



## Rapport annuel d'activité 2018

### Centre National de Référence des Campylobacters et des Hélicobacters-année d'exercice 2017

Responsable scientifique : Prof Philippe Lehours

Adjoints : Prof Francis Mégraud, Dr Emilie Bessède

Responsable administratif : Mr David Karle

CHU de Bordeaux, Hôpital Pellegrin  
Laboratoire de Bactériologie  
33076 Bordeaux cédex

## Sommaire

Résumé analytique (français).....	3
Résumé analytique (anglais).....	4
1-Missions et organisation du CNR.....	5
2-Activités d'expertise.....	5
2.1-Évolutions des techniques.....	6
2.2-Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousses.....	6
2.3-Techniques transférées vers d'autres laboratoires.....	8
2.4-Collections de matériel biologique.....	8
2.5-Activités d'expertise.....	8
2.6-Activités de séquençage.....	9
3-Activités de surveillance.....	10
3.1-Description du réseau de partenaires.....	10
3.1.1-Description du réseau de partenaires <i>Campylobacter</i> .....	10
3.1.1-Description du réseau de partenaires <i>Helicobacter pylori</i> .....	12
3.2-Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.....	14
3.2.1-Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à <i>Campylobacter sp</i> et bactéries apparentées.....	14
3.2.2-Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à <i>H. pylori</i> .....	18
3.3-Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux.....	19
3.3.1-Surveillance de la résistance des <i>Campylobacters</i> et bactéries apparentées aux anti-infectieux.....	19
3.3.2-Surveillance de la résistance de <i>H. pylori</i> aux anti-infectieux.....	22
3.4-Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....	25
3.5-Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance.....	25
4-Alerte.....	26
5-Activités de rétro-information, de formation et de conseil.....	27
5.1-Conseil et expertise aux professionnels de santé.....	27
5.2-Conseil et expertise aux autorités sanitaires.....	28
5.2-Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public... ).....	28
6-Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR.....	28
6.1-Activités de recherche en cours lors de l'année 2017, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....	28
6.2-Liste des publications et communications de l'année 2017, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....	31
7-Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux.....	35
8-Programme d'activité pour les années suivantes.....	36
Annexe 1 : Missions & organisation du CNR.....	39
1.1-Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés.....	39
1.2-Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés.....	40
1.3-Locaux et équipements.....	40
1.4-Collections de matériel biologique.....	41
1.5-Démarche qualité du laboratoire.....	42
Annexe 2 : Capacités techniques du CNR.....	43
2.1-Liste des techniques de référence.....	43
2.2-Liste des techniques recommandées par le CNR.....	43
Statistiques de fréquentation du site internet du CNR <i>Campylobacters-Helicobacters</i> .....	48

## Résumé analytique (français)

L'entérite à *Campylobacter* a été révélée par les travaux de Butzler au début des années 70. Il est maintenant admis que c'est l'infection intestinale bactérienne la plus fréquente tant dans les pays développés que dans les pays en développement. L'incidence des infections à *Campylobacter* est en augmentation constante depuis 1991 et est maintenant largement supérieure à celle des Salmonelles.

Le CNR *Campylobacter* a pour principale mission de surveiller l'épidémiologie des infections à *Campylobacter sp* en France notamment en terme d'espèces retrouvées en pathologie humaine et en terme de résistance aux antibiotiques. Nous participons à l'évaluation des réactifs commerciaux destinés au diagnostic de ces infections ainsi qu'à la formation des biologistes et cliniciens.

Nous travaillons avec un réseau de correspondants privés et hospitaliers qui acceptent de nous envoyer leurs souches accompagnées d'une feuille de demande récapitulant certaines données épidémiologiques et bactériologiques.

L'année 2017 a été marquée par une diversification des espèces invasives avec une augmentation des isolats de *C. jejuni* isolés de flacon d'hémoculture. *C. jejuni* reste néanmoins majoritairement isolé de selles et représente avec *C. coli* et *C. fetus* les *Campylobacters* les plus fréquents en pathologie humaine. Les *Arcobacters* sont en 4<sup>ème</sup> position, toujours isolés à partir de selles. Les résistances aux antibiotiques restent stables par rapport à 2016. Les sources potentielles de contamination sont majoritairement la volaille et les produits de la mer.

Nos correspondants se questionnent sur la pathogénicité d'une bactérie fréquemment cultivée sur gélose sélective ensemencée avec des selles : *Sutterella wadsworthensis*. Nous suggérons que ce n'est pas un pathogène.

Le CNR a participé à démontrer la fiabilité de tests de détection des antigènes de *Campylobacter* dans les selles, et de quelques formats de PCR commerciaux.

*Helicobacter pylori* a été cultivé pour la première fois en 1982. L'intérêt pour cette bactérie a augmenté progressivement durant la décennie 80 pour devenir très important dans la décennie suivante quand on a réalisé son rôle dans les maladies gastroduodénales. Il est maintenant avéré que l'infection à *H. pylori* est la cause essentielle de la maladie ulcéreuse. De plus, il s'agit de la première infection bactérienne à l'origine de cancers chez l'homme : 80 % des lymphomes gastriques du MALT sont dus à *H. pylori* et peuvent être guéris par éradication de cette bactérie (sauf aux stades trop avancés avec translocations associées), et en ce qui concerne les carcinomes gastriques distaux, il s'agit d'un facteur de risque majeur présent dans 90% des cas.

Depuis les années 90, des traitements efficaces se sont développés et des conférences de consensus se sont tenues sur tous les continents pour recommander quand et comment éradiquer cette bactérie.

Le CNR *Helicobacter* travaille avec un réseau de correspondants locaux et nationaux. L'année 2017 a été marquée par une diminution de la résistance primaire aux macrolides et par l'absence de résistance à la tétracycline. Nous démontrons également l'intérêt d'associer la recherche par culture de cette infection à une détection moléculaire de la bactérie et des mutations associées à la résistance aux macrolides.

Nous avons reçu en 2017 de probables nouvelles souches du genre *Helicobacter* isolées de flacons d'hémoculture. De nombreux correspondants souhaitent avoir des conseils thérapeutiques ainsi que des conseils concernant la culture et les conditions de réalisation des antibiogrammes de *H. pylori*. Le CNR répond systématiquement à ces demandes, des formations théoriques ou pratiques peuvent être organisées si besoin.

## Résumé analytique (anglais)

*Campylobacter* enteritis was revealed by Butzler's work in the early 1970s. It is now accepted that it is the most common bacterial intestinal infection in both developed and developing countries. The incidence of *Campylobacter* sp infections has been steadily increasing since 1991 and is now significantly higher than that of *Salmonella*.

The NRC for *Campylobacter*'s main mission is to monitor the epidemiology of *Campylobacter* sp infections in France, specifically in terms of species found in human and in terms of antibiotic resistance. We participate in the evaluation of commercial reagents for the diagnosis of these infections as well as the training of biologists and clinicians.

We work with a network of private clinics and hospitals who agree to send us their strains along with a request form summarizing some epidemiological and bacteriological data.

The year 2017 was marked by a diversification of invasive species with an increase of isolates of *C. jejuni* isolated from blood cultures. Nevertheless, *C. jejuni* remains mostly isolated from stool and represents with *C. coli* and *C. fetus* the most frequent *Campylobacter* in human pathology. The Arcobacters are in 4th position, always isolated from stool. Antibiotic resistance remains stable compared to 2016. Potential sources of contamination are mostly poultry and seafood products.

Our correspondents are questioning the pathogenicity of a bacterium frequently cultivated on selective agar seeded with stool: *Sutterella wadsworthensis*. We suggest that it is not a pathogen.

The NRC for *Campylobacter* has been involved in demonstrating the reliability of *Campylobacter* antigen tests in feces, and some commercial PCR formats.

*Helicobacter pylori* was first cultured in 1982. Interest in this bacterium increased gradually during the 1980s and became strong in the following decade when its role in gastroduodenal diseases was shown. It has now been shown that *H. pylori* infection is the main cause of ulcerative disease. In addition, it is the first bacterial infection causing cancer in humans: 80% of gastric MALT lymphomas are due to *H. pylori* and can be cured by eradication of this bacterium (except in stages too advanced with associated translocations), and for distal gastric carcinomas, this is a major risk factor present in 90% of cases.

Since the 1990s, effective treatments have been developed and consensus conferences have been proposed on all continents to recommend when and how to eradicate this bacterium.

The NRC for *Helicobacter* works with a network of local and national correspondents. The year 2017 was marked by a decrease in the primary resistance to macrolides and the absence of resistance to tetracycline. We also demonstrate the interest of coupling culture with molecular detection of the bacterium and mutations associated with macrolide resistance.

In 2017, we received probable new strains of the genus *Helicobacter* isolated from blood culture flasks.

Many correspondents seek advice on eradication strategies as well as on the culture and conditions of *H. pylori* antibiograms. The NRC systematically responds to these requests, and theoretical or practical training can be organized on demand.

## **1-Missions et organisation du CNR**

### **Organigramme 2017-2021**

<b>Fonction</b>	<b>Nom</b>	<b>Qualification</b>	<b>Statut</b>
Responsable scientifique	Philippe Lehours	Ph., Dr. ès Sci	PU-PH
Responsable adjoint	Francis Mégraud	Ph., Dr Med	PU-PH
Responsable adjoint	Emilie Bessède	Ph., Dr. ès Sci	MCU-PH
Ingénieur (IH)	Lucie Bénéjat	M2	CDD
Ingénieur (IH)	Elvire Berthenet	PhD, master bio-info	CDD
Technicienne	Astrid Ducournau	BTS	CDD
Technicienne	Alice Buissonnière	BTS	CDD
Technicien(ne)	X (pool des techniciens du laboratoire de Bactériologie du CHU Pellegrin)	BTS	CDI
Secrétaire	Erick Keisler	BTS	CDD (40%)

IH : ingénieur hospitalier ; Personnel recruté en janvier 2018.

Courant 2018, un technicien qualité sera recruté à 40% pour initier la démarche qualité du CNR. Ce technicien qualité sera également recruté à 40% par le CNR IST (Pr C Bébéar).

D'autres éléments relatifs à cette section sont disponibles en annexe 1 de ce rapport.

### **2-Activités d'expertise**

Les techniques disponibles au CNR sont décrites en annexe 2 de ce rapport.

Nous ne mentionnons ici que les responsabilités scientifiques des biologistes responsables du CNR Campylobacters-Helicobacters, en insistant sur quelques éléments clés de l'année 2017.

#### **Eléments clés 2017 :**

-Participation aux recommandations du CASFM concernant la réalisation des antibiogrammes de Campylobacters et *Helicobacter pylori*. Un cut-off spécifique permettant la catégorisation de la sensibilité de *Campylobacter fetus* à la ciprofloxacine a été proposé et intégré dans les recommandations 2017.

Des discussions ont également été entamées en 2017 autour des recommandations concernant les bactéries du genre *Arcobacter sp.* Des modifications spécifiques pour ces bactéries ont été intégrées dans la version 1-2018.

Le CNR a également proposé au CASFM pour le contrôle qualité (CQ) *Campylobacter jejuni* des valeurs cibles en diamètre et CMI.

-Dépôt d'une demande de brevet en juillet 2017 sur l'effet anti-*H. pylori* de la metformine (E Bessède).

-Participation au Comité d'Organisation du Congrès *Campylobacter Helicobacter and Related Organisms* (CHRO) – Nantes, 10 -14/09/17 (P Lehours, E Bessède, F Mégraud : membres)

- Organisation du 30<sup>ème</sup> congrès de l'European Helicobacter & Microbiota Study Group (EHMSG), qui s'est tenu à au Palais des Congrès de Bordeaux du 6 au 9 septembre 2017. Ce congrès a été un succès. Les principaux chercheurs du domaine étaient présents. Nous avons eu 635 participants de 62 pays différents dont 509 étrangers, inclus 150 d'Extrême Orient. Le soutien de l'AFSP a été fort apprécié. De jeunes chercheurs ont aussi pu bénéficier de bourses de l'ECCMID, de la FEMS et de la SFM. Président : F. Mégraud, Membres du Comité Scientifique : P. Lehours et E. Bessède

## **Responsabilités scientifiques :**

### **-F Mégraud**

- Assistant Editeur du journal *Helicobacter*
- Membre du CA du Groupe d'Etude Français des Hélicobacters
- Participation au Comité Scientifique de l'étude SAPHARY visant à surveiller les effets secondaires et la bismuthémie des patients traités par Pylera-IPP
- Membre du sous-comité de Taxonomie des Epsilonproteobactéries de l'International Union of Microbiological Societies
- Membre du comité Scientifique du journal *Clinical Microbiology & Infection*, de l'International Editorial Board de *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, et Senior Editor-Clinical de *Gut Pathogens*

### **-P Lehours**

- Assistant Editeur du *Front Microbiol*
- Membre du CA du Groupe d'Etude Français des Hélicobacters
- Membre du CA de la Société Française de Microbiologie

### **-E Bessède**

- Membre du CA du Groupe d'Etude Français des Hélicobacters

## **2.1-Évolutions des techniques**

L'activité technique relative au diagnostic des infections à *Campylobacter* et Hélicobacters est restée stable par rapport aux années précédentes.

Dans l'objectif d'accréditer la recherche de *H. pylori* par PCR en temps réel, une collaboration avec la société Eurogentec a été mise en place. Eurogentec va produire des barrettes de PCR prêtes à l'emploi en salle blanche, délivrées avec un CQ de validation. Seul l'ADN extrait à partir des biopsies sera à rajouter dans le tube réactionnel. Nous avons cependant entamé en 2017 les tests nécessaires à l'adaptation de notre PCR de détection de *H. pylori* (et des mutations associées à la résistance aux macrolides) (Oleastro M, *J Clin Microbiol* 2003), soit :

- 1) adaptation et mise au point de la PCR de détection de *H. pylori* actuelle sur le thermocycleur LC480 (effectué actuellement sur le LC2.0). Le fluorophore de la sonde émettrice a été modifié (ATT0647N au lieu de LC640). Le signal du fluorophore ATT0647N est plus intense et plus stable.
- 2) test et validation du réactif d'Eurogentec à la place du réactif de Roche Diagnostics.

Les tests concernant les sondes FRET conçues et synthétisées par Eurogentec pour détecter la présence d'ADN eucaryote comme contrôle d'extraction sur le LC480 sont en cours. Actuellement, la détection de l'ADN eucaryote s'effectue dans un autre format de fluorescence (SYBR Green) que la détection de *H. pylori* (FRET). Ainsi, l'utilisation de ces nouvelles sondes GAPDH en format FRET permettrait un gain de temps dans le rendu du résultat car un seul « run » de PCR serait à réaliser pour détecter à la fois *H. pylori* et l'ADN eucaryote.

## **2.2-Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse**

### **Travaux relatifs aux infections à *Campylobacter sp***

-Evaluation d'un milieu chromogène pour la recherche par culture de *Campylobacter*, la gélose CASA (BioMérieux) : nous avons évalué de manière rétrospective les performances du milieu CASA sur une collection de 47 selles (23 positives et 24 négatives à *Campylobacter*) et de manière prospective sur 49 selles reçues entre novembre 2017 et janvier 2018 aux urgences adultes et pédiatriques du CHU Pellegrin. Le milieu CASA a été comparé à la gélose *Campyloset* (BioMérieux). Le statut *Campylobacter* positif et négatif en prospectif a été confirmé par ELISA (ELISA-*Campylobacter* Ridascreen, R-Biopharm). La gélose CASA présente d'excellentes sensibilité et spécificité. Elle permet la croissance des principales espèces de *Campylobacter* et de *Arcobacter* et peut donc être recommandée en routine pour l'isolement à partir de prélèvements plurimicrobiens des *Campylobacter*.

-Evaluation de kit ELISA *Campylobacter*, kit SERION ELISA classic *Campylobacter jejuni* IgG et SERION ELISA classic *Campylobacter jejuni* IgM (commercialisés par Orgentec) : par comparaison aux sérologies effectuées actuellement par réaction de fixation du complément (RFC), ces ELISA ont une bonne sensibilité et spécificité de détection des anticorps anti-*Campylobacter*. En revanche, nous rencontrons des problèmes de répétabilité, non encore résolus à ce jour, sur les valeurs hautes en titre d'anticorps liés probablement à un problème interne à l'automate de

sérologie ELISA utilisé (automate ETIMAX 3000).

### Travaux relatifs aux infections à *Helicobacter sp*

- Evaluation du kit de détection des anticorps anti *Helicobacter pylori* « MP Assure *H. pylori* » au niveau sérique : Ce test immunochromatographique a été comparé au test ELISA Siemens utilisé au laboratoire. L'Helicoblot 2.1 a été réalisé en cas de discordance. Cent trente et un sérums ont été testés. MP Assure *H. pylori* a montré une sensibilité (après vérification des discordants par immunoblot), de 96% et une spécificité de 97,5%.

- Evaluation du kit de détection des antigènes de *H. pylori* dans les selles : *H. pylori* Ag Monlab Test.

Le besoin en tests non invasifs fiables pour le diagnostic de l'infection à *Helicobacter pylori* est de plus en plus important. Parmi ces tests, ceux détectant les antigènes de *H. pylori* dans les selles sont en bonne place.

Le but de cette étude a été de comparer la fiabilité (sensibilité et spécificité) du test *H. pylori* Ag MonlabTest commercialisé par la compagnie Orgentec à une référence composite (culture et PCR en temps réel développée au laboratoire).

Les patients inclus par des gastroentérologues de Bordeaux ont bénéficié d'une fibroscopie pour obtenir des biopsies gastriques. Les selles ont également été prélevées quelques jours avant ou après la fibroscopie.

Les biopsies ont été broyées avec un pilon jetable dans un tube Eppendorf contenant 0,5 ml de bouillon.

Des tests ont été réalisés sur les biopsies (culture et PCR) et sur les selles (*H. pylori* Ag Monlab Test) pour recherche de *H. pylori*.

*H. pylori* Ag MonlabTest a été réalisé selon les recommandations du fournisseur sur les selles recueillies.

Un patient a été considéré *H. pylori* positif si la culture était positive ou en cas de culture négative si la PCR était positive.

Nb.	Culture	PCR maison	Monlab Test
32	+	+	+
4	+	+	-
3	-	+	+
3	-	+	-
4	-	-	+
88	-	-	-

Le nombre de selles testées a été de 134 : 36 étaient positives pour *H. pylori* par culture (26,9%) et 6 de plus par PCR soit 42 (31,4%).

Par rapport à la culture, *H. pylori* Ag MonlabTest a détecté 7 cas supplémentaires et n'a pas détecté 4 cas (Sensibilité 88,9%, Spécificité 92,8%).

Par rapport à la PCR en temps réel, *H. pylori* Ag MonlabTest a détecté 4 cas supplémentaires et n'a pas détecté 7 cas (Sensibilité 83,3%, Spécificité 95,6 %).

Notons que 3 des 4 faux positifs obtenus avec *H. pylori* Ag MonlabTest par rapport à la PCR maison ont également été trouvés positifs par un autre test immunochromatographique. Le résultat histologique n'a été disponible que pour un de ces 3 cas et il montrait une gastrite chronique légère, donc un résultat en faveur d'une infection à *H. pylori*.

Conclusion : *H. pylori* Ag MonLabTest présente des caractéristiques satisfaisantes pour la détection de *H. pylori* dans les selles.

- Collaboration avec le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) de Lyon dans le cadre de l'étude ENIGMA : l'étude ENIGMA consiste à appliquer un protocole standardisé pour apprécier la prévalence de *H. pylori* par sérologie dans plusieurs pays du monde.

Nous intervenons comme laboratoire de référence et avons été amenés à vérifier le statut *H. pylori* de 605 sérums par immunoblot.

- Etude de la flore gastrique de chiens et chats soumis à endoscopie haute dans 2 cliniques vétérinaires de la métropole : le but était de caractériser le microbiote gastrique de ces animaux en particulier au niveau des espèces d'*Helicobacters* qui peuvent être à l'origine de contamination humaine. Une approche de culturomique et de biologie moléculaire a été utilisée. Vingt-huit animaux ont été étudiés (25 chiens, 3 chats). Plus de 1 000 colonies ont été isolées puis identifiées par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Faute d'identification fiable, 27 ont été séquencées. Quinze animaux étaient positifs pour *Helicobacter sp* (54%). Il s'agissait essentiellement de *H. heilmannii sensu stricto*.

Une souche qui pourrait correspondre à une nouvelle espèce a été séquencée.

### 2.3-Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Nous n'avons pas été sollicités pour transférer vers d'autres laboratoires nos techniques. Le personnel du CNR répond cependant systématiquement à toutes les demandes de conseils (mail ou téléphone) concernant le diagnostic des infections à *Campylobacters* et *Helicobacters*.

Les souches de CQ pour *C. jejuni* et *H. pylori* sont régulièrement envoyées sur demande et gratuitement aux laboratoires demandeurs.

Nous envoyons de manière ponctuelle aux sites demandeurs des milieux de transports pour l'envoi de biopsies gastriques destinées à la recherche de *H. pylori* en leur indiquant le protocole à suivre afin de mettre en place les bonnes conditions préanalytiques dans leur site respectif : une fiche dédiée est accessible sur notre site internet (<https://www.cnrch.fr/wp-content/uploads/2011/03/IN-LAB-546-Fiche-technique-pour-le-conditionnement-de-l'envoi-de-biopsies-gastriques-l2.pdf>).

En 2017, nous avons répondu à 18 demandes d'envoi représentant 150 souches et 98 ADN de différentes espèces de Epsilonprotéobactéries.

### 2.4-Collections de matériel biologique

Nous avons en 2017 entamé le transfert de 1867 souches de *Campylobacter* vers le Centre de Ressources Biologiques du CHU de Bordeaux (CRB) des années 2002 à 2012. Nous avons décidé de transférer en priorité toutes les souches invasives (isolées de flacon d'hémoculture, liquide articulaire, LCR, etc...), toutes les espèces rares autres que *C. jejuni* et *C. coli* et les isolats de *C. jejuni* et *C. coli* provenant de sites d'isolement plus inhabituels (ex : biopsies digestives, placenta et vésicule biliaire). F Mégraud a passé une convention avec le CRB pour le transfert de ces souches.

Le CNR conserve l'intégralité des isolats de *Campylobacters* et bactéries apparentées (*Arcobacters*, *Hélicobacters* entérohépatiques) de 2013 à 2018 (environ 5000 souches/année). Nous disposons également de l'intégralité des souches de *H. pylori* (n=4600 environ, depuis 1983).

Le CNR dispose d'une collection de souches type pour de nombreuses espèces du genre *Campylobacter sp* (n=12), *Arcobacter sp* (n=5) ou *Helicobacter sp* (n=19). Ces souches ou leur ADN sont disponibles gratuitement sur demande.

### 2.5-Activités d'expertise

#### Activités d'expertise concernant les *Campylobacters*

Notre CNR travaille avec un réseau de 130 laboratoires privés et 71 laboratoires hospitaliers qui participent respectivement aux réseaux Campy.COM et Campy.HOP. Ces laboratoires nous envoient leurs souches par un système de transport organisé par le CNR. Vingt-deux de ces correspondants (dont 6 hôpitaux (5 CHU, 1 CHG)) saisissent 9 souches isolées directement via un accès sécurisé et intégré au site internet du CNR (réseau Campy-Internet), et n'envoient que la 10<sup>ème</sup> au CNR comme contrôle de qualité. Ce système est fonctionnel depuis 2012 avec accord de l'ex INVS.

