*}, Miao Wang^c, Min Yuan^a and Zhenjun Li^{a,d}

^aNational Key Laboratory of Intelligent Tracking and Forecasting for Infectious Diseases, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing, People's Republic of China; ^bNational Key Laboratory of Intelligent Tracking and Forecasting for Infectious Diseases, National Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing, People's Republic of China; ^cUlanqab Center for Disease Control and Prevention, Jining (Inner Mongolia), People's Republic of China; ^dChinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing, People's Republic of China

Incidence de brucellose humaine dans le monde



Liu Z, Gao L, Wang M, Yuan M, Li Z. Long ignored but making a comeback: a worldwide epidemiological evolution of human brucellosis. Emerg Microbes Infect. 2024

Evolution de l'incidence déclarée de brucellose entre 2006 et 2019

Areas	Incidence (cases/100,000)		
	2006	2019 (2017-2019)	
North Africa	Egypt	0.295	4.154 (2014) ↑
	Algeria	8.43	27.05 (2018) ↑
	Morocco	–	0.239
	Tunisia	3.54	8.621 (2018) ↑
	Libya	–	0.045 (2018)
West Europe	France	0.05	0.051 →
South Europe	Greece	2.09	0.606 ↓
	Italy	0.9	0.082 ↓
	Spain	1.51	0.043 ↓
	Portugal	1.39	0.321 ↓

Ksibi et al. *BMC Microbiology* (2025) 25:98
<https://doi.org/10.1186/s12866-025-03802-1>

2025

BMC Microbiology

RESEARCH

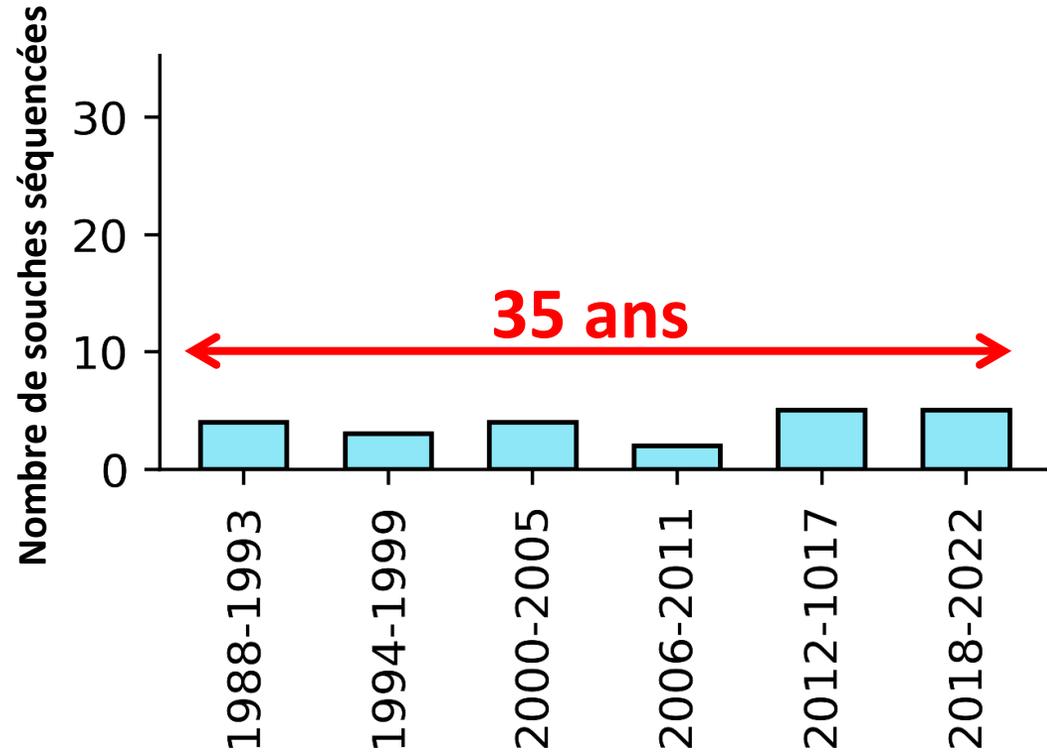
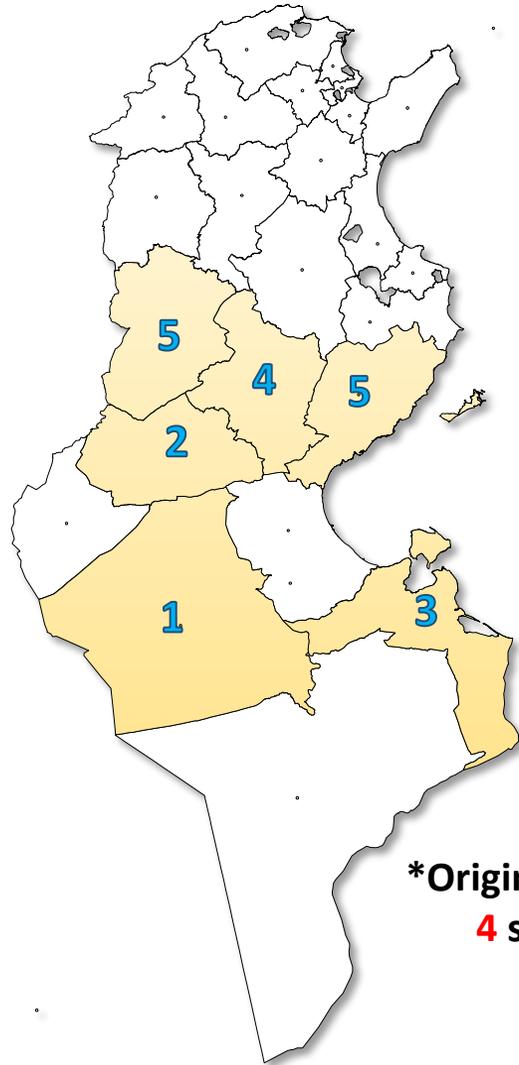
Open Access

