



# RAPPORT ANNUEL

# D'ACTIVITE 2023

***Année d'exercice 2022***

**CNR Campylobacter et Hélicobacter**

|                 | Organisme / Structure d'hébergement | Responsable                         |
|-----------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Laboratoire CNR | <a href="#">CHU de Bordeaux</a>     | Pr <a href="#">Philippe Lehours</a> |
|                 |                                     |                                     |
|                 |                                     |                                     |
|                 |                                     |                                     |
|                 |                                     |                                     |

|                                                                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Guide de remplissage</b>                                                                                                                        | 2  |
| <b>Résumé analytique</b>                                                                                                                           | 5  |
| Faits marquants                                                                                                                                    | 5  |
| <b>Executive summary</b>                                                                                                                           | 6  |
| Highlights                                                                                                                                         | 6  |
| <b>1. Missions et organisation du CNR</b>                                                                                                          | 7  |
| Organigramme                                                                                                                                       | 7  |
| Mission et Organisation                                                                                                                            | 8  |
| Démarche Qualité                                                                                                                                   | 8  |
| <b>2. Activités d'expertise</b>                                                                                                                    | 9  |
| 2.1 Evolution des techniques                                                                                                                       | 9  |
| 2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse                                                                                       | 9  |
| 2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires                                                                                              | 11 |
| 2.4 Collections de matériel biologique                                                                                                             | 12 |
| 2.5 Activités d'expertises                                                                                                                         | 13 |
| 2.6 Activités de séquençage                                                                                                                        | 14 |
| 2.7 Partage de séquences produites par les CNR                                                                                                     | 22 |
| <b>3. Activités de surveillance</b>                                                                                                                | 23 |
| 3.1 Description du réseau de partenaires                                                                                                           | 23 |
| 3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections                                                                             | 27 |
| 3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux                                                                        | 32 |
| 3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux                                                                        | 39 |
| 3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance                                                                                    | 39 |
| <b>4. Alertes</b>                                                                                                                                  | 42 |
| <b>5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil</b>                                                             | 43 |
| 5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé                                                                                               | 43 |
| 5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires                                                                                                  | 44 |
| 5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)                                                                           | 44 |
| <b>6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR</b>                                                               | 45 |
| 6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR     | 45 |
| 6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR | 53 |
| <b>7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux</b>                                 | 57 |
| <b>8. Programme d'activité pour les années suivantes</b>                                                                                           | 58 |
| <b>1. Annexe 1 : Missions &amp; organisation du CNR</b>                                                                                            | 63 |
| 1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés                                                                                      | 63 |
| 1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés                                                                                  | 64 |
| 1.3 Locaux et équipements                                                                                                                          | 66 |
| 1.4 Collections de matériel biologique                                                                                                             | 67 |
| 1.5 Démarche qualité du laboratoire                                                                                                                | 69 |
| <b>2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR</b>                                                                                                   | 70 |
| 2.1 Liste des techniques de référence                                                                                                              | 70 |
| 2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR                                                                                                   | 70 |
| <b>3. Annexe 3 : Autres informations (non destinées à être rendues publiques)</b>                                                                  | 76 |
| 3.1 Permanence du CNR                                                                                                                              | 76 |
| 3.2 Autorisations MOT                                                                                                                              | 76 |
| 3.3 Autorisations d'exercer la biologie médicale                                                                                                   | 77 |
| 3.4 Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo                                                                                     | 77 |

|     |                                                                                                                                                                                 |    |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.5 | Difficultés rencontrées par le CNR au cours de l'année N, y compris en termes de mise à disposition de la subvention versée par Santé publique France.....                      | 81 |
| 3.6 | Liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR..... | 81 |
| 3.7 | Autres remarques à destination du comité des CNR.....                                                                                                                           | 81 |

## RESUME ANALYTIQUE

### Faits marquants

L'entérite à *Campylobacter sp* 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 sp.* est en augmentation constante depuis 1991 et est supérieure à celle des Salmonelles.

Nous travaillons avec un réseau de correspondants privés et hospitaliers qui acceptent de nous envoyer leurs souches. L'activité *Campylobacter* a continué d'augmenter en 2022, dû en particulier à la forte activité de saisie des laboratoires sur le site Campy-Internet mais aussi à l'intégration de nouveaux laboratoires notamment hospitaliers.

*C. jejuni* reste l'espèce majoritairement isolée de selles suivie par *C. coli*. La troisième bactérie isolée majoritairement de selles est *C. fetus*, à égalité avec *Aliarcobacter butzleri*. *C. fetus* reste l'espèce la plus invasive. Les supports génétiques de résistance ont été caractérisés en 2022 pour *A. butzleri*. Les sources majeures de contamination pour *C. jejuni* et *C. coli* sont la volaille et les ruminants. Les résistances aux antibiotiques restent relativement stables par rapport aux dernières années même si le pourcentage de résistance aux fluoroquinolones chez *C. jejuni* est dorénavant presque identique à celui retrouvé chez *C. coli*. En revanche le pourcentage de *C. coli* porteurs de érythromycine-méthyltransférases augmente. Le CNR a développé son pipeline d'analyses bioinformatiques afin de l'appliquer en routine à l'analyse des génomes bactériens.

Pour *Helicobacter pylori*, le CNR travaille avec un réseau de correspondants locaux et nationaux. L'activité *H. pylori* au CNRCH a poursuivi sa progression en 2022 grâce en particulier au recrutement de nouveaux correspondants. L'année 2022 confirme la diminution lente mais régulière de la résistance primaire aux macrolides. Une souche résistante à haut niveau à la tétracycline a été identifiée en 2022.

La PCR *H. pylori* est remboursée depuis décembre 2022. Notre CNR a œuvré pour adapter sur des automates de PCR syndromiques cette PCR afin de la rendre accessible à tous.



## EXECUTIVE SUMMARY

### Highlights

*Campylobacter* sp. enteritis is the most common intestinal bacterial infection in both developed and developing countries. The incidence of *Campylobacter* sp infections has been rising steadily since 1991, and is higher than that of *Salmonella*.

We work with a network of private and hospital laboratories who agree to send us their strains. *Campylobacter* activity continued to increase in 2022, thanks in particular to the high number of laboratories entering data on the Campy-Internet website and the integration of new laboratories, notably hospital laboratories.

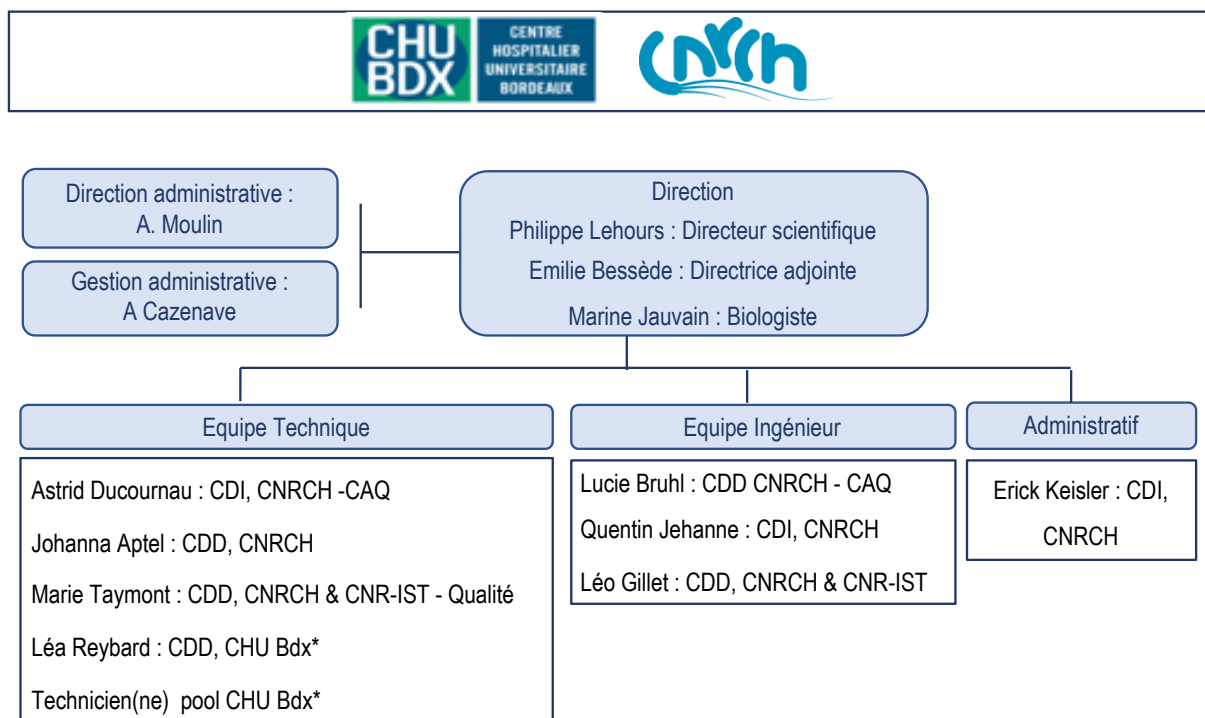
*C. jejuni* remains the species most frequently isolated from stools, followed by *C. coli*. The third most common stool-isolated bacterium is *C. fetus*, tied with *Aliarcobacter butzleri*. *C. fetus* remains the most invasive species. Genetic supports for resistance were characterized in 2022 for *A. butzleri*. The main sources of contamination for *C. jejuni* and *C. coli* are poultry and ruminants. Antibiotic resistance remains relatively stable compared with recent years, although the percentage of fluoroquinolone resistance in *C. jejuni* exceeds that in *C. coli*. On the other hand, the percentage of *C. coli* carrying erythromycin methyltransferases is increasing. The CNR has developed its bioinformatics analysis platform with a view to applying it routinely to the analysis of bacterial genomes for the next contract.

For *Helicobacter pylori*, the NRC *Helicobacter* works with a network of local and national correspondents. The CNRCH's *H. pylori* activity continued to grow in 2022, thanks in particular to the recruitment of new correspondents. The year 2022 confirmed the slow but steady decline in primary macrolide resistance. A strain with high-level resistance to tetracycline was identified in 2022. *H. pylori* PCR is reimbursed since December 2022. Our CNR has worked to adapt syndromic PCR to make it accessible to all.

# 1. Missions et organisation du CNR

En l'absence d'éléments nouveaux : renvoyer à l'annexe 1.

## Organigramme



| Fonction                    | Nom                                                                       | Qualification   | Statut    |
|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------|
| Responsable scientifique    | Philippe Lehours                                                          | Ph., Dr. ès Sci | PU-PH     |
| Responsable adjoint         | Emilie Bessède                                                            | Ph., Dr. ès Sci | MCU-PH    |
| Biologiste                  | Marine Jauvain                                                            | Ph.,            | AHU       |
| Ingénieur hospitalier, CAQ  | Lucie Bénéjat                                                             | M2              | CDD       |
| Ingénieur hospitalier       | Quentin Jehanne                                                           | Dr. ès Sci      | CDI       |
| Ingénieur hospitalier       | Léo Gillet                                                                | M2              | CDD       |
| Technicienne, CAQ           | Astrid Ducournau                                                          | BTS             | CDI       |
| Technicienne                | Johanna Aptel                                                             | BTS             | CDD       |
| Technicien(ne) CHU Bordeaux | X (pool des techniciens du laboratoire de Bactériologie du CHU Pellegrin) | BTS             | CDI       |
| Technicienne CHU Bordeaux   | Léa Reybard (préparation de milieux de culture)                           | BTS             | CDI       |
| Technicienne Qualité        | Marie Taymont                                                             | BTS             | CDD (40%) |
| Secrétaire                  | Erick Keisler                                                             | BTS             | CDI (80%) |

Evolutions internes depuis la candidature de renouvellement :

- Remplacement en Janvier 2023 de Mme Marine Bouhier, technicienne en CDD, par Mme Johanna Aptel.
- Remplacement en Avril 2023 de la technicienne qualité partagée à 50% avec le CNR-IST (Pr C Bébéar) : Mme Marie Taymont remplace Mme Charlene Ancelin.

- Intégration de Mme Marine Jauvain, AHU au Laboratoire de Bactériologiste, comme biologiste au sein du CNRCH.
- Obtention de CDI pour Mr Quentin Jehanne, Mme Astrid Ducournau et Mr Erick Keisler.
- Recrutement à compter du 01 juillet 2023 de Léo Gillet, ingénieur en bioinformatique partagé 50/50 par le CNRCH et le CNR-IST (Pr C Bébéar).

## Mission et Organisation

Aucune évolution notable dans les missions du CNR depuis le dépôt de candidature de renouvellement.

## Démarche Qualité

Audits : Un audit de traçabilité sur la culture des *Campylobacter sp* a été réalisé au sein du CNR le 18/10/22. Il a fait l'objet de 4 écarts et de 3 remarques. Les 4 écarts ont tous été clôturés. Le CNR a eu sa 1ère visite COFRAC en décembre 2022. A l'issu de cet audit, aucun écart n'a été soulevé. Le laboratoire sera officiellement accrédité sur l'identification des *Campylobacter sp* et autres germes apparentés et la détection de *Helicobacter pylori* par PCR en temps réel en juillet 2023.

EEQ/CIL :

| Programme EEQ          | Examen                                              | Méthode                      | Nb EEQ | Nb EEQ conformes |
|------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------|--------|------------------|
| <b>ECDC</b>            | Identification bactérienne ( <i>Campylobacter</i> ) | MALDI-TOF                    | 5      | 5                |
|                        | ATB                                                 | Diffusion en milieu gélosé   |        |                  |
| <b>QCMD</b>            | PCR HP                                              | PCR en temps Réel LC480      | 10     | 10               |
| <b>RING TEST (CIL)</b> | Culture HP                                          | Milieu sélectif              | 10     | 10               |
|                        | Identification                                      | Conventionnelle              |        |                  |
|                        | ATB                                                 | Bandelettes CMI              |        |                  |
|                        | Biomol                                              | PCR en temps réel LC480      |        |                  |
| <b>LabQuality</b>      | Détection Ag <i>H. pylori</i> /selles               | Détection immuno-enzymatique | 6      | 6                |
| <b>INSTAND</b>         | Sérologie <i>C. jejuni</i>                          | ELISA                        | 2      | 2                |

EEQ du pipeline bioinformatique du CNR : régulièrement, l'ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) au travers du réseau «FWDAMR-RefLabCap» (<https://www.fwdamr-reflabcap.eu>) propose aux laboratoires nationaux de références d'analyser une sélection de souches de *Campylobacter sp*. dans le but d'harmoniser, au sein de l'union européenne, la détection de l'espèce ainsi que la surveillance de la résistance aux antibiotiques.

Il s'agit d'un test important pour pouvoir valider le pipeline d'analyses automatiques de génomes du CNRCH. En 2022, 2 contrôles qualité ont été proposés et effectués : le premier à partir de 5 souches de *C. jejuni* ou *C. coli* et le second directement à partir de fichiers de séquençage .fastq. Les résultats génomiques obtenus étaient en adéquation avec ce que l'ECDC attendait. Le pipeline d'analyses du CNR et plus particulièrement la base de données de résistance établie et affinée au cours du temps a permis de retrouver précisément chaque mutation et gène de résistance.

Projets pour l'année 2023 : L'accréditation se poursuit et va s'étendre avec l'ajout d'autres examens. Actuellement, la réalisation des tests et la rédaction des dossiers de vérification de méthode sur la culture de *Helicobacter pylori*, la sérologie de *Campylobacter jejuni* et la détection des antigènes de *H. pylori* dans les selles sont en cours. Ces dossiers seront déposés au COFRAC en vue d'obtenir l'accréditation de 100% des techniques lors de la prochaine visite. Un audit interne est programmé le 27 Juin 2023 sur la culture et les antibiogrammes de *H. pylori*.

## 2. Activités d'expertise

### 2.1 Evolution des techniques

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

Le CNRCH a cependant initié en 2022 la mise en place d'un pipeline d'analyses automatisées des génomes de *Campylobacter sp.* Ceci sera présenté dans le bilan 2022 des activités de NGS du CNR.

### 2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousses

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

##### -Antibiogrammes de *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli* en plaque Sensititre.

Les antibiogrammes de *Campylobacters* peuvent être réalisés par diffusion en milieu gélosé ou par détermination des CMI. L'objectif de ce travail fut d'évaluer, sur des souches cliniques de *C. jejuni* et *C. coli*, la détermination de CMI par dilution en milieu liquide en plaque Sensititre.

Une sélection de 71 souches de *Campylobacters* (56 *C. jejuni* et 15 *C. coli*) reçues au CNRCH entre 2018 et 2019 ont été incluses ainsi que 5 souches d'un CQ externe envoyé par l'ECDC en 2021 complétées par la souche de CQ *C. jejuni* CCUG11284. Le profil de sensibilité de ces souches était connu : antibiogramme obtenu par diffusion en milieu gélosé et résistome déterminé par NGS. Les souches ont été testées sur plaques Sensititre EUCAMP3 AST Plate commercialisées par ThermoFischer, selon les recommandations du fournisseur. Les plaques ont été lues à 24h et 48h d'incubation.

Résultats : Les profils de sensibilité à la ciprofloxacine (CIP), tétracycline (TET), érythromycine (ERY) et gentamicine (GN) étaient concordants à 48h avec les résultats attendus à la fois pour les souches résistantes (R) et sensibles (S). Pour la CIP et l'ERY les résultats étaient illisibles à 24h pour respectivement 7 et 9 cas. Une souche exprimant la méthyltransférase *ermN* associée à la résistance à l'ERY était vue S à 24h mais correctement catégorisée R à 48h. Les trois souches de *C. coli* exprimant *ermB* ont bien été catégorisées R même à 24h. Pour la GN et la TET les résultats étaient illisibles à 24h pour respectivement 9 et 11 cas. Une souche de *C. coli* possédant une chloramphenicol acetyl-transférase a bien été lue R au chloramphénicol sur plaque Sensititre. Pour l'Ertapénème (ETP), la CMI était illisible à 24h pour 22 souches. En considérant le cut-off pour ETP  $R > 1\text{mg/L}$ , 9 souches ont été catégorisées R à 48h soit 11,7%. Ce pourcentage de résistance est très supérieur aux données du CNRCH pour cette molécule.

Conclusion : Les antibiogrammes de *C. jejuni* et *C. coli* sur plaque Sensititre sont concordants avec les résultats attendus (phénotypiques et génotypiques). Elles doivent cependant être lues à 48h afin de disposer de l'ensemble des CMI et de ne pas sous-estimer des mécanismes de résistance s'exprimant plus lentement (*ermN* par exemple). Le CNRCH investigate actuellement les discordances observées pour ETP. Ces résultats ont été présentés sous la forme d'un poster au congrès de la RICAI 2022.

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

##### -PCR *Helicobacter pylori* sur automate Ingenius à l'aide des réactifs RIDA®GENE *H. pylori*

La PCR *Helicobacter pylori* permet une détection sensible de cette bactérie et des mutations associées à la résistance aux macrolides. Le but de cette étude était d'automatiser et d'évaluer les performances de la PCR RIDA®GENE *H. pylori* (R-Biopharm) sur automate Ingenius (Elitech) à partir de biopsies et selles.

200 biopsies gastriques reçues au laboratoire entre juillet et octobre 2021 ont été testées en rétrospectif. Ces 200 biopsies concernaient 105 femmes et 95 hommes (sex-ratio H/F= 0,48) avec une moyenne d'âge de 49 ans  $\pm 16,9$ . La PCR *H. pylori* du CNRCH a été utilisée comme référence. En cas de discordance, les renseignements cliniques et histologiques ont été considérés. 55 selles reçues au laboratoire en 2014, de statut *H. pylori* connu, ont également été testées selon le même protocole que les biopsies gastriques (mis à part le prétraitement).

Résultats : Sur 200 biopsies, 100 étaient attendues négatives pour *H. pylori* : 98 biopsies ont été détectées négatives à l'Ingenius. Deux biopsies étaient positives (Ct 35 et 38,4). Aucun antécédent ni notion d'infection à *H.*

*pylori* était disponible pour ces 2 cas.

Les 100 biopsies attendues positives pour *H. pylori* ont toutes été détectées positives sur l'Ingenius. La moyenne des Ct de détection de *H. pylori* était de 23,0 Ct  $\pm$  2,5. Une population sensible aux macrolides était attendue pour 65 biopsies, une infection par un *H. pylori* avec une mutation A2142-43G pour 30 biopsies, et une population mixte sensible + mutée A2142-43G pour 5 biopsies. Elles ont toutes été parfaitement détectées et catégorisées sur cet automate.

La sensibilité du kit sur Ingenius était de 100%, la spécificité de 98-100%, la VPN de 100% et la VPP de 98-100% pour la détection de *H. pylori* et la catégorisation de la sensibilité aux macrolides.

Les essais de PCR *H. pylori* sur l'Ingenius sur échantillons de selles n'ont donné aucun faux positif sur les 30 négatifs attendus et 7 faux négatifs sur les 25 positifs attendus, soit une sensibilité de 72% et une spécificité de 100%. La résistance aux macrolides n'a pas été détectée pour 2 échantillons de selles sur 6 attendus résistants, soit une sensibilité de 66,7% et une spécificité de 100% (pas de faux positifs).

Conclusions : Les performances de la PCR RIDA®GENE *H. pylori* sur automate Ingenius concernant les biopsies gastriques sont excellentes. Les essais sur selles sont moins performants.

Les résultats obtenus sur biopsies gastriques ont été publiés en 2023 dans Eur J Clin Infect Dis (cf liste des publications) doi: 10.1007/s10096-023-04563-3.

#### -Evaluation du kit de PCR temps réel *Helicobacter pylori* Bosphore Launch Diagnostics

Le kit « Bosphore *Helicobacter pylori* Genotyping Kit V1 », commercialisé par Launch Diagnostics, a été évalué au CNRCH en 2022. Quarante-deux biopsies gastriques conservées broyées à -80°C et à statut *H. pylori* connu, ont été utilisées pour cette évaluation.

Sur 20 prélèvements attendus négatifs, 9 ont été retrouvés faussement positifs (Ct de 27,4 à 41,6). Sur 22 prélèvements attendus positifs, aucun faux négatif n'a été observé.

Performance de détection de l'infection :

| PCR Bosphore |   |         |         |  | Se  | 100,0% |
|--------------|---|---------|---------|--|-----|--------|
|              |   |         |         |  | Sp  | 55,0%  |
| PCR<br>CNRCH | - | 11 (VN) | 9 (FP)  |  | VPN | 100,0% |
|              | + | 0 (FN)  | 22 (VP) |  | VPP | 71,0%  |

VN : vrai négatif ; FN : faux négatif ; FP : faux positif ; VP : vrai positif ; Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPN : valeur prédictive négative ; VPP : valeur prédictive positive.

La détection de *H. pylori* avec le kit Bosphore a une excellente sensibilité de 100% mais une mauvaise spécificité de 55%.

Performance de catégorisation du génotype de sensibilité aux macrolides : sur les 22 prélèvements positifs, 9 étaient attendus sensibles aux macrolides et 13 résistants (7 mutés A2142/43G, 1 muté A2142C, 4 doubles populations A2142/43G+sauvage et 1 double population A2142C+A2142/43G).

| PCRBosphore  |   |        |         |  | Se  | 100,0% |
|--------------|---|--------|---------|--|-----|--------|
|              |   |        |         |  | Sp  | 100,0% |
| PCR<br>CNRCH | - | 9 (VN) | 0 (FP)  |  | VPN | 100,0% |
|              | + | 0 (FN) | 13 (VP) |  | VPP | 100,0% |

La détermination de la résistance à la clarithromycine est excellente avec 100% de concordance. Les mutations fréquentes (A2142G et A2143G) sont parfaitement détectées. Le témoin A2142C fourni dans le kit ne fonctionnant pas, la détermination de cette mutation s'effectue par déduction. Ce point reste à améliorer.

Les autres points négatifs du kit sont les suivants :

-3 mix à préparer, avec 3 canaux de lecture pour chaque mix : complexité d'interprétation ;

-besoin d'au moins 30µl d'éluat par échantillon ;

-mauvaise performance de détection des cas négatifs : seulement 55% de spécificité.

Ces résultats ne feront pas objet de communication en congrès ni de publication.

#### -Evaluation du broyage automatisé de biopsies gastriques sur broyeur MP Fast prep5G

Afin d'évaluer la possibilité d'automatiser le broyage des biopsies gastriques au CNRCH, un broyeur automatique de tissu a été testé au CNRCH.

Le broyage automatique a été testé à l'aide du broyeur FastPrep-24 5G de MP Biomedicals. Un tube contenant une bille, 500µl de sérum physiologique et un fragment de biopsie permet le broyage automatisé (15 sec, vitesse minimale) d'un fragment de biopsie. Chaque prélèvement testé par broyage automatique devait être en quantité minimale de 2 morceaux par Portagerm reçu afin d'être comparé à la méthode manuelle.

Le broyage manuel, qui est la technique utilisée au CNRCH, consiste à broyer à l'aide d'un pilon en plastique un fragment de biopsie dans un tube de 1,5 ml contenant 500µl de bouillon nutritif.

Afin d'être comparable au pré-traitement effectué au CNRCH avant la mise en culture, les broyats obtenus par méthode automatique ou manuelle ont été congelés à -80°C le temps de connaître le résultat de l'analyse par PCR *H. pylori*. Seuls les prélèvements positifs par PCR ont ensuite été décongelés et mis en culture.

Dix-neuf prélèvements de biopsies gastriques ont été testés par broyage manuel et broyage automatique. Sur les 19 prélèvements préparés à la fois par broyage manuel et automatique, 9 étaient PCR-positifs et ont donc été décongelés et ensemencés sur milieu maison spécifique à la croissance de *H. pylori*. Sur les 9 prélèvements *H. pylori* positif mis en culture, 3 étaient négatifs en culture avec les 2 méthodes de broyage, 3 positifs avec les 2 méthodes de broyage. Pour les 3 autres prélèvements, seule la culture réalisée à partir du broyage manuel a permis une culture positive à *H. pylori*.

| Résultat de culture |          |        |
|---------------------|----------|--------|
| n=                  | FastPrep | Manuel |
| 3                   | neg      | neg    |
| 3                   | neg      | pos    |
| 3                   | pos      | pos    |

Pour les cas de prélèvements uniquement positifs par broyage manuel, le nombre de colonies était faible : 1 à 5 colonies par boîte. Cela indique une légère perte de sensibilité lors du broyage automatique qui impacte l'isolement de *H. pylori* surtout lorsque l'inoculum est faible.

Le CNRCH a décidé de conserver sa méthode manuelle pour le broyage des biopsies gastriques.

## 2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

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

Les souches de Contrôle Qualité (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.