Chaque souche reçue est identifiée par spectrométrie de masse MALDI-TOF et antibiogrammée selon les recommandations du CASFM puis conservée à -80°C. Les laboratoires participant au réseau Campy-Internet saisissent en ligne les données épidémiologiques à l'identique de celles demandées sur la fiche de renseignement accompagnant chaque souche. Nous exigeons qu'ils réalisent une identification MALDI-TOF et un antibiogramme afin de pouvoir intégrer leurs résultats dans l'épidémiologie des infections à *Campylobacter*.

Le tableau ci-dessous récapitule le nombre de souches reçues par les réseaux Campy.COM, Campy.HOP et (ou) saisies par le réseau Campy-Internet en 2017.

	Campy.HOP	Campy.COM	Campy-Internet	TOTAL
<b>Nb.</b>	1060	3014	2968	<b>7042</b>
<b>Souches viables</b>	992	2774	x	x

La validation biologique est quotidienne (jours ouvrés). Aussi, le délai moyen de retour de résultat pour chaque souche est de 5 jours (sans compter le transfert du résultat papier par envoi postal).

### Activités d'expertise concernant *H. pylori*

Le CNR travaille avec 51 correspondants extérieurs au CHU de Bordeaux (dont 31 hôpitaux et 5 cliniques privées), et les services du CHU de Bordeaux.

Le tableau ci-dessous récapitule le nombre de biopsies reçues en 2017 par type de correspondants.

	CHU de Bordeaux	Externes	TOTAL
Nb.	335	687	1022
%	32,8	67,2	x

La validation biologique est réalisée les lundi, mercredi et vendredi (jours ouvrés) afin de respecter les délais de subcultures des souches, aussi le délai moyen de retour de résultat pour chaque souche est de 10 jours (sans compter le transfert du résultat papier par envoi postal).

### 2.6-Activités de séquençage

-Le CNRCH n'a pas eu en interne au CHU ou à l'université de Bordeaux accès à une plateforme de séquençage. L'acquisition d'un appareil de séquençage haut débit est toujours au stade de projet au CHU de Bordeaux. La plateforme de génomique fonctionnelle de l'université de Bordeaux ne possède plus d'appareil de séquençage haut débit.

-Le CNR a recruté en janvier 2018 une ingénieure hospitalière en bioinformatique (Mme Elvire Berthenet). Les analyses bioinformatiques de base (assemblage *de novo* notamment) ont été réalisées par la société prestataire de service : Helixio (<http://www.helixio.fr/>) (Clermont Ferrand)).

-Le CNR a fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique et épidémiologique afin notamment, d'identifier par méthode Genome Wide Association Study (GWAS) des marqueurs de souches invasives de *C. jejuni*, réaliser des attributions de sources pour *C. jejuni*, de caractériser de probables nouvelles espèces du genre *Helicobacter*, et de participer à la compréhension des mécanismes de résistance aux antibiotiques des bactéries du genre *Arcobacter*. Enfin quelques souches de *Campylobacter* isolées en 2017 lors de cas groupés et typées initialement par RAPD ont été séquencées dans un but de confirmation d'épidémie.

-Un total de 246 souches ont été envoyées sous forme d'extraits d'ADN en 2017 à la plate-forme de séquençage Helixio : 213 *Campylobacter jejuni*, 30 *Arcobacter butzleri* et 3 *Helicobacter sp.*

-L'ADN des souches a été extrait au CNR à partir de culots bactériens digérés à l'aide de l'extracteur "MagNA Pure 96" (Roche Diagnostics) et du kit "MagNA Pure 96 DNA and Viral NA SV Kit". Une quantification de l'ADN et une vérification de la pureté (ratios 260/280 et 260/230) ont été réalisées par NanoDrop avant l'envoi.

Un dosage au Qubit et une vérification de la pureté par NanoDrop sont réalisés par Helixio. Le séquençage est effectué selon le protocole "Paired-end sequencing" (Illumina) avec le séquenceur "NextSeq500" (Illumina). Les bibliothèques sont obtenues à l'aide du kit "Nextera XT DNA Library Preparation Kit" (Illumina) à partir de 1 ng d'ADN. Un contrôle qualité des séquences est effectué avec le logiciel "FastQC v0.11.3" (Babraham Institute). Un assemblage *de novo* est effectué avec le logiciel "SPAdes v3.10.1". Cet assemblage permet d'obtenir des séquences contiguës (appelées "contigs") plus ou moins longues.

Après réception des séquences au CNR, les contigs sont filtrés en fonction de leur « k-mer coverage » et de leur longueur pour ne garder que les contigs représentatifs et analysables en éliminant les impuretés. Cette étape est réalisée en utilisant un script interne. Une analyse de la qualité des assemblages est effectuée à l'aide du logiciel "quast" (<http://quast.bioinf.spbau.ru/>). Elle permet de filtrer certaines séquences dont la qualité n'est pas satisfaisante. Les runs de séquençages pour ces souches pourront être utilisés en complément d'un futur re-séquençage pour affiner l'assemblage et permettre l'obtention d'une séquence de qualité.

Les séquences conservées sont intégrées dans la base de données BIGSdb (<http://bigsd.readthedocs.io/en/latest/>), accompagnées des métadonnées. Trois bases de données sont utilisées, selon le genre des souches : la base *Helicobacter*, la base *Campylobacter*, et la base Multispecies. Les outils implémentés dans BIGSdb permettent de typer les souches de *Campylobacter* par MLST, ou encore de produire des alignements en fonction du génome core ou des gènes MLST. Un accord d'échange a été établi avec notre collaborateur Sam Sheppard à l'université de Bath en Angleterre (<http://www.bath.ac.uk/bio-sci/contacts/academics/sam-sheppard/index.html>) afin d'accéder aux bases spécifiques *Campylobacter* et *Helicobacter* et en particulier avoir accès aux séquences déposées notamment par le LNR *Campylobacter* à Ploufragan (<https://www.anses.fr/fr/content/campylobact%C3%A9riose-0>).

### **3-Activités de surveillance**

#### **Éléments clés en termes de surveillance pour l'année 2017**

Le volume d'activité du CNR pour *Campylobacter* et *H. pylori* est resté globalement stable. Le réseau de surveillance des *Campylobacters* a évolué en 2017 en intégrant un plus grand nombre de laboratoires saisissant en ligne une partie de leurs résultats. L'activité privée pour *H. pylori* est en forte progression pour 2017.

Les trois principales espèces de *Campylobacter* retrouvées chez l'homme sont *C. jejuni*, *C. coli* puis *C. fetus*. En quatrième position on retrouve *A. butzleri*. Pour la première année, le nombre absolu de souches de *C. jejuni* isolées de flacon d'hémoculture est plus important que *C. fetus*. On observe également une diversification des espèces invasives. Les résistances aux antibiotiques chez *Campylobacter* sont stables par rapport à 2016. Les sources potentielles de contamination sont majoritairement la volaille et les produits de la mer.

Le pourcentage de résistance primaire à la clarithromycine chez *H. pylori* passe sous les 20% en 2017. Aucune résistance à la tétracycline n'a été retrouvée en 2017.

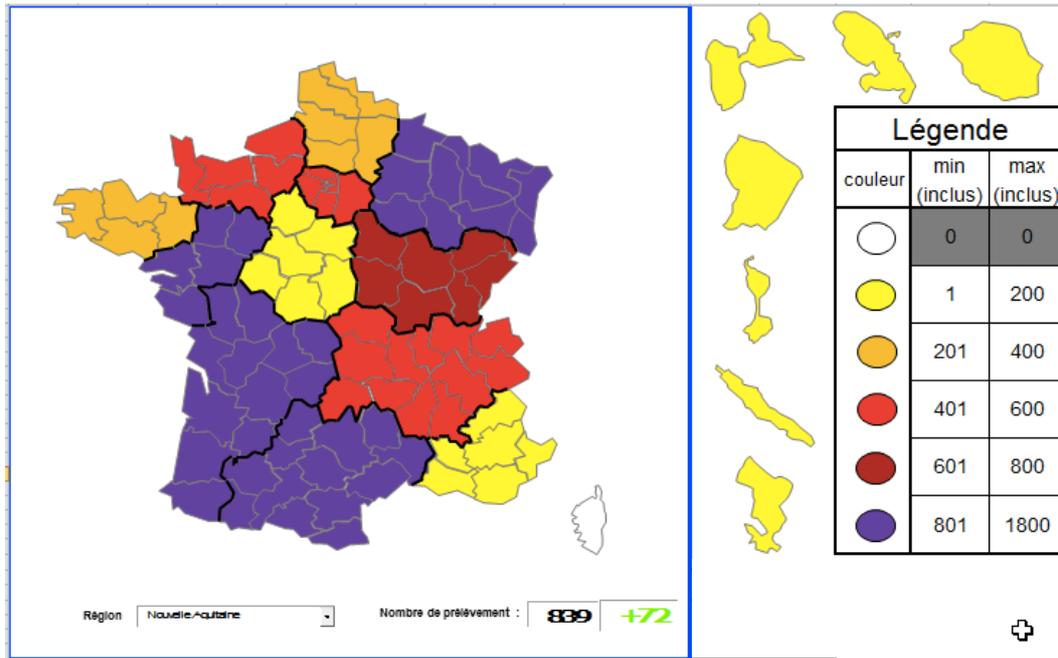
### **3.1-Description du réseau de partenaires**

#### **3.1.1-Description du réseau de partenaires *Campylobacter***

Comme indiqué précédemment, le CNR travaille avec un réseau de 130 laboratoires privés et 71 laboratoires hospitaliers qui participent respectivement aux réseaux Campy.COM et Campy.HOP : 22 de ces correspondants (dont 6 hôpitaux (5 CHU, 1 CHG)) participent également au réseau Campy-Internet.

Au total en 2017, nous répertorions 7042 souches de *Campylobacters* et bactéries apparentées de 70 départements sur 95 et 3 DOM (Martinique, Guadeloupe et Réunion). Les cartes de France ci-dessous (Figure 1) montrent la répartition par région et par département. De manière globale, le grand Ouest et l'Est de la France participent de manière très active à notre réseau. Cependant, nous couvrons grâce à l'amplitude de répartition de nos correspondants toutes les régions de France dans leur nouvelle définition. Les régions Centre Val de Loire et Provence Alpes Côte d'Azur sont les moins participatives. La Corse ne participe pas au réseau de surveillance.

(A)



(B)

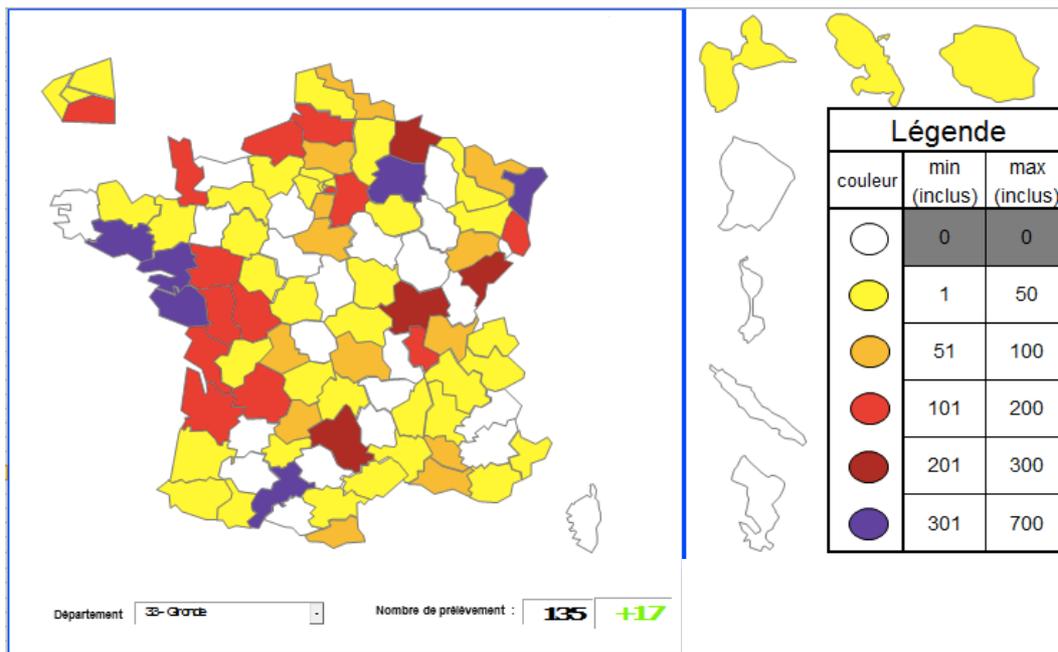


Figure 1. Répartition par région et par département des souches de *Campylobacter* reçues au CNR en 2017 des réseaux Campy.COM, Campy.HOP ou déclarées en ligne par le réseau Campy-Internet. (A)-répartition par région ; (B)-répartition par département. L'échelle de couleur a été choisie en fonction du nombre de souches. A titre d'exemple l'évolution du nombre de souches répertoriées pour la Nouvelle Aquitaine ou la Gironde en 2017 versus 2016 est indiqué sous chaque carte.

-Evolutions du réseau par rapport à l'année 2016 :

Le nombre de souches répertoriées (viables ou non) en 2017 est resté stable par comparaison à 2016 (cf tableau ci-dessous), avec cependant une augmentation notable du nombre de souches saisies sur le réseau Campy-Internet de par l'ajout de 9 nouveaux correspondants (3 CHU et 6 laboratoires privés) dans ce réseau (augmentation de 31,6% versus 2016).

	Campy.HOP	Campy.COM	Campy-Internet	TOTAL
<b>Nb. en 2017</b>	1060	3014	2968	<b>7042</b>
<b>Nb. en 2016</b>	1200	3791	2255	<b>7246</b>
<b>Evolution en %</b>	-11,7%	-20,5%	+31,6%	<b>-2,8%</b>

En 2016 et 2017, notre réseau Campylobacter concernait un nombre égal de 70 départements avec en plus 3 DOM en 2017. L'augmentation des saisies en ligne nous motive et nous autorise pour 2018 à contacter les laboratoires privés et hospitaliers des zones non couvertes afin d'augmenter notre représentativité territoriale sans dépasser 5000 souches réceptionnées par an, chiffre au-delà duquel l'activité technique notamment saisonnière devient difficile à gérer par notre personnel (cf projet 2018-19).

Nous avons également reçu deux demandes de recherche par ELISA de Campylobacter dans les selles de donneurs pour pré-transplantation fécale en 2017.

### 3.1.1-Description du réseau de partenaires *Helicobacter pylori*

Le CNR a reçu 1126 prélèvements dont 104 tests respiratoires et 1022 biopsies gastriques pour recherche de *Helicobacter pylori* de correspondants du CHU de Bordeaux et de 51 correspondants extérieurs (dont 32 hôpitaux, 10 laboratoires privés, 8 cliniques privées, 1 cabinet de gastroentérologie). Les 1022 biopsies correspondaient à 996 patients. La carte de France ci-dessous (Figure 2) montre la répartition par département des prélèvements reçus en 2017 au CNR pour recherche d'infection à *H. pylori*. Nos correspondants étaient répartis sur 24 départements et 1 DOM (La Réunion), ainsi qu'un correspondant au Luxembourg.

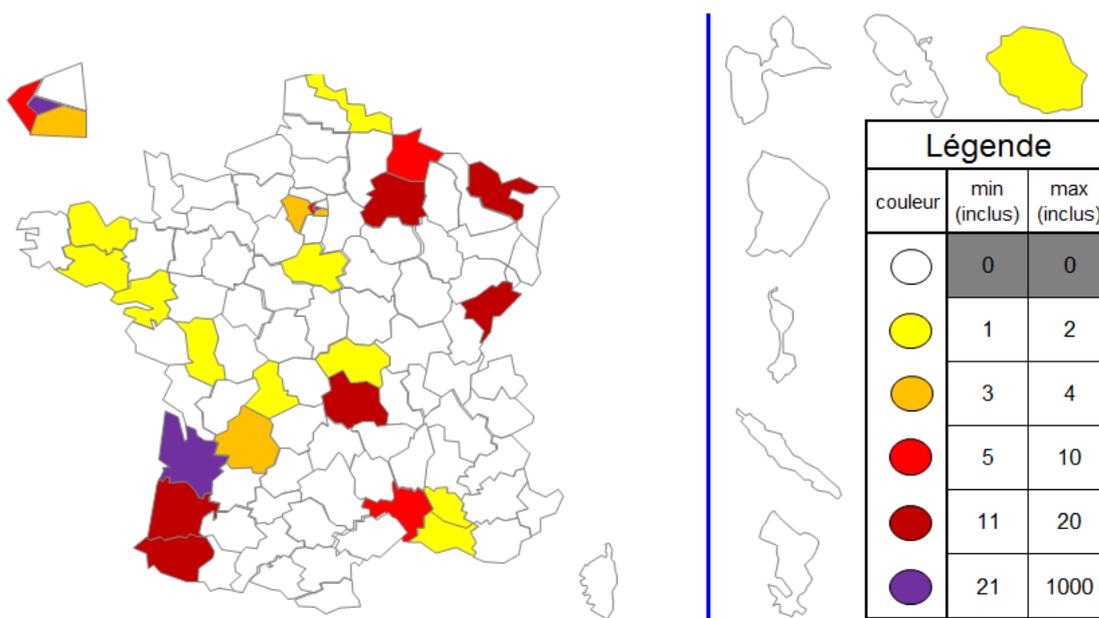


Figure 2. Répartition par département des biopsies gastriques reçues au CNR en 2017 pour recherche d'infection à *Helicobacter pylori*. L'échelle de couleur a été choisie en fonction du nombre de biopsies.

-Evolution du réseau par rapport à l'année 2016 :

Par comparaison à 2016, notre activité concernant la recherche de *H. pylori* par culture et PCR est restée stable.

	CHU de Bordeaux	Externes	TOTAL
<b>Nb. en 2017</b>	335	687	<b>1022</b>
<b>Nb. en 2016</b>	535	497	<b>1032</b>
<b>Évolution en %</b>	-37,4%	+38,2%	<b>-0,97%</b>

On note cependant une augmentation importante de notre activité liée à des correspondants externes au CHU de Bordeaux qui représente 67,2% en 2017 versus 48,2% en 2016.

Ceci est dû à deux facteurs :

-l'inclusion dans notre réseau de correspondants d'un laboratoire privé Bordelais de grande taille (laboratoire BIOFFICE) qui gère la bactériologie de deux grosses cliniques privées sur Bordeaux et sa périphérie (Polyclinique de Bordeaux et Clinique des Quatre Pavillons) ;

-le déménagement récent de l'activité de gastroentérologie et d'endoscopie digestive sur un nouveau centre au CHU de Bordeaux (Centre Médico Chirurgical Magellan, hôpital Haut Lévêque) qui a entraîné des délais d'attente plus longs pour les malades et par conséquent une activité plus faible sur l'année par rapport à 2016.

Nous recevons essentiellement des biopsies gastriques (98,3%), rarement la souche directement ou des selles (0,8% pour chaque).

Nous réalisons dans la majorité des cas des cultures associées à une PCR de détection de *H. pylori* et de ses résistances aux macrolides. La PCR seule est réalisée sur les selles ou en cas de non-respect des conditions de transport des biopsies gastriques rendant impossible toute culture. La culture a parfois été réalisée seule (sans PCR associée) à cause de problèmes techniques. Ceci est stable par rapport à 2016.

Nombre d'analyses (par technique)	2016	2017
<b>Culture + PCR</b>	1018 (98,6%)	996 (97,5%)
<b>PCR seule</b>	11 (1,1%)	21 (2,0%)
<b>Culture seule</b>	3 (0,3%)	5 (0,5%)
<b>Total (Culture et/ou PCR)</b>	<b>1032</b>	<b>1022</b>

Si l'on se base sur les résultats de la culture seule ou de la PCR seule, moins d'un tiers des prélèvements sont positifs pour *H. pylori*. Ceci est stable par rapport à 2016. La plupart des souches que nous avons reçues étaient viables et correspondent bien à *H. pylori*.

Nombre de patients (par culture)	HP positif 2016	HP positif 2017
<b>Biopsies</b>	213/986 (21,6%)	229/970 (23,6%)
<b>Souches</b>	9*/12 (75%)	6/7 (85,7%)
<b>Total</b>	<b>222*/998 (22,2%)</b>	<b>235/977 (24,1%)</b>

\*dont un *H.cinaedi*

Nombre de patients (par PCR)	HP positif 2016	HP positif 2017
<b>Biopsies</b>	245/993 (24,6%)	260/977 (26,6%)
<b>Souches</b>	11*/12 (91,7%)	6/6 (100%)
<b>Selles</b>	1/2 (50%)	1/8 (12,5%)
<b>Autres</b>	0/0	0/1
<b>Total</b>	<b>257/1007 (25,5%)</b>	<b>267/992 (26,9%)</b>

\*le cas restant était *H. cinaedi*

Le nombre de tests respiratoires reçus en 2017 est en augmentation de 52,9%.

### 3.2-Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

#### 3.2.1-Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à *Campylobacter sp* et bactéries apparentées

Contrairement aux années précédentes, les données seront présentées de manière globale en intégrant les données des réseaux Campy.HOP, Campy.COM et Campy-Internet. Les différences notables entre ces réseaux seront notées si besoin pour chaque sous-section.

##### - Résultats globaux :

Nombre de souches répertoriées (viables ou non) : 7042\*

Nombre de souches ayant pu être étudiées dans les locaux du CNR : 3766\*\*

343 souches/3766 (9,1 %) n'ont pas donné de subcultures. Cette proportion est conforme aux années précédentes.

\*(2968 saisies en ligne pour le réseau Campy-Internet), \*\* dont 35 double populations (mélange de souches d'antibiogrammes différents ou d'espèces différentes)

##### - Répartition par espèce et par nature de prélèvements :

Cette répartition sera basée sur 6734 isolats : 3766 reçues au CNR et 2968 saisies en ligne.

Conformément aux années précédentes, les trois principales espèces répertoriées sont *C. jejuni* (82,1%), *C. coli* (11,7%) et *C. fetus* (3,2%) (Tableau 1 et Tableau 2). *C. jejuni* et *C. coli* sont majoritairement isolés de selles : 98,6 et 99% respectivement. *C. jejuni* dépasse pour la première année en nombre absolu *C. fetus* comme espèce isolée de flacons d'hémocultures même si cela ne concerne que 1,2% des isolats de *C. jejuni* versus 24% des *C. fetus*. Les Arcobacters arrivent en 4<sup>ème</sup> position (1,3% au total) et toujours en provenance de selles. Les isolats de *C. lari* et *C. upsaliensis* sont rares mais en proportion non négligeable en provenance d'hémoculture. Quatre *Helicobacter sp* (2 *H. canis*, 1 *H. cinaedi* et 1 *H. canadensis*) sont répertoriées en 2017.