Genomic analysis of *Brucella melitensis* isolates recovered from humans in south Tunisia over 35 years between 1988 and 2022



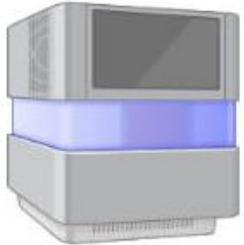
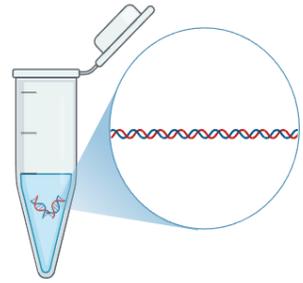
Boutheina Ksibi^{1,2*}, Fahmi Smaoui^{1,2,3}, Nourelhouda Ben Ayed^{1,2,3}, Manel Guetat³, Senda Mezghani^{1,2,3}, Sonia Ktari^{1,2,3}, Faouzia Mahjoubi^{1,2,3}, Mounir Ben Jemaa⁴, HÉla Karray^{1,2,3} and Adnene Hammami^{1,2,3}

Etude génomique de la Brucellose humaine pendant 35 ans (1988 – 2022)

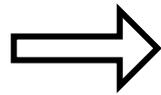


24 souches de *Brucella melitensis*

Etude génomique de la Brucellose humaine pendant 35 ans (1988 – 2022)



Created in BioRender.com bio



**Séquençage
du génome entier
(illumina)**

Analyse Bioinformatique

Confirmation de l'espèce

Prédiction du biovar

Etude de la clonalité des souches

Détection des gènes/mutations de résistances

Identification des facteurs de virulences

Prédiction du biovar

Souche	Année	Espèce
BR1	1988	<i>B.Melitensis</i>
BR2	1989	<i>B.melitensis</i>
BR3	1989	<i>B.melitensis</i>
BR4	1990	<i>B.melitensis</i>
BR5	1992	<i>B.melitensis</i>
BR9	1997	<i>B.melitensis</i>
BR10	1999	<i>B.melitensis</i>
BR11	2000	<i>B.melitensis</i>
BR13	2002	<i>B.melitensis</i>
BR14	2004	<i>B.melitensis</i>
BR15	2005	<i>B.melitensis</i>
BR16	2006	<i>B.melitensis</i>
BR18	2010	<i>B.melitensis</i>
BR19	2011	<i>B.melitensis</i>
BR21	2015	<i>B.melitensis</i>
BR22	2016	<i>B.melitensis</i>
BR23	2017	<i>B.melitensis</i>
BR24	2018	<i>B.melitensis</i>
BR25	2018	<i>B.melitensis</i>
BR26	2019	<i>B.melitensis</i>
BR27	2020	<i>B.melitensis</i>
BR28	2021	<i>B.melitensis</i>
BR29	2021	<i>B.melitensis</i>
BR30	2022	<i>B.melitensis</i>

Identification phénotypique à l'INRA de Nouzilly (France) de 5 souches de *Brucella* isolées au CHU de Sfax de 1999 à 2001

INRA - PII, Laboratoire des Brucella (J.M. Verger et M. Grayon), 37380 Nouzilly

Référence de la souche	Lyse, à la DCE*, par les bactériophages				uréase	Exigence en CO2	Production de H2S	Agglutination par les sérums		Croissance sur colorants***					CONCLUSION	
	Tb	Wb	Iz	R/C				A**	M**	Thio.		Fuch. bas.		Saf.O	Espèce	Biovar
										10	20	10	20			
C3030/99	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>B. melitensis</i>	3
C3137/99	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>B. melitensis</i>	3
C5030/99	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>B. melitensis</i>	3
C2271/2000 wgs	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>B. melitensis</i>	3
C801/2001	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>B. melitensis</i>	3

**Concordance avec les résultats
de l'analyse génomique**

Etude de la clonalité

Faible
résolution

Typage biochimique
(3 Biovars)

Typage moléculaire (MLST)
(quelques gènes)

→ 9 gènes

PubMLST

Public databases for molecular typing
and microbial genome diversity

→ 21 gènes

Haute
résolution

Analyse phylogénétique
(Génome entier)

