

Évolution de la résistance des Campylobacters aux antibiotiques en France (1986-2002)

Francis Mégraud, Valérie Prouzet-Mauléon

Centre national de référence des Campylobacters et des Hélicobacters, laboratoire de bactériologie, Université Victor Segalen Bordeaux 2 et Hôpital Pellegrin, Bordeaux

INTRODUCTION

Les Campylobacters, en particulier les espèces *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*, se sont révélés être la première cause d'infection intestinale dans les pays développés. Ces infections peuvent être sévères et justifient alors un traitement antibiotique, les macrolides, les fluoroquinolones et l'amoxicilline étant les plus utilisés.

Dans une faible proportion de cas une complication infectieuse peut survenir à type de septicémie et de localisation secondaire variée. Dans une telle situation une bi antibiothérapie est recommandée, incluant la gentamicine et soit une β -lactamine, soit une fluoroquinolone.

Des résistances acquises à ces antibiotiques se sont cependant développées, sauf à la gentamicine [1]. Il est intéressant de connaître leur évolution. Notre laboratoire, devenu Centre national de référence pour les Campylobacters en 1993, a mis en place un réseau de surveillance des infections à Campylobacters basé sur des laboratoires hospitaliers de France métropolitaine depuis 1986. Nous rapportons ici l'évolution des résistances observées de 1986 à 2002.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Origine des souches

Elles ont été isolées essentiellement de selles de malades hospitalisés, dans une dizaine de laboratoires hospitaliers de 1986 à 2002. Des souches d'autres laboratoires ont également été reçues pour identification.

Identification et étude de la sensibilité aux antibiotiques

Toutes les souches ont été identifiées par méthode phénotypique, notamment à l'aide de la galerie ApiCampy (bioMérieux). L'espèce *C. jejuni* a été en particulier identifiée sur la base d'un test à l'hippurate positif. Depuis 1995 une identification génotypique a été réalisée à l'aide de 2 PCR spécifiques de *C. jejuni* et *C. coli* respectivement.

La sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode des disques sur Mueller Hinton contenant 5 % de sang de mouton inoculé en nappe à partir d'une suspension McFarland 0,5 diluée au 1/10. Des disques (Diagnostics Pasteur, puis BioRad) ont été déposés et les boîtes incubées 24 heures en atmosphère microaérobie. Les diamètres critiques proposés par le CA SFM ont été utilisés. La méthodologie de l'antibiogramme est restée constante pour la durée de l'étude.

RÉSULTATS

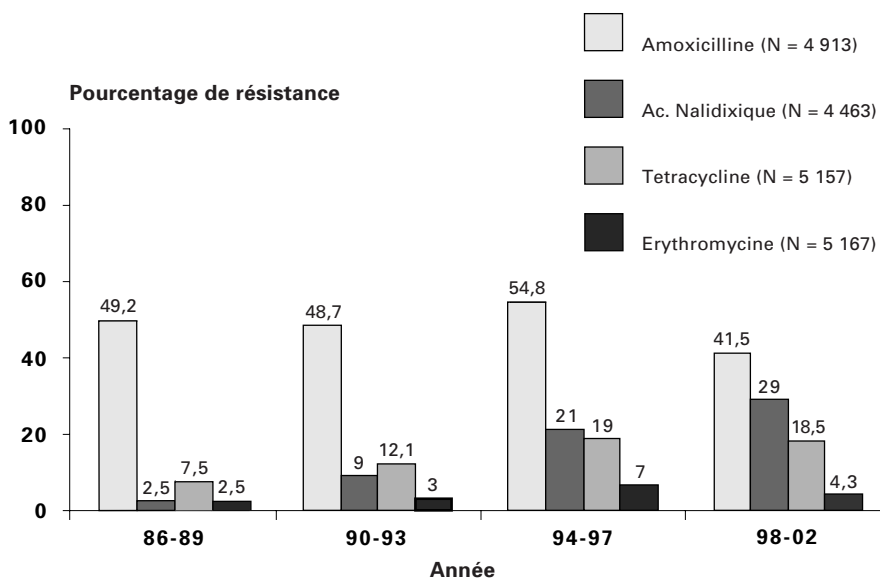
Durant la période considérée (1986-2002) 5 250 souches ont été étudiées (moyenne annuelle 308, valeurs extrêmes 121 – 697), la répartition par espèce était *C. jejuni* : 3 575 ; *C. coli* : 937 ; autres : 738 (dont 514 *C. fetus*). Les résultats globaux et pour *C. jejuni* et *C. coli* sont présentés dans les figures 1, 2 et 3, respectivement.