En 2022, nous avons répondu en France à 19 demandes d'envoi représentant 77 souches (51 *Campylobacters*, et 26 *H. pylori*) et effectué 109 envois d'ADN de différentes espèces d'Epsilonprotéobactéries.

La liste est présentée dans le tableau ci-dessous.

| Date       | Destinataire             | Ville/Pays        | Nature                             | Nb |
|------------|--------------------------|-------------------|------------------------------------|----|
| 02/02/2022 | Farida Moreau            | Sens              | souches de <i>Campylobacters</i>   | 1  |
| 02/02/2022 | Loïc Talon               | Avranches         | souches de <i>Campylobacters</i>   | 1  |
| 16/02/2022 | Céline FETTI             | Lyon Croix Rousse | CCUG 17874 <i>H. pylori</i>        | 1  |
| 09/03/2022 | Laetitia Ribler          | Lorient           | souches de <i>Campylobacters</i>   | 1  |
| 23/03/2022 | DORTET Laurent           | Kremlin Bicêtre   | CCUG 17874 <i>H. pylori</i>        | 1  |
| 05/04/2022 | Dr HOMBROUCK ALET Cécile | CH BLOIS          | souche <i>C. jejuni</i> ATCC 33560 | 1  |
| 02/05/2022 | Dr Oliver Dauwalder      | Lyon Croix Rousse | souches <i>Campylobacter</i>       | 18 |
| 18/05/2022 | Dr Hervé Le Bars         | CHU BREST         | ADN + CCUG 17874 <i>H. pylori</i>  | 10 |
| 30/05/2022 | Dr Oliver Dauwalder      | Lyon Croix Rousse | souches <i>Campylobacter</i>       | 2  |

|            |                                   |                        |                                                                                           |    |
|------------|-----------------------------------|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 22/06/2022 | Laura Isabel Korth                | Essen / Allemagne      | souche <i>H. pylori</i> B38                                                               | 1  |
| 06/07/2022 | Dr Oliver Dauwalder               | CHU Lyon Croix Rousse  | souches <i>Campylobacters</i> résistantes à l'amox-clav.                                  | 22 |
| 15/07/2022 | Jean Philippe RAULT               | Metz                   | souches <i>H. pylori</i> R/S Clarithromycine                                              | 5  |
| 01/08/2022 | Dr Bechara SINA RAHME-BIOSYNEX    | Illkirch Graffenstaden | souches ATCC <i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. upsaliensis</i> et <i>C. fetus</i> | 4  |
| 19/09/2022 | Farida Moreau                     | Sens                   | souches de <i>Campylobacter</i>                                                           | 1  |
| 05/10/2022 | Franck Smitz Eurogentec           | Seraing Belgique       | Aliquots ADN <i>H. pylori</i>                                                             | 3  |
| 07/12/2022 | CH Cayenne Dr Vincent Sainte Rose | Cayenne                | souches <i>H. pylori</i> R/S Clari                                                        | 5  |
| 12/12/2022 | CNR <i>H. pylori</i> Belgique     | Yvoir                  | souches <i>H. pylori</i> ring test                                                        | 3  |

## 2.4 Collections de matériel biologique

Nous avons en 2022 transféré 234 souches de *Campylobacter sp* de l'année 2018 vers le Centre de Ressources Biologiques (CRB) du CHU de Bordeaux : 166 issues d'hôpitaux et 158 de laboratoires privés. Elles ont été sélectionnées selon les critères suivants habituels (cf tableau ci-dessous) en rajoutant pour 2022 les souches séquencées par NGS. Les répartitions exactes du nombre de souches sont :

| Critères                                               | Laboratoires privés | Hôpitaux |
|--------------------------------------------------------|---------------------|----------|
| Espèces autres que <i>C. jejuni</i> et <i>C. coli</i>  | 77                  | 69       |
| <i>C. jejuni</i> et <i>C. coli</i> issus d'hémoculture | 11                  | 41       |
| Prélèvements autres que selles et hémoculture          | 1                   | 7        |
| <i>Campylobacters</i> résistants à l'érythromycine     | 33                  | 20       |
| Souches séquencées par NGS                             | 36                  | 29       |
| <b>Total</b>                                           | <b>324</b>          |          |

L'organisation, les conditions de stockage etc... seront présentées en Annexe 1.



## 2.5 Activités d'expertises

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

Notre CNR travaille avec un réseau de 137 laboratoires (versus 114 en 2021) : 69 laboratoires privés et 68 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. Trente de ces correspondants dont 16 hôpitaux saisissent les résultats de 9 souches sur 10 isolées sur le site internet du CNRCH via un accès sécurisé (réseau Campy-Internet). Ces 30 correspondants n'envoient que la 10ème souche au CNR comme contrôle de qualité. Ce système est fonctionnel depuis 2012 avec accord de Santé Publique France (SpFrance).

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 par spectrométrie de masse MALDI-TOF et un antibiogramme conforme aux recommandations du CASFM-EUCAST sur gélose MHF afin de pouvoir intégrer leurs résultats dans l'épidémiologie des infections à *Campylobacter* sp.

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 2022.

|     | Campy.HOP | Campy.COM | Campy-Internet | TOTAL |
|-----|-----------|-----------|----------------|-------|
| Nb. | 1118      | 3431      | 5949           | 10498 |

331 souches n'ont pas subcultivé à l'arrivée au CNR.

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 un réseau de correspondants du CHU de Bordeaux (3,3%), de la région bordelaise (76,4%) et extérieurs à la région bordelaise (20,3%) : 33 CH/CHU et 13 laboratoires privés. Vingt nouveaux correspondants ont envoyé des biopsies gastriques pour diagnostic de *H. pylori* au CNRCH, notamment le CHRU de Brest, le CH Saint Nazaire et le CHI de Marmande. Le laboratoire Eurofins Biooffice de Lormont/Bordeaux Nord est le plus gros demandeur, en ayant envoyé 1695 prélèvements au CNRCH en 2022.

Le tableau ci-dessous récapitule le nombre de prélèvements reçus en 2022 par type de correspondants et par type de prélèvements.

|     | CHU de Bordeaux                            |            |        | Externes                                   |            |        | TOTAL |
|-----|--------------------------------------------|------------|--------|--------------------------------------------|------------|--------|-------|
|     | Biopsies<br>gastriques,<br>souches,<br>ADN | Sérologies | Selles | Biopsies<br>gastriques,<br>souches,<br>ADN | Sérologies | Selles |       |
| Nb. | 88                                         | 510        | 17     | 2595                                       | 17         | 19     | 3246  |
| %   | 14,2%                                      | 15,7%      | 0,5%   | 68,4%                                      | 0,5%       | 0,6%   |       |

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 pour nos correspondants préférant la voie postale).

En 2022, le CNR a reçu 2749 prélèvements (hors sérologie, non traitée par le CNR) pour recherche de *H. pylori*. Ces prélèvements provenaient du CHU de Bordeaux et de 44 hôpitaux français (versus 40 l'année dernière) ainsi que de 15 correspondants extérieurs dont 12 laboratoires privés et 3 hôpitaux privés. Nous avons également reçu 527 (versus 619 en 2021) demandes de sérologies *H. pylori* dont 96,8% venant du CHU de Bordeaux. Ces sérologies sont réalisées sur automate Liaison XL sur le chaîne Plateau Automatisé de Biologie Médicale (PABIM) du pôle de Biologie et Pathologie du CHU de Bordeaux.



## 2.6 Activités de séquençage

Depuis la mise en place de séquençage haut-débit au CNRCH en 2017 et jusqu'à début 2023, un total de 1392 souches ont été séquencées. Au total, ce sont 1244 génomes d'espèces de *Campylobacter* stockés et disponibles à tout moment dans notre base de données, dont : 753 *C. jejuni*, 474 *C. coli*, 7 *C. fetus*, 3 *Campylobacter* sp. non identifiés à ce jour, 2 *C. lanienae*, 2 *C. lari* et 1 souche de *C. showae*, *C. upsaliensis* et *C. ureolyticus*. Nous disposons également de 42 génomes de *Aliarcobacter butzleri* et 2 *A. cryaerophilus*. Pour ce qui est des bactéries du genre *Helicobacter*, une importante variété d'espèces a été séquencée pour un total de 100 génomes. Nous avons ainsi à disposition des génomes de souches de *H. pylori* (les plus représentées avec 62 génomes), *H. cinaedi*, *H. caesarodunensis*, *H. canis*, de nouvelles espèces telles *H. burdigaliensis* et *H. labetoulli* mais aussi des espèces rares comme par exemple *H. muridarum*, *H. pametensis* ou bien *H. fennelliae*.

Notre base de données de séquences contient également une liste de gènes ou mutations associés à la résistance aux antibiotiques couramment utilisés pour le traitement des infections à *Campylobacter* et *Helicobacter*. Cette dernière est utilisée en routine et compte pas moins d'une centaine de mécanismes décrits dans la littérature ou identifiés au CNRCH. Les plus représentés sont : les mutations dans la région QRDR de la GyrA (résistance aux fluoroquinolones), les mutations dans l'ADNr 23S et l'expression de méthyltransférases *erm(B)* et *erm(N)* (résistance aux macrolides), une multitude de variants d'aminoglycoside-phosphotransférases de type APH, AAC, ANT (résistance aux aminoglycosides) et gène *tet* (pour les tétracyclines). Sont également représentés des mutations plus rares notamment dans la séquence de la protéine Pbp1 (amoxicilline) ou bien RpoB (rifampicine). Nous disposons également des séquences de plusieurs gènes et mutations permettant de réaliser du typage moléculaire ainsi que de l'attribution de source de contamination : 7 gènes pour *H. pylori*, 22 pour *C. jejuni* et 259 mutations pour *C. coli*. Est finalement stockée sur notre serveur une base exhaustive de génomes de référence (n=142) permettant de réaliser l'identification des différentes espèces que nous séquençons, avec également les séquences de la protéine GyrA et ADNr 16S correspondantes.

### -Le CNR a mis en place un «pipeline» d'analyse automatisé des génomes de *Campylobacter*, *Helicobacter* et *Aliarcobacter*.

Fin 2022, le pipeline d'analyses automatiques des génomes a été amélioré. Les étapes de nettoyage (Sickle), d'assemblage du génome (SPAdes), de l'identification de l'espèce (FastANI) et de la source potentielle de contamination (STRUCTURE) n'ont pas changé par rapport à la version précédente mais deux étapes ont été entièrement revues :

- La détection de la résistance : initialement effectuée à partir de l'outil Ariba et des bases de données de résistance NCBI, CARD, RESFINDER et CNRCH, la détection des mécanismes de résistance (gènes et mutations) s'effectue désormais à partir de l'outil Blast de NCBI et des génomes assemblés. En se basant sur une version revue des bases NCBI, CARD, RESFINDER et CNRCH, supprimant les gènes en double, Blast va aligner environ 20 000 gènes sur la souche d'intérêt. De plus, la détection effectuée 10 «blasts» en parallèle afin d'optimiser le temps de calcul. Cette nouvelle version garantit un résultat plus probant sans erreur sur les gènes proches entre eux (ex. bêta-lactamases) et permet également d'identifier dans quelle région se trouve le mécanisme de résistance identifié (opéron de résistance? plasmide?). L'étape de détection prend moins de 5 minutes par génome.
- La génération du rapport : Le rapport généré par l'ancienne version du pipeline comportait les principaux résultats mais il manquait de nombreuses informations complémentaires. En plus d'un changement graphique drastique, la nouvelle version contient maintenant : le nom et prénom du patient (seul l'identifiant était visible précédemment), sa date de naissance, la date de prélèvement, la nature de l'échantillon, les informations sur le run de séquençage (date, séquenceur), les marqueurs de virulence identifiés, les informations sur les données brutes (tailles, nombre de reads) et enfin un graphique représentant la couverture de séquençage sur un génome de référence.

```
quentin@quentin-chu: ~/work/
ISOLATE [1/24] 10
04/07/23 15:02:37 Step 1 Data cleaning ...
04/07/23 15:02:39 Step 2 Genome assembly ...
04/07/23 15:03:33 Step 3 Resistance finding ...
04/07/23 15:07:14 Step 4 Species identification ...
04/07/23 15:07:33 Step 5 Molecular typing ...
04/07/23 15:07:34 Step 6 Source attribution ...
04/07/23 15:07:34 Step 7 Data statistics ...
04/07/23 15:09:11 Step 8 Generating results file ...
```

**Figure.** Nouvelle version du pipeline lancé en mode «*terminal*» sur Linux, avec les différentes étapes et temps de calcul correspondants.

Testée en routine depuis 2023, cette nouvelle version est plus intuitive au niveau de l'utilisation et du rendu des résultats. Quelques retours et améliorations ont toutefois été proposés et seront mis en place courant 2023. Il peut en effet être souligné :

- le manque d'informations concernant le dossier lié au patient, tel le numéro de demande du SIL ;
- le manque d'informations claires à propos de la détection des plasmides au sein de la souche ;
- une indication plus intuitive sur la résistance au niveau phénotypique (antibiogrammes) et sur les régions génomiques comportant plusieurs mécanismes de résistance.

Une fois le pipeline entièrement finalisé, les rapports seront systématiquement fournis aux laboratoires correspondants à compter de la fin 2023.

Un exemple de rapport est présenté ci-dessous.



**CENTRE  
HOSPITALIER  
UNIVERSITAIRE  
BORDEAUX**

Centre National de Référence des Campylobacters & Hélicobacters  
Laboratoire de Bactériologie  
CHU Pellegrin  
Place Amélie Raba Léon  
33076 Bordeaux cedex  
Tél: +33 (0)5 56 79 59 77  
Fax: +33 (0)5 57 82 19 77



| Informations patient |            |                     |       | Informations sur le séquençage |                         |  |  |
|----------------------|------------|---------------------|-------|--------------------------------|-------------------------|--|--|
| ID de la souche      | P2_066     | Sexe                | M     | Nom du run                     | 0020-INTEGRAGEN-2022-P2 |  |  |
| Nom                  | [REDACTED] | Code postal         | 47300 | Société                        | INTEGRAGEN              |  |  |
| Prénom               | [REDACTED] | Date de prélèvement | -     | Séquenceur                     | Nova Seq 6000           |  |  |
| Date de naissance    | -          | Nature              | -     | Mois                           | Octobre                 |  |  |
| Age                  | 16         |                     |       | Année                          | 2022                    |  |  |

| Identification de l'espèce, typage moléculaire et attribution de la source de contamination |                                                                                   |     |                                             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|---------------------------------------------|
| Espèce identifiée par ANI (référence)                                                       | Complexe clonal (CC)                                                              | 828 | Source de contamination potentielle         |
| CAMPYLOBACTER COLI CCUG 11283                                                               | Sequence type (ST)                                                                | 899 | VOLAILE                                     |
| Score ANI (significativité ≥ 95%)                                                           | aspA ; glnA ; glnA ; glnA ; pgm ; tkt ; uncA<br>33 ; 39 ; 30 ; 82 ; 113 ; 35 ; 17 |     | Score d'attribution (significativité ≥ 70%) |
| 98.707 %                                                                                    |                                                                                   |     | 99.2 %                                      |

| Détermination moléculaire de la résistance aux antibiotiques                                                             |                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Principaux antibiotiques et mécanismes de résistance correspondants                                                      |                | Autres mécanismes de résistance ou virulence identifiés                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <div>AMP</div> <div>OXA61 G63T</div> <div>Contig 4 - 99.4% IDT - 100.0% COV</div> <div>Positions [ 40722 : 41078 ]</div> | <div>GEN</div> | <div>Base de données ou ATB correspondant</div> <div>(DB) CARD</div> <div>figE.VFG001891(g...</div> <div>Vinulence</div> <div>figM.VFG001893(g...</div> <div>Vinulence</div> <div>figC.VFG001906(g...</div> <div>Vinulence</div> <div>figB.VFG001907(g...</div> <div>Vinulence</div> <div>figA.VFG001908(g...</div> <div>Vinulence</div> <div>figD.VFG001909(g...</div> <div>Vinulence</div> <div>figS.VFG001910(g...</div> <div>Vinulence</div> <div>figL.VFG001917(g...</div> <div>Vinulence</div> <div>pseG.VFG001919(g...</div> <div>Vinulence</div> <div>figK.VFG001927(g...</div> <div>Vinulence</div> <div>hldE.VFG002027(g...</div> <div>Vinulence</div> <div>Cj1419c.VFG01167...</div> <div>Vinulence</div> <div>Cj1420c.VFG01167...</div> <div>Vinulence</div> <div>pseB.VFG012002(g...</div> <div>Vinulence</div> <div>pseC.VFG012006(g...</div> | <div>CTG</div> <div>4</div> <div>3</div> <div>3</div> <div>2</div> <div>2</div> <div>2</div> <div>2</div> <div>2</div> <div>2</div> <div>2</div> <div>1</div> <div>1</div> <div>7</div> <div>1</div> <div>2</div> <div>2</div> <div>1</div> <div>1</div> <div>1</div> | <div>IDT</div> <div>100.0</div> <div>92.9</div> <div>92.4</div> <div>90.5</div> <div>91.2</div> <div>99.7</div> <div>98.4</div> <div>97.7</div> <div>95.1</div> <div>100.0</div> <div>92.1</div> <div>90.5</div> <div>92.9</div> <div>90.6</div> <div>95.9</div> <div>94.7</div> | <div>COV</div> <div>100.0</div> <div>100.0</div> <div>99.7</div> <div>100.0</div> <div>100.0</div> <div>100.0</div> <div>99.2</div> <div>100.0</div> <div>100.0</div> <div>100.0</div> <div>100.0</div> <div>100.0</div> <div>100.0</div> <div>100.0</div> <div>100.0</div> <div>100.0</div> | <div>POSITIONS</div> <div>40841:41614</div> <div>18089:19726</div> <div>30388:31464</div> <div>180841:181335</div> <div>180400:180831</div> <div>160263:160628</div> <div>158347:160260</div> <div>157949:158335</div> <div>53438:536633</div> <div>105516:106340</div> <div>102950:104776</div> <div>278587:279972</div> <div>48216:48977</div> <div>47388:48161</div> <div>124122:125126</div> <div>122990:124120</div> |

| Statistiques sur les données de séquençage et le génome assemblé |                |                                 |              |
|------------------------------------------------------------------|----------------|---------------------------------|--------------|
| Reads bruts (R1)                                                 | 2,361,310      | Taille mappant sur la référence | 1,574,428 pb |
| Reads bruts (R2)                                                 | 2,361,310      | Taille de la référence          | 1,914,845 pb |
| Taille totale (R1)                                               | 354,196,500 pb | Génome couvert à                | 82.222 %     |
| Taille totale (R2)                                               | 354,196,500 pb | Profondeur moyenne              | 189.0        |
|                                                                  |                | Taille du génome assemblé       | 1,655,286 pb |
| Reads nettoyés (R1)                                              | 2,319,381      | Nombre total de contigs         | 12           |
| Reads nettoyés (R2)                                              | 2,319,381      | Taille moyenne des contigs      | 137,940 pb   |
| Taille nettoyée (R1)                                             | 347,066,885 pb | GC %                            | 34.0 %       |
| Taille nettoyée (R2)                                             | 340,268,738 pb | Nombre de CDS                   | 1,677        |

Rapport généré par le Centre National de Référence des Campylobacters & Hélicobacters à Bordeaux le 03/02/2023 à 21:03:21

## -Suivi par génomique des sources de contamination à *C. jejuni* et *C. coli*

***C. jejuni***. Dans le but de suivre l'évolution des réservoirs en fonction de l'invasivité de ce pathogène, 96 nouvelles souches ont été séquencées, provenant de cas cliniques issus de l'année 2021. Les génomes ont été obtenus auprès de la société Integragen, sur séquenceur Novaseq 6000 d'Illumina.

Afin d'attribuer chaque souche à un réservoir, des analyses bio-informatiques à partir des génomes ont été réalisées au CNRCH en se basant sur le logiciel STRUCTURE et les données décrites par Thépault *et al.*, 2017 (doi: 10.1128/AEM.03085-16).

On peut ainsi observer que, pour les souches invasives, les réservoirs volailles et ruminants restent majoritaires avec respectivement 46% et 42% d'attribution. Le réservoir ruminants semble gagner en importance par rapport aux années précédentes. La proportion du réservoir environnement reste toujours très faible. Pour les souches non invasives, l'écart entre la proportion de souches issues de la volaille et celles issues des ruminants se réduit

significativement. 61% de nos souches provenant de selles sont attribuées au réservoir volaille (contre 80% en 2020) et 36% pour le réservoir ruminants (contre 19% en 2020). Un total de 2 souches environnementales a également été déterminé.

Tableau. Total des souches séquencées pour le projet *C. jejuni* invasifs/non invasifs, depuis 2009. Durant l'année 2022, 26 nouveaux génomes de *C. jejuni* invasifs isolés en 2021 ont été séquencés et pour les souches non invasives, 70 nouveaux génomes ont été séquencés.

| Année        | Invasifs   | Non invasifs |
|--------------|------------|--------------|
| 2009         | -          | 39           |
| 2011         | 17         | -            |
| 2012         | 18         | -            |
| 2013         | 33         | -            |
| 2014         | 35         | -            |
| 2015         | 33         | 83           |
| 2016         | 37         | 32           |
| 2017         | 45         | 56           |
| 2018         | 36         | 40           |
| 2019         | 33         | 22           |
| 2020         | 16         | 26           |
| 2021         | +26        | +70          |
| <b>TOTAL</b> | <b>303</b> | <b>298</b>   |

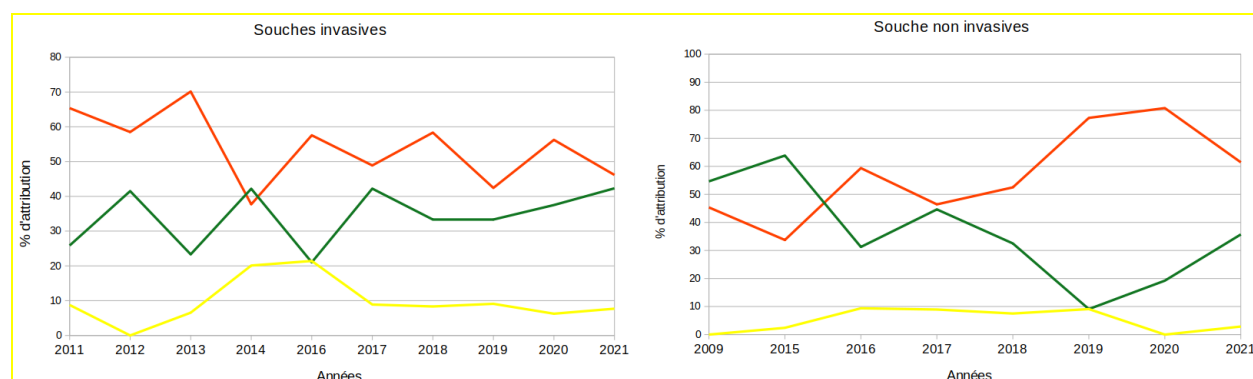


Figure. Évolution des proportions (%) pour chaque réservoir, volaille en orange, ruminants en vert et environnement en jaune, en fonction des années (de 2009 à 2021).

**C. coli.** En 2019, 259 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) permettant de discriminer les populations volaille, ruminant et porc ont été déterminés à partir de plus de 400 souches disponibles dans les bases de données publiques (doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.01787-20>). Ces marqueurs discriminants sont appliqués chaque année sur les souches cliniques de notre laboratoire. En 2022, 48 génomes de *C. coli* ont donc été séquencés dans le but de suivre l'évolution de la répartition des réservoirs.

Tableau. Total des souches séquencées pour le projet d'attribution de source de *C. coli*, depuis 2015.

| Année        | Nb de souches |
|--------------|---------------|
| 2015         | 49            |
| 2016         | 49            |
| 2017         | 49            |
| 2018         | 23            |
| 2019         | 59            |
| 2020         | 96            |
| 2021         | 48            |
| <b>Total</b> | <b>325</b>    |

L'utilisation de mutations en tant que marqueurs génomiques discriminants nous permet ainsi d'observer une nette répartition des différentes sources de contamination à *C. coli*.

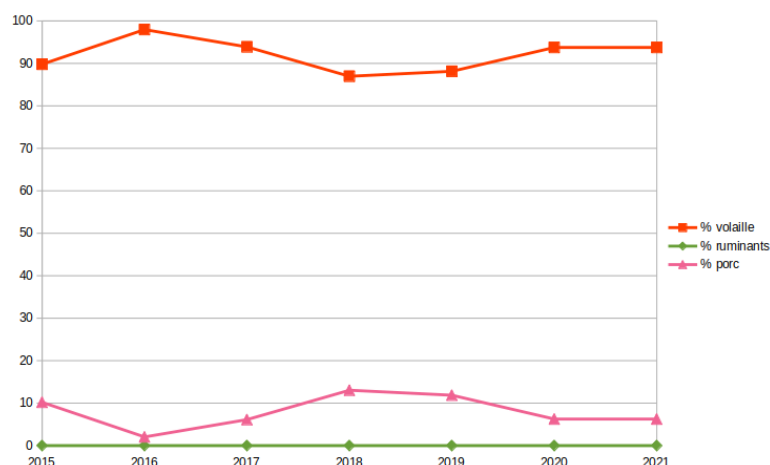


Figure. Évolution des proportions (%) pour chaque réservoir, volaille en bleu, ruminant en orange et porc en jaune, en fonction des années (de 2015 à 2021).

Entre 2020 et 2021, aucune évolution n'a été relevée. Le réservoir volaille reste majoritaire avec environ 90% des souches cliniques attribuées. La proportion pour le réservoir porc reste faible avec 6% d'attribution et toujours aucune souche provenant du réservoir ruminant n'a été détectée jusqu'à aujourd'hui. Ces résultats sont cruciaux et doivent être mis à jour chaque année.

#### -Suivi des méthylases bactériennes associées à la résistance à l'érythromycine chez *Campylobacter* sp

Les macrolides sont généralement les molécules de première intention pour les campylobactérioses. La résistance aux macrolides reste en effet faible avec comme principal mécanisme les mutations dans la séquence de l'ARNr 23S. En 2019, l'utilisation du séquençage a permis d'identifier des souches de *C. coli* exprimant des érythromycine méthyltransférases ayant la capacité de «méthyliser» l'ARNr 23S réduisant ainsi l'activité de l'érythromycine.

Deux gènes *erm* ont été identifiés: ***erm(B)***, méthylase d'origine chinoise et décrite seulement deux fois en Europe dans le réservoir animal (en 2015 en Espagne par Florez-Cuadrado *et al.*, doi: 10.1093/jac/dkv383 et en 2019 en Belgique par Elhadidy *et al.*, doi: 10.1111/tbed.13046) ; ***erm(N)***, une nouvelle version décrite seulement une fois dans la littérature, au Canada en 2018 (Greninger A. *et al.*, doi: 10.1093/cid/ciz1060). Ce gène a la particularité d'être à chaque fois retrouvé inséré dans l'opéron CRISPR-cas9.