Typage moléculaire

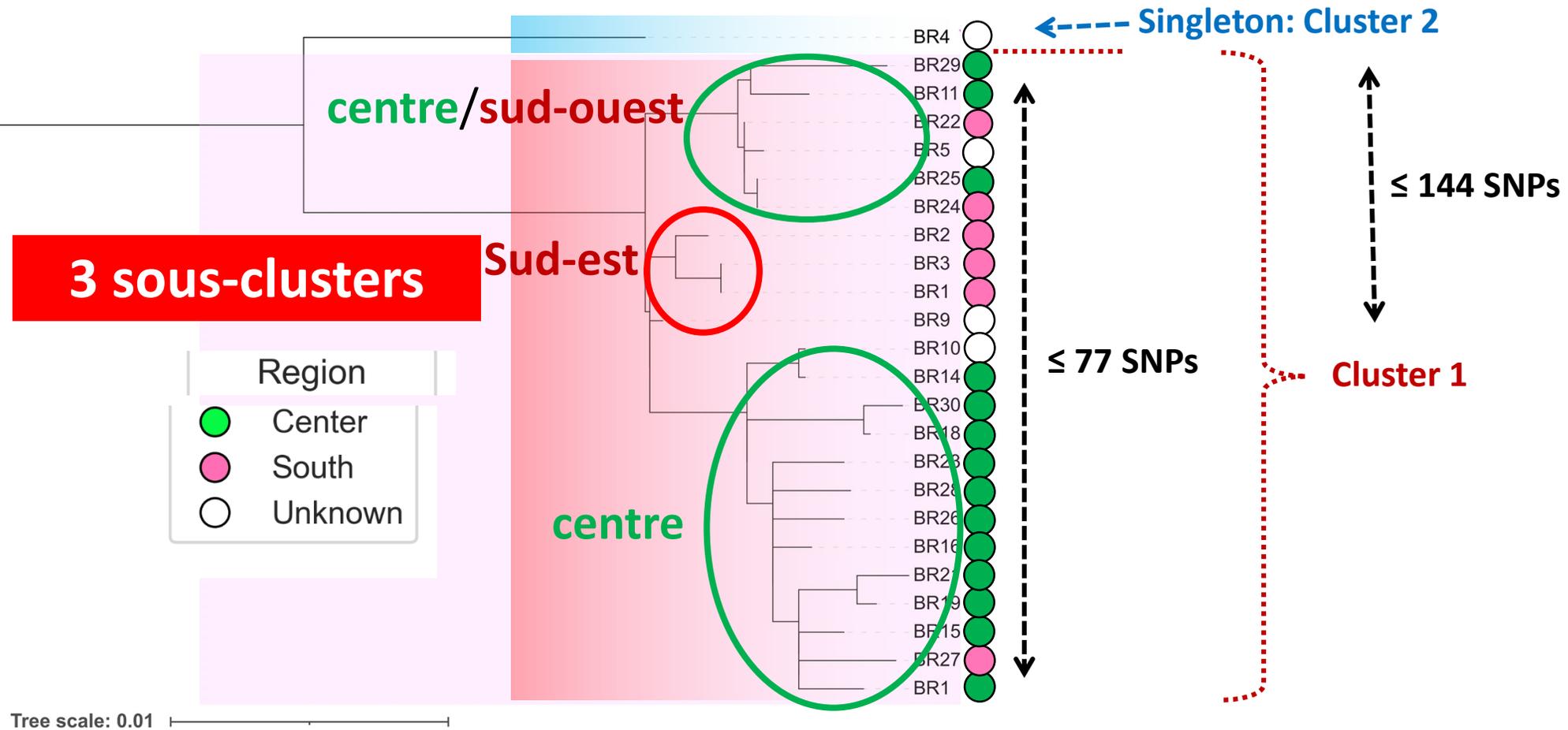
Souche	Année	Espèce	Biovar (prédit)
BR1	1988	<i>B.Melitensis</i>	Biovar 3
BR2	1989	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR3	1989	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR4	1990	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR5	1992	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR9	1997	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR10	1999	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR11	2000	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR13	2002	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR14	2004	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR15	2005	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR16	2006	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR18	2010	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR19	2011	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR21	2015	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR22	2016	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR23	2017	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR24	2018	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR25	2018	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR26	2019	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR27	2020	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR28	2021	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR29	2021	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3
BR30	2022	<i>B.melitensis</i>	Biovar 3

**ST11: Bassin
Méditerranéen+++**

**ST114: Région
du Maghreb**

ST89: Egypte

Analyse phylogénétique



- Haute similarité génétique entre les séquences (de 1988 à 2022)

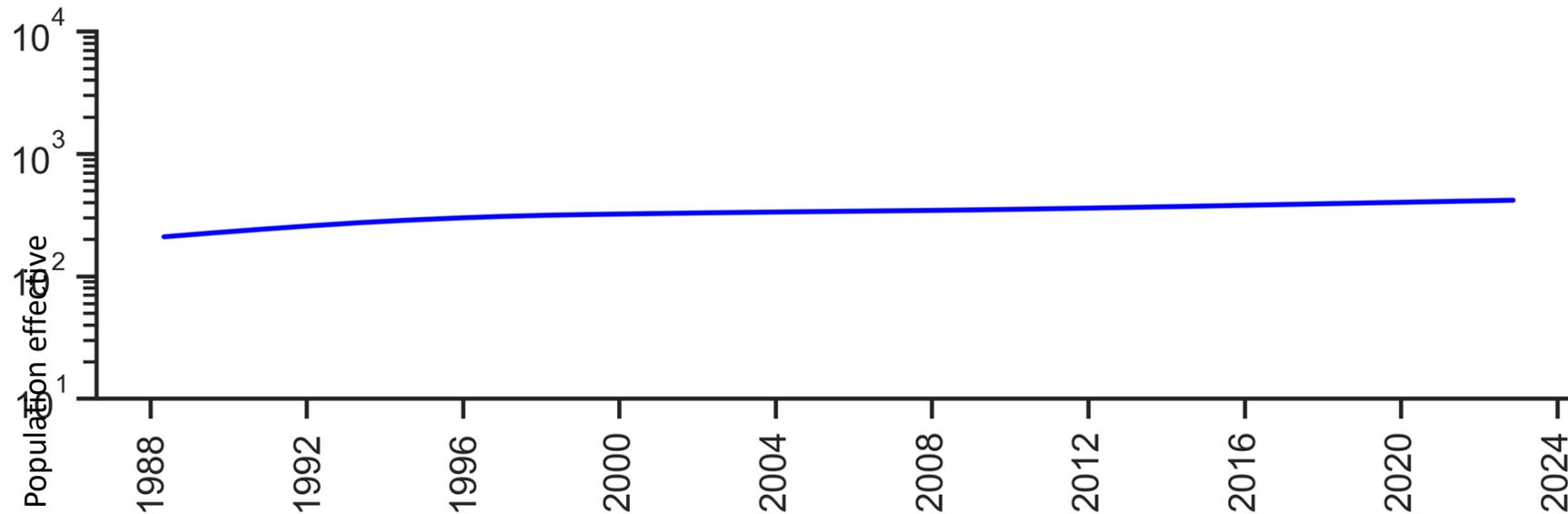
→ Stabilité génétique +++

Analyse phylogénétique

- Etude de Simulation phylodynamique:

Population effective n'a pas montré de grandes variations

→ La situation épidémiologique est stable depuis 1988 (endémicité++)





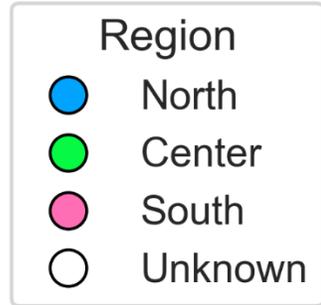
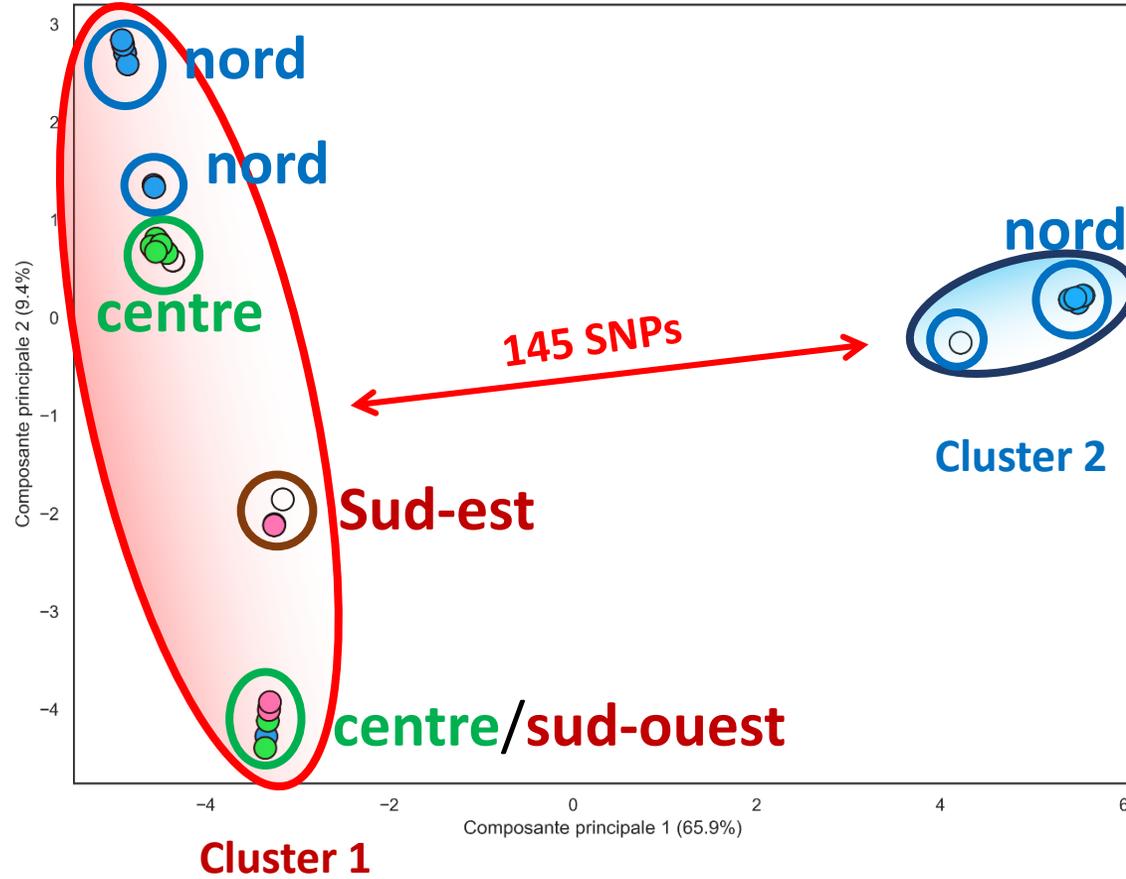
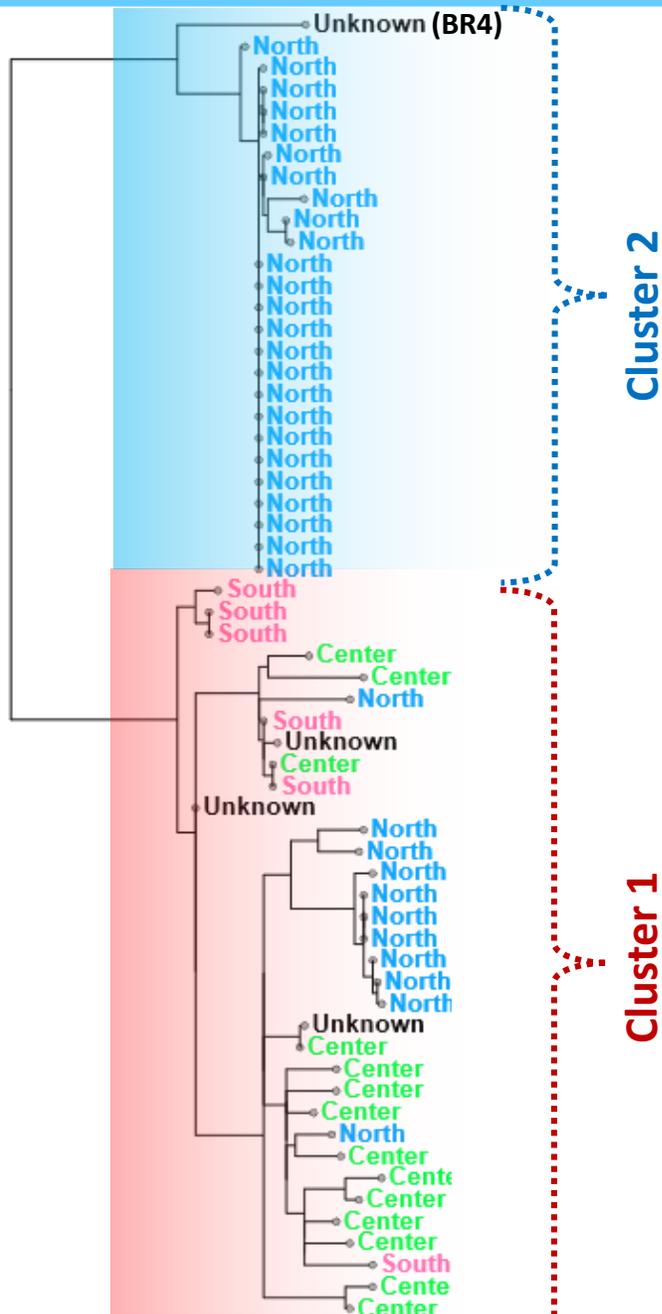
Article