β -lactamines

L'amoxicilline a été essentiellement testée. La résistance globale est de 47 % (intervalle de confiance 95 % : 45,3-48,1). Elle est légèrement supérieure pour *C. coli* (54,2 %, IC 95 % : 50,9-57,5) que pour *C. jejuni* (48,9 %, IC 95 % : 47,2-50,6 ($p = 0,005$)) mais beaucoup plus faible pour *C. fetus* (19 %,

Figure 1

Évolution de la résistance aux antibiotiques des Campylobacters isolés en France de 1986 à 2002



Les espèces ayant une résistance intrinsèque à l'acide nalidixique ne sont pas incluses. Les effectifs maximums testés sont : période 86-89 = 2 087 ; 90-93 = 1 251 ; 94-97 = 718 ; 98-02 = 1 112.

IC 95 % : 15,6-22,6 ($p < 10^{-3}$). Le suivi dans le temps par période de quatre ans ne montre pas de tendance évolutive, les valeurs oscillant entre 41,5 % et 54,8 %.

La séquence d'une souche de *C. jejuni* a montré la présence d'un gène *bla* chromosomique [2]. Le mécanisme de résistance n'est toutefois pas élucidé.

L'amoxicilline clavulanate n'est testé que depuis 2001. Il est en général actif, seules quelques souches ont une sensibilité intermédiaire. L'acide clavulanique possède une activité antibactérienne propre en plus de son action sur les β -lactamases.

Macrolides

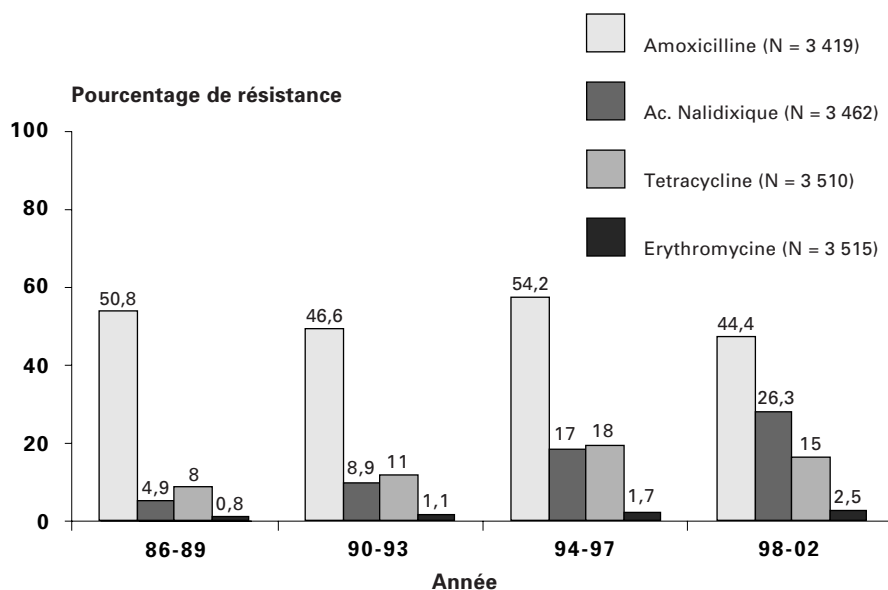
L'érythromycine a été testée comme chef de file de cette famille d'antibiotiques. La résistance globale croisée pour tous les macrolides est de 3,7 % (IC 95 % : 3,2-4,2). Elle est plus élevée chez *C. coli* (9,4 %, IC 95 % : 7,7-11,3) que chez *C. jejuni* (1,4 %, IC 95 % : 1-1,8) et *C. fetus* (1,2 %, IC 95 % : 0,4-2,6 ($p < 10^{-3}$)). Ceci peut s'expliquer par le fait que *C. coli* est une bactérie à l'origine porcine et que ces animaux recevaient dans le passé un macrolide, la tylosine comme facteur de croissance. Cette résistance est due à des mutations sur le gène de l'ARNr 23S [3]. La mutation essentiellement rencontrée est A2075G (95 %) exceptionnellement A2074C. Contrairement à ce que l'on observe pour *H. pylori*, la résistance aux macrolides des Campylobacters n'a pas augmenté ces dernières années, et est toujours globalement en France comme dans la plupart des autres pays à un niveau faible. Elle a oscillé entre 0,8 % et 2,5 % pour *C. jejuni* et entre 6 % et 18 % pour *C. coli* durant la période considérée.

Tétracyclines

Les tétracyclines peuvent être utilisées pour le traitement d'infections entériques à Campylobacter en cas de résistance à d'autres antibiotiques.

Figure 2

Évolution de la résistance aux antibiotiques des *Campylobacter jejuni* isolés en France de 1986 à 2002



Les effectifs maximums testés sont :
période 86-89 = 1 565 ; 90-93 = 761 ; 94-97 = 450 ; 98-02 = 744.