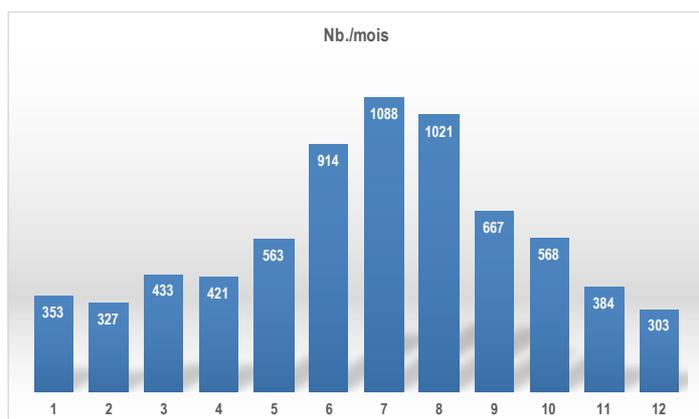
La proportion de *C. fetus* diffère en fonction des réseaux : elle est de 5,24% pour le réseau Campy.HOP alors qu'elle est de 0,18% réseau Campy.COM et de 0,57% pour Campy-Internet (majoritairement composé de laboratoires privés).

La proportion de souches invasives de *C. jejuni* est également plus importante au sein du réseau Campy.HOP (4,71%) versus Campy.COM (0,26%) ou Campy-Internet (0,8%).



### - Répartition mensuelle des souches isolées :

Le graphique ci-dessous indique le nombre de souches répertoriées au cours de l'année 2017.



Ces données confirment la saisonnalité habituelle des infections à Campylobacters. Même si nous recevons des souches tout au long de l'année, les mois de Mai à Septembre regroupent 60,4% des souches répertoriées en 2017 pour les 3 réseaux. Cette proportion est identique quel que soit le réseau.

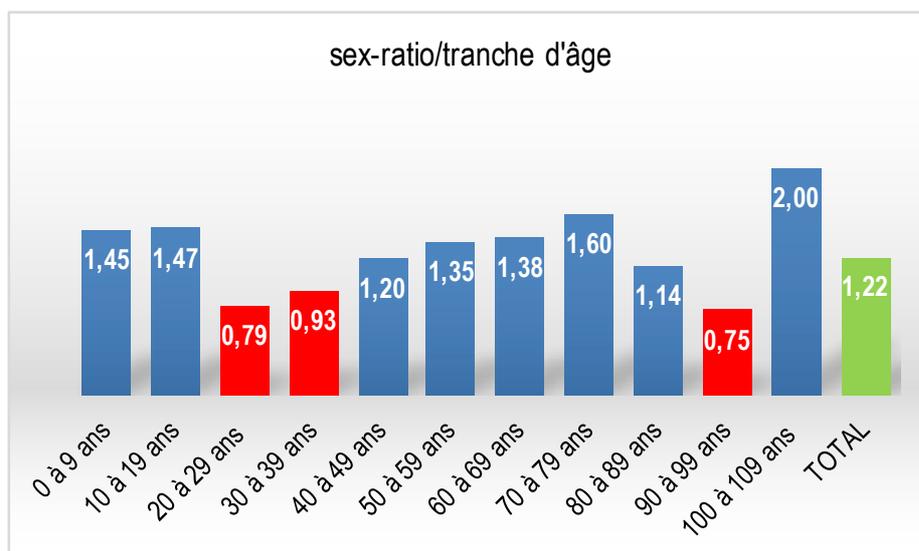
### - Répartition par sexe :

Les chiffres ci-dessous tiennent compte des 7042 souches répertoriées (viables ou non).

Sexe masculin	3866	54,9 %
Sexe féminin	3176	45,1 %

La prédominance masculine est toujours marquée (sex-ratio H/F : 1,22 en moyenne, et égal à 1,4 pour le réseau Campy.HOP).

Cette répartition est valable pour de nombreuses tranches d'âge sauf pour les 20-29 ans (0,79), 30-39 ans (0,93) et les personnes très âgées (90-99 ans, 0,75). Ceci témoigne probablement de l'exposition plus fréquente des femmes lorsqu'elles sont en âge d'avoir des enfants et du vieillissement de la population en faveur du sexe féminin.



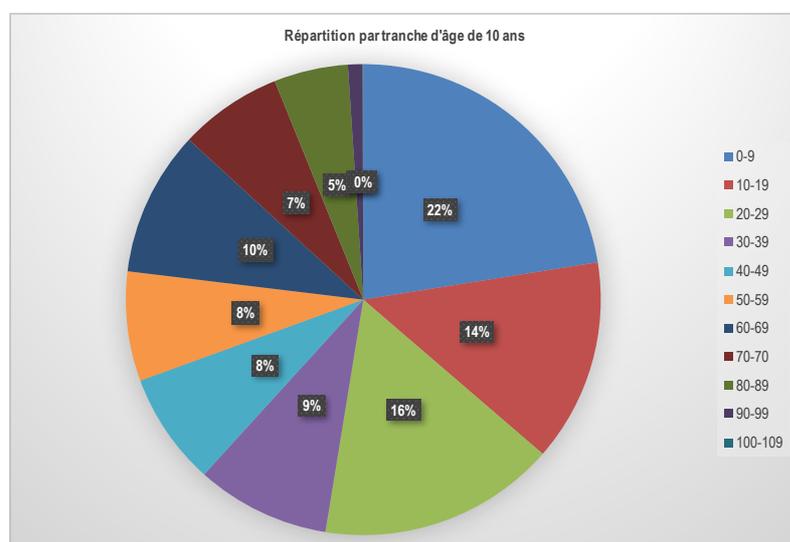
**- Répartition par âge :**

Catégories d'âges :

	COM	%	HOP	%	INT	%	TOTAL	%
<b>Adultes, ≥15 ans</b>	2153	71,4	718	67,7	2099	70,7	4970	70,6
<b>Enfants, &lt;15 ans et ≥1 an</b>	818	27,1	287	27,1	787	26,5	1892	26,9
<b>Nourrissons &lt; 12 et ≥1 mois</b>	35	1,2	48	4,5	65	2,2	148	2,1
<b>Nouveaux nés &lt; 1 mois</b>	8	0,3	7	0,7	17	0,6	32	0,5
<b>Total (Nb.)</b>	3014		1060		2968		7042	

Les infections à *Campylobacter* touchent toutes les tranches d'âge avec 29,5% de cas pédiatriques. Cette répartition est proche de celle des années précédentes. La proportion de nourrissons est plus importante au sein du réseau Campy.HOP.

Tranches d'âges :



La tranche d'âge 0-29 ans représentent 52,6% des infections à *Campylobacter sp.*

La répartition en pourcentage par tranches d'âge et au sein des trois réseaux est récapitulée dans le tableau ci-dessous.

	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-70	80-89	90-99	100-109
<b>Total (%)</b>	22,47	13,90	16,19	9,13	7,73	7,51	9,95	7,04	5,04	0,99	0,04
<b>Campy.COM</b>	21,17	14,10	16,22	9,49	8,66	7,83	10,58	7,00	4,38	0,53	0,03
<b>Campy.HOP</b>	25,85	15,66	11,60	5,28	4,25	5,38	10,38	8,87	10,94	1,70	0,09
<b>Campy-Internet</b>	22,57	13,07	17,79	10,14	8,02	7,95	9,16	6,44	3,61	1,21	0,03

La proportion de cas très âgés (supérieurs à 70 ans) est plus élevée au sein du réseau Campy.HOP, et comme évoqué ci-dessus la proportion de cas pédiatriques également.

- **Répartition en fonction du type de malade** : Les données présentées ci-dessous concernent le réseau Campy.HOP et Campy.COM (soit 4074 souches).

<b>Hospitalisation</b>	publique	n=866	23,9%
	privée	n=47	
	non précisé	n=62	
<b>Consultation</b>		n=2713	66,6%
<b>Non précisé</b>		n=386	9,5%

- **Voyage à l'étranger** : Une notion de voyage à l'étranger a été renseigné (Oui/Non) dans 2925 cas sur 7042 cas. Le pays ou la région du monde a été précisé dans 269 cas sur 307 (87,62%). Les régions concernées étaient l'Europe (95 cas, dont 30 en Espagne et 20 au Portugal), l'Afrique (76, dont 52 en Afrique du Nord), l'Asie (34), l'Inde-Indonésie (18), l'Amérique du Nord (11) Amérique du Sud (11), l'Océan Indien (11), les Antilles-Caraïbes (10), Israël (2), La Polynésie (1).

- **Contexte épidémique** :

Cas isolés	4429	62,9%
Cas groupés	170*	2,4 %
Non précisé	2443	34,7%

\*150 cas familiaux, 19 cas en collectivités, 1 inconnu.

Les infections à *Campylobacters* et bactéries apparentées sont donc principalement des cas isolés (lorsque l'information est disponible). Les cas groupés sont essentiellement familiaux. Deux des trois cas groupés à *C. jejuni* impliquant 2 personnes et dont les souches étaient disponibles au CNR (2 en collectivités et 1 cas familial) ont été confirmés par RAPD.

- **Origine supposée de la contamination** : L'origine alimentaire supposée de la contamination était précisé dans 95 cas (1,35%). On retrouve majoritairement le poulet (ou volaille) (n=27) et les produits de la mer (n=24). C'est la première année que les produits de la mer apparaissent à un niveau presque équivalent à la source habituelle et bien décrite de la contamination qu'est la viande de poulets ou apparentés. Le reste des produits incriminés ainsi que la répartition par espèce est indiqué dans le tableau ci-dessous.

	Nb.	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>Campylobacter sp</i>
<b>Poulet-Volaille-Canard</b>	27	22	4	1
<b>Produits de la mer (coquillages, poisson)</b>	24	22	2	
<b>Viande (sans nature précisée)</b>	11	8	3	
<b>Porc</b>	9	3	1	5
<b>Boeuf</b>	1	1	0	
<b>Crudités</b>	5	2	3	
<b>Oeufs</b>	3	3		
<b>Autres (restauration)</b>	9	7	1	1
<b>Produits laitiers (crème, fromage...)</b>	3	3		
<b>Laits infantiles</b>	2	1	1	
<b>Total</b>	94	72	15	7

Pour 14 des 19 cas d'infections à *C. lari* (73,7%), espèce classiquement retrouvée dans le tube digestif des oiseaux côtiers (mouettes, sternes, etc...), le code postal du laboratoire expéditeur correspond effectivement à un département côtier laissant supposer une contamination possible *via* ces fientes d'oiseaux.

### 3.2.2-Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections à *H. pylori*

-Répartition par classe d'âge et sex-ratio des 267 patients positifs à *H. pylori* (culture + PCR)

Nombre de patients ( <i>H. pylori</i> positifs)	0-9 ans	10-19 ans	20-29 ans	30-39 ans	40-49 ans	50-59 ans	60-69 ans	70-79 ans	80-89 ans	Total
<b>Hommes</b>	1	5	8	14	24	23	18	6	5	<b>104</b>
<b>Femmes</b>	0	12	13	35	34	27	31	10	1	<b>163</b>
<b>Total</b>	1	17	21	49	58	50	49	16	6	<b>267</b>
<b>sex-ratio H/F (<i>H. pylori</i> positifs)</b>	/	<b>0,42</b>	<b>0,62</b>	<b>0,4</b>	<b>0,71</b>	<b>0,85</b>	<b>0,58</b>	<b>0,6</b>	<b>5</b>	<b>0,64</b>

La moyenne d'âge des cas positifs est de 45,1 ans. La majorité des cas positifs (77,15%) a cependant entre 30 et 69 ans, majoritairement des femmes dans la quasi intégralité des tranches d'âge.

-Pour les 104 tests respiratoires reçus en 2017, le sex-ratio H/F était tous prélèvements confondus de 0,82 et la moyenne d'âge de 39,1 ans.

#### -Corrélation Culture et PCR

La culture de *H. pylori* est réalisée sur gélose *H. pylori* préparée au CNR et sur gélose commerciale Pylori (bioMérieux). La PCR est réalisée selon la technique publiée en 2003 (Oleastro *et al*, J Clin Microbiol).

La concordance entre culture et PCR est montrée ci-dessous pour 2016 et 2017.

Culture	PCR	Nombre de patients 2016	Nombre de patients 2017
+	+	220*/996 (22,1%)	235/973 (24,5%)
-	+	33/996 (3,3%)	26/973 (2,7%)
-	-	743/996 (74,6%)	712/973 (73,2%)

\*dont un *H. cinaedi*

La culture de *H. pylori* a sous-estimé 2,7% des infections par rapport à la PCR. Ce résultat est en amélioration par rapport à 2016 et témoigne d'un bon contrôle des conditions analytiques et préanalytiques. Nous avons en effet mis en place les transports internes et externes au CHU de Bordeaux en milieu de transport (Portagerm Pylori, bioMérieux) de manière systématique.

### 3.3-Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

#### 3.3.1-Surveillance de la résistance des Campylobacters et bactéries apparentées aux anti-infectieux

Tous les antibiogrammes ont été réalisés selon les recommandations du CA-SFM : milieu MH-F 5% sang de mouton, inoculum 0,5 McF, inondation, incubation à 35°C en microaérobie en jarre (génération d'atmosphère à l'aide d'un Anoxomat (Smart)). La lecture à 24h (ou 48h) a été effectuée à l'aide de l'automate SIRScan (société I2A) puis vérification visuelle des diamètres lus à la caméra. La majorité des antibiogrammes est réalisée par la méthode de diffusion en disque (société BioRad). Des déterminations de CMI par Etest peuvent être réalisées si besoin (notamment pour *C. fetus* vis à vis de la ciprofloxacine).

Un CQ est effectué à chaque changement de lot de gélose MH-F, une trace des valeurs du CQ est stockée dans la base du serveur SIRWeb. Un biologiste vérifie systématiquement les valeurs lues.

A la validation, toute discordance avec le résultat signalé par le correspondant est vérifiée et si besoin signalée sur le compte rendu final.

Les pourcentages de résistance signalées ci-dessous tiennent compte des valeurs de diamètres critiques ou concentrations critiques telles que définies dans le CA-SFM 2017. Nous indiquons les résultats obtenus pour les principales espèces identifiées en 2017 : *C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus*, *C. upsaliensis*, *C. lari* et *Campylobacter sp.* Pour les bactéries du genre *Arcobacter sp.*, nous indiquons les résultats obtenus pour les 2 espèces combinées (*A. butzleri* et *A. cryaerophilus*) (Tableaux 4-9).

Les valeurs obtenues pour les trois réseaux sont affichées ainsi que l'estimation générale de résistance pour chaque molécule testée. Dans ce calcul, seules sont considérées les valeurs des souches reçues viables au CNR ou renseignées pour les trois réseaux.

La présentation des trois réseaux simultanément permet de comparer les pourcentages de résistance entre les réseaux Campy.COM et Campy.HOP, mais aussi d'évaluer la pertinence des résultats saisis dans Campy-Internet.

La résistance à l'ampicilline reste stable pour *C. jejuni* et *C. coli* : comme par le passé la résistance est plus élevée chez *C. jejuni*. *C. fetus* reste lui très sensible. Ceci est conforme aux années précédentes, tout comme la quasi absence de résistance à l'amoxicilline-acide clavulanique.

La résistance à la ciprofloxacine dépasse 50% pour *C. jejuni* et 60% pour *C. coli*, il n'y a pas de différence entre les réseaux Campy.COM et Campy.HOP. La résistance de *C. fetus* à la ciprofloxacine est inférieure à 20%, elle a été calculée grâce à des cut-off épidémiologiques adaptés (diamètres et CMI) tels qu'indiqués dans le CA-SFM 2017. Un article démontrant la pertinence de ces cut-offs est en cours de révision.

Les pourcentages de résistance des Arcobacters sont fournis de manière informative car la distribution des diamètres d'inhibition indique que les valeurs utilisées pour interpréter les antibiogrammes des Campylobacters (mis à part la gentamicine) ne sont pas adaptées (cf Figure 3 ci-après et projet 2018).

La résistance à l'érythromycine reste à un niveau inférieur à 1% pour *C. jejuni*, *C. coli* étant comme par le passé plus résistant mais en 2017 à un niveau inférieur à 10%. Les souches de *C. coli* du réseau Campy.HOP sont plus résistantes que dans les 2 autres réseaux.

La résistance à la tétracycline reste à un niveau très élevée notamment pour *C. coli*.

La résistance à la gentamicine reste anecdotique pour *Campylobacter* mais peut être rencontrée dans les 2 espèces majoritaires en France. Un article décrivant les bases génétiques de cette résistance est en cours de révision.

#### **-Tendances évolutives sur une période de 31 ans (Figure 4)**

La résistance de *C. jejuni* à la ciprofloxacine se rapproche en 2017 de *C. coli* pour lequel la résistance semble s'être stabilisée depuis 2009.

La résistance à la tétracycline semble se stabiliser depuis 2012.

La résistance à l'ampicilline s'est stabilisée depuis 2009.

Aucune évolution notable n'est identifiable pour la résistance à l'érythromycine.

Tableau 4. Pourcentages de résistance à l'ampicilline chez *Campylobacter sp* et *Arcobacter sp*

Ampicilline								
Campy.COM	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>Campylobacter sp</i>	<i>Arcobacter sp</i>	Total
Ampicilline = Sensible	1385	284	25	5	1	5	6	1711
Ampicilline = Intermédiaire	126	8	0	0	1	0	5	140
Ampicilline = Résistant	776	109	0	4	0	0	33	922
Non renseigné	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	2287	401	25	9	2	5	44	2773
Résistance en %	<b>33,93</b>	<b>27,18</b>	<b>0,00</b>	<b>44,44</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>75,00</b>	<b>33,25</b>
Campy.HOP	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>Campylobacter sp</i>	<i>Arcobacter sp</i>	Total
Ampicilline = Sensible	439	78	51	4	1	4	11	588
Ampicilline = Intermédiaire	21	3	0	1	0	0	3	28
Ampicilline = Résistant	325	42	0	5	0	0	0	372
Non renseigné	0	0	1	0	0	0	0	1
TOTAL	785	123	52	10	1	4	14	989
Résistance en %	<b>41,40</b>	<b>34,15</b>	<b>0,00</b>	<b>50,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>37,65</b>
Campy-Internet	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>Campylobacter sp</i>	<i>Arcobacter sp</i>	Total
Ampicilline = Sensible	1351	250	13	0	4	55	12	1685
Ampicilline = Intermédiaire	112	23	0	0	1	0	2	138
Ampicilline = Résistant	937	111	4	0	0	20	13	1085
Non renseigné	55	4	0	0	0	1	0	60
TOTAL	2455	388	17	0	5	76	27	2968
Résistance en %	<b>39,04</b>	<b>28,91</b>	<b>23,53</b>		<b>0,00</b>	<b>26,67</b>	<b>48,15</b>	<b>37,31</b>
<b>% R global</b>	<b>37,24</b>	<b>28,85</b>	<b>4,21</b>	<b>47,37</b>	<b>0,00</b>	<b>23,81</b>	<b>54,12</b>	<b>35,66</b>

**Tableau 5. Pourcentages de résistance à l'amoxicilline-acide clavulanique chez *Campylobacter sp* et *Arcobacter sp***

Amoxicilline-ac clav.								
<b>Campy.COM</b>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>Campylobacter sp</i>	<i>Arcobacter sp</i>	Total
Amoxicilline-ac clav. = Sensible	2287	401	25	9	2	5	22	2751
Amoxicilline-ac clav. = Intermédiaire	0	0	0	0	0	0	13	13
Amoxicilline-ac clav. = Résistant	0	0	0	0	0	0	9	9
<b>TOTAL</b>	<b>2287</b>	<b>401</b>	<b>25</b>	<b>9</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>44</b>	<b>2773</b>
Résistance en %	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>20,45</b>	<b>0,32</b>
Campy.HOP								
<b>Campy.HOP</b>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>Campylobacter sp</i>	<i>Arcobacter sp</i>	Total
Amoxicilline-ac clav. = Sensible	785	123	51	10	1	4	7	981
Amoxicilline-ac clav. = Intermédiaire	0	0	0	0	0	0	3	3
Amoxicilline-ac clav. = Résistant	0	0	0	0	0	0	4	4
Non renseigné	0	0	1	0	0	0	0	1
<b>TOTAL</b>	<b>785</b>	<b>123</b>	<b>52</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>14</b>	<b>989</b>
Résistance en %	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>28,57</b>	<b>0,40</b>
Campy-Internet								
<b>Campy-Internet</b>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>Campylobacter sp</i>	<i>Arcobacter sp</i>	Total
Amoxicilline-ac clav. = Sensible	2378	369	17	0	5	74	14	2857
Amoxicilline-ac clav. = Intermédiaire	6	7	0	0	0	0	2	15
Amoxicilline-ac clav. = Résistant	14	6	0	0	0	0	11	31
Non renseigné	57	6	0	0	0	2	0	65
<b>TOTAL</b>	<b>2455</b>	<b>388</b>	<b>17</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>76</b>	<b>27</b>	<b>2968</b>
Résistance en %	<b>0,58</b>	<b>1,57</b>	<b>0,00</b>		<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>40,74</b>	<b>1,07</b>
<b>% R global</b>	<b>0,26</b>	<b>0,66</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>28,24</b>	<b>0,66</b>

**Tableau 6. Pourcentages de résistance à la ciprofloxacine chez *Campylobacter sp* et *Arcobacter sp***

Ciprofloxacine								
<b>Campy.COM</b>	<b><i>C. jejuni</i></b>	<b><i>C. coli</i></b>	<b><i>C. fetus</i></b>	<b><i>C. lari</i></b>	<b><i>C. upsaliensis</i></b>	<b><i>Campylobacter sp</i></b>	<b><i>Arcobacter sp</i></b>	<b>Total</b>
Ciprofloxacine = Sensible	972	142	20	6	2	3	29	1174
Ciprofloxacine = Résistant	1315	259	5	3	0	2	15	1599
<b>TOTAL</b>	<b>2287</b>	<b>401</b>	<b>25</b>	<b>9</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>44</b>	<b>2773</b>
Résistance en %	<b>57,50</b>	<b>64,59</b>	<b>20,00</b>	<b>33,33</b>	<b>0,00</b>	<b>40,00</b>	<b>34,09</b>	<b>57,66</b>
<b>Campy.HOP</b>	<b><i>C. jejuni</i></b>	<b><i>C. coli</i></b>	<b><i>C. fetus</i></b>	<b><i>C. lari</i></b>	<b><i>C. upsaliensis</i></b>	<b><i>Campylobacter sp</i></b>	<b><i>Arcobacter sp</i></b>	<b>Total</b>
Ciprofloxacine = Sensible	365	46	45	4	1	2	10	473
Ciprofloxacine = Résistant	420	77	6	6	0	2	4	515
Non renseigné	0	0	1	0	0	0	0	1
<b>TOTAL</b>	<b>785</b>	<b>123</b>	<b>52</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>14</b>	<b>989</b>
Résistance en %	<b>53,50</b>	<b>62,60</b>	<b>11,76</b>		<b>0,00</b>	<b>50,00</b>	<b>28,57</b>	<b>52,13</b>
<b>Campy-Internet</b>	<b><i>C. jejuni</i></b>	<b><i>C. coli</i></b>	<b><i>C. fetus</i></b>	<b><i>C. lari</i></b>	<b><i>C. upsaliensis</i></b>	<b><i>Campylobacter sp</i></b>	<b><i>Arcobacter sp</i></b>	<b>Total</b>
Ciprofloxacine = Sensible	960	143	11	0	2	35	20	1171
Ciprofloxacine = Résistant	1442	241	4	0	3	39	7	1736
Non renseigné	53	4	2	0	0	2	0	61
<b>TOTAL</b>	<b>2455</b>	<b>388</b>	<b>17</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>76</b>	<b>27</b>	<b>2968</b>
Résistance en %	<b>60,03</b>	<b>62,76</b>	<b>26,67</b>		<b>60,00</b>	<b>52,70</b>	<b>25,93</b>	<b>59,72</b>
<b>% R global</b>	<b>58,04</b>	<b>63,55</b>	<b>16,48</b>	<b>47,37</b>	<b>37,50</b>	<b>51,81</b>	<b>30,59</b>	<b>57,74</b>