A Genomic Characterization of Clinical *Brucella melitensis* Isolates from Tunisia: Integration into the Global Population Structure

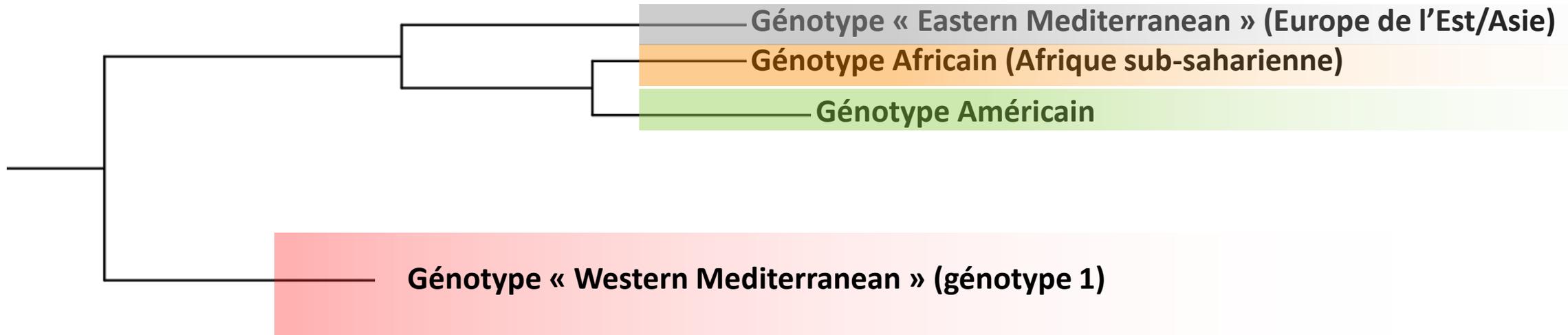
Asma Ferjani ^{1,2,*}, Hellen Buijze ³ , Germán Kopprio ⁴ , Susanne Köhler ⁴ , Amel Rehaïem ^{1,2} , Hajer Battikh ⁵, Lamia Ammari ⁶, Sana Ferjani ^{1,2}, Lamia Kanzari ^{1,2}, Meriam Zribi ⁵ , Badreddine Kilani ⁶, Nicolle Hanschmann ⁴, Holger Scholz ⁴ and Ilhem Boutiba ^{1,2}