Depuis cette identification, les souches de *Campylobacter* résistantes à l'érythromycine que nous recevons au laboratoire sont systématiquement séquencées afin de suivre l'évolution de ces gènes en France.

Tableau. Total des souches positives à *erm(B)* et *erm(N)* séquencées depuis 2016. ANI = Average Nucleotide Identity; CC = Complex Clonal; ST = Sequence Type.

| Souche                  | Gène          | Espèce                    | Score ANI (%) | Source   | CC  | ST   |
|-------------------------|---------------|---------------------------|---------------|----------|-----|------|
| 2018-QUEBEC (référence) | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.87         | Porc     | 828 | 9840 |
| 2016-0429H              | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.60         | Volaille | 828 | 899  |
| 2016-0940               | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.70         | Volaille | 828 | 899  |
| 2016-2392               | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.64         | Volaille | 828 | 9840 |
| 2017-0180               | <i>erm(B)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.75         | Volaille | 828 | 872  |
| 2018-1149               | <i>erm(B)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 99.02         | Porc     | N/A | N/A  |
| 2019-0051               | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.72         | Volaille | N/A | N/A  |
| 2019-0733               | <i>erm(B)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.71         | Volaille | 860 | 828  |
| 2019-0191               | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.78         | Volaille | 828 | 9840 |
| 2019-2001               | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.84         | Porc     | 828 | 9840 |
| 2020-DJN                | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 97            | Porc     | 21  | 21   |
| 2021-SCG                | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.70         | Porc     | 828 | 1556 |
| 2021-LEC                | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.80         | Porc     | 828 | 1556 |
| 2022-MDP                | <i>erm(B)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.62         | Volaille | 828 | 5507 |
| 2022-BLO                | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.66         | Volaille | 828 | 899  |
| 2022-NOU                | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.73         | Porc     | 828 | 9840 |
| 2022-DUP                | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.78         | Volaille | 828 | 9840 |
| 2022-ZOU                | <i>erm(N)</i> | <i>Campylobacter coli</i> | 98.50         | Volaille | 828 | 889  |



Environ 3% des souches de *C. coli* séquencées et résistantes à l'érythromycine possèdent l'un des deux gènes.

Ainsi, en 2022, 4 nouvelles souches ont été retrouvées positives à *erm(N)* et 1 positive à *erm(B)*. L'augmentation du nombre de souches positives à *erm(N)* est préoccupante : la recherche de ces souches continue d'être effectuée en routine au CNRCH.

### -Contrôle qualité (EEQ) du pipeline bioinformatique du CNR

Régulièrement, l'ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) au travers du réseau «FWDAMR-RefLabCap» (<https://www.fwdamr-reflabcap.eu>) propose aux laboratoires nationaux de référence d'analyser une sélection de souche de *Campylobacter* sp. dans le but d'harmoniser, au sein de l'Union Européenne, la détection de l'espèce ainsi que la surveillance de la résistance aux antibiotiques. Il s'agit d'un test important pour pouvoir valider le pipeline d'analyses automatiques de génomes du CNRCH. En 2022, 2 contrôles qualité ont été proposés et effectués : le premier à partir de 5 souches de *C. jejuni* ou *C. coli* et le second directement à partir de fichiers de séquençage .fastq.

Tableau. Gènes et mutations identifiés à partir des souches du premier contrôle qualité (culture + analyses NGS).

| Souche | Espèce           | AMP                                              | CIP         | ERY          | TET           | GEN              | Autre       |
|--------|------------------|--------------------------------------------------|-------------|--------------|---------------|------------------|-------------|
| 1      | <i>C. jejuni</i> | Nouveau promoteur ( <i>bla<sub>oxa61</sub></i> ) | T86I (GyrA) | -            | <i>tet(O)</i> | APH(2)'If        | APH(3)'IIIa |
| 2      | <i>C. coli</i>   | G57T ( <i>bla<sub>oxa61</sub></i> )              | T86I (GyrA) | -            | <i>tet(O)</i> | -                | -           |
| 3      | <i>C. jejuni</i> | G57T ( <i>bla<sub>oxa61</sub></i> )              | T86I (GyrA) | -            | <i>tet(O)</i> | -                | -           |
| 4      | <i>C. coli</i>   | -                                                | T86I (GyrA) | -            | <i>tet(O)</i> | AAC(6)-Ie-APH(2) | APH(3)'IIIa |
| 5      | <i>C. coli</i>   | G57T ( <i>bla<sub>oxa61</sub></i> )              | T86I (GyrA) | A2075G (23S) | <i>tet(O)</i> | -                | ANT(6)-Ia   |

Tableau. Gènes et mutations identifiés à partir des fichiers du second contrôle qualité (analyses NGS seulement).

| Souche | Espèce           | AMP                                 | CIP         | ERY | TET           | GEN | Autre     |
|--------|------------------|-------------------------------------|-------------|-----|---------------|-----|-----------|
| 1      | <i>C. jejuni</i> | -                                   | T86I (GyrA) | -   | -             | -   | -         |
| 2      | <i>C. jejuni</i> | -                                   | T86I (GyrA) | -   | <i>tet(O)</i> | -   | -         |
| 3      | <i>C. coli</i>   | -                                   | T86I (GyrA) | -   | <i>tet(O)</i> | -   | -         |
| 4      | <i>C. coli</i>   | G57T ( <i>bla<sub>oxa61</sub></i> ) | T86I (GyrA) | -   | <i>tet(O)</i> | -   | ANT(6)-Ia |

De manière générale, les résultats génomiques obtenus sont en adéquation avec les antibiogrammes et ce que l'ECDC attendait. Le pipeline d'analyses du CNR et plus particulièrement la base de données de résistance établie a permis de retrouver précisément chaque mutation et gène de résistance. Cependant, quelques subtilités ont été relevées :

1. Le consensus établi pour ce CQ concernant les pénicillines est que n'importe quelle version d'une bêta-lactamase suffit pour confirmer la résistance. Pourtant, il a été montré lors d'une étude (Zeng X. *et al.* A single nucleotide in the promoter region modulates the expression of the  $\beta$ -lactamase OXA-61 in *Campylobacter jejuni*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2014), et confirmé de nombreuses fois au CNRCH, que la résistance à l'ampicilline est associée à la présence d'une mutation (G57T) dans la région promotrice de la *bla<sub>oxa61</sub>*. Cette mutation n'est pas demandée par ce CQ. Il sera nécessaire de s'accorder avec les différents laboratoires du réseau sur ce point.
2. L'utilisation de plusieurs bases de données de résistance en combinaison avec l'outil de détection Ariba a apporté récemment, et plus particulièrement lors de ce CQ, des résultats difficilement interprétables. Les résistances sont retrouvées mais :

- Ariba semble avoir des difficultés pour différencier des gènes très proches. Plus particulièrement, pour la résistance à TET, il est possible d'obtenir soit *tet(O)*, *tet(O/M/O)* ou *tet(O/32/O)* et pour la résistance à l'ampicilline, plusieurs versions de bêtalactamases différentes peuvent être obtenues pour une seule souche, ex. *bla<sub>oxa61</sub>*, *bla<sub>oxa660</sub>* ou *bla<sub>oxa193</sub>*.
- En utilisant plusieurs bases de données, il est courant de retrouver un même gène de résistance sous plusieurs noms. Exemple : *ant(6)-Ia* et *aadE*.
- Enfin, en se basant sur les données brutes, Ariba ne permet pas de pallier ces problèmes en indiquant à quelle position se trouvent chaque gène de résistance. Le génome n'est en effet pas assemblé à cette étape du pipeline.

#### Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?

|                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> NON            | Si NON ou accès limité, précisez les raisons                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <input checked="" type="checkbox"/> OUI | En 2022, 192 ADN de souches cliniques ont été envoyés pour WGS à la société Integrigen (Evry) sous forme de 2 plaques de 96 puits. Cette société est privilégiée pour les activités de séquençage conséquentes, tel le suivi des sources de contamination chez <i>C. jejuni</i> et <i>C. coli</i> . Les séquençages urgents sont eux effectués en interne au CNRCH.<br>Société Integrigen (Evry) et Iseq100 pour séquençage interne au CNRCH |

#### Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?

|                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> NON            | Si NON ou accès limité, précisez les raisons                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <input checked="" type="checkbox"/> OUI | L'expertise bio-informatique est réalisée en interne par un bio-informaticien à plein temps (Mr Quentin Jehanne)<br>L'analyse des données de NGS est effectuée à partir d'un pipeline maison développé et exécuté sous Linux. Il est composé de divers outils gratuits et open-source ainsi que plusieurs scripts Python maison. Parmi lesquels :<br>Sickle : suppression des nucléotides de mauvaise qualité en amont et en aval des séquences.<br>SPAdes : assemblage <i>de novo</i> des génomes.<br>Blast : identification des mécanismes de résistance et virulence (à partir des bases de données du CNRCH, de NCBI, CARD, ResFinder et VirulenceFinder) et des gènes MLST et cgMLST.<br>STRUCTURE : attribution de la source de contamination probable.<br>FastANI : identification de l'espèce.<br>Module Python PyPDF : génération du rapport PDF. |

#### Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?

|                                         |                                                                                                                                                                                              |
|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> NON            | Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?                                                                                                                                                   |
| <input checked="" type="checkbox"/> OUI | Le séquençage des génomes des souches cliniques est réalisé lors de cas groupés d'infections ou pour le suivi des mécanismes de résistance aux antibiotiques problématiques et/ou émergents. |

Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)

Les analyses suivantes sont réalisées systématiquement à partir des génomes séquencés :

- identification de l'espèce bactérienne,
- annotation des génomes,
- détermination moléculaire des mécanismes de résistance aux antibiotiques et de la virulence,
- typage MLST pour *Campylobacter* sp,
- attribution de la source de contamination (*C. jejuni* : volaille, ruminants, environnement ; *C. coli* : volaille, ruminants, porcs).

Selon les besoins, les analyses complémentaires suivantes sont également effectuées :

- cgMLST pour *Campylobacter*,
- wgSNP (comparaison des mutations ponctuelles au sein d'un génome par rapport à une référence)
- phylogénie.

#### Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies :

Le recours au WGS est requis lors de cas groupés d'infections. En effet, lorsque plusieurs souches issues par exemple d'une contamination familiale ou d'un même établissement sont envoyées au CNRCH, les analyses ANI, cgMLST et wgSNP sont effectuées à partir des génomes séquencés. Cela permet ainsi d'identifier des foyers épidémiques. En 2022, le CNRCH n'a pas eu besoin de mettre en place cette stratégie d'analyse.

#### Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Le séquençage est utilisé en routine pour surveiller la propagation des différentes souches de *Campylobacter* au sein du territoire (MLST et cgMLST) ainsi que l'évolution des mécanismes de résistance aux antibiotiques, plus particulièrement certains mécanismes émergeant tels les gènes de résistance à l'érythromycine (*erm(B)* et *erm(N)*).

Durant l'année 2022, les génomes de 236 souches de *Campylobacter*, *Helicobacter* et *Aliarcobacter* ont été séquencés. Les souches sont issues de différentes années, en majorité des souches de l'année précédente, et projets :

| Année | n   | %     |
|-------|-----|-------|
| 2014  | 2   | 0.85  |
| 2015  | 1   | 0.43  |
| 2016  | 1   | 0.43  |
| 2017  | 2   | 0.85  |
| 2018  | 3   | 1.28  |
| 2019  | 2   | 0.85  |
| 2020  | 3   | 1.28  |
| 2021  | 156 | 66.67 |
| 2022  | 64  | 27.35 |

| Projets                                                          | n  | %     |
|------------------------------------------------------------------|----|-------|
| <i>C. jejuni</i> invasifs et non-invasifs, attribution de source | 96 | 41.03 |
| <i>C. coli</i> , attribution de source                           | 48 | 20.51 |
| Campylobacters résistants (ERY particulièrement)                 | 34 | 14.53 |
| Projets divers                                                   | 26 | 11.11 |
| <i>H. pylori</i> résistants (AMX particulièrement)               | 11 | 4.7   |
| Aliarcobacters résistants à l'ERY                                | 6  | 2.56  |
| Contrôle qualité ECDC                                            | 5  | 2.14  |
| Infections récidivantes                                          | 4  | 1.71  |
| Espèces non identifiables par MALDI-TOF                          | 4  | 1.71  |



Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences : génômes assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Dans les bases de données fermées : Un grand nombre des génomes des souches cliniques du CNRCH est disponible sur la plateforme de l'université d'Oxford : PubMLST.

Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadonnées associées : Certaines souches associées aux différentes publications du CNRCH sont disponibles dans la base de données américaine GenBank. La diffusion de l'intégralité des séquences sur l'ENA est envisageable.

## 2.7 Partage de séquences produites par les CNR

Les séquences spécifiques associées aux différentes publications du CNRCH (tels les gènes de résistance aux antibiotiques ou *ADNr 16S*) sont disponibles dans la base de données américaine GenBank. Elles sont également partagées sur simple demande.

## 3. Activités de surveillance

### Éléments clés en matière de surveillance pour l'année 2022

Le volume d'activité du CNR pour *Campylobacter sp* a continué d'augmenter. Le réseau de surveillance des Campylobacters a évolué en 2022 : le nombre de laboratoires participants a augmenté par rapport à 2021. Nous continuons à couvrir l'intégralité des départements de l'hexagone. L'activité privée pour *H. pylori* est restée globalement stable par rapport à 2021.

Les trois principales espèces retrouvées chez l'homme sont *C. jejuni*, *C. coli* puis *Aliarcobacter butzleri*. En quatrième position on retrouve *C. fetus*. 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 et une plus grande diversité d'espèces des genres *Campylobacter* et *Helicobacter*. Les résistances aux antibiotiques chez *Campylobacter sp* sont globalement stables par rapport à 2021 malgré l'augmentation en % chez *C. coli* des souches résistantes aux macrolides possédant une érythromycine méthyltransférase.

Le pourcentage de résistance primaire à la clarithromycine chez *H. pylori* diminue lentement depuis 2020. De rares cas de résistance à l'amoxicilline, à la rifampicine et à la tétracycline ont été identifiés et caractérisés.

### 3.1 Description du réseau de partenaires

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

-Description des partenaires, répartition par type d'activités

Comme indiqué précédemment, le CNR travaille avec un réseau de 137 laboratoires : 69 laboratoires privés et 68 laboratoires hospitaliers qui participent respectivement aux réseaux Campy.COM et Campy.HOP. Trente de ces correspondants dont 16 hôpitaux (8 CHU, 8 CH) saisissent 9 souches isolées sur le site internet du CNRCH via un accès sécurisé (réseau Campy-Internet). Ces 30 correspondants n'envoient que la 10ème souche au CNR comme contrôle de qualité. Ce système est fonctionnel depuis 2012 avec l'accord de SpFrance.

-Répartition géographique et couverture nationale

Au total, nous répertorions 10498 souches de Campylobacters et bactéries apparentées. La carte de France ci-dessous montre la répartition par département (Figure ci-dessous).

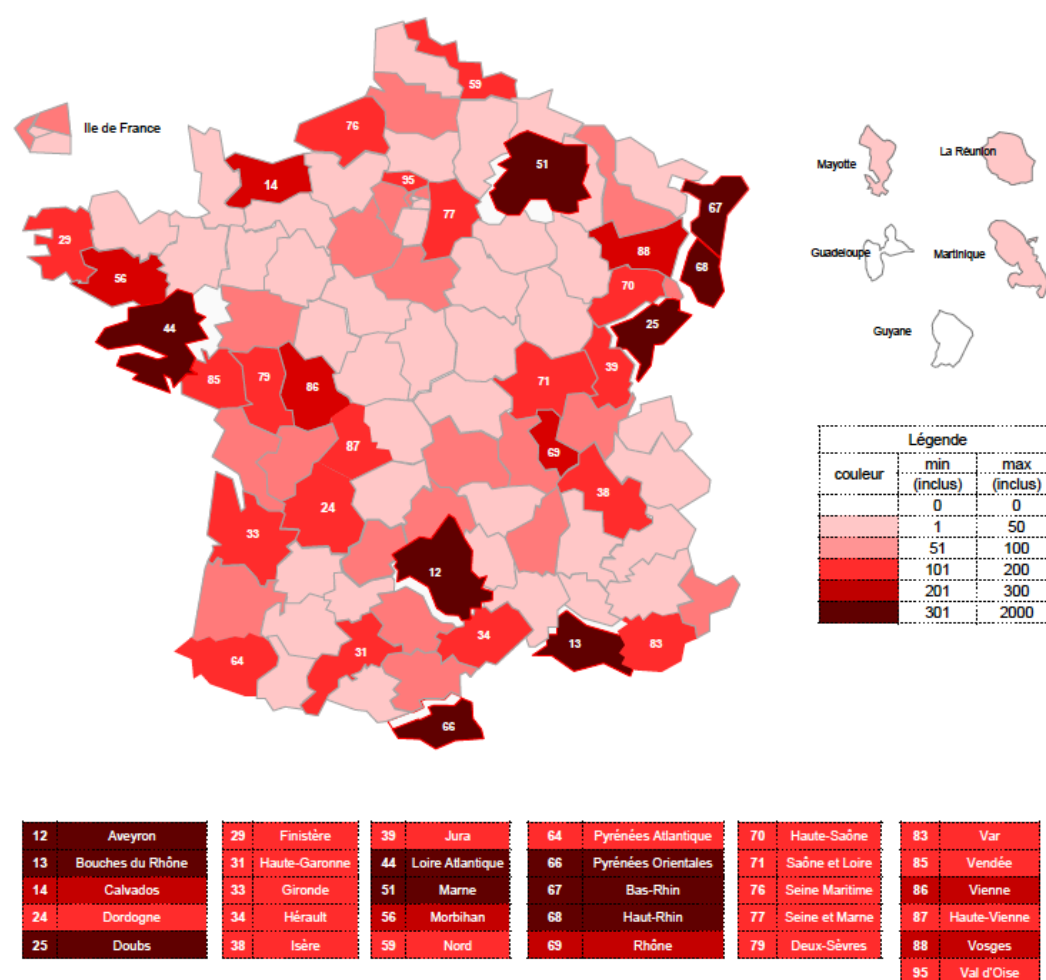


Figure. Répartition par département des souches de *Campylobacter* reçues au CNR en 2022 des réseaux Campy.COM, Campy.HOP ou déclarées en ligne par le réseau Campy-Internet. L'échelle de couleur a été choisie en fonction du nombre de souches. Les noms des principaux départements participant au réseau sont indiqués.

-Evolutions du réseau par rapport à l'année 2021 :

Nous couvrons grâce à l'amplitude de répartition de nos correspondants toutes les régions de France dans leur définition. Pour 2022, tous les départements métropolitains sont couverts, ainsi que 3 départements d'outre-mer (La Martinique, Mayotte et La Réunion).

Le nombre de souches reçues en 2022, viables ou non, a augmenté de 1,1% par comparaison à 2021 (cf. Tableau ci-dessous). En post-période COVID, l'activité Campy.HOP a chuté alors que celle du réseau Campy.COM a progressé dans des % équivalents.

|                       | Campy.HOP | Campy.COM | Campy-Internet | TOTAL |
|-----------------------|-----------|-----------|----------------|-------|
| <b>Nb. en 2022</b>    | 1118      | 3431      | 5949           | 10498 |
| <b>Nb. en 2021</b>    | 1327      | 3014      | 6041           | 10382 |
| <b>Evolution en %</b> | -15,75%   | 13,84%    | -1,52%         | 1,12% |

Les campagnes de sensibilisation et d'information effectuées par le secrétariat et les biologistes du CNR auprès des laboratoires privés et des hôpitaux, nous ont permis d'intégrer 11 laboratoires privés et 2 laboratoires hospitaliers. Les nouveaux laboratoires privés nous ont permis de couvrir des départements jusqu'alors très faiblement représentés comme le département des Landes, des Pyrénées Atlantiques, du Loiret, d'Eure et Loire et enfin de la Dordogne. Les nouveaux CHU et CH nous permettent de renforcer notre couverture et notamment sur les départements du Finistère, du Nord, du Morbihan et de la Mayenne. Trois laboratoires privés dans les départements de la Manche, de l'Oise et du Val de Marne ont quitté le réseau (représentant 4% des souches *Campylobacter sp* en 2021) dont un fidèle adhérent du réseau Campy-Internet (à Coutances département 50 La Manche). Notre correspondant à Langon dans le département de la Gironde a été racheté par Cerballiance. L'envoi de souches s'est arrêté cette année en juillet 2022.

Le laboratoire de Beauvais Oise Picardie quitte le réseau, occasionnant une baisse importante sur le département de l'Oise. Nous n'avons pas d'autres correspondants dans ce département.

L'activité de sérologie *C. jejuni* a été transférée courant 2018 du laboratoire de Bactériologie hospitalier de routine vers le personnel technique du CNR. Cela a représenté 239 sérologies en 2022, dont 59,8 % provenaient de correspondants extérieurs au CHU de Bordeaux : CHU de Strasbourg, AP HP de Tenon, Saint Antoine et Armand Trousseau, les CH de Laval et Nord Mayenne, les HCL de Lyon et le CH de Saint-Etienne. La moyenne d'âge des patients était de 46 ans avec un sex-ratio H/F de 1,54. Seules 7,5% étaient positives, 70,7% négatives, 2,5% douteuses et 11% non pas pu être réalisées (non-conformité de la demande ou du prélèvement).

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

-Description des partenaires et répartition par type d'activités :

Le CNR travaille avec un réseau de correspondants du CHU de Bordeaux (3,3%), de la région bordelaise (76,4%) et extérieurs à la région bordelaise (20,3%) : 33 CH/CHU et 13 laboratoires privés. 20 nouveaux correspondants ont envoyé des biopsies gastriques pour diagnostic de *H. pylori* au CNRCH, notamment le CHRU de Brest, le CH Saint Nazaire et le CHI de Marmande. Le laboratoire Eurofins Biooffice de Lormont/Bordeaux Nord est le plus important correspondant pour l'activité *H. pylori*, ayant envoyé 1695 prélèvements au CNRCH en 2022.

| Prélèvements    | 2021         | 2022         |
|-----------------|--------------|--------------|
| <b>Biopsies</b> | 2888 (97,9%) | 2683 (97,6%) |
| <b>Souches</b>  | 38 (1,3%)    | 25 (0,9%)    |
| <b>Selles</b>   | 23 (0,8%)    | 36 (1,3%)    |
| <b>ADN</b>      | 2 (0,07%)    | 5 (0,2%)     |
| <b>Total</b>    | <b>2951</b>  | <b>2749</b>  |

-Répartition géographique et couverture

La carte de France ci-dessous (Figure 2) montre la répartition par département des prélèvements reçus en 2022 au CNR pour recherche d'infection à *H. pylori*. Nos correspondants étaient répartis sur 40 départements en 2022.

## *Helicobacter pylori* - prélèvements par département de provenance en France - 2022

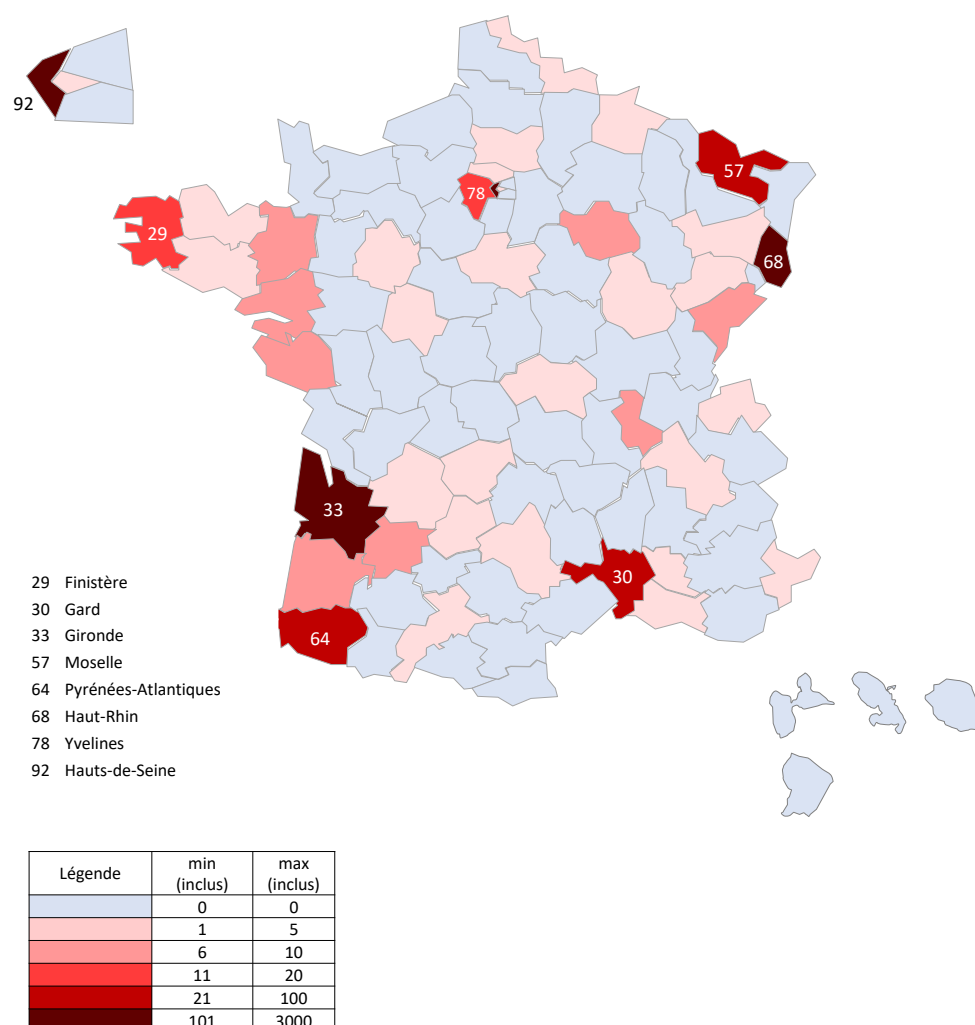


Figure. Répartition par département des prélèvements reçus au CNR en 2022 pour recherche d'infection à *Helicobacter pylori*. L'échelle de couleur a été choisie en fonction du nombre de prélèvements (n=2683 au total).