Tableau 7. Pourcentages de résistance à l'érythromycine chez *Campylobacter sp* et *Arcobacter sp*

Erythromycine								
Campy.COM	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>Campylobacter sp</i>	<i>Arcobacter sp</i>	Total
Erythromycine = Sensible	2284	365	25	9	2	5	19	2709
Erythromycine = Résistant	3	36	0	0	0	0	23	62
Inconnu	0	0	0	0	0	0	2	2
<b>TOTAL</b>	<b>2287</b>	<b>401</b>	<b>25</b>	<b>9</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>44</b>	<b>2773</b>
Résistance en %	<b>0,13</b>	<b>8,98</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>54,76</b>	<b>2,24</b>
Campy.HOP								
<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>Campylobacter sp</i>	<i>Arcobacter sp</i>	Total	
Erythromycine = Sensible	782	107	51	10	1	4	8	963
Erythromycine = Résistant	3	16	0	0	0	0	4	23
Non renseigné	0	0	1	0	0	0	2	3
<b>TOTAL</b>	<b>785</b>	<b>123</b>	<b>52</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>14</b>	<b>989</b>
Résistance en %	<b>0,38</b>	<b>13,01</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>33,33</b>	<b>2,33</b>
Campy-Internet								
<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>Campylobacter sp</i>	<i>Arcobacter sp</i>	Total	
Erythromycine = Sensible	2372	361	16	0	2	75	8	2834
Erythromycine = Résistant	27	22	0	0	3	0	19	71
Non renseigné	56	5	1	0	0	1	0	63
<b>TOTAL</b>	<b>2455</b>	<b>388</b>	<b>17</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>76</b>	<b>27</b>	<b>2968</b>
Résistance en %	<b>1,13</b>	<b>5,74</b>	<b>0,00</b>		<b>60,00</b>	<b>0,00</b>	<b>70,37</b>	<b>2,44</b>
<b>% R global</b>	<b>0,60</b>	<b>8,16</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>37,50</b>	<b>0,00</b>	<b>56,79</b>	<b>2,34</b>

**Tableau 8. Pourcentages de résistance à la tétracycline chez *Campylobacter sp* et *Arcobacter sp***

Tétracycline								
<b>Campy.COM</b>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>Campylobacter sp</i>	<i>Arcobacter sp</i>	Total
Tétracycline = Sensible	1215	86	21	9	2	5	2	1340
Tétracycline = Résistant	1072	315	4	0	0	0	41	1432
Inconnu	0	0	0	0	0		1	1
TOTAL	2287	401	25	9	2	5	44	<b>2773</b>
Résistance en %	<b>46,87</b>	<b>78,55</b>	<b>16,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>95,35</b>	<b>51,66</b>
<b>Campy.HOP</b>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>Campylobacter sp</i>	<i>Arcobacter sp</i>	Total
Tétracycline = Sensible	433	22	43	8	1	3	3	513
Tétracycline = Résistant	351	101	8	2	0	1	9	472
Non renseigné	1	0	1	0	0	0	2	4
TOTAL	785	123	52	10	1	4	14	<b>989</b>
Résistance en %	<b>44,8</b>	<b>82,1</b>	<b>15,7</b>	<b>20,0</b>	<b>0,0</b>	<b>25,0</b>	<b>75,0</b>	<b>47,9</b>
<b>Campy-Internet</b>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>Campylobacter sp</i>	<i>Arcobacter sp</i>	Total
Tétracycline = Sensible	1156	91	15	0	4	41	19	1326
Tétracycline = Résistant	1208	290	2	0	1	33	8	1542
Non renseigné	91	7	0	0	0	2	0	100
TOTAL	2455	388	17	0	5	76	27	<b>2968</b>
Résistance en %	<b>51,1</b>	<b>76,1</b>	<b>11,8</b>		<b>20,0</b>	<b>44,6</b>	<b>29,6</b>	<b>53,8</b>
<b>% R global</b>	<b>48,41</b>	<b>78,01</b>	<b>15,05</b>	<b>10,53</b>	<b>12,50</b>	<b>40,96</b>	<b>70,73</b>	<b>52,02</b>

**Tableau 9. Pourcentages de résistance à la gentamicine chez *Campylobacter sp* et *Arcobacter sp***

<b>Gentamicine</b>								
<b>Campy.COM</b>	<b><i>C. jejuni</i></b>	<b><i>C. coli</i></b>	<b><i>C. fetus</i></b>	<b><i>C. lari</i></b>	<b><i>C. upsaliensis</i></b>	<b><i>Campylobacter sp</i></b>	<b><i>Arcobacter sp</i></b>	<b>Total</b>
Gentamicine = Sensible	2286	399	25	9	2	5	44	2770
Gentamicine = Résistant	1	2	0	0	0	0	0	3
Non renseigné	0	0	0	0	0	0	0	1
<b>TOTAL</b>	<b>2287</b>	<b>401</b>	<b>25</b>	<b>9</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>44</b>	<b>2773</b>
Résistance en %	<b>0,04</b>	<b>0,50</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,11</b>
<b>Campy.HOP</b>								
<b><i>C. jejuni</i></b>	<b><i>C. coli</i></b>	<b><i>C. fetus</i></b>	<b><i>C. lari</i></b>	<b><i>C. upsaliensis</i></b>	<b><i>Campylobacter sp</i></b>	<b><i>Arcobacter sp</i></b>	<b>Total</b>	
Gentamicine = Sensible	784	120	51	10	1	4	14	984
Gentamicine = Résistant	1	3	0	0	0	0	0	4
Non renseigné	0	0	1	0	0	0	0	1
<b>TOTAL</b>	<b>785</b>	<b>123</b>	<b>52</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>14</b>	<b>989</b>
Résistance en %	<b>0,13</b>	<b>2,44</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,40</b>
<b>Campy-Internet</b>								
<b><i>C. jejuni</i></b>	<b><i>C. coli</i></b>	<b><i>C. fetus</i></b>	<b><i>C. lari</i></b>	<b><i>C. upsaliensis</i></b>	<b><i>Campylobacter sp</i></b>	<b><i>Arcobacter sp</i></b>	<b>Total</b>	
Gentamicine = Sensible	1971	325	17	0	5	74	26	2418
Gentamicine = Résistant	18	4	0	0	0	1	1	24
Non renseigné	466	59	0	0	0	1	0	526
<b>TOTAL</b>	<b>2455</b>	<b>388</b>	<b>17</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>76</b>	<b>27</b>	<b>2968</b>
Résistance en %	<b>0,90</b>	<b>1,22</b>	<b>0,00</b>		<b>0,00</b>	<b>1,33</b>	<b>3,70</b>	<b>0,98</b>
<b>% R global</b>	<b>0,40</b>	<b>1,06</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>1,19</b>	<b>1,18</b>	<b>0,50</b>

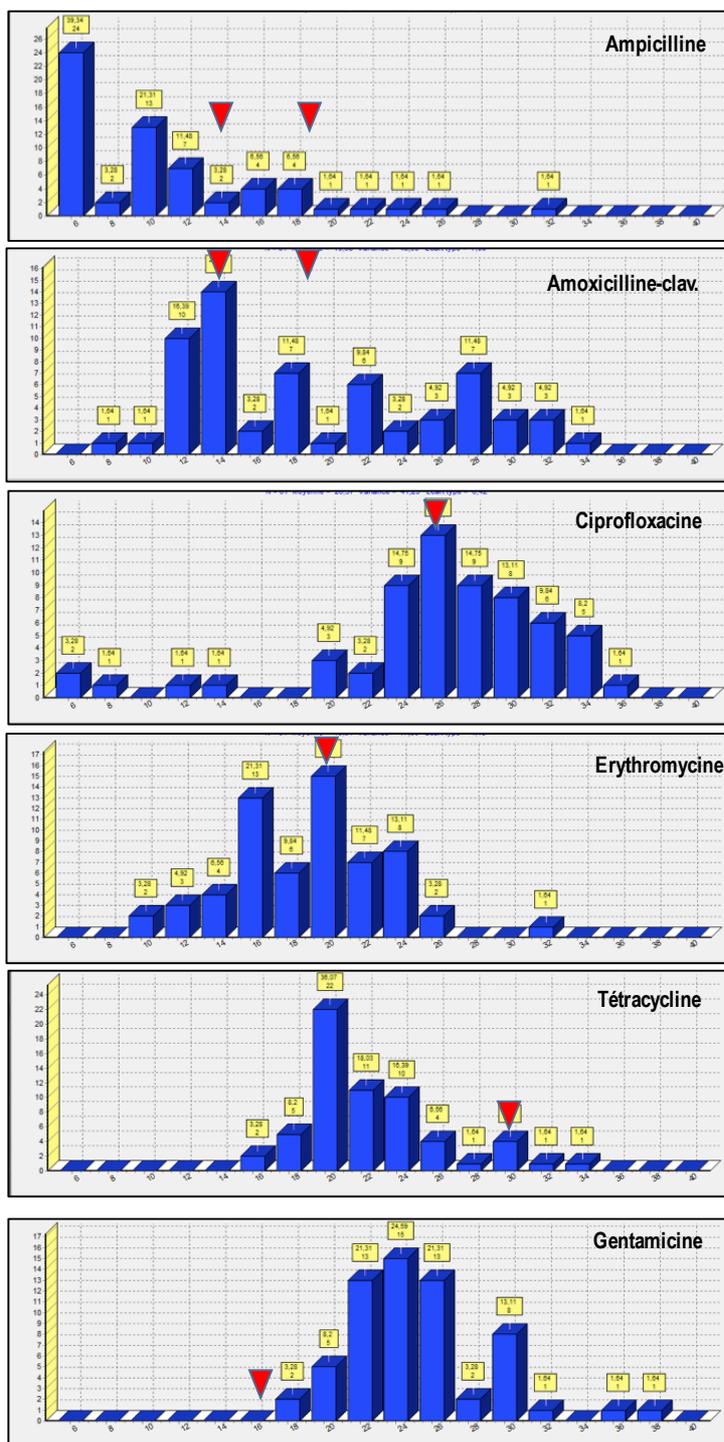


Figure 3. Distribution des diamètres d'inhibition obtenus par diffusion par la méthode des disques pour les souches de *Arcobacter sp* reçues en 2017 pour les différents antibiotiques testés.

La hauteur des histogrammes est proportionnelle au nombre de souches pour chaque diamètre lu. La flèche rouge indique le cut-off épidémiologique d'interprétation des antibiogrammes selon le CA-SFM 2017 (valeurs utilisées pour *C. jejuni* et *C. coli*).

Données issues de la base du SIRWeb.

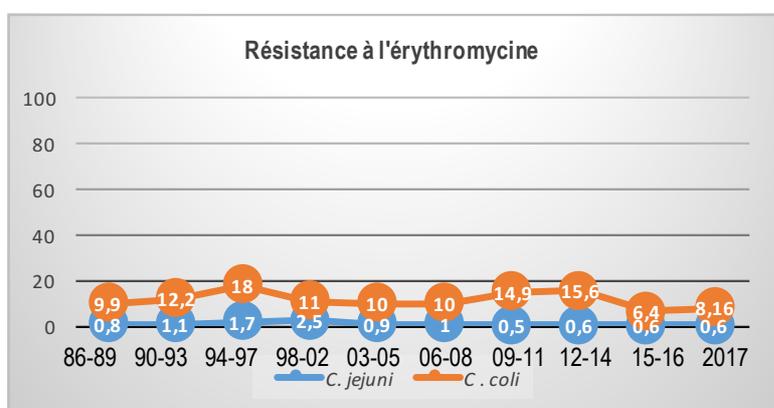
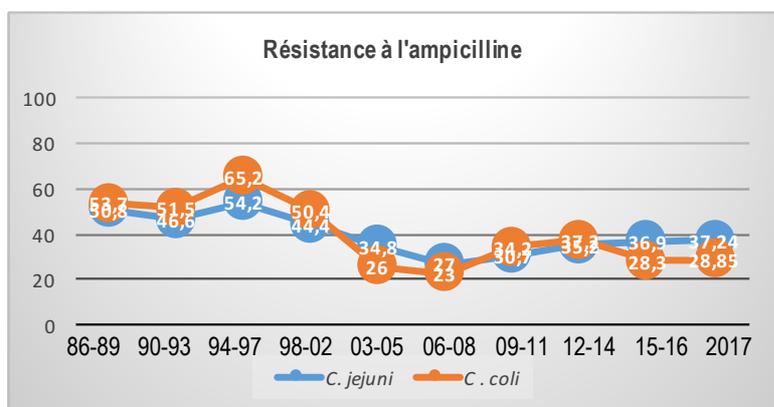
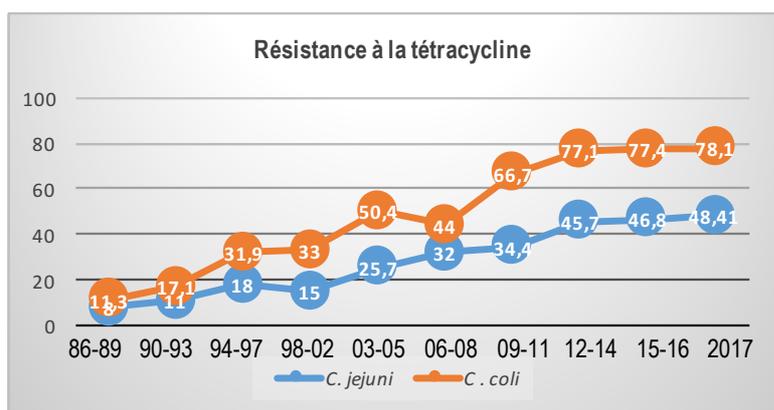
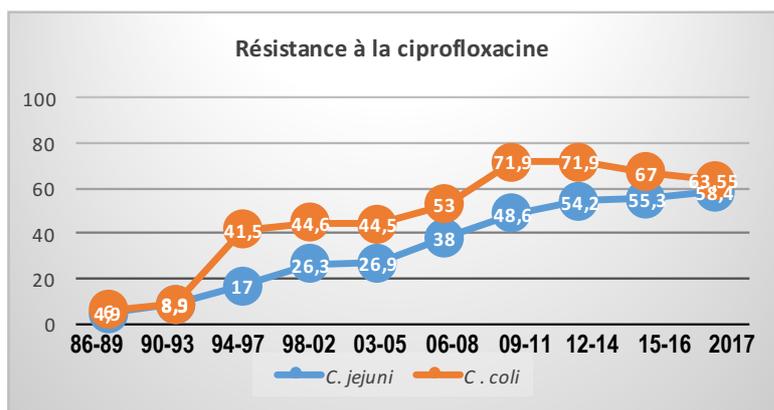


Figure 4 : Evolution de la résistance en France aux antibiotiques chez *C. jejuni* et *C. coli* sur une période de 31 ans.

Les résultats sont exprimés en pourcentage.

### 3.3.2-Surveillance de la résistance de *H. pylori* aux anti-infectieux

Tous les antibiogrammes ont été réalisés selon les recommandations du CA-SFM : milieu MH-10% sang de mouton (préparé au CNR), inoculum 3 McF, inondation, incubation à 35°C en microaérobie dans une enceinte (Ruskin concept+). La lecture à 48h (ou 72h) est effectuée à l'œil nu par un technicien, puis contrôlée par un biologiste. Les antibiogrammes sont réalisés par la méthode du Etest.

Un CQ est effectué à chaque changement de lot de gélose MH-10%, une trace des valeurs du CQ est stockée dans la base du serveur SIRWeb. Un biologiste vérifie systématiquement les valeurs lues.

La résistance globale de *H. pylori* estimée à partir des antibiogrammes est récapitulée dans le tableau ci-dessous.

Molécule	2016 (Nb. et %R)	2017 (Nb. et %R)
<b>Amoxicilline</b>	0/209	5/235 (2,1%)
<b>Clarithromycine</b>	64/209 (30,6%)	96/235 (40,9%)
<b>Lévofloxacine</b>	41/209 (19,6%)	45/235 (19,1%)
<b>Métronidazole</b>	111/209 (53,1%)	159/235 (67,7%)
<b>Rifampicine</b>	4/209 (1,9%)	1/235 (0,4%)
<b>Tétracycline</b>	0/209	0/235

Conformément aux années passées, la résistance à l'amoxicilline, rifampicine et tétracycline est rare ou absente chez *H. pylori*.

La résistance à la clarithromycine conditionne soit l'utilisation de cette molécule dans la stratégie thérapeutique soit les chances de succès thérapeutiques en cas de traitement empirique. Le tableau ci-dessous compare les résultats obtenus par Etest et ceux obtenus par PCR de détection des mutations associées à la résistance aux macrolides et ce pour les 235 cultures positives.

Phénotype clarithromycine	Génotype clarithromycine	Nombre de patients Nb. (%)
<b>Sensible</b>	WT	135/235 (57,4%)
	A2142-3G + WT	4/235 (1,7%)
<b>Résistant</b>	WT	1/235 (0,4%)
	A2142-3G	77/235 (32,8%)
	A2142C	3/235 (1,3%)
	A2142-3G + WT	15/235 (6,4%)

Les discordances sont donc rares entre phénotype et génotype : 0,4% uniquement de discordance majeure due à un cas interprété Résistant *in vitro* mais de génotype WT par PCR. La CMI lue était de 1mg/L soit une dilution au-dessous du cut-off épidémiologique utilisé (0,5 mg/L).

Pour 4 cas, seule la population sensible a été retrouvée par culture alors que la PCR a détecté la présence d'une double population A2142-3G + WT. Ceci pourrait être interprété comme une discordance mineure (1,7%).

Dans 15 cas, c'est la population résistante qui a été vue par culture alors que la PCR détectait une double population A2142-3G + WT. Ces résultats démontrent l'intérêt en routine de coupler culture (et antibiogramme) et PCR.

La résistance à la clarithromycine déterminée par PCR s'établit comme ceci.

Génotype	Nombre de patients (par génotype) et %
WT	158/267 (59,2%)
A2142-3G	87/267 (32,6%)
A2142C	3/267 (1,1%)
A2142-3G + WT	19/267 (7,1%)
<b>Total Résistants Clarithromycine par PCR</b>	<b>109/267 (40,8%)</b>

Comme par le passé, la mutation A2142/43G est la plus fréquente.

Parmi les biopsies positives (soit par PCR uniquement, soit par culture et PCR), 59 concernaient des patients du CHU de Bordeaux pour lesquels nous disposons des données d'endoscopie, d'histologie et des comptes rendus médicaux (53 gastrites, 3 ulcères, 1 lymphome gastrique de type MALT, 1 bilan pré-chirurgie bariatrique, 1 sans renseignement) signalant tout traitement d'éradication antérieur.

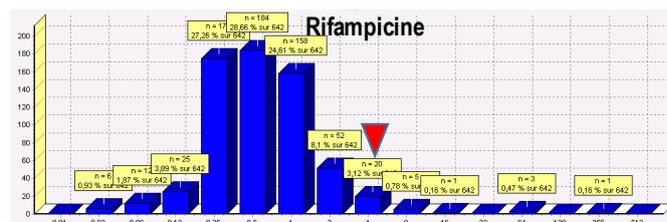
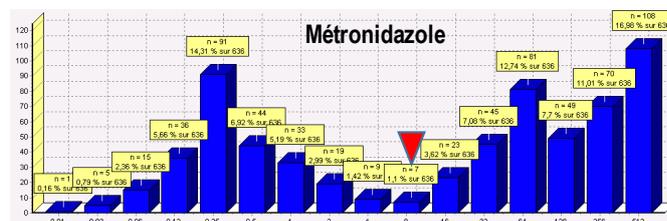
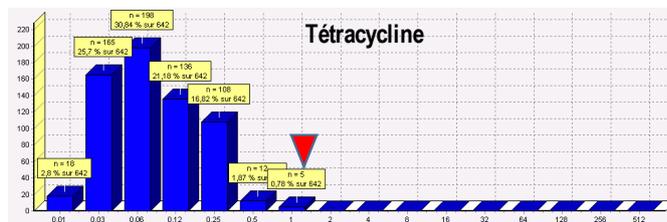
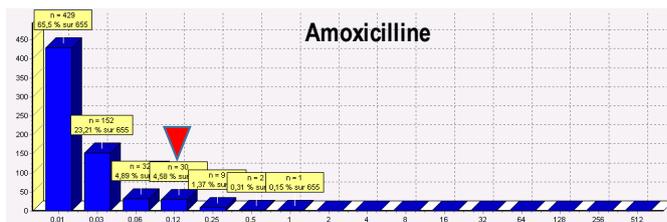
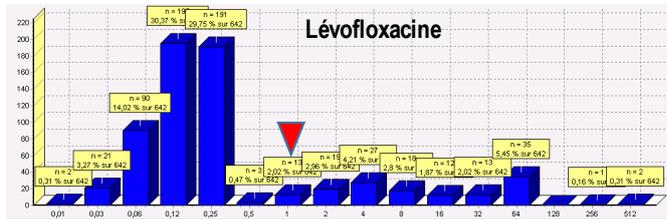
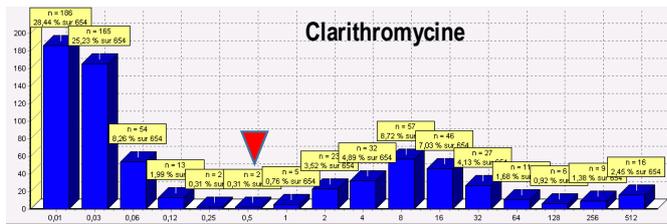
Nous pouvons donc estimer pour 2017, pour ces 59 patients, la part de la résistance primaire aux antibiotiques.

Molécule	Total (n=59)	Résistance primaire (n=34)	Résistance secondaire (n=25)
<b>Macrolides</b>	20 (33,9%)	6 (17,65%)	14 (56%)
<b>Fluoroquinolones</b>	14 (23,73%)	7 (20,59%)	7 (28%)
<b>Amoxicilline</b>	1 (1,69%)	0 (0%)	1 (4%)
<b>Tétracycline</b>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Métronidazole</b>	41 (69,49%)	20 (58,82%)	21 (84%)

La résistance aux macrolides est logiquement plus élevée après échec de traitement d'éradication. La résistance primaire semble diminuer de manière significative en passant nettement sous la barre des 20%. La résistance primaire aux fluoroquinolones reste stable. Nous confirmons l'absence de résistance à la tétracycline malgré la commercialisation du Pylera (sous citrate de bismuth, tétracycline-métronidazole).

Certains biologistes Français ou Européens décrivent des taux de résistance aux antibiotiques plus élevés notamment à l'amoxicilline. Ces discordances peuvent être dues aux géloses utilisées pour réaliser les antibiogrammes.

Les données présentées ci-après montrent la répartition des CMI pour 655 souches de *H. pylori* et intègrent celles de 2017 (Figure 5). Les cut-off épidémiologiques utilisés pour interpréter les antibiogrammes de *H. pylori* semblent adaptés.



**Figure 5. Distribution des CMI obtenues par la méthode du Etest sur une série de 655 souches de *H. pylori*.** La hauteur des histogrammes est proportionnelle au nombre de souches pour chaque CMI lue. La flèche rouge indique le cut-off épidémiologique d'interprétation des antibiogrammes selon le CA-SFM 2017. Données issues de la base du SIRWeb.