La résistance globale est encore limitée (12,6 %, IC 95 % : 11,7-13,5). Elle est là encore légèrement supérieure pour *C. coli* (19,4 %, IC 95 % : 16,9-22,1) que pour *C. jejuni* (11,5 %, IC 95 % : 10,5-12,6) et *C. fetus* (7,1 %, IC 95 % : 5-9,6 ($p < 10^{-3}$)). Elle a augmenté entre la période 1986-1989 et la période 1998-2002 de 7,5 % à 18,5 %. Cette augmentation est surtout nette pour *C. coli* (de 11,3 % à 33 %) mais est très significative dans tous les cas ($p < 10^{-3}$). Elle est très variable dans d'autres pays. Elle est due à un gène *tetO* porté par un plasmide dont la protéine protège le ribosome. Ce gène semble acquis des bactéries Gram positives. C'est d'ailleurs une des rares résistances plasmidiques rencontrées chez les *Campylobacter* [3].

Aminosides

Si la gentamicine reste le seul antibiotique pour lequel aucune résistance n'est apparue, il n'en est pas de même des autres aminosides. En effet, des résistances à la kanamycine restent peu fréquentes (1 %), mais sont plus fréquentes pour la streptomycine (5 à 10 %).

L'enzyme la plus souvent rencontrée est une aminoglycoside phosphotransférase 3' type III responsable de la résistance à la kanamycine. Elle serait d'origine plasmidique dans la majorité des cas [3].

Quinolones

L'acide nalidixique a été testé durant toute cette période. Indépendamment des espèces pour lesquelles la résistance est intrinsèque (*C. fetus*, *C. hyointestinalis*, *C. lari*) un taux global de résistance de 13,2 % (IC 95 % : 12,2-14,2) est observé, plus marqué pour *C. coli* (19 %, IC 95 % : 16,5-21,7) que pour *C. jejuni* (12 %, IC 95 % : 10,9-13). Une nette évolution vers la résistance a été notée entre la période 1986-1989 et la période 1998-2002. Elle est passée de 4,9 % à 26,3 % pour *C. jejuni* et de 6 % à 44,6 % pour *C. coli* ($p < 10^{-3}$).

Les résultats pour la ciprofloxacine testée depuis l'an 2000 sont proches mais légèrement plus faibles que pour l'acide nalidixique : *C. coli* : 36,5 % contre 41,8 %, et *C. jejuni* : 25,6 % contre 28,3 % sur la période considérée.

Cette résistance est due à des mutations au niveau de la région dite « Quinolone Resistance

Determining Region » (QRDR) du gène *gyrA* en particulier une mutation *Thr86*. D'autres mutations peuvent être en jeu au niveau de *gyrA* mais aussi de *parC* [3].

Les taux de résistance ont également été étudiés en fonction de l'âge, et de caractéristiques épidémiologiques, à savoir l'existence d'une épidémie familiale et d'un voyage outremer. Une résistance à l'acide nalidixique était beaucoup plus fréquente pour les souches isolées de malades revenant de voyage que ceux ayant acquis leur infection en métropole (70 % contre 15 % ($p < 10^{-3}$)). Il faut noter que la réponse à cette question n'était renseignée que dans moins d'un tiers des cas et que seulement 3 % des souches avaient été isolées après retour d'un voyage.

Une différence significative de la résistance à l'acide nalidixique a été notée en fonction de l'âge de 0-19 ans : 10,5 % ; 20-49 ans : 26,6 % et > 50 ans : 18,5 % ($p < 10^{-3}$)

DISCUSSION

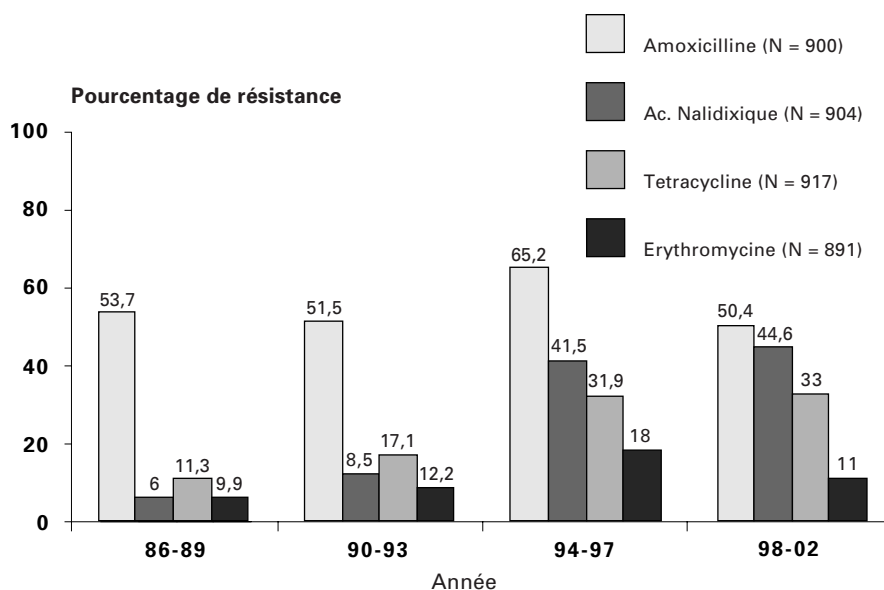
Ces résultats qui concernent un nombre important de souches de *Campylobacter* isolées sur une longue période en France métropolitaine montrent une résistance aux antibiotiques globalement plus élevée de *C. coli* que de *C. jejuni* et une relative stabilité de la résistance de ces bactéries aux antibiotiques au fil des ans, à l'exception de la résistance aux quinolones et à un moindre degré de celle à la tétracycline.