Published: 23 January 2025

Comparaison avec les souches du Nord de la Tunisie



Analyse phylogénétique internationale



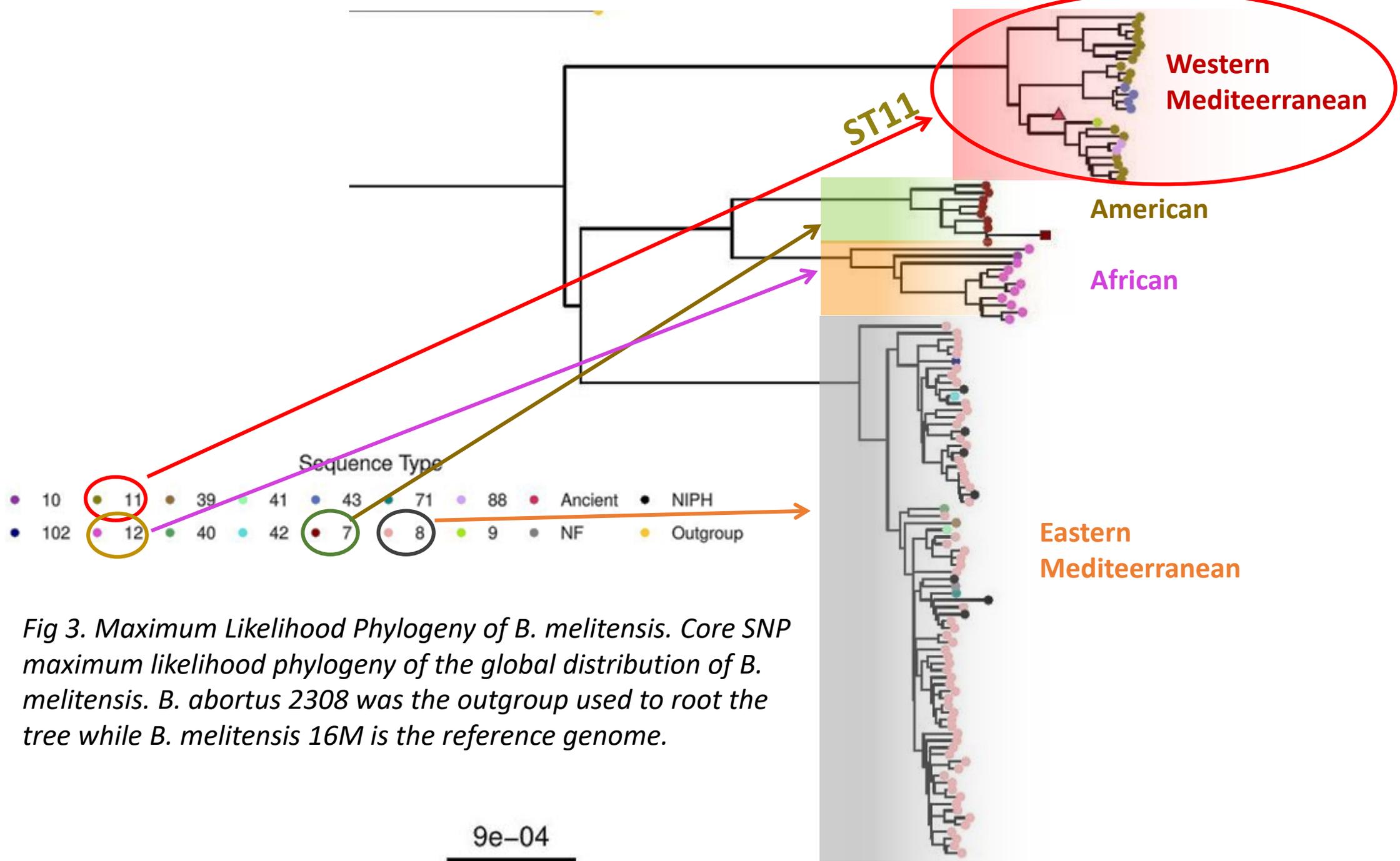
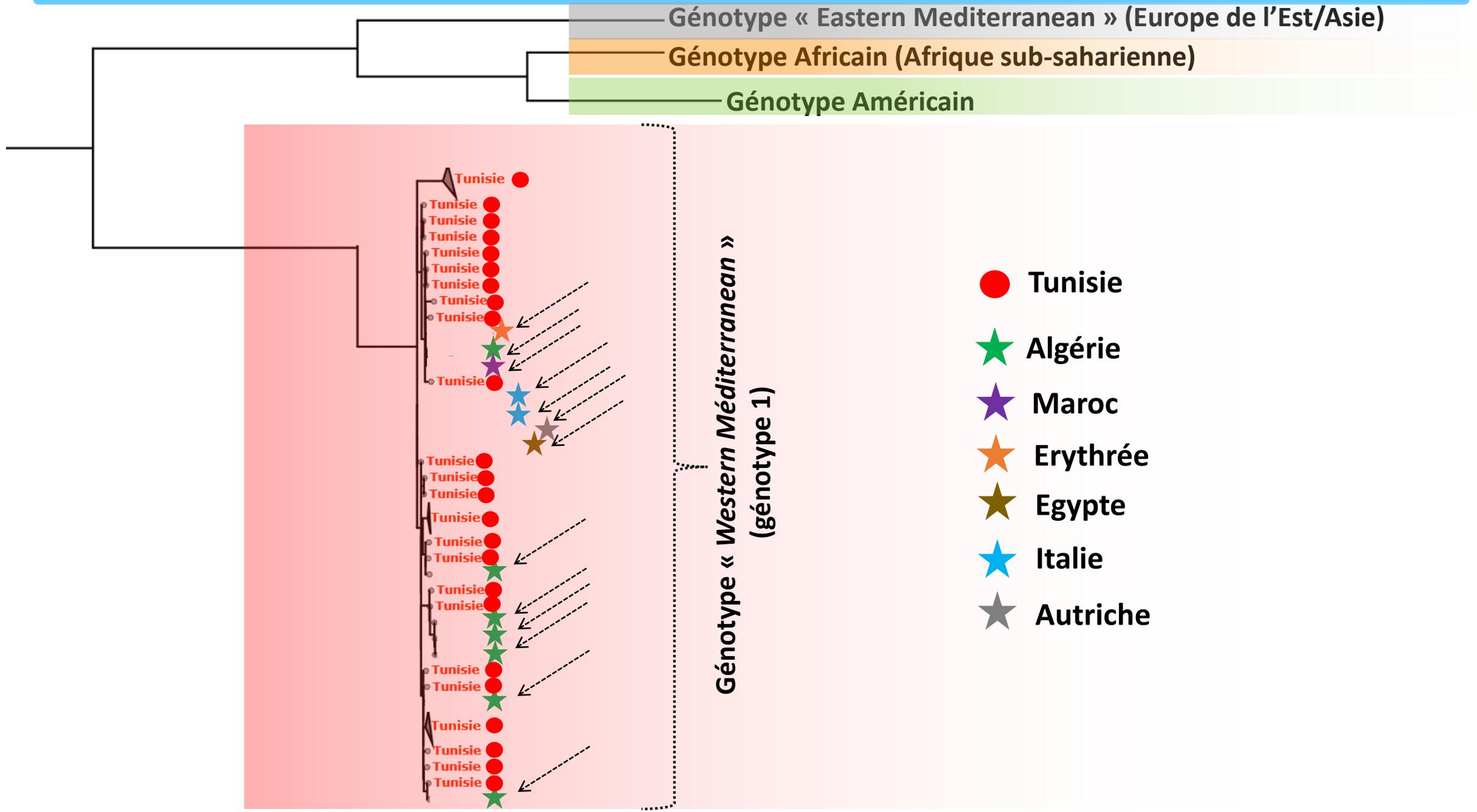
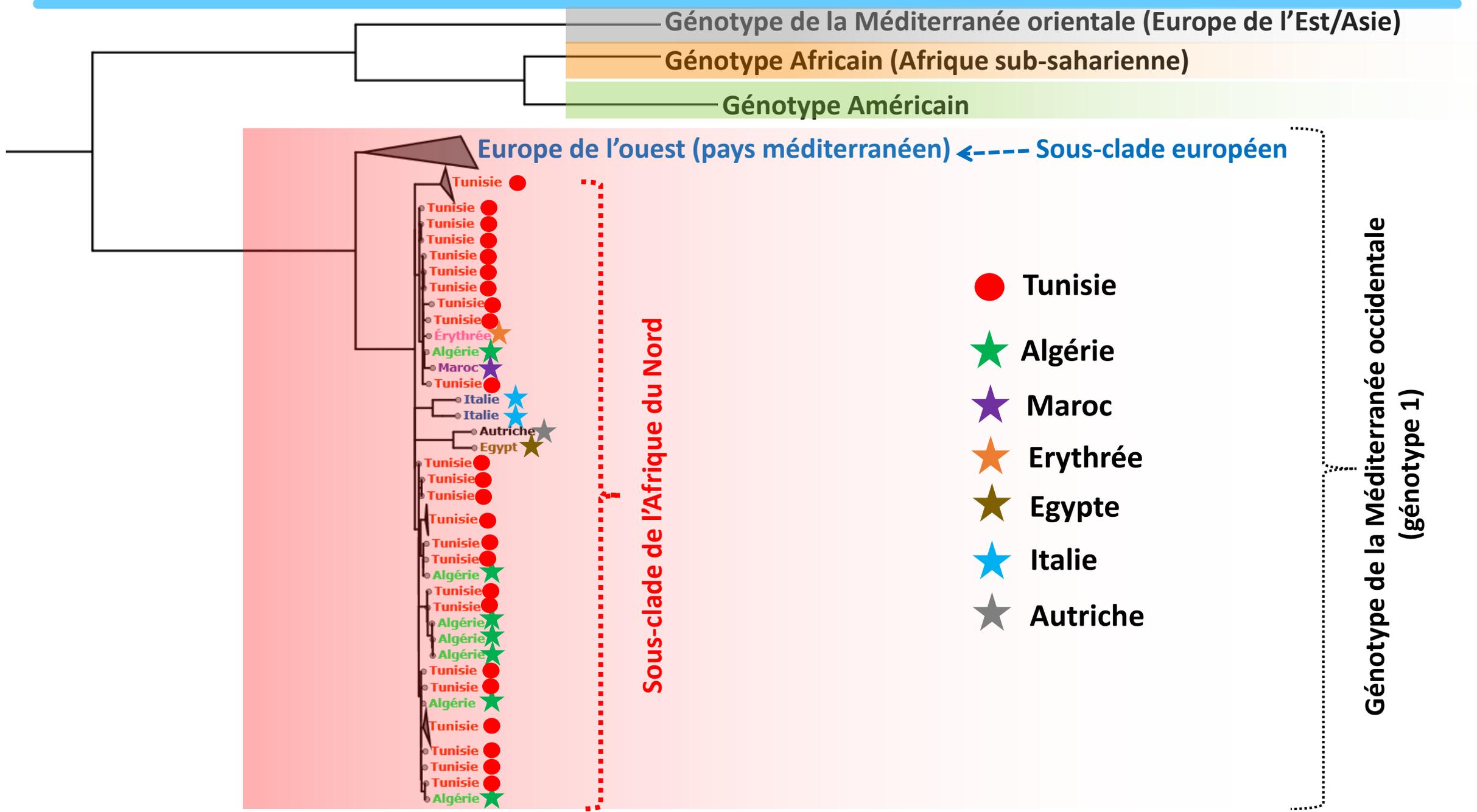