### 3.4.-Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Nous avons transmis, à la demande à Santé Publique France, nos bilans 2016 des réseaux Campy.HOP, Campy.COM et Campy-Internet.

Les résultats de la surveillance ont été transmis par l'intermédiaire de l'ANSP au réseau Européen Enter-net après chaque trimestre.

### 3.5.-Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

-Il n'y a pas eu en 2017 d'enquête ou d'étude ponctuelle concourant à la surveillance de la résistance des Campylobacters ou de *H. pylori* aux antibiotiques. Le protocole national de surveillance de la résistance chez *H. pylori* reprendra pour la troisième et dernière année en mars 2018. Courant 2018 également, un protocole européen se mettra en place pour *H. pylori* (cf projet 2018).

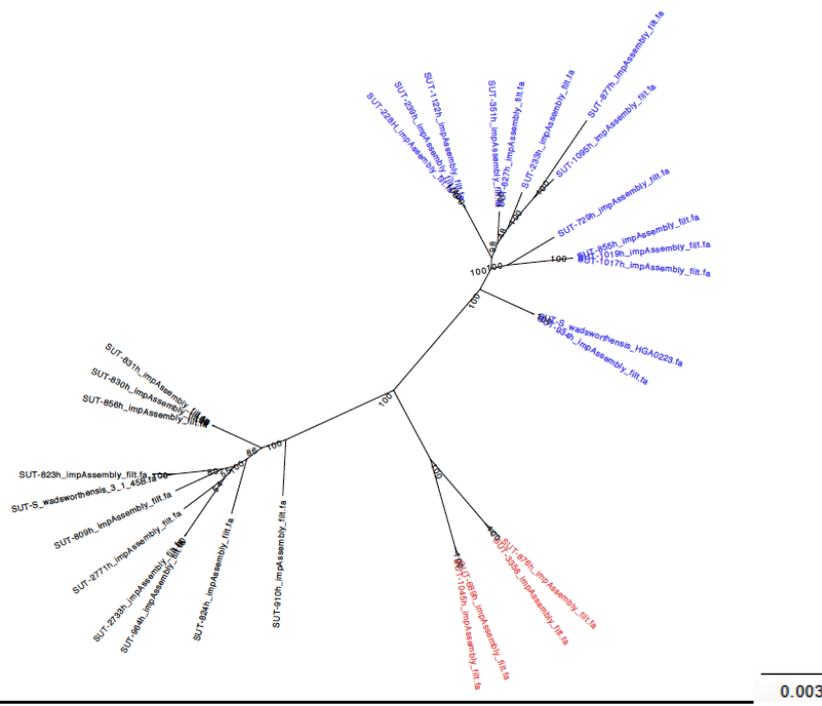
-Nous avons collaboré avec le Centre National de Référence des bactéries entériques (Dr Monica Oleastro) du Portugal et le CNR des Campylobacter anglais (Dr Gauri Godbole) à la caractérisation des mécanismes de résistance des Campylobacters aux carbapénèmes (données du CNR). Cette résistance, sur la base des résultats de sensibilité à l'ertapénème, concerne moins de 3% des Campylobacters. Nous avons élucidé les mécanismes de résistance qui sont liés à une imperméabilité due à une insertion dans la porine majeure PorA et des mutations dans le système d'efflux cmeABC et son répresseur cmeR. Ce travail a été présenté sous forme d'un poster à l'ECCMID 2018 (Madrid). Un article scientifique est en cours d'écriture.

-Nous avons finalisé en 2017 en collaboration avec le Centre National de Référence des bactéries entériques du Portugal, la caractérisation des mécanismes de résistance à la gentamicine chez *C. jejuni* et *C. coli*. Un article est en cours de révision dans J Clin Microbiol.

-Nous avons établi une collaboration avec l'institut Pasteur en Uruguay, Montevideo (Dr Gabriel Iraola Bentacor) sur :

-la diversité génétique de *C. fetus* : ceci a été publié dans Nature Communication en 2017. Nous démontrons que *C. fetus* est apparu tout d'abord chez l'homme avant de passer chez l'animal notamment les bovins lors de la domestication de celui-ci par l'homme. Les données de métagénomique indiquent également qu'environ 3% de la population humaine peut porter de manière asymptomatique *C. fetus* au niveau du tube digestif.

-le pouvoir pathogène potentiel d'une bactérie fréquemment retrouvée sur les géloses sélectives Campylobacter après ensemencement de selles a été étudié : cette bactérie est *Sutterella wadsworthensis*. Trente souches isolées de coprocultures de patients du CHU de Bordeaux ont été envoyées pour séquençage. L'analyse phylogénétique du core génome présentée dans l'arbre ci-dessous (Figure 6) montre la présence de 3 « clusters » majoritaires. L'étude du contenu génétique n'a identifié aucun gène de virulence (PATRIC VF Database) ou gène de résistance aux antibiotiques d'intérêt (ResFinder). Des cocultures réalisées entre 11 souches de *S. wadsworthensis* représentatives de chacun des 3 clusters identifiés, sur une lignée épithéliale intestinale humaine (lignée HT-29) n'a pas permis d'identifier de pouvoir proinflammatoire pour cette bactérie. Les données de métagénomique indiquent également que la population humaine peut porter de manière asymptomatique (et ce pour les 3 clusters) cette bactérie au niveau du tube digestif. Ces résultats suggèrent donc que *S. wadsworthensis* n'est peut-être pas un pathogène entérique. Son isolement en routine serait la conséquence :1) de l'intégration de cette bactérie dans les bases de données des spectromètres de masse MALDI-TOF (en janvier 2016 pour Bruker Daltonics) et 2) de l'utilisation en France de géloses sélectives (notamment la gélose Campyloset, bioMérieux) pour recherche de *Campylobacter* sur lesquelles *S. wadsworthensis* pousse.



**Figure 6 : Arbre phylogénétique basé sur le core-génome de 30 souches de *Sutterella wadsworthensis*. Trois « clusters » majoritaires sont identifiables sur cet arbre (bleu, rouge, noir).**

**-Collaboration Laboratoire Santé, Environnement et Microbiologie(LSEM) -Brest/ Institute of Science and Technology (LIST)- Luxembourg**

Le CNRCH a transmis à IFREMER au cours de l'année 2017 :

- 77 souches de *Campylobacter* du groupe *Campylobacter lari* d'origine humaine (souches cliniques)
- 49 souches de *Campylobacter coli* d'origine humaine (souches cliniques)

A Ifremer, les ADN des souches de *Campylobacter lari* ont été extraits et le génome complet de ces souches a été séquencé par Illumina au LIST (Luxembourg).

A partir de ces données, 35 souches humaines ont été intégrées dans la base pubMLST avec description de nouveaux ST.

L'analyse des données de séquençage des 77 souches cliniques du groupe *Campylobacter lari* est en cours. Elle a permis pour l'instant de mettre en évidence de nouveaux ST, une variété d'espèces et de sous-espèces au sein du groupe de *Campylobacter lari* et de montrer que certaines souches étaient proches de souches isolées de l'environnement (coquillages et eaux) ou de fientes d'oiseaux de bord de mer. Les efforts ont porté principalement sur la description d'une probable nouvelle espèce du groupe *Campylobacter lari* : 3 isolats sont des souches cliniques et 6 des souches isolées d'une rivière en Bretagne.

**4-Alerte**

Comme indiqué précédemment, les cas groupés sont rares pour les infections à Campylobacters. Nous réalisons mensuellement un relevé de ces cas qui sont transmis par courriel à notre correspondant à Santé Publique France.

Notre système de saisie Campy-Internet, et les requêtes réalisées sur le système informatique du laboratoire, nous permettent à la demande de vérifier tout phénomène inhabituel qui serait transmis immédiatement à Santé Publique France. Ces tâches sont depuis janvier 2018 dévolues au secrétariat du CNR.

Aucun événement majeur n'a été noté en 2017.

## 5-Activités de rétro-information, de formation et de conseil

### 5.1.-Conseil et expertise aux professionnels de santé

#### -Liste des enseignements, des formations aux professionnels de santé

	P Lehours	F Mégraud	E Bessède
Formation de l'Association des Biologistes d'Aquitaine sur les infections à <i>Campylobacter</i> et <i>Helicobacter</i> , 9/11/17	Organisation-Intervenant	Intervenant	Intervenant
EPU sur le diagnostic et le traitement des infections à <i>H. pylori</i> organisée par le laboratoire Novabio (Périgueux) (public : biologistes privés, hospitaliers, cliniciens), 05/10/17	Intervenant	Intervenant	-

#### -Accueil de stagiaires pour le transfert de techniques :

-Ouahiba Boussata, stagiaire algérienne, vétérinaire Master 2 (février-juin 2017). Etude de la flore gastrique des chiens et chats.

-Ioanna Colosi, Assistante de microbiologie à Cluj, Roumanie (27 novembre-8 décembre 2017). Formation au diagnostic de l'infection à *H. pylori*.

-Léa Drillon, stagiaire de BTS Analyses de Biologie Médicale 1<sup>ère</sup> année (mai-juin 2017). Détermination des cut-offs épidémiologiques permettant l'interprétation des antibiogrammes de *Arcobacter butzleri*.

#### -Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion) :

-Interview et Couverture du journal « Doctor Ru gastroenterology » (en Russe), N° 10, p 4-5 (F Mégraud)

#### -Modalités et cibles de la diffusion des données de surveillance et des productions du CNR :

La diffusion des activités du CNR se fait non seulement par notre participation active aux congrès de microbiologie (spécialisés ou généralistes) et de gastroentérologie mais également via notre site internet ([www.cnrh.fr](http://www.cnrh.fr)). Le rapport annuel du CNR est disponible. Les modifications de la feuille de demande sont annoncées, la feuille est téléchargeable. Un extrait des recommandations du CA-SFM est accessible. La liste des publications les plus récentes est affichée également.

#### -Rétro-information aux partenaires

Chaque partenaire nous ayant informé ou sollicité pour une problématique apportant une lumière nouvelle sur le traitement ou le diagnostic des infections liées à notre CNR sont remerciés ou bien associés aux communications et publications (congrès ou articles).

Une journée des « correspondants » du CNR va être organisée en septembre 2018 (cf projet 2018).

#### -Information/formation des professionnels de santé :

Comme précédemment évoqué notre site internet([www.cnrh.fr](http://www.cnrh.fr)) est mis à jour le plus régulièrement possible.

Une annexe décrivant les modalités d'accès et de fréquentation de notre site est intégrée en annexe de ce rapport.

#### -Activités de conseil aux professionnels de santé :

Des appels téléphoniques ainsi que des courriels nous arrivent régulièrement, principalement pour des conseils thérapeutiques en cas d'infection systémique et de situations particulières. Une réponse est systématiquement donnée.

Ces emails sont adressés soit directement aux biologistes du CNR soit via le système messagerie intégrée au site internet. Dans ce dernier cas, les biologistes du CNR (P Lehours, F Mégraud, E Bessède) ainsi que le secrétariat du CNR sont tous destinataires. P Lehours répond en priorité et en cas d'absence les directeurs adjoints répondent. Nous répondons à nos messages en général en moins de 24h ouvrées. Si une problématique nécessite discussions ou consensus entre les biologistes, elle peut être abordée en petit comité ou bien lors de la réunion du CNR. Depuis janvier 2018, le secrétariat du CNR centralise toutes les réponses et s'assure que toutes les questions ont été résolues. Les appels téléphoniques sont transmis en jour ouvrés immédiatement à un des biologistes du CNR, en cas d'absence l'appel est noté dans un classeur spécifique et un mail est envoyé par notre personnel aux biologistes pour les prévenir. Un planning de présence des biologistes est affiché et actualisé mensuellement au niveau du secrétariat du CNR.

## 5.2.-Conseil et expertise aux autorités sanitaires

- Sollicitation par le CA-SFM pour proposer des valeurs d'interprétation en diamètres et/ou CMI pour l'interprétation des bactéries du genre *Campylobacter* (et apparentées) et *H. pylori*.
- Transmission à l'ECDC via Santé Publique France des résistances aux antibiotiques chez les *Campylobacters*.

## 5.2.-Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)

Aucun élément à répertorier.

## 6-Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR

### 6.1.-Activités de recherche en cours lors de l'année 2017, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

La principale activité de recherche nouvelle non évoquée dans le rapport 2016, non évoquée dans les évaluations de réactifs, et non publiée concerne la mise en place des séquençages de génomes bactériens.

Nous n'avons pas pu faute de visibilité rapide sur les budgets 2017, puis sur la disponibilité des candidats initialement contactés, recruter d'ingénieur en bioinformatique courant 2017. Ceci est chose faite depuis janvier 2018. Nous avons choisi d'envoyer à séquencer en 2017, 246 génomes afin de pouvoir les analyser dès début 2018. Les objectifs ont été rappelés au paragraphe 2.6.

Les principaux résultats sont les suivants :

**Bilan pour les souches de *C. jejuni* :** Sur les 213 souches de *Campylobacter jejuni*, 33 étaient isolées de selles, et 180 de sang. Après filtration des séquences, 204 ont été conservées pour analyse. Un typage MLST a confirmé que les souches séquencées appartenaient bien au genre *Campylobacter*.

La taille des génomes séquencés varie de 1,54 millions de paires de base (Mpb) à 1,83 Mpb, avec une moyenne de 1,67 Mpb. Ces valeurs concordent avec les données publiées sur les 1214 souches de *Campylobacter jejuni* disponibles dans Genbank, présentant une moyenne de 1.71 Mpb. Le nombre de contigs moyen pour les 204 souches est de 20,65, ce qui est très bon, la moyenne pour les 1078 souches publiées dont la séquence n'est pas fermée étant de 84,33.

Un arbre phylogénétique a été réalisé à partir d'un alignement MLST des 204 souches de *C. jejuni* de ce projet. L'alignement a été réalisé sur la plate-forme BIGSdb à partir des données de MLST taguées intérieurement. L'arbre a été créé et annoté en utilisant Grapetree, par l'algorithme Minimal Spanning Tree. Deux annotations différentes sont réalisées, en fonction du complexe clonal (Figure 7) ou de la source d'isolement (Figure 8).

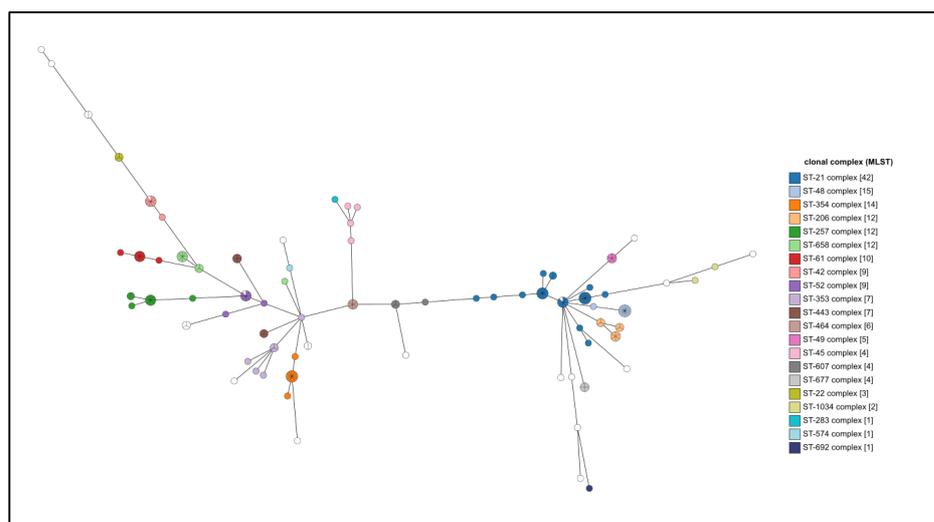
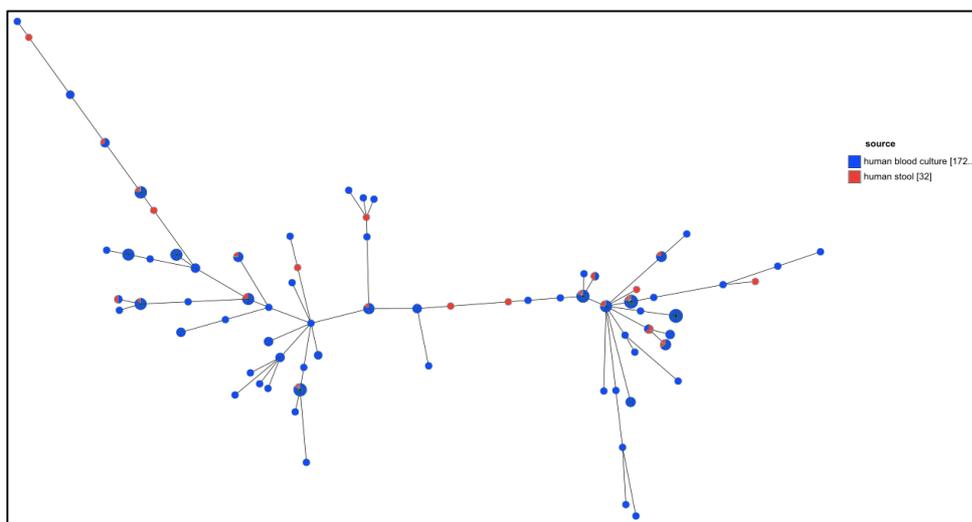


Figure 7 : Arbre phylogénétique des 204 souches de *Campylobacter jejuni* séquencées par le CNR. Les nœuds sont colorés en fonction du complexe clonal défini par le typage MLST.



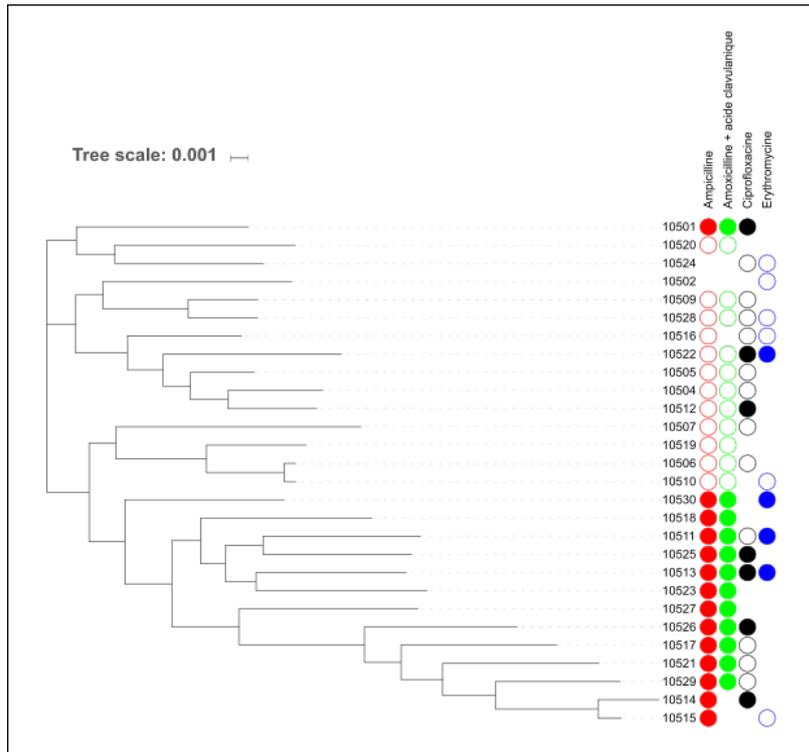
**Figure 8 : Arbre phylogénétique des 204 souches de *Campylobacter jejuni* séquencées par le CNR.** Les nœuds sont colorés en fonction de l'origine des souches isolées à partir d'échantillon de sang (bleu) ou de selles (rouge).

L'analyse superficielle de ces deux arbres met en évidence 4 complexes clonaux semblant être composés uniquement de souches provenant d'échantillons de sang (CC48, CC658, CC61 et CC353). Cependant, il faut prendre en compte le fait que le nombre de souches provenant de selles est très largement inférieur au nombre de souches provenant de sang dans ce jeu de données. Il est prévu de les compléter par des souches précédemment séquencées isolées de selles afin d'obtenir un jeu de données équilibré.

**Bilan pour les souches de *A. butzleri* :** Sur les 30 souches d'*Arcobacter butzleri* envoyées à séquencer, 28 ont été conservées pour analyse. Un typage MLST a confirmé leur appartenance au genre *Arcobacter*. Les souches présentent des profils de résistance différents.

La taille des génomes séquencés varie de 2,08 Mpb à 2,48 Mpb, avec une moyenne de 2,28 Mpb. Ces valeurs concordent avec les données publiées sur les 13 souches d'*Arcobacter butzleri* disponibles dans Genbank, présentant également une moyenne de 2,28 Mpb. Le nombre de contigs moyen pour les 28 souches est de 41,9, ce qui est très bon, la moyenne pour les 9 souches publiées dont la séquence n'est pas fermée étant de 82,8.

Un arbre phylogénétique (Figure 9) a été réalisé à partir d'un alignement du génome core des 28 souches d'*Arcobacter butzleri* de ce projet. L'alignement a été réalisé sur la plate-forme BIGSdb, par l'algorithme nBLAST. L'arbre a été créé en utilisant FastTree, par l'algorithme Jukes-Cantor, et annoté en utilisant iTOL (<https://itol.embl.de/>).



**Figure 9 : Arbre phylogénétique des 28 souches d'*Arcobacter butzleri* séquencées par le CNR.** Les données de résistance aux antibiotiques associées à chaque souche sont représentées par des cercles : plein si la souche est résistante, vide si la souche est sensible, absent si la souche présente un profil intermédiaire.

L'analyse superficielle de cet arbre révèle le poids important de la résistance aux beta-lactamines (ampicilline et amoxicilline + acide clavulanique) dans l'évolution du génome core des souches de *A. butzleri*.

**Bilan pour les souches de *Helicobacter sp* :** Les 3 souches de *Helicobacter* séquencées car correspondant probablement à de nouvelles espèces, sont toutes conservées pour analyse. Les tailles des génomes des souches 2005 566H et cn23e après filtration sont de 1,8 et 1,6 Mpb, avec 62 contigs chacun. Ces deux souches sont suspectées d'être de nouvelles espèces de *Helicobacter*. La taille de leur génome est cohérente avec celle d'autres espèces de *Helicobacter*, par exemple *H. pylori* (médiane des génomes publiés de 1,63 Mpb) ou *H. pullorum* (médiane des génomes publiés de 1,81 Mpb).

La taille du génome de la souche 48519 après filtration est de 2,09 Mpb pour 42 contigs. Cette souche est suspectée d'appartenir à l'espèce *Helicobacter cinaedi*, dont le génome moyen pour les 3 seules souches publiées à ce jour est de 2,18 Mpb. Les deux valeurs sont donc proches, ce qui conforte l'hypothèse d'appartenance de cette souche à l'espèce *Helicobacter cinaedi*. Une analyse plus approfondie sera menée pour confirmer qu'il s'agit bien d'une souche de *Helicobacter cinaedi*.

## 6.2.-Liste des publications et communications de l'année 2017, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

Les membres du CNR sont surlignées en gris.

Les communications ayant un lien avec une activité recherche à cheval entre le CNR et l'équipe INSERM U1053 « Infection à *Helicobacter* : inflammation et cancer » sont indiquées à part.