-Evolution du réseau par rapport à l'année 2021 :

Par comparaison à 2021 (année de très forte progression d'activité, +51% *versus* 2020), notre activité concernant la recherche de *H. pylori* par culture et PCR s'est stabilisée à un niveau élevé.

| Nombre de prélèvements | CHU de Bordeaux | Externes     | TOTAL      |
|------------------------|-----------------|--------------|------------|
| Nb. en 2021            | 111 (3,8%)      | 2777 (96,2%) | 2888       |
| Nb. en 2022            | 88 (3,3%)       | 2595 (96,4%) | 2683 (-7%) |

Notre activité est liée à celles des correspondants externes au CHU de Bordeaux qui représentent 96,4% en 2022. Nous recevons essentiellement des biopsies gastriques (97,6%), rarement des souches isolées (0,9%) et des selles (36 demandes en 2022 dont 35 internes au CHU de Bordeaux avec 41,7% testées positives, moyenne d'âge des patients 43,5 ans, sex ratio 1,12).

Nous réalisons en première intention sur biopsies gastriques une PCR de détection de *H. pylori* et des mutations associées à la résistance aux macrolides. La culture n'est réalisée que si la PCR est positive. Les résultats suivants correspondent au nombre de patients dont les prélèvements ont été analysés : pour 99 patients, deux prélèvements antrale et fundus avaient été envoyés, soit 2581 patients.

| Nombre de patients (par technique) | 2021         | 2022         |
|------------------------------------|--------------|--------------|
| Culture + PCR                      | 1888 (68,9%) | 629 (24,4%)  |
| PCR seule                          | 848 (40,0%)  | 1948 (75,5%) |
| Culture seule                      | 1 (0,03%)    | 0            |
| Quantité insuffisante              | 2 (0,07%)    | 4 (0,2%)     |
| <b>Total (Culture et/ou PCR)</b>   | <b>2739</b>  | <b>2581</b>  |

Si l'on se base sur les résultats de la culture et/ou de la PCR sur biopsies gastriques, 30% des patients étaient positifs en 2022 pour *H. pylori*. Ceci est stable par rapport à 2021 (31%).

| Nombre de patients (biopsies) | <i>H. pylori</i> positif 2021 | <i>H. pylori</i> positif 2022 |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Par culture et PCR*           | 703/1850 (38,0%)              | 597/604 (98,8%)               |
| Par PCR seule                 | 133/846 (15,7%)               | 151/1944 (7,8%)               |
| Par culture seule             | 0/1 (0%)                      | 0                             |
| <b>Total</b>                  | <b>836/2697 (31,0%)</b>       | <b>748/2548 (30,0%)</b>       |

\*mise en culture seulement des cas positifs en PCR.

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

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

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) : 10498\*

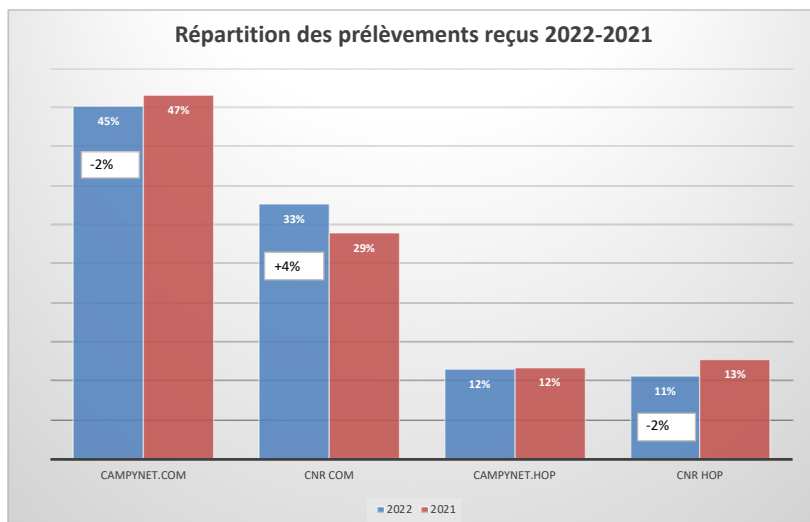
Nombre de souches ayant pu être étudiées dans les locaux du CNR : 4617\*\*

331 souches sur 4549 (7,30 %) n'ont pas donné de subculture, en baisse par rapport à 2021 (9,82 %).

\*5949 dossiers saisis sur Campy-Internet, \*\*dont 68 double populations (mélange de souches d'antibiotypes différents ou d'espèces différentes).

| Nombre total de dossiers 2022 | Campy.HOP      | Campy.COM     | Campy-Internet | TOTAL        |
|-------------------------------|----------------|---------------|----------------|--------------|
| Nb. en 2022                   | 1118           | 3431          | 5949           | 10498        |
| Nb. en 2021                   | 1327           | 3014          | 6041           | 10382        |
| <b>Evolution en %</b>         | <b>-15,75%</b> | <b>13,84%</b> | <b>-1,52%</b>  | <b>1,12%</b> |

La représentativité des saisies Campy-Internet.COM en 2022 est en légère baisse au profit des envois direct au CNR. Les hôpitaux ont quant à eux été moins pourvoyeurs de souches.



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

Cette répartition est basée sur 9243 isolats (viables et en incluant les doubles populations).

Les trois principales espèces répertoriées sont *C. jejuni* (84%), *C. coli* (13,9%), *Aliarcobacter butzleri* (0,8%). *C. fetus* (0,6%) arrive en 4<sup>ème</sup> position en 2022 (Tableau 1 et Tableau 2). *C. jejuni* et *C. coli* sont majoritairement isolés de selles : 99% et 97,8% respectivement. *C. jejuni* dépasse en nombre absolu *C. fetus* comme première espèce isolée de flacons d'hémocultures même si cela ne concerne que 1% des isolats de *C. jejuni* versus 63% des *C. fetus*. *A. butzleri* est majoritairement isolé de selles (94,4%). Les isolats de *C. lari* et *C. upsaliensis* sont rares, uniquement isolés de selles. Cinq *Helicobacter* sp (4 *H. pullorum* isolés de selles, et 1 bactériémie à *H. canis*) sont répertoriés en 2022. Nous observons également en 2022 une diversification des espèces du genre *Campylobacter* avec notamment 48 espèces rares ou nouvelles : 18 *C. ureolyticus*, 10 *C. rectus*, 6 *C. ornithocola*, 4 *C. gracilis*, 3 *C. curvus*, 2 *C. concisus*, 2 *C. hyointestinalis*, et 3 *Campylobacter* sp dont un proche de *C. lanienae* qui correspond probablement à une nouvelle espèce.

La proportion de *C. fetus* diffère en fonction des réseaux : elle est de 1,89% pour le réseau Campy.HOP alors qu'elle n'est que de 0,12% pour le réseau Campy.COM.

La proportion de souches invasives de *C. jejuni* est également plus importante au sein du réseau Campy.HOP, 2,83%, contre 0,11% pour Campy.COM.

Lorsque l'information était disponible, nous avons relevé 56 discordances (1,38%) entre l'identification fournie par le correspondant et celle du CNRCH obtenue par MALDI-TOF Bruker, stable par rapport à 2021 (1,36%). Tous ces cas ont été signalés sur le compte rendu de résultats et sont pour la plupart des discordances liées à l'utilisation d'automate d'identification en milieu liquide automatisé type Vitek-2 (bioMérieux). Les rares discordances réelles entre l'identification obtenue par MALDI-TOF Bruker au CNRCH et MALDI-TOF Vitek-MS (bioMérieux) sont systématiquement investiguées par séquençage des génomes correspondants.

| Discordances identifications           | Nb. |
|----------------------------------------|-----|
| <i>C. jejuni</i> / <i>C. coli</i>      | 44  |
| <i>C. jejuni</i> / <i>A. butzleri</i>  | 1   |
| <i>C. fetus</i> / <i>C. coli</i>       | 2   |
| <i>C. coli</i> / <i>A. butzleri</i>    | 9   |
| <i>C. coli</i> / <i>C. upsaliensis</i> | 0   |

Nous avons également relevé 279 discordances d'antibiogramme (6,13%) en diminution par rapport à 2021 (9,82%) majoritairement pour la sensibilité à l'ampicilline, la ciprofloxacine et la tétracycline.



**Tableau 1 : Répartition par espèce et par nature de prélèvements des Campylobacters et bactéries apparentées pour l'année 2022.** . Cinq *Helicobacter* sp (4 *H. pullorum* isolés de selles, et 1 bactériémie à *H. canis*) sont répertoriés en 2022. Nous observons également en 2022 à nouveau une diversification des espèces du genre *Campylobacter* avec notamment 48 espèces rares ou nouvelles : 18 *C. ureolyticus*, 10 *C. rectus*, 6 *C. ornithocola*, 4 *C. gracilis*, 3 *C. curvus*, 2 *C. concisus*, 2 *C. hyointestinalis*, et 3 *Campylobacter* sp dont un proche de *C. lari*enae qui correspond probablement à une nouvelle espèce.

| Nature       | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>Campylobacter. sp *</i> | <i>Helicobacter. sp *</i> | Total |
|--------------|------------------|----------------|-----------------|--------------------|----------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------|---------------------------|-------|
| Sang         | 75               | 25             | 34              | 2                  | 0              | 0                       | 0                     | 8                          | 1                         | 145   |
| Selles       | 7685             | 1255           | 10              | 67                 | 8              | 7                       | 1                     | 12                         | 4                         | 9049  |
| Biopsie      | 3                | 2              | 3               | 0                  | 0              | 0                       | 0                     | 0                          | 0                         | 8     |
| Abcès & pus  | 1                | 1              | 1               | 1                  | 0              | 0                       | 0                     | 19                         | 0                         | 23    |
| Liquide      | 2                | 0              | 4               | 0                  | 0              | 0                       | 0                     | 3                          | 0                         | 9     |
| Autres       | 0                | 0              | 2               | 1                  | 0              | 0                       | 0                     | 6                          | 0                         | 9     |
| <b>Total</b> | 7766             | 1283           | 54              | 71                 | 8              | 7                       | 1                     | 48                         | 5                         | 9243  |
| %            | 84,0             | 13,9           | 0,6             | 0,8                | 0,1            | 0,1                     | 0,0                   | 0,5                        | 0,1                       | 100   |

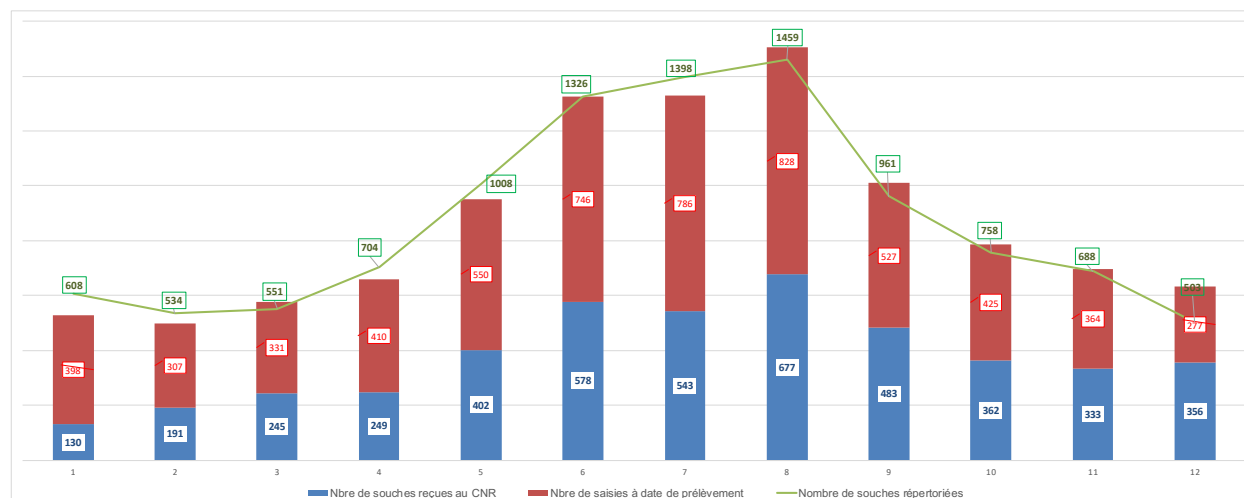
**Tableau 2 : Répartition en pourcentage des espèces par nature de prélèvements des Campylobacters et bactéries apparentées pour l'année 2022.**

| Nature      | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>Campylobacter. sp *</i> | <i>Helicobacter. sp *</i> | Total |
|-------------|------------------|----------------|-----------------|--------------------|----------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------|---------------------------|-------|
| Sang        | 1,0              | 1,9            | 63,0            | 2,8                | 0,0            | 0,0                     | 0,0                   | 16,7                       | 20,0                      | 1,6%  |
| Selles      | 99,0             | 97,8           | 18,5            | 94,4               | 100,0          | 0,0                     | 100,0                 | 25,0                       | 80,0                      | 97,9% |
| Biopsie     | 0,0              | 0,2            | 5,6             | 0,0                | 0,0            | 0,0                     | 0,0                   | 0,0                        | 0,0                       | 0,1%  |
| Abcès & pus | 0,0              | 0,1            | 1,9             | 1,4                | 0,0            | 0,0                     | 0,0                   | 39,6                       | 0,0                       | 0,2%  |
| Liquide     | 0,0              | 0,0            | 7,4             | 0,0                | 0,0            | 0,0                     | 0,0                   | 6,3                        | 0,0                       | 0,1%  |
| Autres      | 0,0              | 0,0            | 3,7             | 1,4                | 0,0            | 0,0                     | 0,0                   | 12,5                       | 0,0                       | 0,1%  |

| Discordance ATB         | par rapport au total des discordances | Nombre discordances | par rapport au total des envois |
|-------------------------|---------------------------------------|---------------------|---------------------------------|
| Ampicilline             | 39,1%                                 | 109                 | 2,4%                            |
| Amoxicilline-ac.clav.   | 8,6%                                  | 24                  | 0,5%                            |
| Gentamicine             | 3,9%                                  | 11                  | 0,2%                            |
| Erythromycine           | 2,5%                                  | 7                   | 0,2%                            |
| Ciprofloxacine          | 27,6%                                 | 77                  | 1,7%                            |
| Tétracycline            | 18,3%                                 | 51                  | 1,1%                            |
| Total discordances 2022 |                                       | 279                 |                                 |
| Total envois 2022       |                                       | 4549                |                                 |

- Répartition mensuelle des souches isolées :

Le graphique ci-dessous indique le nombre de souches répertoriées au cours de l'année 2022.



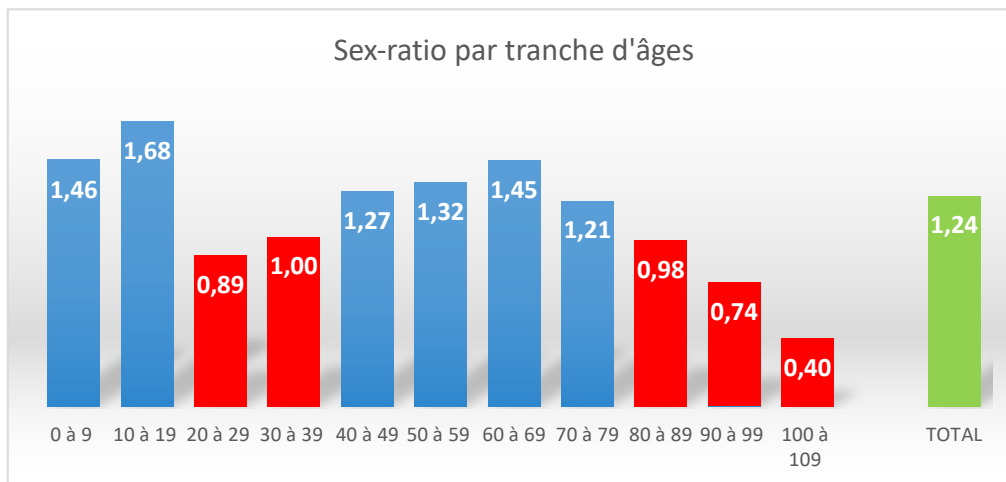
Ces données confirment la saisonnalité habituelle des infections à *Campylobacter*. Même si nous recevons des souches tout au long de l'année, les mois de Mai à Septembre regroupent 58,6% des souches répertoriées en 2022.

- Répartition par sexe :

Les chiffres ci-dessous tiennent compte des 10498 souches.

|               |      |       |
|---------------|------|-------|
| Sexe féminin  | 4681 | 44,6% |
| Sexe masculin | 5817 | 55,4% |

La prédominance masculine est toujours marquée (sex-ratio H/F : 1,24 en moyenne). Cette répartition est valable pour de nombreuses tranches d'âge sauf pour les 20-29 ans, 30-39 ans, et à partir de 80 ans (cf figure ci-dessous). Ceci témoigne notamment, pour les deux premières tranches d'âges de l'exposition plus fréquente des femmes lorsqu'elles sont en âge d'avoir des enfants.



- Répartition par âge :

Catégories d'âges

|                                           | COM         | %    | HOP         | %    | TOTAL        | %    |
|-------------------------------------------|-------------|------|-------------|------|--------------|------|
| <b>Adultes, ≥15 ans</b>                   | 5981        | 73,3 | 1522        | 65,2 | 7503         | 71,5 |
| <b>Enfants, &lt;15 ans et ≥1 an</b>       | 2104        | 25,8 | 671         | 28,8 | 2775         | 26,4 |
| <b>Nourrissons &lt;12 mois et ≥1 mois</b> | 73          | 0,89 | 118         | 5,1  | 191          | 1,8  |
| <b>Nouveaux nés &lt;1 mois</b>            | 6           | 0,07 | 23          | 1    | 29           | 0,3  |
| <b>Total (Nb.)</b>                        | <b>8164</b> |      | <b>2334</b> |      | <b>10498</b> |      |

Les infections à *Campylobacters* touchent toutes les tranches d'âge avec 28,5% de cas pédiatriques (<15 ans). La proportion de nourrissons (<12mois) est plus importante au sein du réseau Campy.HOP (5,1% *versus* 0,9% pour Campy.COM).

Tranches d'âges

La répartition en pourcentage par tranches d'âge et au sein des deux réseaux est récapitulée dans le tableau ci-dessous. L'âge moyen en 2022 était de 36,1 ans.

|                       | 0-9   | 10-19 | 20-29 | 30-39 | 40-49 | 50-59 | 60-69 | 70-79 | 80-89 | 90-99 | 100-109 |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
| <b>Total (%)</b>      | 21,77 | 13,85 | 14,92 | 9,76  | 7,37  | 7,91  | 8,59  | 8,81  | 5,27  | 1,69  | 0,07    |
| <b>Campy. COM (%)</b> | 20,01 | 14,18 | 16,23 | 10,85 | 8,22  | 8,46  | 8,72  | 8,17  | 3,97  | 1,11  | 0,06    |
| <b>Campy. HOP (%)</b> | 27,89 | 12,68 | 10,33 | 5,96  | 4,41  | 5,96  | 8,14  | 11,03 | 9,81  | 3,68  | 0,09    |

La proportion de cas âgés (supérieurs à 70 ans) est plus élevée au sein du réseau Campy.HOP, et comme évoqué ci-dessus, la proportion de cas pédiatriques (0-9 ans) également (données grisées dans le tableau ci-dessus). La tranche d'âge 0-29 ans représente 50,54% des infections à *Campylobacter sp.*

- Répartition en fonction du type de malade : Les données présentées ci-dessous concernent le réseau Campy.HOP, Campy.COM et Campy-Internet (soit 10498 cas).

|                 |        |        |
|-----------------|--------|--------|
| Hospitalisation | n=344  | 3,28%  |
| Consultation    | n=6416 | 61,12% |
| Non précisé     | n=3758 | 36,61% |

- Voyage à l'étranger : Une notion de voyage à l'étranger a été renseignée (Oui/Non) dans 5257 cas sur 10498

cas. Le pays, ou la région du monde, a été précisé dans 413 cas. Les principales régions concernées étaient l'Europe et l'Afrique (cf tableau ci-dessous).

| Régions du monde            | Nombre de cas | Détails                                       |
|-----------------------------|---------------|-----------------------------------------------|
| Europe                      | 170           | dont Espagne (57), Portugal (28), Italie (18) |
| Afrique                     | 146           | dont Afrique du Nord (111)                    |
| Proche et Moyen Orient      | 16            |                                               |
| Iles de l'océan indien      | 16            |                                               |
| Amérique du Nord            | 15            |                                               |
| Inde Indonésie              | 14            |                                               |
| Amérique du Sud et Centrale | 14            |                                               |
| Asie                        | 12            |                                               |
| Caraïbes                    | 7             |                                               |
| Océanie                     | 3             |                                               |
| <b>TOTAL</b>                | <b>413</b>    |                                               |

- Contexte épidémique :

|              |      |       |
|--------------|------|-------|
| Cas isolés   | 5637 | 53,7% |
| Cas groupés* | 309  | 2,9%  |
| Non précisé  | 4552 | 43,5% |

\*269 cas familiaux (87,1%), 40 cas en collectivités (12,9%).

Les infections à *Campylobacters* et bactéries apparentées sont donc principalement des cas isolés (lorsque l'information est disponible). Les cas groupés sont essentiellement familiaux, 65,4% d'entre eux surviennent entre mai et septembre : à noter qu'en 2022, 46,9% de ces cas groupés ont été signalés en juin et août. En 2022, 17 cas groupés ont été typés par RAPD : 12 à *C. jejuni* identiques, 3 à *C. coli* identiques et 2 à *C. jejuni* différents soit 15 cas familiaux et 2 cas de TIAC.

- Origine supposée de la contamination : L'origine alimentaire est précisée dans 444 cas sur 10498 (soit 4,23 % contre 3,53% l'an dernier) et provenait majoritairement de la viande (37% dont 19,8% de la volaille), des plats préparés et restauration (22,3%), des produits de la mer (22,1%). La majorité était des cas isolés.

| Origine alimentaire signalée dans les cas suivants |     |        |
|----------------------------------------------------|-----|--------|
| Cas groupé                                         | 73  | 16,44% |
| Cas isolé                                          | 325 | 73,20% |
| Inconnu                                            | 46  | 10,36% |
|                                                    | 444 |        |

Les bactéries concernées étaient les suivantes :

| Origine alimentaire et identification |     |        |
|---------------------------------------|-----|--------|
| <i>C. jejuni</i>                      | 361 | 81,31% |
| <i>C. coli</i>                        | 49  | 11,04% |
| <i>A. butzleri</i>                    | 1   | 0,23%  |
| Sans identification*                  | 33  | 7,43%  |
|                                       | 444 |        |

\* 17 saisies du site Campy-Internet (PCR positive mais culture négative), 16 souches reçues au CNR sans

subculture.

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

-Répartition par classe d'âge et sex-ratio des patients positifs à *H. pylori* (biopsies gastriques, souches, ADN)  
La majorité des cas positifs avait entre 30 et 69 ans (75,9%), majoritairement des femmes dans la quasi intégralité des tranches d'âge.

| Ages             | 0-9        | 10-19      | 20-29      | 30-39      | 40-49      | 50-59      | 60-69      | 70-79      | 80-89      | 90-99    | Total      |
|------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|----------|------------|
| Homme            | 5          | 16         | 20         | 44         | 73         | 67         | 67         | 33         | 3          | 0        | 328        |
| Femme            | 3          | 24         | 37         | 76         | 97         | 95         | 71         | 33         | 13         | 0        | 449        |
| <b>Total</b>     | <b>8</b>   | <b>40</b>  | <b>57</b>  | <b>120</b> | <b>170</b> | <b>162</b> | <b>138</b> | <b>66</b>  | <b>16</b>  | <b>0</b> | <b>777</b> |
| <b>Ratio H/F</b> | <b>1,7</b> | <b>0,7</b> | <b>0,5</b> | <b>0,6</b> | <b>0,8</b> | <b>0,7</b> | <b>0,9</b> | <b>1,0</b> | <b>0,2</b> | <b>-</b> | <b>0,7</b> |

Les sérologies *H. pylori* ne sont pas réalisées par le personnel du CNRCH mais réalisées sur la chaîne automatisée du PABIM du CHU de Bordeaux à l'aide des réactifs Diasorin sur automate Liaison XL. 527 sérologies (510 en provenance du CHU de Bordeaux) ont été réalisées en 2022 : moyenne d'âge 56,7 ans, sex ratio 1,23. Seules 34,3% d'entre elles étaient positives, 1,1% équivoques, 59,9% négatives et 4,7% non réalisées pour raisons diverses.

-Corrélation culture et PCR : La culture de *H. pylori* est réalisée sur gélose sélective *H. pylori* préparée au CNR et sur gélose commerciale Pylori (bioMérieux). La PCR est réalisée selon la technique publiée en 2003 (Oleastro M *et al.*, J Clin Microbiol). Nous avons fait évoluer notre PCR maison et utilisons depuis mars 2019 des barrettes préparées par Eurogentec et prêtes à l'emploi (cf rapport 2019, et Bénéjat *et al.*, Helicobacter 2021). La concordance entre culture et PCR est montrée ci-dessous pour 2021 et 2022.

| Culture | PCR | Nombre de patients<br>2021* | Nombre de patients<br>2022* |
|---------|-----|-----------------------------|-----------------------------|
| +       | +   | 521/1773 (29,4%)            | 477/2362 (20,2%)            |
| -       | +   | 111/1773 (6,3%)             | 99/2362 (4,2%)              |
| NR      | +   | 0                           | 1/2362 (0,1%)               |
| -       | -   | 1141/1773 (64,4%)           | 7/2362 (0,3%)               |
| NR      | -   | 0                           | 1778/2362 (75,3%)           |

\*Les résultats des biopsies en provenance du CH de Colmar n'ont pas été intégrés dans ce tableau à cause de doutes sur les conditions préanalytiques (transport-congélation/décongélation).

La culture de *H. pylori* a sous-estimé 17,2% des infections par rapport à la PCR (CH Colmar exclu) (*versus* 17,6% en 2021). Ce résultat témoigne de l'intérêt de contrôler les conditions analytiques et préanalytiques. Nous préconisons en effet 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

#### 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, écouvillonnage, incubation à 35°C en atmosphère microaérobie en jarre (génération d'atmosphère à l'aide d'un Anoxomat (Smart)). La lecture à 48h (ou 72h) 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 (BioRad). Des déterminations de CMI par Etest peuvent être

réalisées si besoin.

Lors de la validation, toute discordance avec le résultat fourni par le correspondant est indiquée sur le compte rendu final.

Un CQ est effectué tous les 15 jours. Une trace des valeurs du CQ est stockée dans la base du serveur SIRWeb et répertoriée dans la base de données du secteur qualité. Un biologiste vérifie systématiquement les valeurs lues.