Fig 3. Maximum Likelihood Phylogeny of *B. melitensis*. Core SNP maximum likelihood phylogeny of the global distribution of *B. melitensis*. *B. abortus* 2308 was the outgroup used to root the tree while *B. melitensis* 16M is the reference genome.

Analyse phylogénétique internationale



Analyse phylogénétique internationale



Déterminants génétiques de la résistance aux antibiotiques

- Aucun gène classique de résistance aux principaux ATBs n'a été détecté.
Concordance avec les résultats phénotypiques pour les 8 souches testées.
- Gènes détectés:
 - ✓ *mprF* (*multiple peptide factor*):
peut réduire la sensibilité à la daptomycine et peptides cationiques
 - ✓ *bepCDEFG* (*pompes à efflux*):
 - Peuvent affecter la sensibilité à certains ATBs chez *B.suis*.
 - Aucune étude n'a montré son association avec la résistance phénotypique chez *B.melitensis*.

→ Ces gènes sont partagés avec les autres séquences du génotype 1

Déterminants génétiques de la résistance aux antibiotiques

Mutations détectées

- ✓ Gène cible de la rifampicine: *rpoB*: M1249I
- ✓ Gène cible des fluoroquinolones: *gyrA* (L599V), *gyrB* (A730T), *parC* (A100T)

→ **Aucune association rapportée avec la résistance phénotypique.**

Ex: *rpoB* (M1249I) est un marqueur moléculaire associé au **biovar 3**.