Un certain nombre de limitations doivent cependant être apportées à cette étude :

- ces souches ont été essentiellement isolées dans des laboratoires hospitaliers, ce qui ne reflète pas forcément avec exactitude la résistance existant au niveau de la communauté. On peut admettre que ces infections ont toutefois été acquises à l'extérieur de l'hôpital mais peut-être par des sujets plus fragiles plus souvent traités par des antibiotiques. Environ 15 % des souches ont cependant été isolées de malades ambulatoires ;

Figure 3

Évolution de la résistance aux antibiotiques des *Campylobacter coli* isolés en France de 1986 à 2002



Les effectifs maximums testés sont :
période 86-89 = 371 ; 90-93 = 269 ; 94-97 = 141 ; 98-02 = 141.

- les méthodes d'identification ont été uniquement phénotypiques durant la première partie de l'étude (1986-1995) et l'on doit admettre qu'un petit pourcentage de souches ont pu être faussement identifiées comme *C. coli* au lieu de *C. jejuni* du fait d'un test à l'hippurate négatif. De plus, des souches de *Arcobacter butzleri* maintenant identifiées par les méthodes moléculaires ont aussi pu être à tort classées comme *C. fetus* ou *C. coli* ;

- la méthode utilisée pour tester la sensibilité aux antibiotiques a été la méthode des disques avec des diamètres critiques non spécifiquement validés pour les *Campylobacters* d'où un risque d'erreur. Toutefois, plus de la moitié des souches résistantes aux macrolides ont été retestées par méthode moléculaire et la résistance a été confirmée à quelques exceptions près.

La résistance à l'amoxicilline va faire l'objet d'une étude à la fois phénotypique et moléculaire dans un avenir proche.

Si la résistance aux macrolides, antibiotique de choix utilisé dans le traitement des infections intestinales à *Campylobacter*, est restée faible, il est important de surveiller la résistance aux quinolones qui est en augmentation. La cause de cette augmentation est controversée et peut être la conséquence soit de l'utilisation de fluoroquinolones en médecine humaine, soit de l'introduction d'une fluoroquinolone (enrofloxacin) en médecine vétérinaire dans la filière porcine et surtout avicole [4], considérée comme une source majeure des *Campylobacters* de l'homme [5]. Il est difficile de faire la part de ce qui revient à l'un ou à l'autre car l'utilisation a commencé pour les deux, médecine humaine et médecine vétérinaire, au début des

années 1990 et les études épidémiologiques souvent difficiles ne permettent pas de trancher. Cette résistance très facilement sélectionnée, limite les possibilités thérapeutiques non seulement dans les diarrhées où les fluoroquinolones auraient l'avantage d'être actives sur la plupart des autres bactéries pathogènes intestinales, mais aussi dans les infections systémiques où un antibiotique ayant une bonne diffusion tissulaire est parfois nécessaire.

De plus elle hypothèque la méthode traditionnelle d'identification des *Campylobacters* où la résistance à l'acide nalidixique était un élément important d'orientation.

RÉFÉRENCES

- [1] Nachamkin I, Engberg J, Aarestrup FM. Dignosis and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter spp.* p 45-66 In: Nachamkin I, Blaser MJ (Eds), *Campylobacter* 2nd Edition ASM Press, Washington DC, 2000.
- [2] Parkhill J, Wren BW, Mungall K, *et al.* The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences. *Nature*. 2000; 403:665-8.
- [3] Trieber CA, Taylor DE. Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter* p 441-54 In : Nachamkin I, Blaser MJ (Eds), *Campylobacter* 2nd Edition ASM Press, Washington DC, 2000.
- [4] Endtz HP, Ruijs GJ, van Klingeren B, Jansen WH, van der Reyden T, Mouton RP. Quinolone resistance in *Campylobacter* isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. *J Antimicrob Chemother.* 1991; 27:199-208
- [5] Appréciation des risques alimentaires liés aux *Campylobacters*. Application au couple poulet/*Campylobacter jejuni*. Rapport Afssa 2004. www.afssa.fr