Les pourcentages de résistance signalés (Tableaux 3-8) tiennent compte des valeurs de diamètres critiques ou concentrations critiques telles que définies dans le CA-SFM 2020. Nous indiquons les résultats obtenus pour les principales espèces identifiées en 2022 : *C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus*, *C. upsaliensis*, *C. lari*, *Campylobacter sp* et *Helicobacter sp*. Pour *A. butzleri* et *A. cryaerophilus* (Tableaux 3-8), nous présentons seulement les résultats pour l'ampicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la ciprofloxacine et la gentamicine. En l'absence de «cut-offs» épidémiologiques adaptés pour catégoriser l'érythromycine et la tétracycline, ces données ne sont pas présentées dans ce rapport.

Les valeurs obtenues pour les réseaux Campy.COM et Campy.HOP (en incluant pour chacun les données Campy-Internet) 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 deux réseaux. La présentation des deux réseaux simultanément permet de comparer les pourcentages de résistance entre les réseaux Campy.COM et Campy.HOP.

La résistance à l'ampicilline reste stable pour *C. jejuni* (33,5%) et *C. coli* (29,1%) : comme par le passé, la résistance est plus élevée chez *C. jejuni*. *C. fetus* reste parfaitement sensible (1,9%). Ceci est conforme aux années précédentes, tout comme la quasi absence de résistance à l'amoxicilline-acide clavulanique excepté chez les bactéries du genre *Aliarcobacter*.

La résistance à la ciprofloxacine pour *C. jejuni* (63,1%) est presque aussi élevée que pour *C. coli* (64%). Il n'y a pas de différence entre les réseaux Campy.COM et Campy.HOP. La résistance de *C. fetus* à la ciprofloxacine est de 15%. La résistance chez *C. lari* est élevée (62,5%) probablement liée à l'utilisation d'un « cut-off » inadapté pour cette espèce.

La résistance à l'érythromycine reste à un niveau très faible pour *C. jejuni* (0,3%), *C. coli* étant comme par le passé plus résistant (7%). Les souches de *C. coli* du réseau Campy.HOP sont plus résistantes (9,4%) que celles du réseau Campy.COM (6,2%). La résistance à la tétracycline reste à un niveau très élevé notamment pour *C. coli* (79,4%) et semble stagner pour *C. jejuni* (46,9%).

La résistance à la gentamicine reste anecdotique pour *Campylobacter sp* mais peut être rencontrée pour *C. jejuni* (0,4%) et *C. coli* (2,4%). La résistance chez *C. lari* est élevée (16,7%) probablement liée à l'utilisation d'un « cut-off » inadapté pour cette espèce.

Le tableau ci-dessous récapitule, sur le format de l'ECDC, les phénotypes de sensibilité regroupés en 3 items :

| Phénotypes                        | <i>C. coli</i> (n=1138)* | <i>C. jejuni</i> (n=6772)* |
|-----------------------------------|--------------------------|----------------------------|
| Sensible à tous les ATB           | 124 (10,9%)              | 1312 (19,4%)               |
| Erythromycine et Ciprofloxacine-R | 71 (6,2%)                | 20 (0,3%)                  |
| Résistant à tous les ATB**        | 10 (0,9%)                | 0 (0%)                     |

\*déduction faite des souches non testées sur Campy-Internet ; \*\* sauf amoxicilline-ac. clavulanique.

Ces chiffres sont globalement stables par rapport à 2021.

-Tendances évolutives sur une période de 34 ans (Figure ci-après). La résistance à la ciprofloxacine chez *C. coli* continue sa descente amorcée depuis 2012. La résistance à la ciprofloxacine est quasi identique chez *C. jejuni* et *C. coli*. Les résistances à la tétracycline sont stables pour les 2 principales espèces. La résistance à l'ampicilline s'est stabilisée depuis 2009.

Aucune évolution notable n'est identifiable pour la résistance à l'érythromycine qui reste sous les 10% pour *C. coli* depuis 2015 avec néanmoins l'émergence chez *C. coli* de souches possédant *ermN* (cf bilan des approches 2022 NGS du CNR).

**Tableau 3. Résistance à l'ampicilline chez *Campylobacter* sp, *Arcobacter* sp et *Helicobacter* sp**

\**Campylobacter* sp : 18 *C. ureolyticus*, 10 *C. rectus*, 6 *C. ornithocola*, 4 *C. gracilis*, 3 *C. curvus*, 3 *Campylobacter* sp, 2 *C. consisus*, 2 *C. hyointestinalis*.

\**Helicobacter* sp : 4 *H. pullorum*, 1 *H. canis*.

| Ampicilline     |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                            |                           |       |  |
|-----------------|------------------|----------------|-----------------|--------------------|----------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------|---------------------------|-------|--|
| C.COM           | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | * <i>Campylobacter. sp</i> | * <i>Helicobacter. sp</i> | Total |  |
| Sensible        | 3417             | 588            | 10              | 12                 | 1              | 2                       | 0                     | 3                          | 1                         | 4034  |  |
| Intermédiaire   | 91               | 29             | 0               | 1                  | 0              | 0                       | 0                     | 0                          | 0                         | 121   |  |
| Résistant       | 1694             | 254            | 0               | 24                 | 4              | 3                       | 0                     | 1                          | 0                         | 1980  |  |
| Total           | 5202             | 871            | 10              | 37                 | 5              | 5                       | 0                     | 4                          | 1                         | 6135  |  |
| Résistance en % | 32,6             | 29,2           | 0,0             | 64,9               | 80,0           | 60,0                    | 0,0                   | 25,0                       | 0,0                       | 32,3  |  |
| Non testé c.com | 982              | 143            | 0               | 0                  | 0              | 0                       | 0                     | 1                          | 0                         | 1126  |  |
|                 |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                            |                           |       |  |
| C.HOP           | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | * <i>Campylobacter. sp</i> | * <i>Helicobacter. sp</i> | Total |  |
| Sensible        | 919              | 167            | 40              | 8                  | 1              | 0                       | 0                     | 30                         | 3                         | 1168  |  |
| Intermédiaire   | 28               | 16             | 1               | 2                  | 0              | 0                       | 0                     | 0                          | 0                         | 47    |  |
| Résistant       | 546              | 75             | 1               | 15                 | 1              | 1                       | 1                     | 2                          | 0                         | 642   |  |
| Total           | 1493             | 258            | 42              | 25                 | 2              | 1                       | 1                     | 32                         | 3                         | 1857  |  |
| Résistance en % | 36,6             | 29,1           | 2,4             | 60,0               | 50,0           | 100,0                   | 100,0                 | 6,3                        | 0,0                       | 34,6  |  |
| Non testé c.hop | 89               | 11             | 2               | 9                  | 1              | 1                       | 0                     | 11                         | 1                         | 125   |  |
|                 |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                            |                           |       |  |
| TOTAL           | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | * <i>Campylobacter. sp</i> | * <i>Helicobacter. sp</i> | Total |  |
| Sensible        | 4336             | 755            | 50              | 20                 | 2              | 2                       | 0                     | 33                         | 4                         | 5202  |  |
| Intermédiaire   | 119              | 45             | 1               | 3                  | 0              | 0                       | 0                     | 0                          | 0                         | 168   |  |
| Résistant       | 2240             | 329            | 1               | 39                 | 5              | 4                       | 1                     | 3                          | 0                         | 2622  |  |
| Total           | 6695             | 1129           | 52              | 62                 | 7              | 6                       | 1                     | 36                         | 4                         | 7992  |  |
| Résistance en % | 33,5             | 29,1           | 1,9             | 62,9               | 71,4           | 66,7                    | 100,0                 | 8,3                        | 0,0                       | 32,8  |  |
| Non testé total | 1071             | 154            | 2               | 9                  | 1              | 1                       | 0                     | 12                         | 1                         | 1251  |  |



Tableau 4. Résistance à l'amoxicilline-acide clavulanique chez *Campylobacter* sp, *Arcobacter* sp et *Helicobacter* sp

| Amoxicilline-clav |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                           |                          |       |
|-------------------|------------------|----------------|-----------------|--------------------|----------------|-------------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------------|-------|
| C.COM             | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>*Campylobacter. sp</i> | <i>*Helicobacter. sp</i> | Total |
| Sensible          | 5196             | 864            | 10              | 15                 | 5              | 4                       | 0                     | 4                         | 1                        | 6099  |
| Intermédiaire     | 6                | 7              | 0               | 0                  | 0              | 0                       | 0                     | 0                         | 0                        | 13    |
| Résistant         | 0                | 0              | 0               | 22                 | 0              | 1                       | 0                     | 0                         | 0                        | 23    |
| Total             | 5202             | 871            | 10              | 37                 | 5              | 5                       | 0                     | 4                         | 1                        | 6135  |
| Résistance en %   | 0,0              | 0,0            | 0,0             | 59,5               | 0,0            | 20,0                    | 0,0                   | 0,0                       | 0,0                      | 0,4   |
| Non testé c.com   | 982              | 143            | 0               | 0                  | 0              | 0                       | 0                     | 1                         | 0                        | 1126  |
|                   |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                           |                          |       |
| C.HOP             | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>*Campylobacter. sp</i> | <i>*Helicobacter. sp</i> | Total |
| Sensible          | 1570             | 261            | 43              | 16                 | 3              | 0                       | 1                     | 31                        | 3                        | 1928  |
| Intermédiaire     | 0                | 3              | 0               | 1                  | 0              | 0                       | 0                     | 0                         | 0                        | 4     |
| Résistant         | 0                | 3              | 0               | 17                 | 0              | 1                       | 0                     | 1                         | 0                        | 22    |
| Total             | 1570             | 267            | 43              | 34                 | 3              | 1                       | 1                     | 32                        | 3                        | 1954  |
| Résistance en %   | 0,0              | 1,1            | 0,0             | 50,0               | 0,0            | 100,0                   | 0,0                   | 3,1                       | 0,0                      | 1,13  |
| Non testé c.hop   | 12               | 2              | 1               | 0                  | 0              | 1                       | 0                     | 11                        | 1                        | 28    |
|                   |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                           |                          |       |
| TOTAL             | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>*Campylobacter. sp</i> | <i>*Helicobacter. sp</i> | Total |
| Sensible          | 6766             | 1125           | 53              | 31                 | 8              | 4                       | 1                     | 35                        | 4                        | 8027  |
| Intermédiaire     | 6                | 10             | 0               | 1                  | 0              | 0                       | 0                     | 0                         | 0                        | 17    |
| Résistant         | 0                | 3              | 0               | 39                 | 0              | 2                       | 0                     | 1                         | 0                        | 45    |
| Total             | 6772             | 1138           | 53              | 71                 | 8              | 6                       | 1                     | 36                        | 4                        | 8089  |
| Résistance en %   | 0,0              | 0,3            | 0,0             | 54,9               | 0,0            | 33,3                    | 0,0                   | 2,8                       | 0,0                      | 0,6   |
| Non testé total   | 994              | 145            | 1               | 0                  | 0              | 1                       | 0                     | 12                        | 1                        | 1154  |

Tableau 5. Résistance à la ciprofloxacine chez *Campylobacter sp*, *Arcobacter sp* et *Helicobacter sp*

| Ciprofloxacine  |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                           |                          |       |
|-----------------|------------------|----------------|-----------------|--------------------|----------------|-------------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------------|-------|
| C.COM           | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>*Campylobacter. sp</i> | <i>*Helicobacter. sp</i> | Total |
| Sensible        | 1940             | 323            | 10              | 35                 | 2              | 4                       | 0                     | 3                         | 1                        | 2318  |
| Résistant       | 3221             | 545            | 0               | 2                  | 3              | 1                       | 0                     | 1                         | 0                        | 3773  |
| Total           | 5161             | 868            | 10              | 37                 | 5              | 5                       | 0                     | 4                         | 1                        | 6091  |
| Résistance en % | 62,4             | 62,8           | 0,0             | 5,4                | 60,0           | 20,0                    | 0,0                   | 25,0                      | 0,0                      | 61,9  |
| Non testé c.com | 1023             | 146            | 0               | 0                  | 0              | 0                       | 0                     | 1                         | 0                        | 1170  |
|                 |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                           |                          |       |
| C.HOP           | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>*Campylobacter. sp</i> | <i>*Helicobacter. sp</i> | Total |
| Sensible        | 543              | 85             | 35              | 21                 | 1              | 0                       | 1                     | 19                        | 3                        | 708   |
| Résistant       | 1019             | 181            | 8               | 6                  | 2              | 1                       | 0                     | 13                        | 0                        | 1230  |
| Total           | 1562             | 266            | 43              | 27                 | 3              | 1                       | 1                     | 32                        | 3                        | 1938  |
| Résistance en % | 65,2             | 68,0           | 18,6            | 22,2               | 66,7           | 100,0                   | 0,0                   | 40,6                      | 0,0                      | 63,47 |
| Non testé chop  | 20               | 3              | 1               | 7                  | 0              | 1                       | 0                     | 11                        | 1                        | 44    |
|                 |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                           |                          |       |
| TOTAL           | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>*Campylobacter. sp</i> | <i>*Helicobacter. sp</i> | Total |
| Sensible        | 2483             | 408            | 45              | 56                 | 3              | 4                       | 1                     | 22                        | 4                        | 3026  |
| Résistant       | 4240             | 726            | 8               | 8                  | 5              | 2                       | 0                     | 14                        | 0                        | 5003  |
| Total           | 6723             | 1134           | 53              | 64                 | 8              | 6                       | 1                     | 36                        | 4                        | 8029  |
| Résistance en % | 63,1             | 64,0           | 15,1            | 12,5               | 62,5           | 33,3                    | 0,0                   | 38,9                      | 0,0                      | 62,3  |
| Non testé total | 1043             | 149            | 1               | 7                  | 0              | 1                       | 0                     | 12                        | 1                        | 1214  |

Tableau 6. Résistance à l'érythromycine chez *Campylobacter* sp et *Helicobacter* sp

| Erythromycine   |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                           |                          |       |
|-----------------|------------------|----------------|-----------------|--------------------|----------------|-------------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------------|-------|
| C.COM           | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>*Campylobacter. sp</i> | <i>*Helicobacter. sp</i> | Total |
| Sensible        | 5190             | 817            | 10              | -                  | 5              | -                       | 0                     | 4                         | 0                        | 6026  |
| Résistant       | 11               | 54             | 0               | -                  | 0              | -                       | 0                     | 0                         | 0                        | 65    |
| Total           | 5201             | 871            | 10              | -                  | 5              | -                       | 0                     | 4                         | 0                        | 6091  |
| Résistance en % | 0,2              | 6,2            | 0,0             | -                  | 0,0            | -                       | 0,0                   | 0,0                       | 0,0                      | 1,1   |
| Non testé c.com | 983              | 143            | 0               | 37                 | 0              | 5                       | 0                     | 1                         | 1                        | 1170  |
|                 |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                           |                          |       |
| C.HOP           | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>*Campylobacter. sp</i> | <i>*Helicobacter. sp</i> | Total |
| Sensible        | 1551             | 240            | 43              | -                  | 3              | -                       | 1                     | 28                        | 1                        | 1868  |
| Résistant       | 11               | 25             | 0               | -                  | 0              | -                       | 0                     | 4                         | 0                        | 40    |
| Total           | 1562             | 265            | 43              | -                  | 3              | -                       | 1                     | 32                        | 1                        | 1908  |
| Résistance en % | 0,7              | 9,4            | 0,0             | -                  | 0,0            | -                       | 0,0                   | 12,5                      | 0,0                      | 2,1   |
| Non testé c.hop | 20               | 4              | 1               | 33                 | 0              | 2                       | 0                     | 11                        | 3                        | 74    |
|                 |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                           |                          |       |
| TOTAL           | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>*Campylobacter. sp</i> | <i>*Helicobacter. sp</i> | Total |
| Sensible        | 6741             | 1057           | 53              | -                  | 8              | -                       | 1                     | 32                        | 1                        | 7894  |
| Résistant       | 22               | 79             | 0               | -                  | 0              | -                       | 0                     | 4                         | 0                        | 105   |
| Total           | 6763             | 1136           | 53              | -                  | 8              | -                       | 1                     | 36                        | 1                        | 7999  |
| Résistance en % | 0,3              | 7,0            | 0,0             | -                  | 0,0            | -                       | 0,0                   | 11,1                      | 0,0                      | 1,3   |
| Non testé total | 1003             | 147            | 1               | 70                 | 0              | 7                       | 0                     | 12                        | 4                        | 1244  |

Tableau 7. Résistance à la tétracycline chez *Campylobacter sp.* et *Helicobacter sp*

| Tétracycline    |           |         |          |             |         |                  |                |                    |                   |       |  |
|-----------------|-----------|---------|----------|-------------|---------|------------------|----------------|--------------------|-------------------|-------|--|
| C.COM           | C. jejuni | C. coli | C. fetus | A. butzleri | C. lari | A. cryaerophilus | C. upsaliensis | *Campylobacter. sp | *Helicobacter. sp | Total |  |
| Sensible        | 2789      | 179     | 10       | -           | 5       | -                | 0              | 4                  | 0                 | 2987  |  |
| Résistant       | 2397      | 690     | 0        | -           | 0       | -                | 0              | 0                  | 0                 | 3087  |  |
| Total           | 5186      | 869     | 10       | -           | 5       | -                | 0              | 4                  | 0                 | 6074  |  |
| Résistance en % | 46,2      | 79,4    | 0,0      | -           | 0,0     | -                | 0,0            | 0,0                | 0,0               | 50,8  |  |
| Non testé c.com | 998       | 145     | 0        | 37          | 0       | 5                | 0              | 1                  | 1                 | 1187  |  |
|                 |           |         |          |             |         |                  |                |                    |                   |       |  |
| C.HOP           | C. jejuni | C. coli | C. fetus | A. butzleri | C. lari | A. cryaerophilus | C. upsaliensis | *Campylobacter. sp | *Helicobacter. sp | Total |  |
| Sensible        | 799       | 55      | 35       | -           | 2       | -                | 1              | 32                 | 1                 | 925   |  |
| Résistant       | 768       | 211     | 8        | -           | 1       | -                | 0              | 1                  | 0                 | 989   |  |
| Total           | 1567      | 266     | 43       | -           | 3       | -                | 1              | 33                 | 1                 | 1914  |  |
| Résistance en % | 49,0      | 79,3    | 18,6     | -           | 33,3    | -                | 0,0            | 3,0                | 0,0               | 51,7  |  |
| Non testé c.hop | 15        | 3       | 1        | 34          | 0       | 2                | 0              | 10                 | 3                 | 68    |  |
|                 |           |         |          |             |         |                  |                |                    |                   |       |  |
| TOTAL           | C. jejuni | C. coli | C. fetus | A. butzleri | C. lari | A. cryaerophilus | C. upsaliensis | *Campylobacter. sp | *Helicobacter. sp | Total |  |
| Sensible        | 3588      | 234     | 45       | -           | 7       | -                | 1              | 36                 | 1                 | 3912  |  |
| Résistant       | 3165      | 901     | 8        | -           | 1       | -                | 0              | 1                  | 0                 | 4076  |  |
| Total           | 6753      | 1135    | 53       | -           | 8       | -                | 1              | 37                 | 1                 | 7988  |  |
| Résistance en % | 46,9      | 79,4    | 15,1     | -           | 12,5    | -                | 0,0            | 2,7                | 0,0               | 51,0  |  |
| Non testé total | 1013      | 148     | 1        | 71          | 0       | 7                | 0              | 11                 | 4                 | 1255  |  |

Tableau 8. Résistance à la gentamicine chez *Campylobacter* sp, *Arcobacter* sp et *Helicobacter* sp

| Gentamicine     |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                           |                          |       |
|-----------------|------------------|----------------|-----------------|--------------------|----------------|-------------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------------|-------|
| C.COM           | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>*Campylobacter. sp</i> | <i>*Helicobacter. sp</i> | Total |
| Sensible        | 4383             | 741            | 10              | 36                 | 4              | 5                       | 0                     | 4                         | 1                        | 5184  |
| Résistant       | 11               | 19             | 0               | 0                  | 0              | 0                       | 0                     | 0                         | 0                        | 30    |
| Total           | 4394             | 760            | 10              | 36                 | 4              | 5                       | 0                     | 4                         | 1                        | 5214  |
| Résistance en % | 0,3              | 2,5            | 0,0             | 0,0                | 0,0            | 0,0                     | 0,0                   | 0,0                       | 0,0                      | 0,6   |
| Non testé C.COM | 1790             | 254            | 0               | 1                  | 1              | 0                       | 0                     | 1                         | 0                        | 2047  |
|                 |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                           |                          |       |
| C.HOP           | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>*Campylobacter. sp</i> | <i>*Helicobacter. sp</i> | Total |
| Sensible        | 1457             | 242            | 41              | 33                 | 3              | 0                       | 1                     | 28                        | 3                        | 1808  |
| Résistant       | 13               | 5              | 0               | 0                  | 0              | 1                       | 0                     | 4                         | 0                        | 23    |
| Total           | 1470             | 247            | 41              | 33                 | 3              | 1                       | 1                     | 32                        | 3                        | 1831  |
| Résistance en % | 0,9              | 2,0            | 0,0             | 0,0                | 0,0            | 100,0                   | 0,0                   | 12,5                      | 0,0                      | 1,3   |
| Non testé C.HOP | 112              | 22             | 3               | 1                  | 0              | 1                       | 0                     | 11                        | 1                        | 151   |
|                 |                  |                |                 |                    |                |                         |                       |                           |                          |       |
| TOTAL           | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> | <i>A. butzleri</i> | <i>C. lari</i> | <i>A. cryaerophilus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>*Campylobacter. sp</i> | <i>*Helicobacter. sp</i> | Total |
| Sensible        | 5840             | 983            | 51              | 69                 | 7              | 5                       | 1                     | 32                        | 4                        | 6992  |
| Résistant       | 24               | 24             | 0               | 0                  | 0              | 1                       | 0                     | 4                         | 0                        | 53    |
| Total           | 5864             | 1007           | 51              | 69                 | 7              | 6                       | 1                     | 36                        | 4                        | 7045  |
| Résistance en % | 0,4              | 2,4            | 0,0             | 0,0                | 0,0            | 16,7                    | 0,0                   | 11,1                      | 0,0                      | 0,8   |
| Non testé TOTAL | 1902             | 276            | 3               | 2                  | 1              | 1                       | 0                     | 12                        | 1                        | 2198  |

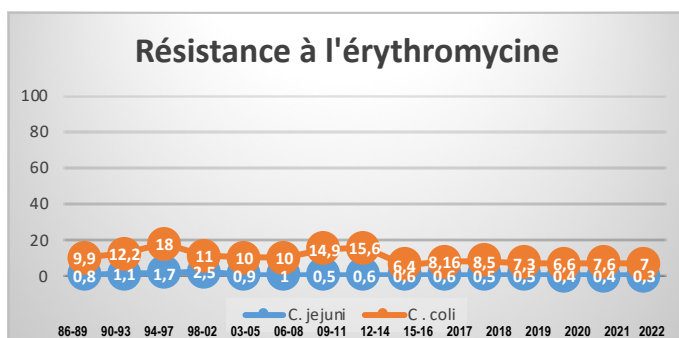
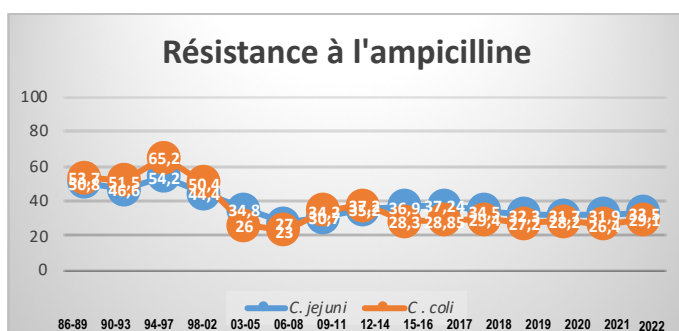
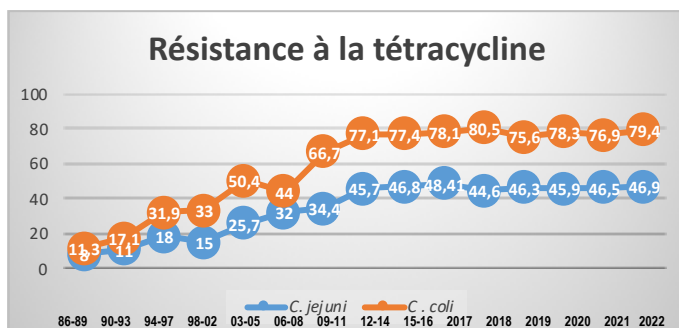
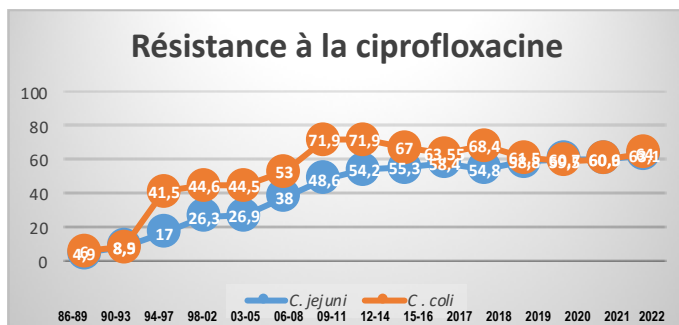


Figure. Evolution en France de la résistance aux antibiotiques chez *C. jejuni* et *C. coli* sur une période de 36 ans. Les résultats sont exprimés en pourcentage.

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

Tous les antibiogrammes ont été réalisés par Etest selon les recommandations du CA-SFM. Les milieux utilisés étaient pour 2022, soit le milieu MH-10% sang de cheval (préparé au CNR), soit la gélose Schaedler vit K1 (bioMérieux), avec un inoculum 3 McF, par inondation, incubation à 36°C en atmosphère 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, une trace des valeurs du CQ est stockée dans la base du serveur SIRWeb et dans la base de données du secteur qualité au CNRCH. 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.

En 2022, 490 souches ont été antibiogrammées.

| Molécule        | 2021 (Nb. et % R) | 2022 (Nb. et % R) |
|-----------------|-------------------|-------------------|
| Amoxicilline    | 6/582 (1,0%)      | 5/490 (1,0%)      |
| Clarithromycine | 152/582* (26,1%)  | 126/490** (25,7%) |
| Lévofloxacine   | 107/582 (18,4%)   | 92/490 (18,8%)    |
| Métronidazole   | 330/582 (56,7%)   | 257/490 (52,4%)   |
| Rifampicine     | 5/582 (0,9%)      | 4/490 (0,8%)      |
| Tétracycline    | 0/582             | 1/490 (0,2%)      |

\*2021 : Discordance entre/fundus pour 1 souche concernant la clarithromycine et 5 souches concernant le métronidazole.

\*\*2022 : Discordance entre/fundus pour 1 souche concernant la clarithromycine et 2 souches concernant le métronidazole.