### -Publications nationales

-Lamarque D, Burucoa C, Courillon-Mallet A, de Korwin JD, Delchier JC, Helucwaert F, Lehours P, Mégraud F, Moussata D, Amiot A, Breurec S, Raymond J. Recommandations sur le traitement de l'infection à *Helicobacter pylori* chez l'adulte. Hepato-Gastro et Oncologie digestive. 2017; 24: 157-170.

-Mégraud F. La résistance aux antibiotiques de *Helicobacter pylori*. Hepato-Gastro et Oncologie digestive. 2017; 24:179-181.

-Lamarque D, Raymond J, Mégraud F, Moussata D, Heluwaert F, Lehours F, Bazin T, Burucoa C. Comment intégrer à la pratique Clinique les recommandations du Groupe d'Etude Français des Helicobacter et de la Haute Autorité de Santé concernant l'éradication de *Helicobacter pylori*? Hepato-Gastro et Oncologie digestive. 2017; 24: 885-890.

### -Publications internationales

-Iraola G, Forster SC, Kumar N, Lehours P, Bekal S, García-Peña FJ, Paolicchi F, Morsella C, Hotzel H, Hsueh PR, Vidal A, Lévesque S, Yamazaki W, Balzan C, Vargas A, Piccirillo A, Chaban B, Hill JE, Betancor L, Collado L, Truyers I, Midwinter AC, Dagi HT, Mégraud F, Calleros L, Pérez R, Naya H, Lawley TD. Distinct *Campylobacter* fetus lineages adapted as livestock pathogens and human pathobionts in the intestinal microbiota. Nat Commun. 2017;8:1367. (IF: 12.124)

-Shield KD, Marant Micallef C, de Martel C, Heard I, Mégraud F, Plummer M, Vignat J, Bray F, Soerjomataram I. New cancer cases in France in 2015 attributable to infectious agents: a systematic review and meta-analysis. Eur J Epidemiol. 2017 Dec 6. [Epub ahead of print] (IF: 7.226)

-Vale FF, Nunes A, Oleastro M, Gomes JP, Sampaio DA, Rocha R, Vítor JM, Engstrand L, Pascoe B, Berthenet E, Sheppard SK, Hitchings MD, Mégraud F, Vadivelu J, Lehours P. Genomic structure and insertion sites of *Helicobacter pylori* prophages from various geographical origins. Sci Rep. 2017;7:42471. (IF: 4.259)

-van der Mee-Marquet NL, Bénéjat L, Diene SM, Lemaigen A, Gaïa N, Smet A, Haesebrouck F, Cherkaoui A, Ducournau A, Lacomme S, Gontier E, Bernard L, Mégraud F, Goudeau A, Lehours P, François P. A potential new human pathogen belonging to *Helicobacter* genus, identified in a bloodstream infection. Front Microbiol. 2017;8:2533 (IF: 4.076)

-Raaf N, Amhis W, Saoula H, Abid A, Nakmouche M, Balamane A, Ali Arous N, Ouar-Korichi M, Vale FF, Bénéjat L, Mégraud F. Prevalence, antibiotic resistance, and MLST typing of *Helicobacter pylori* in Algiers, Algeria. Helicobacter. 2017;22(6). (IF: 3.429)

-Secka O, Vale FF, Buissonnière A, Thomas JE, Mégraud F, Lehours P. Phylogeographic agreement between prophage and bacterial housekeeping genes in *Helicobacter pylori* strains from The Gambia. Helicobacter. 2017;22(5). (IF: 3.429)

-Tepes B, Kastelic M, Vujasinovic M, Lampic P, Seruga M, Jurecic NB, Nyssen OP, Donday MG, O'Morain C, Mégraud F, McNicholl AG, Gisbert JP. *Helicobacter pylori* treatment results in Slovenia in the period 2013-2015 as a part of European registry on *Helicobacter pylori* management. Radiol Oncol. 2017;52(1):1-6. (IF: 1.736)

-Yemmen M, Landolsi A, Ben Hamida J, Mégraud F, Trabelsi Ayadi M. Antioxidant activities, anticancer activity and polyphenolics profile, of leaf, fruit and stem extracts of *Pistacia lentiscus* from Tunisia. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 2017;63:87-95. (IF: 0.94)

-Jribi H, Sellami H, Mariam S, Smaoui S, Ghorbel A, Hachicha S, Benejat L, Messadi-Akrout F, Mégraud F, Gdoura R. Isolation and identification of *Campylobacter* spp. from poultry and poultry by-products in Tunisia by conventional culture method and multiplex real-time PCR. J Food Prot. 2017;80:1623-1627. (IF:2,04)

-Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain CA, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT, Bazzoli F, Gasbarrini A, Atherton J, Graham DY, Hunt R, Moayyedi P, Rokkas T, Rugge M, Selgrad M, Suerbaum S, Sugano K, El-Omar EM; European Helicobacter and Microbiota Study Group and Consensus panel. Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. Gut. 2017;66:6-30. (IF : 16.658)

-Mégraud F. 30th anniversary of the European Helicobacter & microbiota study group! Helicobacter. 2017 Sep;22 Suppl 1. (IF: 3.429)

-Bessède E, Arantes V, Mégraud F, Coelho LG. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Helicobacter. 2017 Sep;22 Suppl 1. (IF: 3.429)

-Jones NL, Koletzko S, Goodman K, Bontems P, Cadranet S, Casswall T, Czinn S, Gold BD, Guarner J, Elitsur Y, Homan M, Kalach N, Kori M, Madrazo A, Mégraud F, Papadopoulou A, Rowland M; ESPGHAN, NASPGHAN. Joint ESPGHAN/NASPGHAN Guidelines for the management of *Helicobacter pylori* in children and adolescents (Update 2016). J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2017;64:991-1003. (IF: 2.799)

-Smith S, Boyle B, Brennan D, Buckley M, Crotty P, Doyle M, Farrell R, Hussey M, Kevans D, Malfertheiner P, Mégraud F, Nugent S, O'Connor A, O'Morain C, Weston S, McNamara D. The Irish *Helicobacter pylori* Working Group consensus for the diagnosis and treatment of *H. pylori* infection in adult patients in Ireland. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2017;29:552-559. (IF: 1.968)

-Mégraud F. Time to change approaches to *Helicobacter pylori* management. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2017;2:692-693.

-McDermott PF, Mégraud F. Antimicrobial resistance in *Helicobacter* and *Campylobacter*. Marchaim D (Ed). In: Antimicrobial Drug Resistance. Springer. 2017

### Publications de recherche pour l'équipe INSERM U1053 adossée au CNR

-Courtois S, Durán RV, Giraud J, Sifré E, Izotte J, Mégraud F, Lehours P, Varon C, Bessède E. Metformin targets gastric cancer stem cells. Eur J Cancer. 2017;84:193-201. (IF: 6.029)

-Floch P, Izotte J, Guillemaud J, Sifré E, Costet P, Rousseau B, Laur AM, Giese A, Korolik V, Mégraud F, Dubus P, Hahne M, Lehours P. A new animal model of gastric lymphomagenesis: APRIL transgenic mice infected by *Helicobacter* species. Am J Pathol. 2017;187:1473-1484. (IF: 4.057)

-Nguyen PH, Giraud J, Chambonnier L, Dubus P, Wittkop L, Belleannée G, Collet D, Soubeyran I, Evrard S, Rousseau B, Senant-Dugot N, Mégraud F, Mazurier F, Varon C. Characterization of biomarkers of tumorigenic and chemoresistant cancer stem cells in human gastric carcinoma. Clin Cancer Res. 2017;23:1586-1597. (IF: 9,619)

-Péré-Védrenne C, Prochazkova-Carlotti M, Rousseau B, He W, Chambonnier L, Sifré E, Buissonnière A, Dubus P, Mégraud F, Varon C, Ménard A. The cytolethal distending toxin subunit CdtB of *Helicobacter hepaticus* promotes senescence and endoreplication in xenograft mouse models of hepatic and intestinal cell lines. Front Cell Infect Microbiol. 2017;7:268. (IF: 4.300)

-Floch P, Capdevielle C, Staedel C, Izotte J, Sifré E, Laur AM, Giese A, Korolik V, Dubus P, Mégraud F, Lehours P. Deregulation of MicroRNAs in Gastric Lymphomagenesis Induced in the d3Tx Mouse Model of *Helicobacter pylori* Infection. Front Cell Infect Microbiol. 2017;7:185. (IF: 4.300)

-Floch P, Mégraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* strains and gastric MALT lymphoma. Toxins (Basel). 2017 Apr 8;9(4). (IF: 3.571)

-Giraud J, Bessède E, Mégraud F, Varon C. Gastric cancer: A stem cell disease ? INTECH. 2017, chapter 5, pages 63-82.

## **-Communications nationales**

### **Oraux**

-François P, Bénéjat L, Diene S, Lemaigen A, Ducournau A, Lacomme S, Gontier E, Bernard L, Mégraud F, Goudeau A, Lehours P, van der Mee-Marquet N. Une nouvelle espèce du genre *Helicobacter* : *H. caesarodunum* sp nov. 25<sup>ème</sup> réunion du Groupe d'Etude Français des Helicobacter. Paris, Janvier 2017.

-Bénéjat L, Ducournau A, Lehours P, Mégraud F. Evaluation du nouveau test immunochromatographique bioNexia *H. pylori* Ag pour un diagnostic rapide de *H. pylori* dans les selles. (25<sup>ème</sup> réunion du Groupe d'Etude Français des Helicobacter. Paris, Janvier 2017)

- E. Bessède, Asselineau J, Perez P, Valdenaire G, Richer O, Lehours P, Mégraud F. Evaluation of rapid immunochromatographic tests detecting *Campylobacter* sp. in human stools (Congrès de la Société Française de Microbiologie, France, octobre 2017)

-van der Mee-Marquet N, Bénéjat L, Diene M S, Lemaigen A, Gaïa N, Cherkaoui A, Ducournau A, Lacomme S, Gontier E, Bernard L, Mégraud F, Goudeau A, Lehours P, François P. *Helicobacter caesarodunum*: a novel human pathogen identified in a bloodstream infection. Congrès national de la Société Française de Microbiologie, 9-11 Octobre 2017, Paris.

-Battaglia T, Blaser MJ, Perez Perez G, Gao Z, Buissonnière A, Benejat L, Izotte J, Floch P, Lehours P. Microbiote gastrique et intestinal en modèle d'infection par *Helicobacter*. 37<sup>ème</sup> congrès de la RICAI, 18-19 Décembre 2017, Paris. (résumé CO-069)

-Battaglia T, Blaser MJ, Perez Perez G, Gao Z, Buissonnière A, Benejat L, Izotte J, Floch P, Lehours P. Microbiote gastrique et intestinal en modèle d'infection par *Helicobacter*. Congrès national de la Société Française de Microbiologie, 9-11 Octobre 2017, Paris.

-Bessède E, Lehours P. Evaluation de deux tests immunochromatographiques rapides dans le diagnostic des infections à *Campylobacters*. Congrès national de la Société Française de Microbiologie, 9-11 Octobre 2017, Paris.

-P Charron, L. Beénéjat, A Ducournau, A. Buissonnière, E. Bessède, P. Lehours, F Mégraud. Surveillance of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in France-2016. 37<sup>ème</sup> congrès de la RICAI, 18-19 Décembre 2017, Paris. (résumé CO-096)

### Travaux de recherche INSERM U1053

- S. Courtois, R. Duran, P. Lehours, C. Varon, E. Bessède. Regulation of the mTOR pathway by *H. pylori* infection and its role in the epithelial to mesenchymal transition (25<sup>ème</sup> réunion annuelle du Groupe d'Etudes Français des Hélicobacters, Paris, Janvier 2017)

### **Posters**

-L. Benejat, F. Mégraud, A. Ducournau, P Lehours. New molecular kits for detection of *Helicobacter pylori* and *Clari*. 37<sup>ème</sup> congrès de la RICAI, 18-19 Décembre 2017, Paris. (poster P-123).

-L. Benejat, F. Mégraud, A. Ducournau, P Lehours. bioNexia *H. pylori*Ag for rapid diagnosis of *Helicobacter pylori* in stools. 37<sup>ème</sup> congrès de la RICAI, 18-19 Décembre 2017, Paris. (poster P-114).

-A. Buissonnière, Benejat L, Charron P, Lehours P, Mégraud F. Orion Genread *Campylobacter* for a rapid detection of *Campylobacters* 37<sup>ème</sup> congrès de la RICAI, 18-19 Décembre 2017, Paris. (poster P-115).

-Gourmelon Michele, Cozien Joelle, Walczak C, Hubert Celine, Boukerb Mohamed, Rince A, Ragimbeau C, Mossong J, Mégraud F, Cauchie Hm, Penny C (2017). Diversité des *Campylobacter lari* en zone littorale: étude au niveau d'une zone conchylicole en Bretagne. AFEM2017 - VIIIe Colloque de l'Association Francophone d'Ecologie Microbienne. 17-

20 oct. 2017 Camaret-sur-Mer (France).

## -Communications internationales

### Oraux

-E. Bessède, Asselineau J, Perez P, Valdenaire G, Richer O, Lehours P, Mégraud F. Evaluation of rapid immunochromatographic tests detecting *Campylobacter* sp. in human stools. 19th International workshop on Campylobacter, Helicobacter and related organisms. 10-14 september 2017, Nantes, France

-C. Penny, J. Cozien, C. Walczak, C. Hubert, A. Boukerb, A. Rincé, C. Ragimbeau, J. Mossong, F. Mégraud, H.M. Cauchie, M. Gourmelon (2017). Diversity of *Campylobacter lari* in a one-health context: focus on shellfish, wild birds, surface water and human health risk. CHRO 2017 - 19th International workshop on Campylobacter, Helicobacter and related organisms. 10-14 september 2017, Nantes, France.

Travaux de recherche INSERM U1053

-S Molina, C Staedel, J Giraud, C Tiffon, S Fernandez, E Sifré, H Bœuf, P Lehours, P Dubus, F Mégraud, C Varon. Regulation of the LATS2/YAP/TAZ pathway during *Helicobacter pylori* induced gastric carcinogenesis. 19th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms, 10-14 Septembre 2017, Nantes.

-Courtois S, Durán RV, Giraud J, Sifré E, Izotte J, Mégraud F, Lehours P, Varon C, Bessède E. Metformin targets gastric cancer stem cells (European Helicobacter Study Microbiota Group, Bordeaux, France, septembre 2017)

### Posters

-A. Mursula, M. Mäki, D. Florea, A. Rafila, A. Mihai, V. Kurkova, R. Brůžková, V. Ruotsalainen, J. Elgh, A. Buissonniere, L. Benejat, P. Lehours, F. Mégraud. Rapid identification of *Campylobacter* species directly from faecal samples using an isothermal DNA amplification assay – a multicentre study. 27th ECCMID, Vienna, Austria, 2017. (P1009)

-L. Benejat, F. Mégraud, A. Ducournau, D. Roux, C. Lecaille, F. Zerbib, E. Sifré, P. Lehours. Evaluation of the new immunochromatographic test BioNexia *H. pylori*Ag for rapid diagnosis of *Helicobacter pylori* antigen. 27th ECCMID, Vienna, Austria, 2017. (EV0185)

-P. Lehours, M. Oleastro, A. Nunes, N. Liassine, D.M. Lowe, G. Godbole. Recurrent *Campylobacter jejuni* infections with in vivo selection of resistance to macrolides and carbapenems: molecular characterisation of resistance determinants. 28th ECCMID, Madrid, Spain, 2018. (P3791)

-Van der Mee-Marquet N, Bénégat L, M Seydina D, Lemaigen A, Gaïa N, Cherkaoui A, Ducournau A, Lacomme S, Gontier E, Bernard L, Mégraud F, Goudeau A, Lehours P, François P. "*Helicobacter caesarodunum*": a potential human pathogen identified in a bloodstream infection. 30th International Workshop on European Helicobacter Study Microbiota Group, septembre 2017, Bordeaux, France. (poster P09.01).

-Bénégat L, Ducournau A, Bessède E, Lehours P, Mégraud F. Evaluation of two new molecular kits for detection of *Helicobacter pylori*. 30<sup>TH</sup> International Workshop on European Helicobacter Study Microbiota Group, septembre 2017, Bordeaux, France. (poster P01.34).

-Boussaba O, Bénégat L, Buissonniere A, Ducournau A, Bongrand Y, Toulza O, Lafouresse M, Lehours P, Mégraud F. Study of the gastroduodenal microbiota of dogs and cats. 30<sup>TH</sup> International Workshop on European Helicobacter Study Microbiota Group, 6-9 september 2017, Bordeaux, France. (poster P19.01).

-Charron P, Bénégat L, Ducournau A, Buissonniere A, Bessède E, Lehours P, Mégraud F. Surveillance of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in France in 2016. 30<sup>TH</sup> International Workshop on European Helicobacter Study Microbiota Group, 6-9 september 2017, Bordeaux, France. (poster P03.20).

-Ontsira Ngoyi E, Aloumba A, Bossali F, Yala F, Abena A, Vadivelu J, Goh K, Ibara J, Atipo Ibara B, Apendi A, Menard A, Benejat L, Sifré E, Lehours P, Megraud F. *Helicobacter pylori* pathogenicity factors in Brazzaville Congo. 30<sup>TH</sup>International Workshop on European Helicobacter Study Microbiota Group, 6-9 september 2017, Bordeaux,

France.(P05.32)

-Buissonnière A, Bénéjat L, Charron P, Bessède E, Lehours P, Mégraud F. Orion GenRead *Campylobacter*: a new kit for a rapid detection of *Campylobacters* in stools. 19th International workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter* and related organisms. 10-14 september 2017, Nantes, France.

Travaux de recherche INSERM U1053

-P. Floch, J. Izotte, J. Guillemaud, E. Sifré, P. Costet, B. Rousseau, A. Laur, A. Giese, F. Mégraud, P. Dubus, M. Hahne, P. Lehours. Influence of the genetic background in gastric MALT lymphoma development after infection by *Helicobacter* species in APRIL transgenic mice. 27th ECCMID, Vienna, Austria, 2017. (P0041)

### **-Conférences sur invitations**

-P Lehours. Antimicrobial resistance in *Campylobacters* and *Helicobacters*: the experience of the French National Reference Center. 19th International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter* and Related Organisms, 10-14 Septembre 2017, Nantes. Keynote lecture.

-P Lehours. *Helicobacter pylori* diagnosis : new recommandation, new trends, new tools. 29<sup>th</sup> International Workshop on *Helicobacter* and Microbiota in Inflammation and Cancer. European *Helicobacter* and Microbiota Study Group (15-17 Septembre, Bordeaux, France, 2017). Keynote lecture.

-P Lehours. Infection à *Helicobacter pylori* et cancer gastrique. Congrès de la SFM, Paris, Octobre 2017.

-P Lehours. RICAI 2017. Symposium enteric pathogens: *Campylobacter*. 37<sup>ème</sup> RICAI, 18-19 décembre 2017, Paris.

### **F Mégraud**

-25<sup>ème</sup> Réunion du Groupe d'Etude Français des *Helicobacters* (GEFH). Paris. 27 janvier 2017. Modérateur.

-XII International Congress on Gastroenterology, Challenges and opportunities. Florence, Italie. 16-19 février 2017. Conférence.

-Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et Oncologie Digestive (JFHOD). Paris. 22-26 mars 2017. Conférences, Modérateur.

-GI International Expert Meeting. Vienna, Autriche. 4-6 avril 2017. Conférence.

-Congrès National Ukrainien de Gastroentérologie. Kiev, Ukraine. 6-9 avril 2017. Conférence.

-Digestive Disease Week. Chicago, IL, USA. 6-9 mai 2017. Modérateur, Conférence.

-5<sup>ème</sup> Journée Scientifique de l'Association de Gastroentérologues privés de Rabat. Rabat, Maroc. 20 mai 2017. Conférence.

-Gastroentérologie aujourd'hui. Certitudes et Nouveautés. Turin, Italie. 26-27 mai 2017. Conférence.

-Symposia "Best of Digestive Disease Week 2017". Guangzhou et Beijing, Chine. 9-12 juin 2017. Conférences.

-19th *Campylobacter Helicobacter* & Related Organisms (CHRO) Congress. Nantes, France. 10-13 septembre 2017. Co-organisateur, Modérateur.

-13<sup>ème</sup> Journées de Microbiologie Clinique ESKA. Paris, France. 14 septembre 2017. Conférence.

-1<sup>ère</sup> Journées Francophones de Biologie Médicale, Bordeaux, France. 27-29 septembre, 2017. Conférence.

-Séminaire sur l'éradication de *H. pylori*. Alger, Algérie. 20-21 octobre 2017. Conférence.

-25th United European Gastroenterology Week (UEGW). Barcelone, Espagne. 28 octobre-1er novembre 2017. Conférences.

-Fit for the Future in Gastroenterology. Berlin, Allemagne. 17-18 novembre 2017. Conférence.

-37<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-infectieuse (RICAI). Paris, France. 18-19 décembre 2017. Modérateur.

### **7-Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux**

Une collaboration existe avec le Laboratoire National de Référence (LNR) des *Campylobacters* de l'ANSES de Ploufragan. Ce laboratoire s'intéresse aux isolats de *Campylobacters* provenant des élevages de volailles et de porcs, des abattoirs correspondants, des étals du commerce et de l'environnement.

- Participation de deux membres du CNR (F. Mégraud et P. Lehours) à deux comités de thèse du LNR :

1- Recherche et caractérisation d'antigènes vaccinaux contre *Campylobacter* par vaccinologie inverse (F.

Mégraud) ;

2- Capacité de différents outils de typage moléculaire pour tracer *Campylobacter jejuni* et identifier l'origine de contamination en cas de campylobactériose (P. Lehours)

- Participation d'un membre du CNR (F. Mégraud) à un jury de thèse du LNR (janvier 2018) :

Capacité de différents outils de typage moléculaire pour tracer *Campylobacter jejuni* et identifier l'origine de contamination en cas de campylobactériose

- Transfert de séquences génomiques réalisées par le LNR de *Campylobacter jejuni* isolés de cas cliniques par le CNR.

- CNR co-auteur d'une publication :

Amandine Thépault, Muriel Guyard-Nicodème, Valérie Rose, Ségolène Quesne, Marilyne Queguiner, Emmanuelle Houard, Francis Mégraud, Katell Rivoal, Marianne Chemaly. 2018. A representative overview of the genetic diversity and lipooligosaccharide sialylation in *Campylobacter jejuni* along the broiler production chain in France and its comparison with human isolates. *International Journal of Food Microbiology* 274, 20–30.

- CNR co-auteur d'un poster CHRO :

Valérie Rose, Amandine Thépault, Alexis Lemerrier, Francis Mégraud, Marianne Chemaly, Katell Rivoal. 2017. A Stable and Highly Diverse Genetic structure in Clinical *Campylobacter jejuni* isolates in 2009 and 2015. CHRO, Nantes.

-Perspectives 2018 :

Continuer les échanges scientifiques avec le CNR et répondre à des appels à projets pour poursuivre et renforcer nos collaborations (cf projet 2018-2019).

### **8-Programme d'activité pour les années suivantes**

Organiser chaque année une journée des correspondants du CNR (première réunion : septembre 2018)

#### **-Projets 2018-2019 concernant les Campylobacters et bactéries apparentées (hors NGS)**

-Elargir notre réseau de correspondants afin d'intégrer les départements non couverts en 2017. Les CHU, CHG et gros laboratoires privés seront contactés.