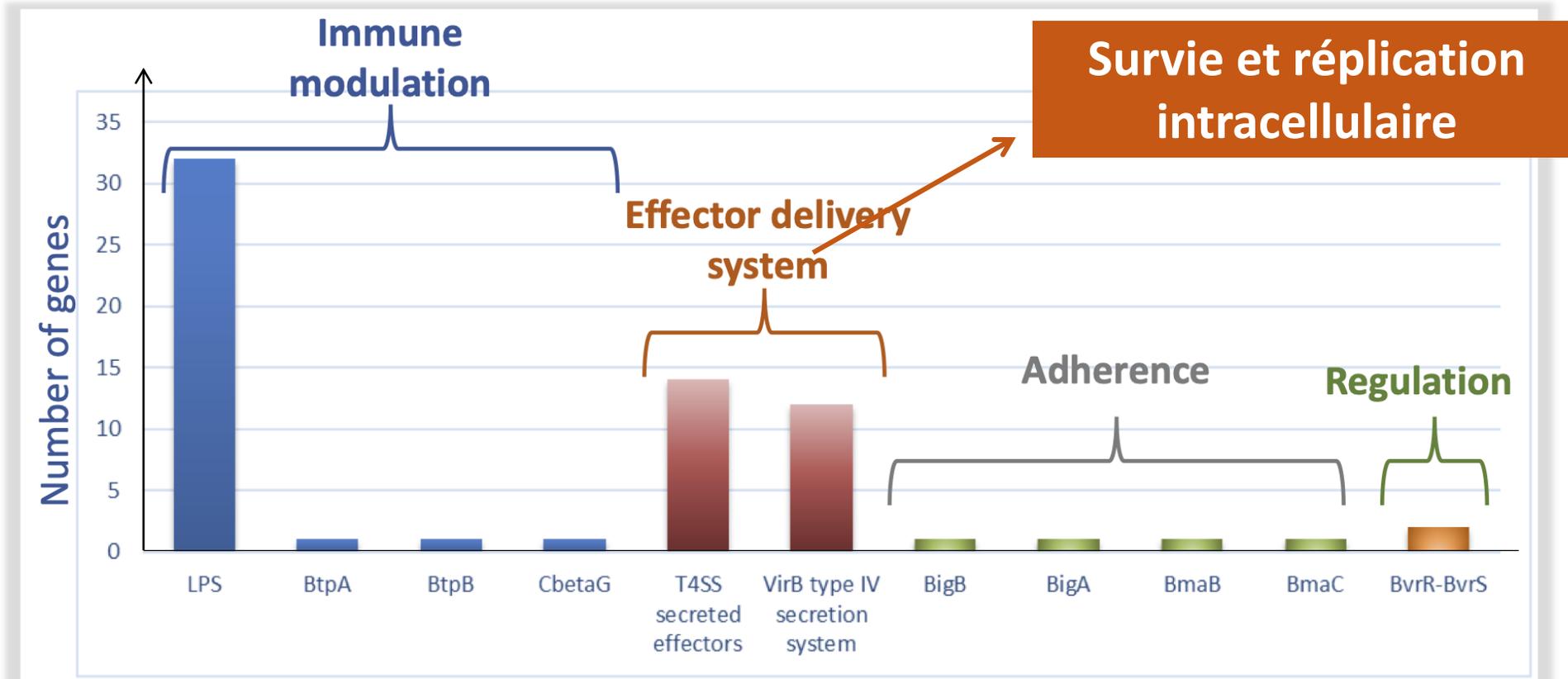
Molecular Epidemiological and Antibiotic Susceptibility Characterization of *Brucella* Isolates from Humans in Sicily, Italy[∇]

Cinzia Marianelli,^{1*} Caterina Graziani,¹ Carmela Santangelo,² Maria Teresa Xibilia,² Alida Imbriani,²
Rosa Amato,³ Domenico Neri,³ Mario Cuccia,⁴ Sebastiano Rinnone,⁴
Vincenzo Di Marco,⁵ and Franco Ciuchini¹

AE009516), all isolates carried nucleotide alterations of ATC to ATA at codon position 1249 (M1249I), previously identified as a molecular marker of *B. melitensis* biovar 3 strain Ether and classified as *B. melitensis* genotype 3 (22). Three out of 20

Déterminants génétiques de la virulence

- 67 gènes de virulences
- Tous les gènes sont partagés avec le génotype « *Western Mediterranean* » (origines humaine et animale)



Take home message

Haute clonalité des souches Tunisiennes de *Brucella melitensis*:
***B.melitensis* Biovar 3 / ST11 / génotype 1 (West Mediterranean)**

Haute stabilité génétique sur 35 ans

La génomique offre la meilleure résolution pour classer les souches en clusters

Les souches Tunisiennes sont encore sensibles aux ATBs

Virulence...Pas de profil particulier

Absence de souches animales ???

La prevention de la brucellose humaine depend étroitement et essentiellement du controle et de l'éradication de la brucellose animale.
L'approche One Health offre la meilleure stratégie pour y parvenir.



Tunisia OBF Status ? ?
Officially Brucellosis free

Remerciements

À toute l'équipe du laboratoire de Microbiologie
du CHU Habib Bourguiba de Sfax et particulièrement

- *Pr Nour BENAYED*
- *Boutheina Ksibi, PhD*
- *Dr Manel Guetat*
- *Fahmi Smaoui*

Merci
pour votre attention