Conformément aux années passées, la résistance à l'amoxicilline, rifampicine et tétracycline est rare 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.

Les principaux phénotypes de sensibilité sont récapitulés dans le tableau ci-après.

| Nb. | %    | Phénotype (résistant à) |     |     |     |     |                                                |
|-----|------|-------------------------|-----|-----|-----|-----|------------------------------------------------|
|     |      | Amox                    | Cla | Lev | Mtr | Rif | Tet                                            |
| 173 | 35,4 |                         |     |     |     |     | Tout-S                                         |
| 128 | 26,2 |                         |     |     | X   |     | Métronidazole-R                                |
| 68  | 13,9 |                         | X   |     | X   |     | Clarithromycine-Métronidazole-R                |
| 32  | 6,5  |                         |     | X   | X   |     | Lévofloxacine-Métronidazole-R                  |
| 24  | 4,9  |                         | X   | X   | X   |     | Clarithromycine-Lévofloxacine-Métronidazole-R  |
| 24  | 4,9  |                         |     | X   |     |     | Lévofloxacine-R                                |
| 23  | 4,7  |                         | X   |     |     |     | Clarithromycine-R                              |
| 8   | 1,6  |                         | X   | X   |     |     | Clarithromycine-Lévofloxacine-R                |
| 2   | 0,4  |                         |     |     | X   | X   | Métronidazole-Rifampicine-R                    |
| 1   | 0,2  |                         | X   | X   |     |     | X Clarithromycine-Lévofloxacine-Tétracycline-R |
| 1   | 0,2  |                         |     |     |     | X   | Rifampicine-R                                  |
| 1   | 0,2  |                         |     | X   | X   | X   | Lévofloxacine-Métronidazole-Rifampicine-R      |
| 1   | 0,2  | X                       |     |     |     |     | Amoxicilline-R                                 |
| 1   | 0,2  | X                       |     | X   |     |     | Amoxicilline-Lévofloxacine-R                   |
| 1   | 0,2  | X                       |     |     | X   |     | Amoxicilline-Métronidazole-R                   |
| 1   | 0,2  | X                       | X   |     | X   |     | Amoxicilline-Clarithromycine-Métronidazole-R   |
| 1   | 0,2  | X                       | X   | X   |     |     | Amoxicilline-Clarithromycine-Lévofloxacine-R   |

Amox : amoxicilline ; Cla : clarithromycine, Lev : lévofloxacine ; Mtr : métronidazole ; Rif : rifampicine, Tet : tétracycline.

La majorité des souches en France sont soit sensibles à tous les antibiotiques d'intérêt soit uniquement résistantes au métronidazole. Tous phénotypes confondus seules 6,9% des souches en 2022 sont résistantes à la fois à la Clarithromycine et à la Lévofloxacine.

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. Cela concerne 490 souches viables pour 2022. Les discordances sont rares entre phénotype de sensibilité à la clarithromycine et génotype déterminé par PCR : 1% uniquement de



discordance majeure due à 5 cas interprétés Résistant *in vitro* mais de génotype WT par PCR.

| Phénotype clarithromycine | Génotype clarithromycine | 2021 Nb. (%)    | 2022 Nb. (%)    |
|---------------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|
| Sensible                  | WT                       | 418/582 (71,8%) | 356/490 (72,7%) |
|                           | A2142-3G + WT            | 12/582 (2,1%)   | 8/490 (1,6%)    |
| Résistant                 | WT                       | 3/582 (0,5%)    | 5/490 (1,0%)    |
|                           | A2142-3G                 | 113/582 (19,4%) | 87/490 (17,8%)  |
|                           | A2142C                   | 0               | 1/490 (0,2%)    |
|                           | A2142-3G + WT            | 33/582 (5,7%)   | 32/490 (6,5%)   |
|                           | A2142C + WT              | 1/582 (0,2%)    | 0               |
|                           | A2142C + A2143G          | 0               | 1/490 (0,2%)    |
|                           | A2142T                   | 1/582 (0,2%)    | 0               |
|                           | A2143T                   | 1/582 (0,2%)    | 0               |

Pour 8 cas, seule la population sensible a été retrouvée sur l'antibiogramme alors que la PCR a détecté la présence d'une double population A2142-43G + WT. Ceci pourrait être interprété comme une discordance mineure (1,6%). Dans 32 cas, c'est la population résistante qui a été vue par culture alors que la PCR détectait une double population A2142-43G + WT. L'ensemble de ces résultats démontre l'intérêt en routine de coupler culture (avec antibiogramme) et PCR.

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

| Génotype                                 | Nombre de patients (par génotype) en 2021 et % | Nombre de patients (par génotype) en 2022 et % |
|------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| WT                                       | 655/874 (74,9%)                                | 583/777 (75%)                                  |
| A2142-3G                                 | 156/874 (17,8%)                                | 136/777 (17,5%)                                |
| A2142C                                   | 1/874 (0,1%)                                   | 1/777 (0,1%)                                   |
| A2143C                                   | 1/874 (0,1%)                                   | 0                                              |
| A2142T                                   | 1/874 (0,1%)                                   | 0                                              |
| A2142-3G + WT                            | 59/874 (6,8%)                                  | 56/777 (7,2%)                                  |
| A2142C + WT                              | 1/874 (0,1%)                                   | 0                                              |
| A2142-3G + A2142C                        | 0                                              | 1/777 (0,1%)                                   |
| Total Résistants Clarithromycine par PCR | 219/874 (25,1%)                                | 194/777 (25,0%)                                |

Comme par le passé, la mutation A2142-43G est la plus fréquente. La proportion de double population (WT+R) est stable en 2022 versus 2021 (7,2% versus 6,8%). La mutation A2142C reste anecdotique en France (0,1%). Les mutations A2143C et A2142T, que le CNR a participé à décrire par la passé, ne sont pas retrouvées en 2022.

Nous avons mis en place depuis 2018 une fiche de renseignements pour les correspondants extérieurs au CHU devant accompagner les biopsies gastriques envoyées au CNRCH. Grâce aux données collectées, nous pouvons estimer pour 2022 et pour la cinquième année consécutive, la résistance primaire aux antibiotiques pour les souches isolées de biopsies gastriques en routine au CNRCH.

Nous disposons pour 2022 des renseignements cliniques associés à 804 biopsies positives en PCR.

| 2022                    |        |                   |
|-------------------------|--------|-------------------|
| Pathologie              | Nombre | % par pathologies |
| Gastrite                | 257    | 32,0              |
| Epigastralgies          | 141    | 17,5              |
| Non renseignée          | 78     | 9,7               |
| Ulcères                 | 57     | 7,1               |
| Anémies (fer-B12)       | 45     | 5,6               |
| CB/Sleeve               | 41     | 5,1               |
| Dyspepsie non ulcéreuse | 36     | 4,5               |
| Sérologie positive      | 19     | 2,4               |
| Cancer                  | 15     | 1,9               |
| MALT                    | 1      | 0,1               |
|                         | 804    | 100               |

Sont surlignées en gris les pathologies pour lesquelles le pourcentage de patients *H. pylori* positif dépasse 30%.

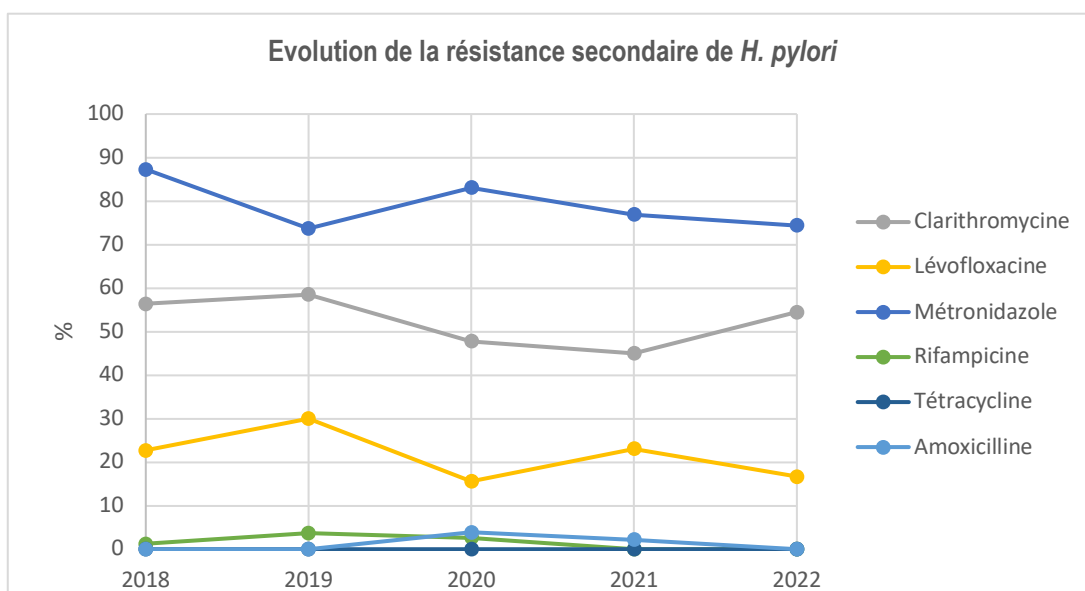
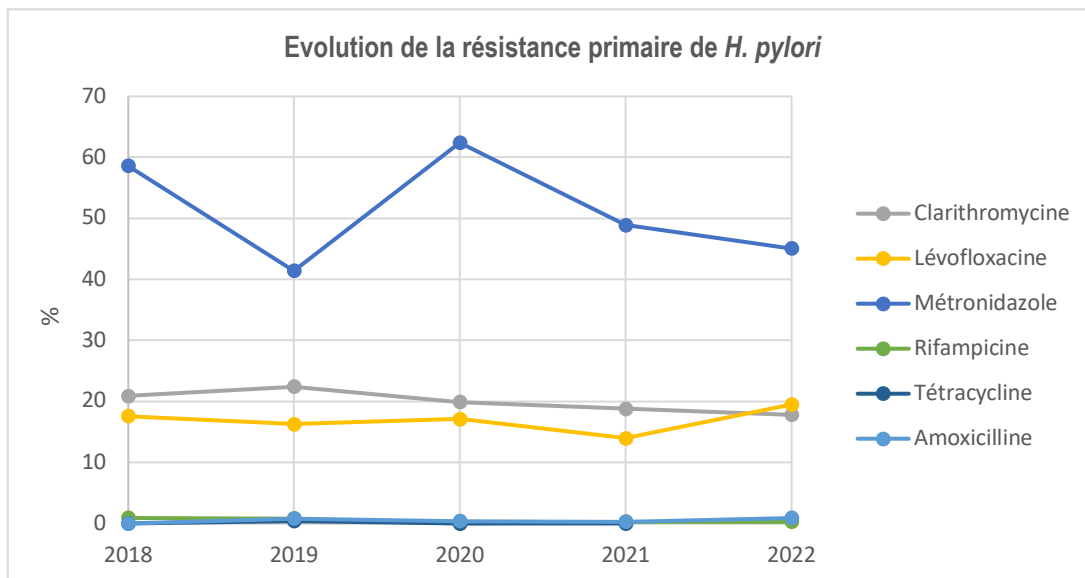
En 2022, le pourcentage de résistance primaire aux macrolides était de 17,8% versus 54,5% en secondaire. La résistance primaire à la clarithromycine est en baisse régulière depuis 2020 de environ 1% par an mais reste néanmoins supérieure au seuil de 15% au-delà duquel cette molécule ne peut être utilisée en probabiliste.

La résistance primaire à la lévofloxacine reste, elle aussi, à un niveau élevé en 2022 (19,5%) mais sans réelle évolution depuis 2018. Nous ne constatons pas non plus d'augmentation significative de la résistance chez les patients en échec de traitement d'éradication. La lévofloxacine n'est en effet pas utilisée en traitement probabiliste.

|                  | Résistance primaire (%) |      |      |      |      | Résistance secondaire (%) |      |      |      |      |
|------------------|-------------------------|------|------|------|------|---------------------------|------|------|------|------|
|                  | 2018                    | 2019 | 2020 | 2021 | 2022 | 2018                      | 2019 | 2020 | 2021 | 2022 |
| Amoxicilline     | 0                       | 0,8  | 0,4  | 0,3  | 0,9  | 0                         | 0    | 3,9  | 2,2  | 0    |
| Clarithromycine* | 20,9                    | 22,4 | 19,9 | 18,8 | 17,8 | 56,4                      | 58,5 | 47,8 | 45   | 54,5 |
| Lévofloxacine    | 17,6                    | 16,3 | 17,1 | 14   | 19,5 | 22,7                      | 30   | 15,6 | 23,1 | 16,7 |
| Métronidazole    | 58,6                    | 41,4 | 62,4 | 48,9 | 45,1 | 87,3                      | 73,7 | 83,1 | 76,9 | 74,4 |
| Rifampicine      | 0,9                     | 0,8  | 0    | 0,3  | 0,3  | 1,2                       | 3,7  | 2,6  | 0    | 0    |
| Tétracycline     | 0                       | 0,4  | 0    | 0    | 0,3  | 0                         | 0    | 0    | 0    | 0    |

\*clarithromycine : résultats basés sur la PCR.

Les pourcentages de résistance aux autres antibiotiques sont calculés pour les cas où la culture était positive et l'antibiogramme complet.



La résistance au métronidazole reste à un niveau élevé à la fois chez les patients naïfs ou en échec de traitement d'éradication. Comme chaque année, la résistance à l'amoxicilline reste à un très faible niveau tout comme la résistance à la rifampicine qui doit rester un antibiotique de secours en cas d'éradication difficile.

Nous avons reçu du CH d'Annecy une souche présentant une triple mutation AGA\_TTC dans l'ADNr16S associée à un haut niveau de résistance à la tétracycline (CMI = 12mg/L). La patiente a cependant été traitée avec succès par Pylera (2 TRU de contrôle). L'existence d'un traitement à base de tétracyclines dans un contexte d'acné est une hypothèse retenue pour expliquer cette résistance. Un article est en cours d'écriture pour décrire ce cas.

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

Nous avons transmis, à la demande de Santé Publique France, nos bilans 2021 et 2022 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

**-ONERBA-DIG - Enquête trans-réseau de l'ONERBA en association avec le CNR des Campylobacters, le CNR des *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella* et le CNR des yersinioses.**

“Prévalence de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries à tropisme digestif en France”

#### Contexte et Justification

La résistance aux antibiotiques est une problématique majeure de santé publique qui est listée dans les actions prioritaires de santé au niveau européen et national. Les données concernant les bactéries à tropisme digestif (*Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*) sont peu nombreuses en France et colligées par chacun des CNR dédiés. En particulier, depuis 1999 les différents réseaux fédérés au sein de l'ONERBA n'ont pas inclus ces espèces bactériennes dans le panel surveillé « en routine » pour leur résistance aux antibiotiques.

Une enquête rétrospective dédiée devrait permettre d'apporter des données transversales et harmonisées, complétant les données existantes sur la résistance en France, pour chacune de ces espèces surveillées.

#### Objectif

L'objectif principal du projet est de documenter la prévalence de la résistance aux antibiotiques dans ces espèces isolées de tout type de prélèvement clinique à visée diagnostique. L'objectif secondaire est de documenter l'activité des laboratoires de microbiologie des réseaux de l'ONERBA consacrée à l'identification et à la surveillance de la résistance de ces espèces bactériennes.

#### Méthode

L'ONERBA en lien avec notre CNR Campylobacters-Hélicobacters et le CNR des *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella* va s'appuyer sur les laboratoires hospitaliers participant aux réseaux fédérés au sein de l'ONERBA (APHP, Azay-résistance, Col-BVH, Microbiologistes d'Ile-de-France, Microbiologistes du Nord-Pas-de-Calais, REUSSIR). Ce travail est également ouvert à d'autres réseaux avec l'aide de SPARES, Primo et Promise. Chaque représentant des réseaux au sein du conseil scientifique sollicitera les laboratoires participants à son réseau pour réaliser cette étude.

Chaque laboratoire devra être capable « d'exporter » les données collectées en routine pour 2019, 2020, 2021 et 2022 :

- sur la résistance aux antibiotiques des souches de *Campylobacter*, *E. coli* producteur de shigatoxine, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* ;
- isolées de prélèvements à visée diagnostique.

L'enquête a été construite fin 2022, les données seront analysées mi-2023. Le CNRCH prendra bien entendu part à l'analyse des résultats.

#### **-Participation au PHRC REBALANCE :**

L'AP-HP est promoteur d'un essai clinique intitulé : « Impact de la transplantation de microbiote fécal chez des patients atteints de rectocolite hémorragique : étude randomisée et contrôlée (REBALANCE-UC) », coordonnée par le Professeur Harry Sokol, gastro-entérologue à l'hôpital Saint-Antoine à Paris.

Cet essai clinique étudie l'efficacité de la transplantation de microbiote fécal chez des patients atteints de rectocolite hémorragique en rémission sous traitement conventionnel (corticothérapie).

Parmi les différents microorganismes recherchés, notre CNR est le centre expert pour la recherche de *Campylobacter* sp.

Le bilan 2019-2022 est présenté ci-dessous.

| Bilan REBALANCE                                     |      |      |      |      |
|-----------------------------------------------------|------|------|------|------|
|                                                     | 2019 | 2020 | 2021 | 2022 |
| Nombre total de selles reçues                       | 42   | 0    | 7    | 27   |
| Nombre de selles positives à <i>Campylobacter</i> : | 0    | -    | 1    | 2    |
| par culture                                         | -    | -    | 0    | 0    |
| par PCR                                             | -    | -    | 1    | 2    |
| par ELISA                                           | -    | -    | 0    | 0    |
| Nombre de donneurs                                  | 23   | -    | 7    | 13   |
| Moyenne d'âge (par donneur)                         | 25   | -    | 30   | 26   |
| Ratio H/F (par donneur)                             | 1,6  | -    | 1,3  | 0,9  |

#### **-Protocole CAMPYLODIP de recherche clinique interne au CHU de Bordeaux :**

L'objectif principal est de déterminer la prévalence du portage de *Campylobacter sp* dans les selles des patients atteints d'un déficit immunitaire.

Les objectifs secondaires sont :

- de définir la diversité des *Campylobacter sp* et leur profil de résistance aux antibiotiques ;
- d'identifier le profil immunologique des patients présentant un portage chronique de *Campylobacter sp* ;
- d'identifier d'éventuels facteurs de risque d'infection à *Campylobacter sp*.

Les patients sont suivis dans le service de Médecine Interne de l'Hôpital du Haut-Lévêque, patients affectés d'un déficit immunitaire primitif ou secondaire, humoral et/ou cellulaire et relevant d'une substitution par immunoglobulines polyvalentes.

Un recueil des données démographiques, cliniques et thérapeutiques de chacun des patients est effectué.

A chaque inclusion, une analyse de selles (2 analyses à 6 mois d'intervalle) est réalisée incluant :

- une coproculture avec recherche de *Campylobacter sp* par PCR et réalisation d'un antibiogramme de *Campylobacter sp* (si culture positive) ;
- un dosage de calprotectine fécale ;
- un dosage d'IgA fécaux.

Un bilan biologique sanguin entrant dans le cadre du soin courant est également réalisé : CRP ; Electrophorèse des protéines sériques ; Dosage IgM, IgG, IgA ; Dosage des sous classes IgG ; Sous-populations lymphocytaires incluant un phénotype B et T.

Des biopsies peuvent être analysées s'il y a nécessité d'effectuer une endoscopie digestive au patient (culture de bactéries entéropathogènes).

Les aspects éthiques de ce protocole entrent dans le cadre du soin courant du patient avec remise d'une note d'information au patient.

Le bilan 2022 est présenté ci-dessous.

| Bilan Campylodip 2022                               |     |
|-----------------------------------------------------|-----|
| Nombre total de selles reçues                       | 11  |
| Nombre de selles positives à <i>Campylobacter</i> : | 2   |
| par culture                                         | 1   |
| uniquement par PCR                                  | 1   |
| uniquement par ELISA                                | 0   |
| Nombre de patients                                  | 11  |
| Moyenne d'âge (par patients)                        | 62  |
| ratio H/F (par patients)                            | 1,2 |

#### **-Surveillance française de la résistance de *H. pylori* aux antibiotiques**

Nous avons posé les bases d'un nouveau système de surveillance déclaratif des infections à *H. pylori* en France. Ce système sera construit sur la base du site de saisie Campy-Internet (cf projet 2023-2027 du dossier de renouvellement du CNR). Plusieurs laboratoires ont été sollicités et sont prêts à participer dès 2023.

Cette interface sera déployée au cours du deuxième semestre 2023.

**-Surveillance des mutations présentes dans le gène *rpoB* associées à la résistance aux rifamycines chez *H. pylori*.**

En 2022, le gène *rpoB* de 4 souches de *H. pylori* isolées au CNRCH ayant une CMI à la rifampicine supérieure à 4 mg/L a été séquencé afin de déterminer les mutations responsables de cette résistance.

Normalement, les mutations les plus représentées sont celles présentes au niveau des acides aminés 530 et 540 : substitution d'un D par N ou E pour la position 530 et substitution d'un H par L pour la position 540. En 2022, aucune souche ne rentre dans ce contexte. Une seule souche possède la mutation L547F. Cette mutation est connue et décrite par Heep *et al.*, dans AAC en 2020 et Hays *et al.*, dans Helicobacter en 2017.

Deux souches possèdent la mutation I586L partiellement décrite par Wang *et al.*, dans AAC en 2021.

Une souche présente une double mutation L525P (première fois rencontrée au CNR mais décrite par Wang *et al.*, dans AAC en 2021) et A546V totalement originale.

**-Evaluation des mutations associées à la résistance à l'amoxicilline chez *H. pylori*.**

Le gène *pbp1*, codant pour la « penicillin-binding protein », est proposé pour être responsable de la résistance à l'amoxicilline, mais les mutations en cause sont nombreuses et mal déterminées. Les mutations présentes dans le gène *pbp1* de ces 5 souches (2 avec une CMI = 0,5mg/L, 2 avec une CMI = 0,25mg/L et une avec une CMI=0,19mg/L) ont donc été recherchées afin de procéder, avec celles retrouvées les années précédentes, à un état des lieux des mutations.

Une collaboration est en cours sur ce sujet avec le Dr Ivo G Boneca, spécialiste du peptidoglycane, à l'Institut Pasteur de Paris.

## 4. Alertes

---

Comme indiqué précédemment, les cas groupés sont rares pour les infections à *Campylobacters*. Nous signalons par email tout événement à notre correspondant Santé Publique France. Notre correspondant à Santé Publique France nous contacte également en fonction des éléments récupérés auprès des ARS.

Aucun événement majeur n'a été noté en 2022. Cependant au cours de l'été 2022, les ARS du Grand-Est, du Centre-Val de Loire et du Loiret ont été en contact avec le CNRCH pour des TIAC via nos laboratoires partenaires.

Nous suggérons que chaque ARS puisse adresser une lettre d'information à l'ensemble des laboratoires privés et hospitaliers sur la nécessité d'effectuer ou de coordonner les déclarations de TIAC mais également de conserver les souches ou prélèvements afin de les rendre disponibles. Cela nous permettrait en effet d'intervenir à temps afin de récupérer et de pouvoir confirmer ou non les cas groupés signalés.

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 réalisées par le secrétariat du CNR qui en informe les biologistes du CNR.

## 5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil

---

### 5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

-Liste des enseignements et des formations aux professionnels de santé

-Accueil de stagiaires pour le transfert de techniques

-Marine DUPUIS - BTS Bio-analyses et contrôles, Limoges (87) du 23 mai au 1er juillet 2022 (6 semaines) ;

-Emilie MATHIEU – BTSA Anabiotec, Blanquefort (33) du 27 juin au 16 septembre 2022 (12 semaines).

Toutes deux ont travaillé sur l'évaluation des antibiogrammes de *Campylobacters* en milieu liquide plaque Sensititre.

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

Les biologistes du CNRCH ont également participé à l'écriture de deux chapitres du REMIC sur les *Campylobacters* et les infections à *H. pylori*.

Le CNR a également participé à l'écriture de trois chapitres d'un livre sur les *Campylobacters* édité fin 2022 par la SFM.

-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.cnrch.fr](http://www.cnrch.fr)) où le rapport annuel du CNR est disponible. Les modifications des feuilles de demande y sont annoncées. Ces documents sont téléchargeables. 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 est remercié ou bien associé aux communications et publications (congrès ou articles).

-Information/formation des professionnels de santé

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

Sur l'année 2022, le site a accueilli environ 3083 visiteurs dont 1698 nouveaux visiteurs qui ont vu plus de 7600 pages, soit une baisse de 18 %.

Les pages les plus consultées sont :

-Page d'accueil et actualités : 56,34%

-Catalogue des actes : 9,50%

-Fiches techniques : 9,08%

-Contact : 6,26%

-Bilans et Publications : 3,15%

-Actualités : 2,17%

En 2022, le site a accueilli environ 3083 visiteurs qui ont visités plus de 7561 pages.

50,69% de nos visiteurs sont venus par l'intermédiaire des moteurs de recherche contre 45,90% l'année précédente ; 49,31% par accès direct contre 54,10% l'année dernière.

Les principales mises à jour du site internet du CNRCH en 2022 sont listées ci-dessous :

-nouvelle fiche de renseignements pour la recherche *Campylobacters*.

-actualisation de la fiche de renseignements pour la recherche d'antigènes *H. pylori*.

-dernière mise à jour des recommandations du CASFM 2022 pour *Campylobacters* et *H. pylori*.

-nouvelles valeurs moléculaires pour les tests de sensibilité aux antibiotiques pour *A. butzleri*.

-mise en ligne du dernier bilan de surveillance des *Campylobacters* par Santé Publique France.

-nouvelles versions des fiches de renseignements : Feuille de renseignements biopsie *Helicobacter pylori* ; Feuille de renseignement souche *Helicobacter pylori* ; Feuille de renseignements souche *Campylobacter* ; Demande de sérologie *C. jejuni*.



-Activités de conseil aux professionnels de santé.

Des appels téléphoniques ainsi que des courriels sont reçus régulièrement, pour des conseils thérapeutiques en cas d'infection systémique et de situations particulières ou pour des avis techniques. Une réponse est systématiquement donnée.

Comme chaque année, un bilan des mails et appels téléphoniques a été réalisé par le secrétariat du CNR. Seuls les contacts pour conseils thérapeutiques et techniques ont été répertoriés : 227 contacts (versus 173 en 2021) 124 par email et 103 par téléphone.

L'activité des contacts est en augmentation de 30% cette année en faveur des conseils techniques pour 56% des contacts pris avec le CNR alors qu'en 2021, les contacts furent majoritairement pris pour des avis thérapeutiques.

Pour ces avis ou conseils techniques et organisationnels, ils concernaient autant les *Campylobacters* que *H. pylori*.