-Accréditer l'identification MALDI-TOF et les antibiogrammes des Campylobacters et bactéries apparentées.

-Proposer des cut-off épidémiologiques pour interpréter les antibiogrammes des Arcobacters (cf projet NGS).

-Evaluer à la demande de l'EUCAST des cut-offs épidémiologiques pour interpréter les antibiogrammes de *C. fetus*.

-Participer à l'évaluation de tout nouveau kit de diagnostic (recherche d'antigènes, nouveaux kits ELISA etc...) ou PCR pour recherche des Campylobacters, notamment les PCR syndromiques.

-Mettre à jour la base du MALDI-TOF afin d'intégrer les nouvelles espèces (ex : *C. armoricum*) et d'identifier les sous-espèces de *Campylobacter*.

-Tester une nouvelle méthode de typage des souches par spectrométrie Infra-Rouge à l'aide de l'IR Biotyper (Bruker Daltonics), en collaboration avec la société Bruker. Ce projet se fera avec l'aide d'un ingénieur de chez Bruker Daltonics.

Nous pourrions ainsi déterminer si les résultats obtenus par nos méthodes classiques de typage des *Campylobacter* sp. (RAPD...) donnent des résultats similaires à ceux obtenus grâce à l'IR Bio typer.

De plus, nous pourrions également déterminer si cette nouvelle méthode permet de séparer les *Helicobacter* sp. en pathovars. En effet, nous avons en 2015 et 2016 essayé de définir par spectrométrie de masse MALDI-TOF à l'aide du logiciel ClinproTool des pathovars des souches de *Helicobacter* sp. en fonction de la pathologie observée chez les malades chez lesquels les souches avaient été isolées (ulcère, gastrite, adénocarcinome...). Malheureusement et malgré de nombreux essais, il n'a pas été possible de définir ces pathovars. Il sera donc très intéressant de déterminer si cette nouvelle méthode de typage permet ce travail.

-Collaborer avec trois laboratoires privés réalisant des PCR syndromiques de screening pré-culture sur automate BDmax (Becton Dickinson) : vérification à partir des selles collectées des discordances PCR positive/culture *Campylobacter* négative à l'aide de la PCR *Campylobacter* du CNR et par ELISA *Campylobacter*.

-Mettre en place un PHRC régional pour lequel une lettre d'intention pour l'obtention d'un financement a été déposée en mars 2018. Ce projet appelé MAGIC (« Multiplex PCR-Antibiotic-Gastroenteritis-Invasive-Children ») a pour but d'évaluer l'impact de l'utilisation d'une PCR Multiplex (BDMax, BD Dickinson) sur la prise en charge et le devenir clinique des enfants présentant une gastro-entérite invasive aiguë aux urgences pédiatriques. Il s'agit donc d'un essai clinique randomisé de 2 stratégies diagnostiques. L'objectif principal de ce projet est de comparer l'impact de deux stratégies diagnostiques : d'une part la coproculture et d'autre part la PCR Multiplex (coproculture vs. PCR multiplex) sur la prise en charge des enfants reçus aux urgences pédiatriques pour gastroentérite invasive aiguë.

-Comparer les niveaux de résistance des *Campylobacter* humains et vétérinaires (collaboration avec le LNR). Depuis 2014, des prélèvements sont faits en abattoirs : poulets et dindes les années paires, porcs et veaux les années impaires. Seule la surveillance de la résistance des *C. jejuni* de volailles est obligatoire pour l'EFSA, à l'heure actuelle. La dernière campagne de prélèvement a eu lieu en 2016 et reprendra en 2018. Nous pourrions donc en 2019 comparer nos résultats.

### **-Projets en rapport avec l'activité NGS**

-Souches invasives de *Campylobacter jejuni* : Les souches séquencées lors de cette campagne de séquençage ainsi que celles précédemment séquencées lors du projet mené par le LNR de Ploufragan seront utilisées pour effectuer une analyse GWAS comparant plus de 150 souches invasives avec plus de 150 souches non invasives. La méthode GWAS, appliquée aux bactéries, nécessite la création d'un pangéome (liste des gènes présents dans au moins une souche). Plusieurs méthodes de GWAS sont envisagées et seront testées afin d'identifier d'éventuels marqueurs d'invasivité. Les gènes ainsi mis en évidence seront ensuite étudiés afin de mieux comprendre les mécanismes d'invasivité chez *Campylobacter jejuni*.

-Attribution de source de cas de campylobactériose : Les marqueurs d'attribution des cas de campylobactériose décrits lors d'une étude précédente (Thèse effectuée au LNR de Ploufragan), identifiées à partir de souches isolées en 2015, seront utilisés pour attribuer les sources probables des échantillons isolés en 2016 séquencés lors de cette campagne de séquençage. Le logiciel Structure, utilisé pour l'identification des marqueurs, sera utilisé pour cette étude. Les profils d'attribution obtenus seront comparés à ceux obtenus l'année précédente, afin d'étudier d'éventuelles variations des sources.

-Etude de cas groupés de campylobactériose : Les deux paires de cas groupés préalablement identifiés par RAPD seront analysées par une approche gène par gène portant sur le génome complet de ces souches. Cette analyse permettra une résolution plus fine de l'étude des cas groupés.

-Résistance aux antibiotiques chez *Arcobacter butzleri* : Les génomes séquencés seront annotés par RAST et PROKKA et un pangéome sera construit afin d'étudier par une approche gène par gène les variations observées entre les souches montrant une résistance claire aux différents antibiotiques étudiés et celles montrant une sensibilité claire à ces mêmes antibiotiques. Le but de cette étude est d'identifier l'origine génomique de certains mécanismes de résistance chez *Arcobacter butzleri*, jusqu'à présent peu décrits, et d'utiliser ces données afin d'ajuster les cut-offs de résistance, pour l'instant peu satisfaisant, basés empiriquement sur ceux de *Campylobacter*.

-Caractérisation de nouvelles espèces de *Helicobacter* : La caractérisation de nouvelles espèces passe par l'utilisation de plusieurs méthodes combinées. Certaines études basées sur l'ADN bactérien font partie de l'arsenal de méthodes permettant la caractérisation. Les génomes complets seront annotés par RAST et PROKKA. A partir des génomes complets de ces trois souches, des alignements de différents gènes (notamment ARNr 16S, ARNr 23S, *hspA*, *hspB*, *gyrA* et *gyrB*) seront réalisés avec ceux de souches de référence appartenant à d'autres espèces connues de *Helicobacter*. Ces alignements permettront la construction d'arbres phylogénétiques sur lesquels les souches à caractériser pourront être positionnées. Une analyse ANI (Average Nucleotide Identity) sera également réalisée portant sur la similarité du génome complet par rapport aux espèces déjà connues. Dans le cas où l'appartenance à une nouvelle espèce non décrite serait confirmée, une analyse approfondie du contenu du génome sera réalisée.

-Prochaines campagnes de séquençage envisagées : Le CNR reçoit chaque année des souches de *Campylobacter*, *Helicobacter* et *Arcobacter* de plus en plus nombreuses venant de toute la France. Le développement de l'activité de séquençage et d'analyses de génomes permettra de mettre en place différents projets utiles à l'activité du CNR. Ainsi, des séquençages réguliers de souches permettront de mettre en place des analyses de surveillance de l'évolution des attributions de source ou d'émergence de profils de résistances particuliers. Pour l'année 2018, le CNR aimerait séquencer différentes souches dans le cadre de projets futurs :

- des souches de *Campylobacter coli*, afin d'étudier la possibilité de définir des marqueurs d'attribution tels que décrits chez *Campylobacter jejuni* et d'établir un profil des réservoirs à l'origine des contaminations par *C. coli* en France;
- des souches de *Campylobacter jejuni* isolées en 2017, afin de poursuivre la surveillance annuelle de l'évolution des réservoirs à l'origine des contaminations par *C. jejuni* en France. Cette étude annuelle devra inclure régulièrement (tous les 5 ans minimum) des souches prélevées dans les différents réservoirs à des périodes similaires afin de vérifier que les marqueurs d'attribution sont toujours pertinents. Une collaboration avec le LNR de Ploufragan pourra être mise en place dans cette optique ;
- des souches de *Campylobacter jejuni* provenant de cas groupés, afin de poursuivre l'étude de ces cas groupés à l'échelle du génome et de confirmer les cas groupés analysés par RAPD ;
- des souches de *Helicobacter*, *Campylobacter* ou *Arcobacter* suspectées d'appartenir à de nouvelles espèces, afin de participer à la caractérisation de nouvelles espèces.

-Comparer par NGS les isolats identifiés en 2017 comme provenant des produits de la mer avec ceux des campagnes de prélèvement de l'IFREMER (projet Campyshell) (collaboration avec le Dr M Gourmelon).

#### **-Projets 2018-2019 concernant *H. pylori* et les Hélicobacters (hors NGS)**

-Accréditer en priorité la PCR et la culture de *H. pylori*.

-Elargir notre réseau de correspondants en commençant par faire appel aux nombreux correspondants des réseaux Campylobacters.

-Participer au protocole Français de surveillance de la résistance aux antibiotiques en France (protocole PHARE). But : 1 000 cas, 3<sup>ème</sup> année. Une technicienne a été recrutée pour prendre en charge les échantillons.

-Mettre en place le 4<sup>ème</sup> protocole Européen de surveillance de la résistance aux antibiotiques en Europe, année 2018. 30 centres – 20 pays. 50 souches/centre. Protocole standardisé.

-Décrire de nouvelles espèces du genre *Helicobacter* en combinant approches NGS, microscopie électronique et profils biochimiques.

-Evaluer à la demande de l'EUCAST des milieux pré-coulés commerciaux et une méthode standardisée pour proposer une solution aux laboratoires ne pouvant préparer leurs propres milieux de culture et souhaitant réaliser les antibiogrammes de *H. pylori*.

-Participer à l'évaluation de tout nouveau kit de diagnostic (recherche d'antigènes, nouveaux kits ELISA etc...) ou PCR pour recherche de *H. pylori*.

-Organiser au CNR des TP destinés aux microbiologistes et techniciens intéressés par *H. pylori*.

-Vérifier les discordances rencontrées par certains correspondants du CNR entre la sensibilité *in vitro* de *H. pylori* aux macrolides et les résultats de génotypage par PCR commerciale.

-Participer à toute discussion utile à la mise à la nomenclature de la PCR de détection de *H. pylori*.

## **Annexe 1 : Missions & organisation du CNR**

### **1.1.-Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés**

Le CNR *Campylobacter* et *Helicobacter* s'est engagé à assurer les missions définies par le décret no 2016-806 du 16 juin 2016 relatif aux centres nationaux de référence pour la lutte contre les maladies transmissibles et par l'arrêté du 16 juin 2016 fixant le cahier des charges des centres nationaux de référence pour la lutte contre les maladies transmissibles. Il nous est en outre particulièrement demandé d'assurer les missions suivantes :

#### ***Pour Campylobacter sp***

##### **Expertise**

- en développant et en améliorant les techniques de typage moléculaire ;
- en participant à la standardisation des méthodes diagnostiques et de typage par l'implication dans un réseau d'expertise et de surveillance internationale ;
- en identifiant et en typant les souches ;
- en testant la sensibilité des souches de *Campylobacter* et *Helicobacter* aux antibiotiques, en lien avec le CNR des résistances aux antibiotiques ;
- en contribuant au suivi de l'évolution de la résistance aux antibiotiques ;
- en contribuant à l'élaboration de recommandations concernant les techniques d'isolement et de typage ;
- en contribuant à la formation du personnel des laboratoires de biologie médicale de ville et hospitaliers ;
- en collaborant avec les organismes nationaux compétents dans le domaine de *Campylobacter* chez l'animal, et notamment le LNR *Campylobacter*.

##### **Conseil**

- aux biologistes et cliniciens.

##### **Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique**

- en constituant et maintenant un réseau de laboratoires permettant de fournir pour chaque espèce, des données sur l'évolution et les caractéristiques des cas ;
- en contribuant à l'investigation de cas groupés par l'identification et la comparaison des souches isolées chez l'homme et dans le véhicule suspecté à l'origine des cas groupés ;
- en collaborant aux réseaux de surveillance internationaux et en particulier européens notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonoses 2003/99/CE.

##### **Contribution à l'alerte**

- en signalant à l'agence nationale de santé publique tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, apparition de cas groupés, modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles), apparition d'un nouveau phénotype de résistance, etc.

#### ***Pour Helicobacter pylori***

##### **Expertise**

- en identifiant et en caractérisant les souches, notamment en terme de résistance aux antibiotiques ;
- en développant, évaluant et/ou aidant à la diffusion des techniques diagnostiques.

##### **Conseil**

- aux biologistes et cliniciens.

##### **Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique**

- en surveillant la résistance aux antibiotiques des souches.

##### **Contribution à l'alerte**

## 1.2.-Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

La responsabilité scientifique du CNR Campylobacters et Hélicobacters est portée par le Pr Philippe Lehours. La gestion administrative du CNR est effectuée par le CHU de Bordeaux (pôle de Biologie et Pathologie, Mr David Karle). Notre CNR assure l'ensemble des missions citées ci-dessus sans laboratoire associé.

### Organigramme 2017-2021

Fonction	Nom	Qualification	Statut
Responsable scientifique	Philippe Lehours	Ph., Dr. ès Sci	PU-PH
Responsable adjoint	Francis Mégraud	Ph., Dr Med	PU-PH
Responsable adjoint	Emilie Bessède	Ph., Dr. ès Sci	MCU-PH
Ingénieur (IH)	Lucie Bénéjat	M2	CDD
Ingénieur (IH)	Elvire Berthenet	PhD, master bio-info	CDD
Technicienne	Astrid Ducournau	BTS	CDD
Technicienne	Alice Buissonnière	BTS	CDD
Technicienne	X (pool des techniciens du laboratoire de Bactériologie du CHU Pellegrin)	BTS	CDI
Secrétaire	Erick Keisler	BTS	CDD (40%)

IH : ingénieur hospitalier ; Personnel recruté en janvier 2018.

Courant 2018, un technicien qualité sera recruté à 40% pour initier la démarche qualité du CNRCH. Ce technicien qualité sera également recruté à 40% par le CNR IST (Pr C Bébéar).

## 1.3.-Locaux et équipements

Les locaux principaux du CNR (Laboratoire de Bactériologie du CHU Pellegrin) sont composés de deux pièces techniques principales et du bureau du Pr F Mégraud (Figure 10), soit une surface totale proche de 70 m<sup>2</sup> dont les 2/3 sont destinées aux activités techniques.

S'y ajoutent une pièce contenant 6 congélateurs à -80°C à la disposition du CNR, l'utilisation de la laverie, de la pièce de préparation des milieux et l'accès à de nombreuses plateformes techniques, de l'hôpital (spectrométrie de masse MALDI-TOF, SIRscan, PCR en temps réel, séquençage) mais aussi de l'Université (protéomique, imagerie, animalerie A2). Les locaux de l'Unité INSERM U853 devenue au 1<sup>er</sup> Janvier 2016 l'équipe 2 de l'U1053 UMR BaRITOn, à laquelle ce CNR est adossé, sont également utilisés par le personnel du Centre. Ils sont situés sur le site de l'Université (site de Carreire, Bat 2B, RDC, Zone Nord) à moins de 100 mètres du laboratoire hospitalier principal.

Les principaux équipements au niveau du laboratoire principal du CNR sont constitués de :

- une enceinte microaérobie Concept 300 (Ruskinn Technology Ltd.) remplacée en 2017 ;
- un appareil Anoxomat (MART) et des jarres adaptées ;
- un automate d'extraction d'ADN Arrow (NorDiag) ;
- une hotte à flux laminaire (Gelaine) ;
- une étuve à 37°C ;
- un réfrigérateur-congélateur ;
- cinq ordinateurs connectés aux ressources informatiques du laboratoire et au réseau du CHU de Bordeaux

;

-6 congélateurs à -80°C (New Brunswick Scientific) avec un système de surveillance de la température (Waranet-Solution) relié à un ordinateur dédié.

Au niveau du laboratoire INSERM U1053, nous disposons de 3 thermocycleurs (2 thermocycleurs Eppendorf 25 puits, 1 thermocycleur Eppendorf de 96 puits), d'un spectromètre de masse pour l'analyse des tests respiratoires à l'urée marquée au  $^{13}\text{C}$ , d'un lecteur multifonction (dosages acides nucléiques en microplaque, lecteur de plaque type ELISA). Nous avons accès à la plateforme de biologie moléculaire du CHU et à celle de la FR Transbiomed (Université de Bordeaux) pour réaliser nos PCR en temps réel.

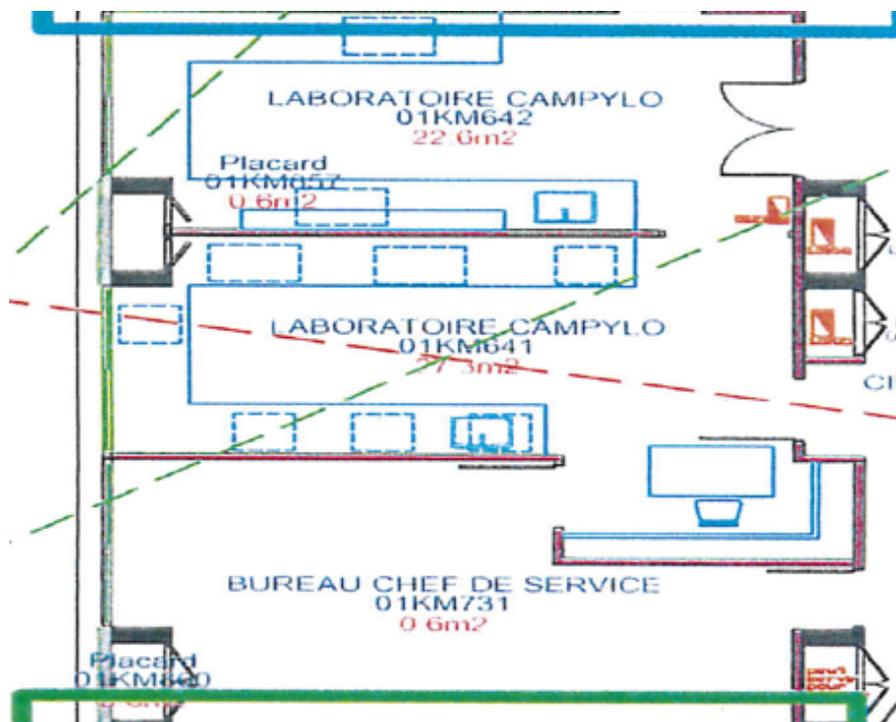


Figure 10 : Plans extraits du plan général du laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux.

#### 1.4.-Collections de matériel biologique

Le CNR conserve l'intégralité des isolats de *Campylobacter* et bactéries apparentées (*Arcobacter*, *Helicobacter* entérohépatiques) de 2013 à 2018 (environ 5000 souches/année). Nous disposons également de l'intégralité des souches de *H. pylori* (n=4600 environ, depuis 1983).

Nous avons en 2017 transféré 1867 souches de *Campylobacter sp* des années 2002 à 2012 vers le Centre de Ressources Biologiques du CHU de Bordeaux (CRB). Nous avons décidé de transférer en priorité toutes les souches invasives (isolées de flacon d'hémoculture, liquide articulaire, LCR, etc...), toutes les espèces rares autres que *C. jejuni* et *C. coli* et les isolats de *C. jejuni* et *C. coli* provenant de sites d'isolement plus inhabituels (ex : biopsies digestives, placenta et vésicule biliaire).

Le CNR dispose d'une collection de souches type pour de nombreuses espèces du genre *Campylobacter sp* (n=12), *Arcobacter sp* (n=5) ou *Helicobacter sp* (n=19). Ces souches peuvent être délivrées aux laboratoires sur demande en France ou pour des laboratoires étrangers (Européen essentiellement). L'ADN sur demande peut également être envoyé.

Un projet de convention est en attente de validation par le CHU de Bordeaux pour le transfert annuel année par année (transfert des souches de 2013 en 2018, puis de 2014 en 2019, etc...) des souches invasives (isolées de flacon d'hémoculture, liquide articulaire, LCR, etc...) et des espèces rares autres que *C. jejuni* et *C. coli*. L'objectif étant de sanctuariser nos collections, et de disposer en permanence de l'intégralité de notre collection afin de répondre aux demandes de collaborateurs nationaux (notamment le LNR *Campylobacter* de Ploufragan) et internationaux qui sont

### 1.5.-Démarche qualité du laboratoire

Les prélèvements sont traités pour la culture au niveau du laboratoire de Bactériologie de l'hôpital Pellegrin. Il fait partie du Pôle de Biologie et Pathologie et qui a initié fin 2008 une demande d'accréditation COFRAC ISO 15189.

Durant l'année 2017, nous avons poursuivi nos efforts pour avancer dans notre démarche d'accréditation. Les documents ont été mis à jour et des fiches de poste préparées.

Nous avons aussi organisé un contrôle de qualité pour le diagnostic de *H. pylori* avec le Centre National de Référence correspondant en Belgique (Y. Glupczynski), et au Portugal (M. Oleastro) de type « ring test ». Nous avons participé à l'EEQ Européen organisé par le Statens Serum Institute, Danemark pour les Campylobacters.

Nous nous sommes inscrits pour septembre 2018 à un EEQ du QCMD pour les PCR *H. pylori*.

Le recrutement d'un technicien qualité en 2018 va permettre au CNR de rentrer concrètement dans la démarche d'accréditation de ses activités.

## **Annexe 2 : Capacités techniques du CNR**

### **2.1.-Liste des techniques de référence**

Les éléments surlignés en gris correspondent à ceux que nous souhaitons accréditer dès que possible.

Pour *Campylobacters* et bactéries apparentées (*Arcobacters*), les techniques disponibles sont :

- culture, identification standard et par galerie Api Campy ;
- antibiogramme standard par diffusion et détermination des CMI par Etest ou par dilution en milieu gélosé ;
- PCR standard pour *C. jejuni* et *C. coli* ;
- PCR en temps réel pour *C. jejuni*, *C. coli* et *C. fetus* ciblant le gène *gyrA* ainsi que pour *A. butzleri* et *A. cryaerophilus* ;
- séquençage de l'ARNr 16S pour identification ;
- PCR en temps réel pour la recherche des mutations à l'origine de la résistance des *Campylobacters* aux macrolides à partir de souches ou de selles ;
- identification au niveau de l'espèce par spectrométrie de masse MALDI-TOF (E. Bessède *et al.* 2011).
- étude de marqueurs épidémiologiques de typage par PCR-RFLP du gène *flaA*, par RAPD, par MLST ou par séquençage de génome (NGS) ;
- recherche d'antigènes de *Campylobacter sp* dans des prélèvements de selles : tests immunochromatographiques rapides ou test ELISA.
- sérologie *Campylobacter jejuni* par réaction de fixation du complément.