Les emails sont adressés soit directement aux biologistes du CNR soit *via* le système de messagerie intégrée au site internet. Dans ce dernier cas, les biologistes du CNR (P Lehours, E Bessède et M Jauvain) ainsi que le secrétariat du CNR sont tous destinataires. P Lehours répond en priorité et en cas d'absence les autres biologistes répondent. Nous répondons à nos messages en général en moins de 24h ouvrées. Si une problématique nécessite discussion 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 immédiatement à un des biologistes du CNR, en cas d'absence, l'appel est tracé et un mail est envoyé par notre personnel aux biologistes pour les prévenir. Un planning de présence des biologistes est affiché et actualisé mensuellement par le 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 la catégorisation des bactéries du genre *Campylobacter*, *Aliarcobacter*, et *H. pylori*. Mise à jour également des valeurs de CQ pour ces bactéries.

-Transmission à l'ECDC via Santé Publique France des résistances aux antibiotiques chez les *Campylobacters*.

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

Le CNR n'a pas été sollicité en 2022.

## 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 N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

#### Pour *Campylobacter*

#### -Etude microbiologique et génomique de deux cas d'infections chroniques à *Campylobacters* signalés par le CHU de Lyon

-Cas N°1, patiente BJ

Depuis février 2022, le CHU de Lyon (Croix Rousse) a envoyé pour analyse au CNR des souches au CNRCH provenant d'un cas clinique très particulier. Il s'agit d'une patiente d'environ 68 ans présentant des bactériémies récidivantes à *C. coli* et *C. jejuni*. Au total, ce sont 14 souches de *C. coli* et 3 souches de *C. jejuni* isolées entre février 2022 et janvier 2023 qui ont été envoyées au CNR. Tous les antibiogrammes et identifications ont été re-testés au CNR. Le Tableau ci-dessous récapitule les profils de sensibilité aux antibiotiques. Dix souches représentatives de la période concernée ont été séquencées (8 *C. coli* et 2 *C. jejuni*).

Tableau. Récapitulatif des différentes souches reçues pour cette patiente avec les antibiogrammes associés.

| Souche                            | Espèce           | Prélèvement   | AMP                                 | CIP                  | ERY          | TET            | GEN          | AUG | ERT       | IMI       | MER       |
|-----------------------------------|------------------|---------------|-------------------------------------|----------------------|--------------|----------------|--------------|-----|-----------|-----------|-----------|
| CC-1                              | <i>C. coli</i>   | Février 2022  | S                                   | R                    | S            | R              | S            | S   | 0,125 (S) | 0,125 (S) | 0,023 (S) |
| CC-2                              | <i>C. coli</i>   | Avril 2022    | S                                   | R                    | R            | R              | S            | S   | 0,125 (S) | 0,094 (S) | 0,023 (S) |
| CC-3                              | <i>C. coli</i>   | Mai 2022      | S                                   | R                    | S            | R              | S            | S   | 0,25 (S)  | 0,125 (S) | 0,047 (S) |
| CC-4                              | <i>C. coli</i>   | Novembre 2022 | S                                   | R                    | S            | R              | S            | S   | 1,5 (S)   | 0,125 (S) | 0,125 (S) |
| CC-5                              | <i>C. coli</i>   | Novembre 2022 | S                                   | R                    | S            | R              | R            | S   | 1,5 (S)   | 0,125 (S) | 0,5 (S)   |
| CC-6                              | <i>C. coli</i>   | Décembre 2022 | S                                   | R                    | S            | R              | R            | S   | 3 (R)     | 0,094 (S) | 0,19 (S)  |
| CC-7                              | <i>C. coli</i>   | Décembre 2022 | S                                   | R                    | S            | R              | R            | S   | 0,75 (S)  | 0,125 (S) | 0,094 (S) |
| CC-8                              | <i>C. coli</i>   | Janvier 2023  | S                                   | R                    | S            | R              | R            | S   | 0,064 (S) | 0,094 (S) | 0,016 (S) |
| CJ-1                              | <i>C. jejuni</i> | Mai 2022      | R                                   | R                    | R            | R              | S            | S   | 0,003 (S) | 0,016 (S) | 0,006 (S) |
| CJ-2                              | <i>C. jejuni</i> | Juillet 2022  | R                                   | R                    | R            | R              | S            | S   | 0,003 (S) | 0,023 (S) | 0,004 (S) |
| Mécanismes de résistance associés |                  |               | G57T ( <i>bla<sub>oxa61</sub></i> ) | T86I ( <i>GyrA</i> ) | A2075G (23S) | <i>tet</i> (O) | A1358G (16S) | -   |           |           |           |

Afin de déterminer si ces infections répétées sont liées à une seule et unique souche de *C. coli* et *C. jejuni*, les génomes des souches ont été séquencés et analysés par les méthodes couramment employées du CNRCH (extraction d'ADN au Magna Pure 96 et séquençage Illumina Iseq 100).

Les analyses suivantes ont été effectuées pour comparer les génomes entre eux : l'attribution de la source de contamination, le typage moléculaire MLST, l'ANI et la DDH. Concernant les souches de *C. coli*, le réservoir volaille (score de 100%) a systématiquement été attribué et pour *C. jejuni* il s'agit du réservoir ruminant (score de 100%) pour les deux souches.

La MLST a également donné des résultats identiques pour toutes les souches. Les souches de *C. coli* ont le profil MLST suivant : *aspA* 33 / *glnA* 39 / *gltA* 30 / *glyA* 82 / *pgm* 113 / *tkf* 47 / *uncA* 17; et les souches de *C. jejuni* le profil MLST suivant : *aspA* 2 / *glnA* 1 / *gltA* 0 / *glyA* 3 / *pgm* 2 / *tkf* 1 / *uncA* 5.

|     |          |        |        |        |        |        |        |        |        |        | REF      |          |
|-----|----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------|----------|
|     | CC1      | CC2    | CC3    | CC4    | CC5    | CC6    | CC7    | CC8    | CJ1    | CJ2    | CC_11283 | CJ_11351 |
| CC1 | 100.00   | 99.99  | 99.99  | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 99.99  | 99.99  | 86.16  | 86.30  | 98.64    | 85.48    |
| CC2 | 99.99    | 100.00 | 99.99  | 99.99  | 99.98  | 99.99  | 99.99  | 99.98  | 86.29  | 86.23  | 98.67    | 85.67    |
| CC3 | 99.99    | 99.99  | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 99.99  | 99.99  | 99.98  | 86.42  | 86.36  | 98.72    | 85.65    |
| CC4 | 100.00   | 99.99  | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 99.99  | 100.00 | 99.99  | 86.46  | 86.34  | 98.74    | 85.67    |
| CC5 | 100.00   | 99.98  | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 86.32  | 86.41  | 98.62    | 85.62    |
| CC6 | 100.00   | 99.99  | 99.99  | 99.99  | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 99.99  | 86.37  | 86.36  | 98.64    | 85.80    |
| CC7 | 99.99    | 99.99  | 99.99  | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 99.99  | 86.27  | 86.45  | 98.62    | 85.48    |
| CC8 | 99.99    | 99.98  | 99.98  | 99.99  | 100.00 | 99.99  | 99.99  | 100.00 | 86.42  | 86.26  | 98.64    | 85.62    |
| CJ1 | 86.16    | 86.29  | 86.42  | 86.46  | 86.32  | 86.37  | 86.27  | 86.42  | 100.00 | 100.00 | 86.24    | 97.49    |
| CJ2 | 86.30    | 86.23  | 86.36  | 86.34  | 86.41  | 86.36  | 86.45  | 86.26  | 100.00 | 100.00 | 86.37    | 97.46    |
| REF | CC_11283 | 98.64  | 98.67  | 98.72  | 98.74  | 98.62  | 98.64  | 98.62  | 86.24  | 86.37  | 100.00   | 85.78    |
|     | CJ_11351 | 85.48  | 85.67  | 85.65  | 85.67  | 85.62  | 85.80  | 85.48  | 97.49  | 97.46  | 85.78    | 100.00   |

Figure. Matrice des scores ANI entre les différentes souches de la patiente entre elles ainsi que deux références (CC\_11283 = *C. coli* CCUG 11283; CJ\_11351 = *C. jejuni* NCTC 11351). Les scores DDH ont donné des valeurs similaires.

Les résultats d'attribution de source et de typage MLST combinés aux scores ANI et DDH très élevés suggèrent que toutes les souches de *C. coli* et les deux souches de *C. jejuni* sont très probablement les mêmes.

Pour *C. coli* cependant, la souche a acquis une résistance à la gentamycine avec une mutation dans la séquence de l'ADNr 16S (A1358G). Elle a également acquis puis perdu une mutation dans l'ADNr 23S associée à la résistance aux macrolides.

En décembre 2022, la patiente a fait une bactériémie avec 2 souches de *C. coli* identiques mais dont l'une présentait une résistance isolée à l'ertapénème. L'analyse de PorA indique une insertion dans cette souche qui semble partiellement occulter le canal de la porine.

Nous sommes en train de colliger les événements cliniques et thérapeutiques au cours du temps afin de tenter de corréliser avec l'apparition de ces événements génétiques.

#### -Cas n°2, patiente MHT

Un second cas clinique du CHU de Lyon (Croix Rousse) a attiré notre attention. Plusieurs souches d'une même patiente de 74 ans ont été reçues entre juin 2022 et février 2023. En effet, cette patiente présente ici une bactériémie récidivante à *C. coli*. Tous les antibiogrammes et identifications ont été re-testés au CNR. Le Tableau ci-dessous récapitule les profils de sensibilité aux antibiotiques. Deux souches ont été séquencées (CC-22 et CC-23).

Tableau. Résultat de l'identification de l'espèce et des antibiogrammes à partir des souches envoyées par Lyon.

| Souche  | Espèce         | Prélèvement  | AMP | CIP | ERY | TET | GEN | AUG | ERT          | IMI          | MER          |
|---------|----------------|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------------|--------------|--------------|
| CC-19   | <i>C. coli</i> | Juin 2019    | R   | R   | R   | R   | S   | S   | S<br>(0,064) | S<br>(0,125) | S<br>(0,094) |
| CC-22   | <i>C. coli</i> | Juin 2022    | R   | R   | R   | R   | S   | S   | S<br>(0,047) | S<br>(0,094) | S<br>(0,047) |
| CC-22-2 | <i>C. coli</i> | Octobre 2022 | R   | R   | R   | R   | R   | S   | S<br>(0,047) | S<br>(0,094) | S<br>(0,047) |
| CC-23   | <i>C. coli</i> | Janvier 2023 | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R<br>>32     | S<br>0,125   | R<br>>32     |

Les analyses génomiques pour deux autres souches de cette même patiente (CC-19 et CC-22-2) sont en cours.

Les génomes des souches «CC-22» et «CC-23» ont été séquencés avec la technologie Illumina puis comparés entre eux. Les analyses du génome entier ANI, DDH et wgSNP (comparaison deux-à-deux des mutations ponctuelles dans le génome) ont révélé une très forte similarité entre les deux souches de *C. coli*.

Tableau. Comparaison des deux souches entre elles et au génome de référence *C. coli* CCUG 11283. Les analyses MLST et d'attribution de source ont également apporté les mêmes résultats : les mêmes allèles pour la MLST (*aspA* 0 / *glnA* 38 / *gltA* 30 / *glyA* 82 / *pgm* 104 / *tkf* 35 / *uncA* 17) et la même source de contamination, le réservoir porcin à 100% d'estimation.

| Souche | Comparé à                   | ANI     | DDH     | wgSNP  |
|--------|-----------------------------|---------|---------|--------|
| CC-22  | CC-23                       | 99.99 % | 99.97 % | 99.3 % |
| CC-22  | Référence de <i>C. coli</i> | 98.42 % | 85.77 % | 82.7 % |
| CC-23  | Référence de <i>C. coli</i> | 98.49 % | 85.83 % | 82.6 % |

Concernant la détection moléculaire de la résistance aux antibiotiques, les mêmes mécanismes ont été retrouvés pour l'AMP, la CIP, l'ERY et la TET à savoir, respectivement, la mutation G57T dans la région promotrice de la *bla<sub>oxa61</sub>*, la mutation T86I dans la région QRDR de la protéine GyrA, la mutation A2075G dans l'*ADNr* 23S et l'expression du gène *tet(O)*. Concernant la souche CC-23, une mutation G1435T dans l'*ADNr* 16S (la même que pour le cas n°1) explique la résistance à la GEN et des mutations supplémentaires dans la région promotrice de la *bla<sub>oxa61</sub>* pourraient expliquer l'acquisition de la résistance à l'amox-clav.

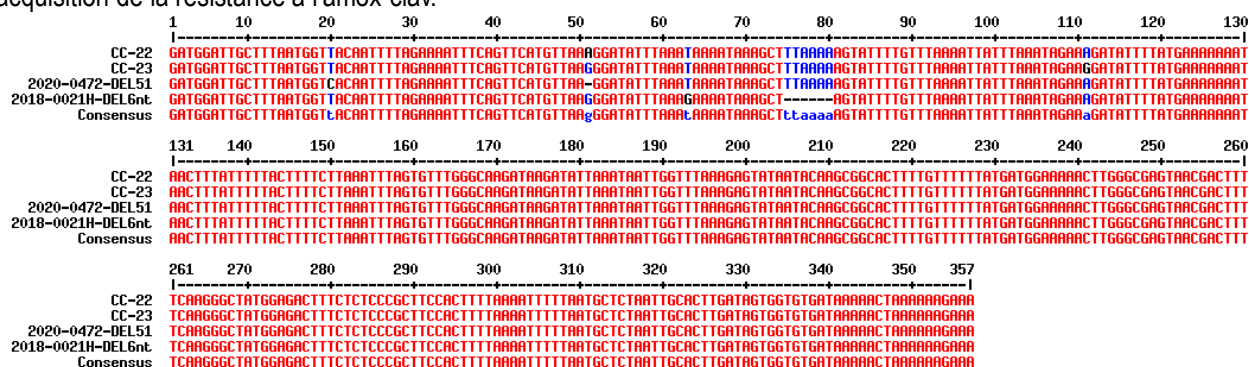


Figure. Alignement des séquences promotrices de la *bla<sub>oxa61</sub>* entre la souche de 2022 (AMP R / AUG S), la souche de 2023 (AMP R / AUG R), une souche avec une mutation en position A69 (AMP R / AUG R) et une souche avec 6 nucléotides délétés (AMP R / AUG S). Deux mutations entre la souche de 2022 et celle de 2023 ont été identifiées, les mutations A69G et A9G.

De plus, une insertion des acides aminés «DNAIDGL» en position 146 dans la séquence de la protéine PorA de la souche CC-23 pourrait expliquer la résistance à l'ertapénème et au méropénème.

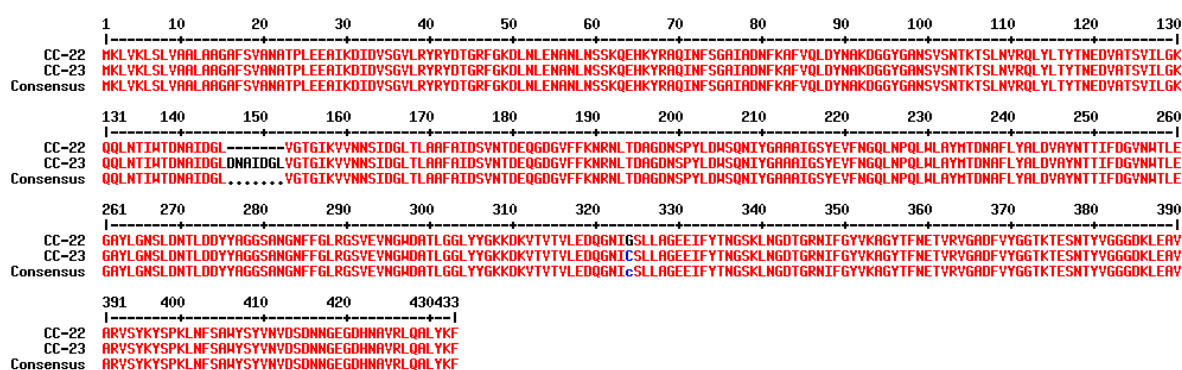


Figure. Alignement de la protéine PorA entre la souche de 2022 et la souche de 2023.

En effet, la modélisation 3D de PorA dans CC-23 indique que le canal est complètement obstrué.

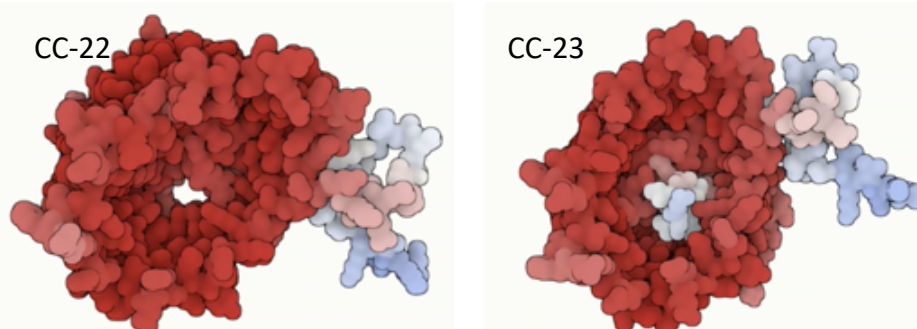


Figure. Modélisation 3D de PorA dans la souche CC-22 (sensible aux carbapénèmes) et CC-23 (résistante aux carbapénèmes)

Nous prévoyons de séquencer le génome des 2 souches récemment obtenues.

Nous avons proposé au CHU de Lyon de décrire ces deux cas d'infections chroniques à *Campylobacter* par des souches à priori hyper-mutatrices dans un article à rédiger courant 2023.

### -Description d'une nouvelle espèce proche de *Campylobacter lanienae*

En 2020 et 2022, deux souches n'ont pas été identifiées au niveau de l'espèce avec certitude au MALDI-TOF, avec des scores proches mais non-significatifs (inférieurs à 2) pour *C. lanienae*. Ces deux souches présentent des sensibilités à chacun des antibiotiques testés : ampicilline, amoxicilline-acide clavulanique, ciprofloxacine, érythromycine, tétracycline et gentamicine. Des analyses phénotypiques et génomiques supplémentaires ont été envisagées dans le but (1) d'identifier l'espèce et (2) d'estimer si les deux patients ont été contaminés par la même bactérie. Ont été notamment effectuées les analyses des séquences 16S et GyrA, couramment utilisées pour déterminer l'espèce, ainsi que de la microscopie électronique.

| Informations   | Patient 1 - 2020                          | Patient 2 - 2022 |
|----------------|-------------------------------------------|------------------|
| Age            | 48 ans                                    | 68 ans           |
| Sexe           | Masculin                                  | Féminin          |
| Correspondants | AP HOP SAINT ANTOINE                      | BIOSEVRES        |
| Code postal    | 75011                                     | 79600            |
| Symptômes      | Diarrhée chronique, patient immunodéprimé | Inconnus         |

Tableau. Informations globales concernant les deux souches reçues en 2020 et 2022.

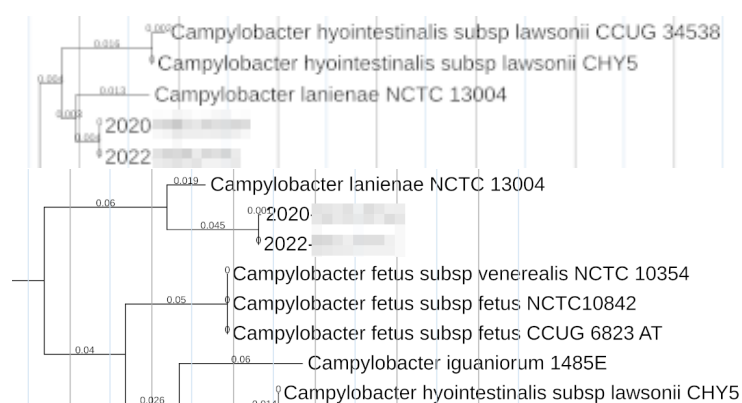


Figure. Arbre phylogénétique des séquences protéiques GyrA (bas).

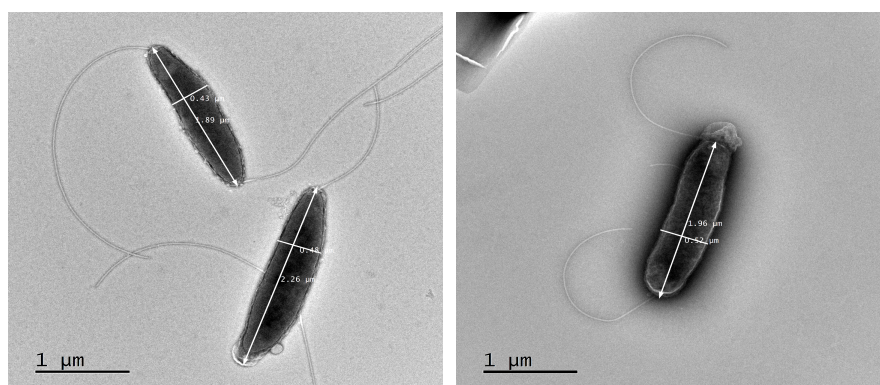


Figure. Microscopie électronique réalisée à partir de la souche de référence *C. lanienae* CIP 106745 (à gauche) et la souche du patient 1 (à droite). Les deux cellules ont des morphologies similaires, à savoir une taille moyenne d'environ 2 x 0,5 µm, amphotriches et avec des flagelles non gainés.



Malgré la forte similarité entre ces deux souches et l'espèce *C. lanienae*, il est difficile d'être certain sur l'identification. Il a été envisagé de séquencer le génome des deux isolats afin de pouvoir rendre avec certitude un diagnostic. Dans le but d'être comparé au génome de la souche de référence NCTC 13004 de *C. lanienae* et ceux de plus d'une centaine d'autres espèces, l'ADN des souches d'intérêt a été extrait à partir de cultures pures à l'aide du système Magna Pure 96 et le séquençage du génome complet a été réalisé par la technologie Illumina.

|                       | <i>C. lanienae</i> NCTC 13004 | Patient 1 - 2020 | Patient 2 - 2022 |
|-----------------------|-------------------------------|------------------|------------------|
| Taille du génome (pb) | 1 594 554                     | 1 650 506        | 1 541 154        |
| GC %                  | 35                            | 34,5             | 32,8             |
| ANI vs NCTC 13004     | -                             | 83,6             | 83,1             |
| DDH vs NCTC 13004     | -                             | 60,2             | 66,6             |
| ANI 2020 vs 2022      | -                             | 97,95            |                  |

Tableau. Comparaisons entre le génome des deux souches d'intérêt et le génome de référence de l'espèce *C. lanienae*. ANI = Average Nucleotide Identity (seuil de significativité  $\geq 95\%$ ); DDH = DNA-DNA Hybridization (seuil de significativité  $\geq 80\%$ ).

Les analyses ANI et DDH, en se basant sur la souche de référence *C. lanienae* NCTC 13004, sont non-significatives pour cette espèce. Ces analyses complémentaires en utilisant le génome ne permettent également pas d'identifier l'espèce bactérienne isolée de ces deux cas cliniques. Il peut toutefois être avancé que, a minima, les deux souches sont bien issues d'une même espèce en se basant sur les analyses ANI et DDH positives entre celles-ci ainsi que sur les profils phénotypiques identiques. Afin d'y voir plus clair sur ces cas cliniques, une recherche bibliographique a été effectuée en se basant sur quelques gènes composant le génome de ces deux souches. Nous avons montré qu'en analysant les séquences des gènes A, B et C de l'opéron CDT (Cytolethal Distending Toxin) à partir de la base de données NCBI, quelques autres génomes de souches de *Campylobacter* isolées en 2009 aux USA possédaient des séquences entièrement identiques (William G. Miller *et al.*, «Comparative Genomic Analysis Identifies a *Campylobacter* Clade Deficient in Selenium Metabolism», 2017, *Genome Biology and Evolution*, <https://doi.org/10.1093/gbe/evx093>). La publication associée décrit des *Campylobacter*s également proches de *C. lanienae* qui peuvent être regroupés en 3 clades distincts :

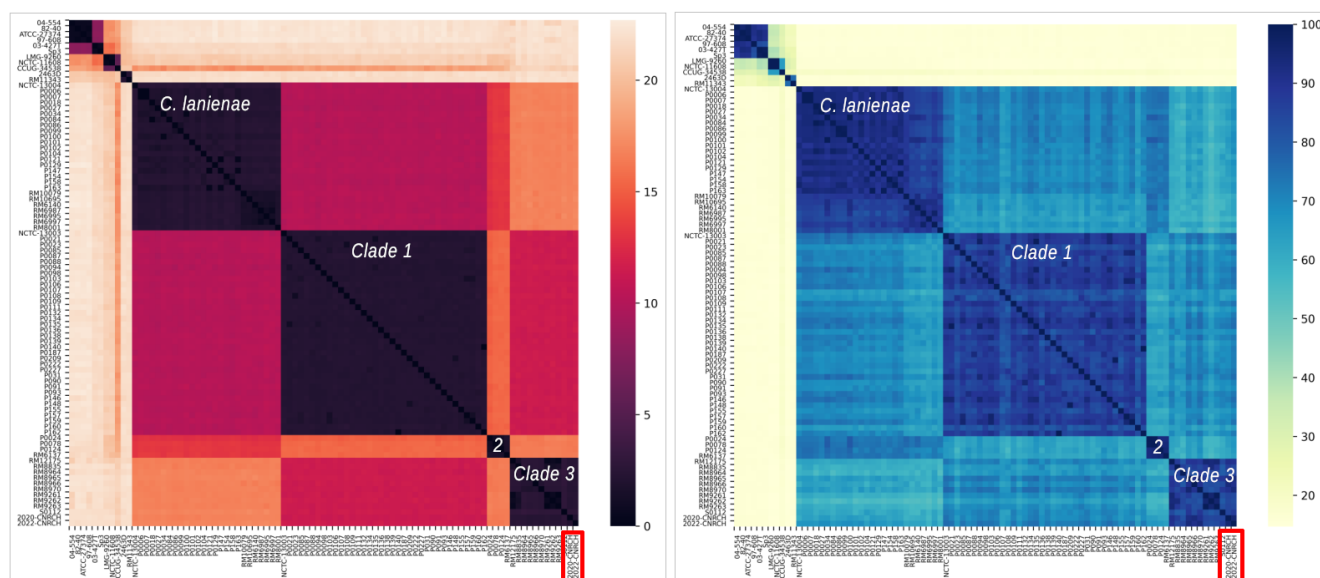


Figure. Analyses ANI et DDH effectuées à partir des souches de l'étude de Miller *et al.*, et les deux souches du cas cliniques du CNRCH (dernières positions dans la figure, dans le clade 3). Les valeurs fortement significatives d'ANI et de DDH montrent bien ici que les souches des différents clades n'appartiennent pas à la même espèce de *Campylobacter*.