Pour *H. pylori*, les techniques disponibles sont :

- culture sur milieu gélosé et identification phénotypique standard ;
- PCR en temps réel basée sur le gène de l'ARNr 23S pour détecter *H. pylori* et les mutations à l'origine de la résistance à la clarithromycine, développée au laboratoire (Oleastro *et al.* 2003) ;
- antibiogramme de *H. pylori* ;
- PCR en point final (puis séquençage) de détection des mutations associées aux résistances aux fluoroquinolones (QRDR du gène *gyrA*) et rifamycines (*rpoB*) ;
- détection par PCR en temps réel des mutations au niveau de la boucle V de l'ADNr 16S associées aux résistances à la tétracycline ;
- PCR en point final de détection des principaux facteurs de virulence de *H. pylori* (*cagA*, génotypes de *vacA*, etc..) ;
- PCR en point final puis séquençage de l'ADNr 16S pour le genre *Helicobacter*, idem pour les gènes *gyrA* et *hsp60* dans un but phylogénétique ;
- spectrométrie de masse pour déterminer le ratio <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C dans l'air expiré lors du test respiratoire à l'urée marquée au <sup>13</sup>C ;
- sérologie par ELISA (BioElisa, Biokit, Barcelone, Espagne puis Enzygnost Anti *Helicobacter pylori* II-IgG, Siemens) et Immunoblot (Helicoblot 2-1, Genelabs, Singapour).

### **2.2.-Liste des techniques recommandées par le CNR**

#### **- Techniques recommandées pour la recherche d'infection à *Campylobacter sp***

La détection des *Campylobacter spp.* fait partie des bactéries à rechercher systématiquement au cours des diarrhées infectieuses de plus de 48 h au même titre que la détection de Salmonelles car la fréquence des *Campylobacter spp.*, à l'origine d'infection intestinale, excède celles des Salmonelles dans notre pays.

Elle est donc indiquée notamment dans le cas de diarrhée aiguë sévère (hémorragique, syndrome dysentérique) ou rebelle (persistant plus de trois jours), aux âges extrêmes de la vie, en cas de terrain fragile, au retour d'un voyage en pays tropical et en cas de toxi-infection alimentaire collective.

La recherche des *Campylobacter* spp. est le plus souvent réalisée à partir de selles ou d'hémocultures. D'autres prélèvements peuvent éventuellement permettre la culture de ces bactéries (liquides biologiques, biopsies) de manière fortuite ou orientée par l'examen microscopique.

### Méthodes directes

-Coproculture :

Du fait de la fragilité des *Campylobacter* spp., les selles doivent être acheminées en moins de 2 h au laboratoire ou conservées dans un milieu de transport de type Cary-Blair modifié avec de l'agar à une température comprise entre + 2°C et + 8°C.

La culture est effectuée sur un milieu riche, sélectif et qui absorbe les radicaux oxygénés libres toxiques : milieu au sang (Skirrow, Butzler, par exemple) ou au charbon (Karmali, par exemple). Des milieux commerciaux existent, chromogènes ou non.

Bien que les *Campylobacter* thermotolérants (*C. jejuni* et *C. coli* notamment) aient une température optimale de culture à 42°C, il est recommandé d'incuber les boîtes à environ 35°C. Ceci est extrêmement important car, d'une part, cette température n'a pas de conséquence négative sur la culture de *C. jejuni* et *C. coli* (les 2 principales espèces isolées) et, d'autre part, elle permet la culture de *C. fetus*, de *Arcobacter* sp et d'autres espèces de *Campylobacter* sp plus rares.

L'incubation est réalisée impérativement en atmosphère microaérobie et les géloses doivent être incubées immédiatement après ensemencement. Les cultures sont observées après 24 h, 48 h et 72 h d'incubation.

Les colonies de *Campylobacter* sont petites, lisses, luisantes, souvent étalées ou en nappe. L'identification au niveau du genre peut être faite sur la morphologie incurvée ou spiralée au microscope et sur la présence d'une oxydase.

L'identification au niveau de l'espèce a été historiquement réalisée à l'aide de tests phénotypiques simples (hydrolyse de l'hippurate pour *C. jejuni* par exemple). Cependant, ces tests ont perdu de leur intérêt depuis la généralisation de l'identification bactérienne par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF dans les laboratoires. L'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF est particulièrement performante pour l'identification des *Campylobacter* et permet d'identifier des genres et espèces difficilement accessibles par les tests d'identification conventionnels, notamment : *Campylobacter lari*, *Campylobacter upsaliensis*, les *Campylobacter* «anaérobies» (*Campylobacter ureolyticus* notamment), les *Arcobacter* et les *Helicobacter* entérohépatiques dont pour certains la pathogénie est proche des *Campylobacter* (notamment *Helicobacter pullorum*, *Helicobacter cinaedi*). L'identification systématique par spectrométrie de masse, méthode rapide et peu coûteuse, de plusieurs colonies (y compris d'aspect atypique) poussant sur les milieux sélectifs augmente le taux de détection.

-Recherche dans les selles par méthode moléculaire ou immuno-enzymatique :

Des tests ELISA et des tests immuno-enzymatiques rapides sont maintenant commercialisés pour la détection de *Campylobacter* spp. dans les selles. Les tests ELISA disponibles sur le marché ont une bonne concordance avec la PCR en temps réel, sont plus sensibles que la culture tout en ayant une bonne spécificité. Leur inconvénient est d'être limité à la seule recherche de *C. jejuni* et *C. coli* et non des autres *Campylobacter* sp. et des bactéries apparentées. Aussi, les tests ELISA commercialisés ont été recommandés pour la recherche de *Campylobacter* sp lors des tests réalisés en vue d'une transplantation fécale. Les tests rapides immuno-enzymatiques ont également une bonne sensibilité et spécificité (5 à 20% de tests isolément positifs par rapport à la culture). Ils pourraient être utilisés en routine comme tests de dépistage avant culture. Ces tests cependant sont à réserver à des populations cibles à forte prévalence potentielle d'infection à *Campylobacter* : diarrhées communautaires aigües fébriles.

La recherche par amplification génique est maintenant commercialisée dans des trousse multiplexées permettant la détection de nombreux entéro-pathogènes dont *C. jejuni* et *C. coli*. Ce type d'approche commence à être réalisée en routine dans certains laboratoires équipés notamment d'appareil de PCR multiplex syndromiques. L'extraction de l'ADN ne pose en général pas de problème car la charge bactérienne en *Campylobacter* spp. est importante, à condition d'utiliser un kit d'extraction adapté à l'élimination d'inhibiteurs de PCR souvent présents dans les selles. La PCR en temps réel est plus sensible que la culture et permet d'obtenir des résultats rapides. Les tests multiplexés permettent maintenant une stratégie de tri rapide des selles positives. Aucun test à ce jour n'inclut cependant la détection de *C. fetus* et des *Arcobacter*.

-Hémocultures et autres prélèvements :

L'utilisation de flacons d'hémoculture utilisant des systèmes de détection automatiques de la croissance bactérienne a permis d'améliorer la détection des bactériémies à *Campylobacter* spp. Les flacons dont l'examen microscopique évoque la morphologie de *Campylobacter* spp. doivent être repiqués en atmosphère microaérobie.

En dehors des épisodes digestifs, les infections systémiques à *Campylobacter* surviennent surtout chez les personnes âgées ou fragiles. Elles sont à l'origine d'une mortalité importante (15%) notamment celles à *C. fetus*.

### Méthode indirecte

Le sérodiagnostic n'a d'intérêt qu'en cas de pathologie post-infectieuse de type arthrite ou syndrome de Guillain-Barré. Il peut se faire par ELISA (dosage des IgG et IgM) ou par réaction de fixation du complément (des tests commerciaux sont disponibles).

### Antibiogramme des Campylobacters

L'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les critères proposés par le CA-SFM et harmonisés en fonction des critères proposés par l'EUCAST (CA-SFM/EUCAST 2018) :

-milieu MH-F : Mueller-Hinton + 5% sang de cheval défibriné et 20 mg/L de  $\beta$ -NAD ;

-inoculum : 0,5 McFarland ;

-incubation : atmosphère microaérobie,  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , 24 h. Si la culture est insuffisante après 24h, réincuber immédiatement et effectuer une lecture après 40-48 h d'incubation ;

-lecture : mesurer les diamètres d'inhibition directement face à la boîte, couvercle retiré, éclairée par une lumière réfléchie. Ne pas tenir compte des images « fantômes » au sein des zones d'inhibition ;

-contrôle de qualité : *Campylobacter jejuni* ATCC 33560.

La résistance aux macrolides reste limitée, celle à l'amoxicilline-acide clavulanique ainsi qu'à la gentamicine est exceptionnelle.

Toute résistance observée à l'amoxicilline-acide clavulanique doit être vérifiée, d'une part, en vérifiant l'identification du genre et de l'espèce (confusion possible avec *Arcobacter sp*) et, d'autre part, en testant la sensibilité sur un autre lot de disques ou, à défaut, par bandelettes à gradient de concentration.

Des valeurs limites spécifiques (diamètre et CMI) doivent être utilisées pour déterminer la sensibilité de *C. fetus* aux fluoroquinolones, celles pour *Arcobacter sp* ne sont pas encore disponibles.

Les valeurs critiques sont indiquées dans les recommandations du CA-SFM.

### -Techniques recommandées pour le diagnostic d'infection à *H. pylori*

Ces méthodes sont classées en « invasives » ou « non invasives », selon qu'elles nécessitent ou non des biopsies de la muqueuse gastrique antrale et fundique pratiquées au cours d'une fibroscopie gastro-duodénale.

#### Méthodes invasives

Ce sont les méthodes les plus sensibles et spécifiques. L'association des examens histologiques et des techniques bactériologiques (détection moléculaire ou culture) permet d'une part le dépistage des lésions pré-néoplasiques (atrophie, métaplasie, dysplasie) et néoplasiques (cancer, lymphome) et d'autre part la détection spécifique de la bactérie et la détermination de son profil de résistance aux principaux antibiotiques.

#### -Test rapide à l'uréase

Cette méthode est adaptée à une recherche rapide en salle d'endoscopie dès les biopsies effectuées. La forte activité uréasique de *H. pylori* est détectée en plaçant un fragment biopsique dans le milieu réactionnel d'une trousse commerciale *ad hoc*. La lecture doit être effectuée en 1 h. Sa sensibilité est de 80%, sa spécificité de 95%. Ce test est réalisé sous la responsabilité de l'endoscopiste et à sa charge. Le principal intérêt de ce test est de permettre la mise en œuvre immédiate d'un traitement probabiliste en cas de résultat positif. Il n'est pas inscrit à la NABM.

#### -Examen anatomo-pathologique

C'est la méthode de détection la plus répandue. La fixation des biopsies par le formol assure une conservation et un transport simple et pratique vers le laboratoire d'anatomopathologie. La qualité des biopsies obtenues, leur nombre (5 sont recommandées) et l'expertise de l'examineur conditionnent les performances de cet examen. Sa valeur ajoutée est de visualiser la gastrite associée à l'infection et les lésions ou complications associées (atrophie, métaplasie, dysplasie, cancer, lymphome), et de classer la gastrite selon le score de Sydney (systèmes OLGA et OLGIM). L'autre avantage est de permettre la visualisation, de part leur morphologie caractéristique, de bactéries du genre *Helicobacter* rattachées au groupe *heilmannii* comportant des espèces non ou très difficilement cultivables.

#### -Examen bactériologique standard

##### Prélèvement, transport

Au cours de l'endoscopie gastrique, plusieurs biopsies sont prélevées dans l'antra à environ 3 cm du pylore et au niveau du tiers supérieur du fundus. Les échantillons doivent être adressés rapidement au laboratoire en utilisant un

milieu de transport spécifique à +4°C (milieu Portagerm Pylori, BioMérieux). Au-delà de 24 h, il faut congeler les biopsies dans un tube sec et les acheminer en carboglace ou en azote liquide.

#### *Broyage des biopsies*

Il est conseillé de broyer les biopsies avec du matériel jetable (micro tube + pilon) dans un bouillon nutritif.

#### *Examen microscopique*

Le produit de broyage est étalé en frottis sur une lame colorée par la méthode de Gram. *H. pylori* apparaît comme un bacille incurvé, ou spiralé à Gram négatif. La sensibilité de l'examen microscopique est de 75%.

#### *Mise en culture*

C'est la méthode la plus spécifique. Elle permet de déterminer la sensibilité de la bactérie isolée aux antibiotiques. Sa sensibilité peut atteindre 95% si les étapes de la phase pré-analytique sont optimales. Ses inconvénients sont liés aux exigences du transport des biopsies au laboratoire et au délai prolongé de réponse car cette bactérie a une croissance lente.

Le produit de broyage est ensemencé sur un milieu constitué d'une base gélosée (milieux cœur-cervelle, Columbia, Wilkins-Chalgren ou Brucella, par exemple) additionnée de 10% de sang (mouton, cheval ou humain). Des suppléments sélectifs sont utilisés pour inhiber la croissance de contaminants occasionnels. Une gélose prête à l'emploi est commercialisée par bioMérieux, elle présente une bonne sensibilité et une bonne sélectivité.

L'incubation est réalisée rapidement en atmosphère microaérobie, humide, à environ 35°C +/- 2°C. En primoculture, les colonies n'apparaissent pas avant 3 jours. Les primocultures doivent être incubées 10-12 jours avant d'être déclarées négatives. Dès l'apparition d'une pousse bactérienne, les colonies doivent être repiquées afin d'éviter l'apparition rapide de formes coccoïdes non subcultivables.

L'identification à l'espèce est facile sur les critères d'exigence culturale (microaérobie), l'aspect incurvé ou spiralé au Gram et la présence d'une activité uréasique, oxydasique et catalasique. La spectrométrie de masse MALDI-TOF utilisant les bases de données commerciales ne permet pas l'identification de *H. pylori* du fait de la grande diversité des souches rencontrées.

Selon les recommandations HAS de 2017, la gastroscopie avec envoi des biopsies pour examen histopathologique et culture (+/-PCR) est recommandée en première intention pour les patients avec symptômes orientant vers une pathologie digestive haute notamment :

- syndrome ulcéreux ;
- dyspepsie chez un patient > 40-45 ans et/ou en cas de symptômes d'alarme (dont dysphagie, amaigrissement, anémie) ;
- anémie ferriprive ou carence en vitamine B12 sans cause trouvée ;
- patients avec facteurs de risque de cancer gastrique : personnes > 40-45 ans, apparentées à un patient ayant eu un cancer gastrique ;
- autres facteurs de risque : lymphome gastrique du MALT ;
- intervention bariatrique prévue.

#### *Détection moléculaire*

La PCR en temps réel permet de façon beaucoup plus rapide que la culture la détection spécifique de *H. pylori* à partir des biopsies gastriques. Des trousse diagnostiques commercialisées et performantes, sont disponibles et donnent un résultat en 2 à 4 h. La sensibilité est supérieure à celle de la culture. L'automatisation de l'extraction en facilite la réalisation. Ces trousse renseignent toutes sur la présence de l'infection et des mutations associées à la résistance aux macrolides.

Une trousse utilisant une PCR multiplex suivie d'une hybridation sur bandelette est aussi disponible et permet la recherche des mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones en plus des macrolides.

La détection de *H. pylori* par PCR n'est pas encore inscrit à la NABM.

### **Méthodes non invasives**

-Test respiratoire à l'urée marquée

Ce test est basé sur l'activité uréasique de *H. pylori*. Il détecte la production de CO<sub>2</sub> marqué au carbone 13 à partir d'urée <sup>13</sup>C ingérée par le patient. Le test doit être réalisé à jeun, avant tout traitement ou au moins 4 semaines après la fin d'un traitement antibiotique et à 2 semaines de l'arrêt des inhibiteurs de la pompe à proton. Le <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> est détecté dans l'air expiré, juste avant et 30 min après l'ingestion de l'urée marquée, par spectrométrie de masse ou infrarouge.

Les prélèvements sont adressés aux laboratoires équipés sans conditions particulières de transport. La sensibilité et la spécificité de ce test dépassent 95%. Il est particulièrement recommandé pour le contrôle de l'efficacité du traitement d'éradication. Le <sup>13</sup>C étant un isotope naturel non radioactif, ce test peut être réalisé sans danger chez l'enfant et les femmes enceintes.

#### -Sérologie

De nombreuses trousse diagnostiques utilisant les techniques ELISA ou Western-blot sont commercialisées mais seulement 4 ont une sensibilité et une spécificité supérieures à 90% selon une étude de l'ANSM (ex-AFSSAPS) et sont donc recommandées. A l'opposé, les tests de diagnostic rapide immuno-chromatographiques et ceux utilisant de la salive ou des urines ne sont pas recommandés du fait de leurs performances médiocres. La sérologie est peu coûteuse et de réalisation facile. Elle est recommandée comme test diagnostique en cas d'ulcère hémorragique, d'utilisation récente d'inhibiteur de la pompe à protons (IPP), d'antibiotiques ou en cas de charge bactérienne faible (atrophie gastrique et lymphome du MALT) car les autres tests peuvent être faussement négatifs. Cependant elle ne permet pas de distinguer une infection active d'une infection ancienne à cause de la persistance fréquente des anticorps après un traitement antibiotique efficace. Elle n'est donc pas utilisée pour le contrôle d'éradication. L'HAS recommande la sérologie comme test diagnostique de première intention dans les cas suivants :

Personnes ou patients sans symptôme digestif :

-< 40-45 ans, apparentés à un patient ayant eu un cancer gastrique ;

-ou avec antécédent d'ulcère sans preuve d'éradication de *H. pylori* (y compris avant prise d'AINS ou d'aspirine à faible dose) ;

-ou avec purpura thrombopénique immunologique.

En cas de positivité, il est recommandé de pratiquer une endoscopie avec envoi de biopsies pour culture et PCR.

#### -Recherche de *H. pylori* dans les selles

*H. pylori* est éliminé dans les selles sous forme non viable, ce qui rend possible la détection de son ADN par amplification génique. La limite de cette recherche est la présence d'inhibiteurs de la *Taq* polymérase dans les échantillons. Des formats de PCR adaptés aux selles commencent à être commercialisés et permettent la détection à la fois de la bactérie et des mutations associées à la résistance aux macrolides.

Une autre méthode de recherche est la détection d'antigènes spécifiques de cette bactérie par technique ELISA ou immuno-chromatographique dans les selles. Les tests utilisant des anticorps monoclonaux doivent être utilisés. La sensibilité et la spécificité de ces tests sont légèrement inférieures à celles du test respiratoire à l'urée marquée. Ils sont donc recommandés pour le contrôle d'éradication quand le test respiratoire n'est pas disponible ou peu praticable (enfants).

Ces tests ne sont pas inscrits à la NABM.

#### -Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les critères proposés par le CA-SFM et harmonisés en fonction des critères proposés par l'EUCAST (CA-SFM/EUCAST 2018) :

-milieu MH-10% sang de mouton ou milieu MH-F ;

-inoculum : 3 McFarland ;

-incubation : atmosphère microaérobie, 35 ± 2°C, 48 h. Si la culture est insuffisante après 48h, réincuber immédiatement et effectuer une lecture après 72 h d'incubation ;

-lecture : mesurer les CMI à l'intersection de l'ellipse d'inhibition avec la bandelette de E-test. Ne pas tenir compte des images « fantômes » au sein des zones d'inhibition ;

-contrôle de qualité : *Helicobacter pylori* CCUG 17874.

Selon les recommandations du Groupe d'Etude Français des Helicobacters, du CNR *Helicobacter* et du CA-SFM, les antibiotiques qui doivent être testés (en CMI uniquement) sont la clarithromycine et la lévofloxacine. Il n'est pas nécessaire de tester l'amoxicilline car cette résistance est rare, ni le métronidazole du fait du manque de reproductibilité des résultats de CMI et de sa signification clinique limitée. La sensibilité à la tétracycline et aux rifamycines peut être testée en seconde intention bien que les résistances soient rares.

Les valeurs critiques sont indiquées dans les recommandations du CA-SFM.

**Statistiques de fréquentation du site internet du CNR Campylobacters-Hélicobacters**

# Statistiques du site du CNRCH

Année 2017

## Introduction

Cette analyse d'audience porte sur l'année 2017. Elle porte sur la totalité des pages du site internet du CNRCH (<https://www.cnrch.fr>). À noter, le changement de nom de domaine (précédemment [cnrch.u-bordeaux2.fr](https://www.cnrch.u-bordeaux2.fr)), le passage au HTTPS ainsi que le changement d'outil de mesure de l'audience (Google Analytics au lieu de Xiti).

## Fréquentation 2017

Sur l'année 2017, le site a accueilli environ 2855 visiteurs qui ont vu plus de 5436 pages (contre 3918 visiteurs et 10 821 pages vues en 2016).

La durée moyenne de visite est d'environ 1 minutes 26 secondes pour environ 2,17 pages vues.

Les pages les plus consultées sont les suivantes :

- 1) Accueil (31% des visites)
- 2) Envoi des souches (25% des visites)
- 3) Le CNRCH (11,30% des visites)
- 4) Actualités du CNRCH (9% des visites)
- 5) Contact (5% des visites)

## Fréquentation 2006 - 2017

Entre 2006 et 2017, le site a accueilli environ 41 795 visiteurs uniques qui ont vu plus de 109 654 pages.

Année	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Visiteurs	4281	4633	4548	3897	4078	3426	2811	2333	2178	2837	3918	2855
Pages vues	9806	10828	10964	9188	10255	9923	8893	7983	7157	8400	10821	5436

## Affluents

L'analyse des affluents permet de savoir par quels moyens les visiteurs sont arrivés sur le site.

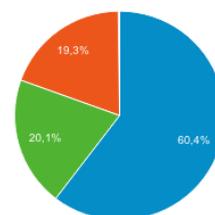
Sur la période étudiée (Année 2017), une large majorité des visiteurs (60,4%) sont venus par l'intermédiaire des moteurs de recherche, soit une hausse de 2,7 points par rapport à 2016.

L'accès direct ne représente que 20% des visites. Ce sont tous les visiteurs ayant directement tapés l'adresse dans leur navigateur Internet. C'est en quelque sorte la notoriété spontanée du site, le nombre de personnes qui connaissent l'URL officielle du site (suite à la lecture de documents, une conférence, ...).

Les liens externes représentent plus de 19,3% des visites. En effet, le site CNRCH est très bien référencé sur de nombreux annuaires mais aussi sur un nombre important de sites traitant des mêmes domaines.

### Affluents – Année 2017

	2 291	2 291
	% du total: 100,00 % (2 291)	% du total: 100,00 % (2 291)
<input type="checkbox"/> 1. <span style="color: blue;">■</span> Organic Search	1 428	60,41 %
<input type="checkbox"/> 2. <span style="color: green;">■</span> Direct	475	20,09 %
<input type="checkbox"/> 3. <span style="color: red;">■</span> Referral	456	19,29 %
<input type="checkbox"/> 4. <span style="color: yellow;">■</span> (Other)	3	0,13 %
<input type="checkbox"/> 5. <span style="color: cyan;">■</span> Social	2	0,08 %



Source: Google Analytics

### Activité des moteurs de recherche:

Le site du CNRCH est présent dans les moteurs de recherche et annuaires les plus importants (Google, Bing) et de nombreux moteurs alternatifs (ex : Ask, Exalead,...).

Les mots-clés utilisés pour accéder au site sont : « cnr campylobacter », « cnr campylo », « cnrch », « cnr helicobacter » ou une combinaison de mots avec un de ces termes.

## Géolocalisation

La majorité des visiteurs proviennent de France (76,5%), suivi par les Etats-Unis (3%), la Corée du Sud (2%), l'Algérie (1,7%), le Maroc (1,4%), la Belgique (1,13%), ...

Ces données sont cohérentes car le site et son contenu est en langue française, et s'adresse essentiellement à un public français.