Dans cette étude, les souches du clade 1 et 2 ont été principalement isolées de porcs en Ecosse et les souches du clade 3 de chèvres et d'alpagas aux USA, en Californie (aucune souche n'est issue d'un patient).

L'analyse des séquences protéiques de CdtA, CdtB et CdtC de ces souches avec celles de l'article précédent a également permis de montrer une association entre les différentes espèces ou clades et l'opéron CDT :

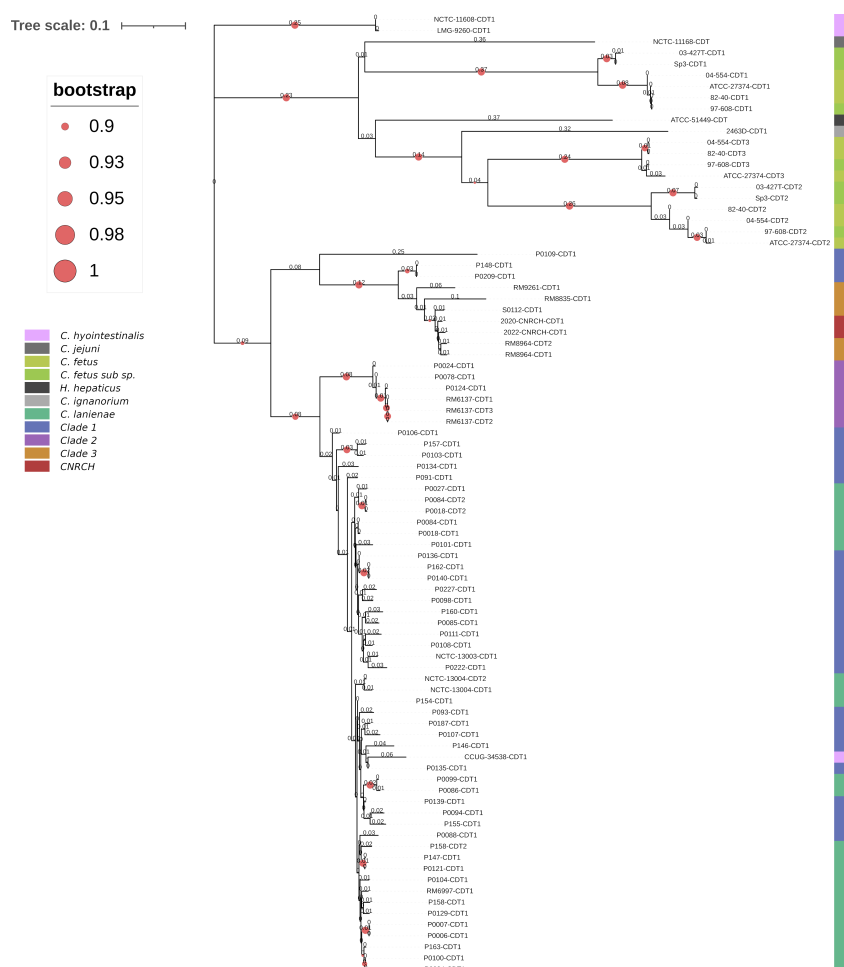


Figure. Arbre phylogénétique construit à partir des alignements des séquences concaténées des protéines CdtA, CdtB et CdtC. De manière similaire aux analyses ANI et DDH, les deux souches du CNRCH (rouge) se retrouvent avec les souches du clade 3.

Nous nous sommes également intéressés en avril 2023 à l'activité de l'opéron CDT retrouvé chez cette bactérie (à 98,27% identique entre les deux souches). A l'aide de modèles de cocultures sur lignées cellulaires, l'activité CDT de ce nouveau *Campylobacter* a été confirmée.

Cette étude est actuellement en cours de finalisation. Nous souhaitons proposer une nouvelle espèce qui portera, en lien avec Paris, la ville où a été isolée pour la première fois cette souche en France, le nom de «*Campylobacter lutetiae*».

## Pour *Helicobacter*

### -Caractérisation microbiologique et génomique des souches de collection du genre *Helicobacter* (*H. pylori* exclu)

En 2022, une étude a eu pour objectif d'enrichir la base de données de l'appareil MALDI-TOF de Bruker avec des espèces rares du genre *Helicobacter*. Réalisée par un interne en Biologie du CHU de Bordeaux, Sahel Wandji (encadré par le Pr. Philippe Lehours), cette étude s'est basée sur une collection conséquente de souches de référence d'espèces du genre *Helicobacter* disponible au CNRCH récupérée en 2017 du précédent contrat.

La première étape de cette étude a consisté à re-cultiver chacune des souches de référence afin de réaliser des tests biochimiques (galeries API) et la spectrométrie de masse avec la base par défaut du MALDI-TOF Bruker. Lorsque les résultats de la galerie API et ceux du MALDI-TOF ne permettaient pas d'identifier l'espèce, une seconde étape a été réalisée : le séquençage du génome de la souche. Les ADN ont été extraits avec le système Magna Pure 96 et les génomes ont été séquencés avec l'appareil Iseq 100 d'Illumina.

Tableau. Liste des souches de référence séquencées lors de cette étude. Les scores ANI et DDH significatifs pour l'identification de l'espèce sont indiqués en vert et les scores non significatifs en rouge.

| Souches de référence au CNRCH        | Score ANI | Score DDH | Correspondance souche de référence publique          |
|--------------------------------------|-----------|-----------|------------------------------------------------------|
| <i>H. nemestrinae</i> CIP 104754 (a) | 95.39     | 81.37     | <i>H. pylori</i> PMSS1                               |
| <i>H. bizzozeronii</i> CIP 105233    | 98.30     | 92.97     | <i>H. bizzozeronii</i> CCUG 35545                    |
| <i>H. anseris</i> CCUG 52421         | 99.99     | 99.97     | <i>H. anseris</i> MIT 04-9362                        |
| <i>H. pametensis</i> CIP 104249      | 99.99     | 100       | <i>H. pametensis</i> ATCC 51478                      |
| <i>H. brantae</i> CCUG 52420         | 99.99     | 99.97     | <i>H. brantae</i> MIT 04-9366                        |
| <i>H. fennelliae</i> DSM 7491        | 99.99     | 99.83     | <i>H. fennelliae</i> MRY120050                       |
| <i>H. canis</i> CIP 104753T (b)      | 87.50     | 50.13     | <i>H. canis</i> CCUG 32756T                          |
| <i>H. canis</i> CIP 104752 (b)       | 87.46     | 50.17     | <i>H. canis</i> CCUG 32756T                          |
| <i>H. rappini</i> CCUG 29176 (b)     | 87.51     | 50.10     | <i>H. canis</i> CCUG 32756T                          |
| <i>H. rappini</i> CCUG 23435 (c)     | 99.99     | 99.90     | <i>H. rappini</i> 95150 / <i>H. bilis</i> ATCC 51630 |
| <i>H. canadensis</i> NCTC 13242      | 98.40     | 91.90     | <i>H. canadensis</i> MIT 98-5491                     |
| <i>H. canadensis</i> CCUG 47163      | 100       | 100       | <i>H. canadensis</i> MIT 98-5491                     |
| <i>H. valdiviensis</i> CECT 8410     | 99.99     | 99.97     | <i>H. valdiviensis</i> WBE14                         |
| <i>H. muridarum</i> CCUG 29262       | 100       | 99.93     | <i>H. muridarum</i> NCTC 12714                       |
| <i>H. hepaticus</i> ATCC 51559       | 100       | 100       | <i>H. hepaticus</i> ATCC 51449                       |

C'est donc un total de 15 génomes qui ont été revus dans cette étude. Les analyses ANI et DDH ont été effectuées à partir de génomes de référence disponibles dans les bases de données publiques (notamment NCBI). De manière générale, les analyses des différents génomes dans leur intégralité et à l'aide des méthodes ANI et DDH, ont permis d'identifier avec certitudes les bonnes espèces. Cependant, trois particularités ont été relevées :

- Premièrement, la souche présentée comme «*H. nemestrinae* CIP 104754» a été identifiée comme une souche d'*H. pylori*. En effet, lorsque l'on s'intéresse à la littérature on peut observer qu'aucun génome de référence pour cette espèce n'est disponible et qu'une précédente étude a conclu que cette espèce n'était en réalité que *H. pylori* <sup>1</sup>. C'est ici confirmé avec les analyses effectuées au CNRCH.
- Deux souches de référence présentées comme appartenant à l'espèce *H. canis* n'ont pas été identifiées comme telles. De plus, la souche de *H. rappini* CCUG 29176 a été assimilée à ces deux souches de *H. canis*. Il est possible que ces 3 souches soient similaires et puissent représenter une même sous-espèce de *H. canis*.
- Enfin, la souche de collection *H. rappini* CCUG 23435 du CNRCH a également présenté un résultat discordant lors de l'identification de l'espèce. Il s'agirait en réalité d'une souche de *H. bilis* comme indiqué par les résultats ANI/DDH et une publication récente <sup>2</sup>.





a été appréciée par lecture de ces géloses. Les résultats obtenus ont montré que toutes les géloses ensemencées avec les différentes souches probiotiques ont permis la pousse de bactéries visibles à l'œil nu après 24h d'incubation. Cette étape a permis de valider le fait que les souches probiotiques poussent sur les milieux utilisés pour la croissance de *H. pylori* et en microaérobiose, atmosphère nécessaire à la croissance de *H. pylori*.

Ainsi, dans un second temps, l'action des souches probiotiques sur la croissance de *H. pylori* a été évaluée, selon la démarche suivante. 0,5 mL des souches de probiotiques contenues dans les cryotubes ont été mises en suspension dans le milieu liquide MRS fourni par la société (MRS+cystéine ajusté à pH 6.5 pour les 3 souches de *Bifidobacterium sp.* et MRS pour les 17 souches de *Lactobacillus sp.*). Après une nuit d'incubation, 1,6 mL de MRS-Cystéine contenant les *Bifidobacterium sp.* ont été placés dans 16 mL de MRS et 0,5 mL de MRS contenant les Lactobacilles dans 10 mL de MRS. Ces milieux ont été placés à 37°C pour 3 heures d'incubation puis 50 microlitres de ces milieux ont été déposés dans un puits réalisé dans une gélose Pylo (milieu préparé au CNR selon le mode opératoire adapté) préalablement ensemencée par une souche de *H. pylori*. Deux souches de *H. pylori* ont été utilisées : la souche de référence CCUG17874 et une souche issue d'un patient et provenant de la collection du CNRCH. Des témoins négatifs avec milieu MRS-cystéine et MRS seul ont été réalisés. Un témoin positif avec un antibiotique a également été réalisé. La taille du diamètre des zones d'inhibition (en mm) autour du puits a été mesurée après 48h et 72h d'incubation à 37°C. A partir de culture de *H. pylori* réalisée sur milieu Pylo, des géloses MH10% ont été ensemencées avec une suspension de *H. pylori*. Un puits a été réalisé au centre de la gélose afin d'y déposer 50 microlitres de la suspension de souches probiotiques. Après 48 et 72 h de coculture, les diamètres d'inhibition autour de ces puits ont été mesurés. Ainsi, aucune inhibition de la pousse de *H. pylori* n'a été observée avec les souches de probiotiques testées.

#### **-Détermination du support génétique de la résistance de souches de *H. pylori* reçues d'Algérie (collaboration avec le Dr N Benamrouche)**

Le Pr Benamrouche, chef du Laboratoire des Entérobactéries et autres Bactéries Apparentées de l'institut Pasteur d'Algérie, a sollicité l'aide du CNR pour vérifier le statut de résistance d'isolats de *H. pylori* obtenus à partir de biopsies gastriques dans leur laboratoire.

L'institut Pasteur a envoyé 37 extraits d'ADN (ratio H/F 0,4, moyenne d'âge 34 ans) dont 29 se sont révélés positifs à *H. pylori* par PCR en temps réel au CNRCH. Les 8 échantillons retrouvés négatifs au CNR sont soit dû à une mauvaise qualité d'ADN, soit à un résultat *H. pylori* faussement positif à l'institut Pasteur.

Sur les 29 positifs, 51,7% de patients sont résistants à la clarithromycine (5 avec génotype 23S A2142-3G et 10 avec double population sauvage/A2142-3G) et 6,9% sont résistants aux fluoroquinolones (2 avec mutations protéiques GyrA, D91Y et D91G). 3 discordances ont été observées entre les résultats d'antibiogramme d'Alger et le génotype obtenu par PCR au CNR :

-n=2 : génotype 23S sauvage (Bordeaux) vs Etest clarithromycine résistant (Alger).

-n=1 : génotype gyrA sauvage (Bordeaux) vs Etest lévofloxacine résistant (Alger).

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

Les noms des membres du CNR sont surlignés en gris. Les financements SPF du CNR sont systématiquement mentionnés dans les remerciements des publications nationales et internationales.

### **-Publications (n=5)**

#### **Publications internationales**

-Bénéjat L, Giese A, Lescaudron Z, Bonnac J, Ducournau A, Bessède E, Lehours P. Automation of RIDA®GENE *Helicobacter pylori* PCR on the BD MAX™ System. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2022 Apr 22. doi: 10.1007/s10096-022-04444-1. Online ahead of print. PMID: 35460029

-Jehanne Q, Bénéjat L, Ducournau A, Bessède E, Lehours P. Molecular Cut-off Values for *Aliarcobacter butzleri* Susceptibility Testing. Microbiol Spectr. 2022 Aug 31;10(4):e0100322. doi: 10.1128/spectrum.01003-22. Epub 2022 Jul 7. PMID: 35862990

-Roupie AL, Lafint E, Fraïtad S, Ferroni A, Boccara O, Bessède E, Lehours P, Lefrère F, Lortholary, O. Recurrent cellulitis revealing *Helicobacter cinaedi* bacteremia in a patient on lbrutinab therapy. Emerg Infect Dis. 2023 Mar;29(3):640-641. doi: 10.3201/eid2903.221329.

-L Bénéjat A Ducournau, C Domingues Martins, E Bessède P Lehours. RIDA®GENE *Helicobacter pylori* PCR on the ELITe InGenius System. Eurt J Clin Microb Infect Dis 2023 Mar 16. doi: 10.1007/s10096-023-04563-3.

-Tinévez C, Lehours P, Ranc AG, Belaroussi Y, Cazanave C, Puges M, Velardo F, Dubois D, Neuwirth C, Pailhoriès H,

Dorel M, Hery-Arnaud G, Join-Lambert O, Gras E, Corvec S, Codde C, Fournier D, Boijout H, Doat V, Bouard L, Lagneaux AS, Pichon M, Couzigou C, Letellier C, Lemaigen A, Bille E, Bérard X, Caradu C, Webster C, Neau D; Campylobacteremia Study Group. Multicenter Retrospective Study of Vascular Infections and Endocarditis Caused by *Campylobacter* spp., France. *Emerg Infect Dis*. 2023 Mar;29(3):484-492. doi: 10.3201/eid2903.221417. PMID: 36823023

#### En lien avec l'activité de recherche INSERM

- Bacon S, Seeneevassen L, Fratacci A, Rose F, Tiffon C, Sifré E, Haykal MM, Moubarak MM, Ducournau A, Bruhl L, Claverol S, Tokarski C, Gouloumi AR, Pateras IS, Daubon T, Lehours P, Varon C, Martin OCB. Nrf2 Downregulation Contributes to Epithelial-to-Mesenchymal Transition in *Helicobacter pylori*-Infected Cells. *Cancers (Basel)*. 2022 Sep 2;14(17):4316. doi: 10.3390/cancers14174316. PMID: 36077851

-Giraud J, Seeneevassen L, Rousseau B, Bouriez D, Sifré E, Giese A, Nguyen TL, Tiffon C, Lippi Y, Azzi-Martin L, Pannequin J, Ménard A, Bessède E, Staedel C, Mégraud F, Belleannée G, Lehours P, Gronnier C, Dubus P, Varon C. CD44v3 is a marker of invasive cancer stem cells driving metastasis in gastric carcinoma. *Gastric Cancer*. 2022 Dec 18. doi: 10.1007/s10120-022-01357-y. Online ahead of print. PMID: 36528833

-Sturm N, Lehours P, Genevay M, B. Huard. Spatial heterogeneity for APRIL production in the lower intestine. *J Leukoc Biol* 2023. Feb 7:qiad014. doi: 10.1093/jleuko/qiad014. Online ahead of print. PMID: 36808499

-Giraud J, Seeneevassen L, Rousseau B, Bouriez D, Sifré E, Giese A, Nguyen TL, Tiffon C, Lippi Y, Azzi-Martin L, Pannequin J, Ménard A, Bessède E, Staedel C, Mégraud F, Belleannée G, Lehours P, Gronnier C, Dubus P, Varon C. CD44v3 is a marker of invasive cancer stem cells driving metastasis in gastric carcinoma. *Gastric Cancer*. 2023 Mar;26(2):234-249. doi: 10.1007/s10120-022-01357-y. Epub 2022 Dec 18. PMID: 36528833

#### En lien avec l'activité de recherche hospitalière

-Bothorel P., A. Patry, A. Labrunie, L. Renesme, P. Lehours, M. Benard, D. Dubois, L. Ponthier, S. Meyer, K. Norbert, L. Villeneuve, P. Jouvencel, D. Leyssene, D. Chainier, S. Luce, C. Grélaud, M.C. Ploy, A. Bedu, F. Garnier. Dynamics of bacterial carriage and integron presence in gut of French preterm new-borns according to maternal colonization: the DAIR3N multicentric study. *Front Microbiol* 2023. Mar 14;14:1148319. doi: 10.3389/fmicb.2023.1148319. eCollection 2023. PMID: 36998410

-Florence Hoeffler, Xavier Pouget-Abadie, Mariam Roncato-Saberan, Romain Lemarié, Eve-Marie Takoudju, François Raffi, Stéphane Corvec, Morgane Le Bras, Charles Cazanave, Philippe Lehours, Thomas Guimard, Caroline Allix-Béguec Clinical and Epidemiologic Characteristics and Therapeutic Management of Patients with *Vibrio* Infections, Bay of Biscay, France, 2001-2019. *Emerg Infect Dis*. 2022 Dec;28(12). doi: 10.3201/eid2812.220748.

-Issa N, Coppry M, Ripoche E, Guisset O, Mourissoux G, Bessède E, Camou F. Impact of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacterales (ESBL-E) rectal carriage in cancer patients admitted to the intensive care unit. *Infect Dis Now*. 2022 Mar;52(2):104-106. doi: 10.1016/j.idnow.2021.12.004. Epub 2021 Dec 15. PMID: 34922035

#### Publications didactiques (n=3)

-L Seeneevassen, OCB Martin, P Lehours, P Dubus, C Varon. Leukaemia Inhibitory Factor in gastric cancer: Friend or Foe? *Gastric cancer*. 2022 Feb 2. doi: 10.1007/s10120-022-01278-w. Online ahead of print. PMID: 35106710.

-Vale FF, Lehours P, Yamaoka Y. Editorial: The Role of Mobile Genetic Elements in Bacterial Evolution and Their Adaptability. *Front Microbiol*. 2022 Feb 21;13:849667. doi: 10.3389/fmicb.2022.849667. eCollection 2022. PMID: 35265063

-Bessède E, Mégraud F. *Semin Cancer Biol*. 2022 Nov;86(Pt 3):11-17. doi: 10.1016/j.semcancer.2022.05.001. Epub 2022 May 6. PMID: 35533800

#### -Editoriaux (n=1)

-Vale FF, Lehours P, Yamaoka Y. The role of mobile genetic elements in bacterial evolution and their adaptability. *Frontiers in Microbiology*, section Evolutionary and Genomic Microbiology., Feb 21;13:849667. doi: 10.3389/fmicb.2022.849667. eCollection 2022. PMID: 35265063

#### -Chapitres de livres (n=6)

-P Lehours, F Mégraud, C Burucoa, E Bessède. *Campylobacter* spp. et *Arcobacter* spp. REMIC 2022

-P Lehours. Contrôle microbiologique du lait maternel. REMIC 2022.

-P Lehours, F Mégraud, C Burucoa, E Bessède. *Helicobacter pylori*. REMIC 2018 et REMIC 2022

-I Kempf, P Lehours. Chapitre « Résistance aux antimicrobiens chez *Campylobacter* ». Livre dédié aux *Campylobacters* édité par la SFM paru en 2022.

-Q Jehanne, Q Rivoal, P Lehours. Chapitre « Diagnostic des infections humaines à *Campylobacters* ». Livre dédié aux

Campylobacters édité par la SFM paru en 2022.

-E Bessède, P Lehours. Chapitre « Attribution de sources d'infection à Campylobacter ». Livre dédié aux Campylobacters édité par la SFM paru en 2022.

## -Communications nationales

### Oraux

-Astrid Ducournau, Lucie Bénéjat, Emilie Bessède, Josette Raymond, Te Din Huang, Lehours P. Antibiotogramme de *Helicobacter pylori* : quelles alternatives à la gélose MH10%de sang ? Journée du Groupe d'Etudes Français des Hélicobacters (GEFH). Paris. 10 juin 2022.

-C. Ribaud, H Helliwaert, S Mechhor, I Amaritei, D Benitah, M Bolliet, J Botteander, D Gospei, L PLastaras, A Topolski, D De Briel, S Bland, H Petitprez, E Bessède, A Blossse, L Bénéjat, A Ducournau, C Domingues Martins, P Lehours, B Denis. *Helicobacter pylori* : épidémiologie comparée des recrutements de deux hôpitaux généraux avec les données observées en France métropolitaine par le Centre National de Référence. Journée du Groupe d'Etudes Français des Hélicobacters (GEFH). Paris. 10 juin 2022.

-Lucie Bénéjat, Astrid Ducournau, Emilie Bessède, Lehours P. PCR *Helicobacter pylori* sur automate Ingenius à l'aide des réactifs RIDA®GENE *Helicobacter pylori* : automatisation et performances. Journée du Groupe d'Etudes Français des Hélicobacters (GEFH). Paris. 10 juin 2022.

-Antoine Martin, Emma Bergstein, Philippe Lehours, Vanessa Demontnant, Marine Jauvain, Caroline Barau, Christiane Copie Bergman, Christophe Rodriguez, Michael Levy, Iradj Sobhani Aurelien Amiot. Étude de la composition du microbiote gastrique chez les patients atteints de lymphome gastrique du MALT. Journée du Groupe d'Etudes Français des Hélicobacters (GEFH). Paris. 10 juin 2022.

-P Lehours. Epidémiologie de l'infection à *Helicobacter pylori* en France : données 2017-2021. RICAI 2022.

-P Lehours. Epidémiologie de l'infection à *Helicobacter pylori* en France : données 2017-2021. JPHOD, Session Estomac-Oesophage. Paris, Mars 2023.

### Posters

-Lucie Bénéjat, Astrid Ducournau, Emilie Bessède, Philippe Lehours. PCR *Helicobacter pylori* sur automate Ingenius à l'aide des réactifs RIDA®GENE *H. pylori* : automatisation et performances. 23ème journées nationales d'infectiologie JNI 2022 (Juin, Bordeaux)

-Claire Tinévez, Philippe Lehours, Anne-Gaëlle Ranc, Yaniss Belaroussi, Damien Dubois, Catherine Neuwirth, Hélène Pailhoriès, Didier Neau, Charles Cazanave, Mathilde Puges, pour le groupe d'étude Campylobacteremia. Infections vasculaires à *Campylobacter* spp. : étude rétrospective française multicentrique. 23ème journées nationales d'infectiologie JNI 2022 (Juin, Bordeaux)

-Philippe Lehours, Astrid Ducournau, Marine Bouhier, Lucie Bruhl, Marine Jauvain, Emilie Bessède. Surveillance épidémiologique des infections à Campylobacters, Aliarcobacters et bactéries apparentées : bilan 2017-2021 du CNR des Campylobacters et des Hélicobacters. 17ème congrès national de la Société Française de Microbiologie SFM Microbes 2022 (septembre, Montpellier).

-Lucie Bénéjat, Astrid Ducournau, Emilie Bessède, Philippe Lehours. PCR *Helicobacter pylori* sur automate Ingenius à l'aide des réactifs RIDA®GENE *H. pylori* : automatisation et performances. RICAI 2022, Paris.

-Francis Déforet, Lucie Bénéjat, Quentin Jehanne, Roxane Prat, Chloé Desbiolles, François Vandenesch, Jérôme Lemoine, Lehours Philippe. Identification par approche combinée génomique et protéomique du mécanisme de résistance à l'amoxicilline-acide clavulanique chez Campylobacter. RICAI 2022, Paris.

-Astrid Ducournau, Marine Bouhier, Lucie Bruhl, M Jauvain, Fanny Chéreau, E Bessède, P Lehours. Surveillance épidémiologique des infections à Campylobacters en France : bilan 2017-2021 du CNR des Campylobacters et des Hélicobacters. RICAI 2022, Paris.

-Marine Bouhier, Marine Dupuis, Astrid Ducournau, Quentin Jehanne, Philippe Lehours. Antibiotogrammes de *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli* en plaques Sensititre. RICAI 2022, Paris.

## -Communications internationales

### Oraux

-Bessède E. Autophagy induced by *Helicobacter pylori* is necessary for gastric cancer stem cell emergence" communication. Conférence invitée à l'EHMSG 2022, Septembre Glasgow, UK.

### Posters

-Claire Tinévez, Philippe Lehours, Anne-Gaëlle Ranc, Fanny Velardo, Damien Dubois, Catherine Neuwirth, Yaniss



Belaroussi, Hélène Pailhoriès, Marie Dorel, Geneviève Héry-Arnaud, Olivier Join-Lambert, Emmanuelle Gras, Stéphane Corvec, Cyrielle Codde, Damien Fournier, Hugo Boijout, Violaine Doat, Leslie Bouard, Anne-Sophie Lagneaux, Maxime Pichon, Célia Couzigou, Claire Letellier, Adrien Lemaigen, Mathilde Carrer, Xavier Bérard, Caroline Caradu, Claire Webster, Mailys Ducours, Didier Neau, Charles Cazanave, Mathilde Puges. Vascular infections due to *Campylobacter* spp.: a multicentric retrospective study. 32nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases ECCMID 2022 (Lisbon, Portugal).

-Lucie Bénéjat, Alban Giese, Zoé Lescaudron, Julien Bonnac, Astrid Ducournau, Chloé Domingues Martins, Alice Blossse, Emilie Bessède, Lehours Philippe. *Helicobacter pylori* PCR on a BD MAX automated system using RIDA®GENE *H. pylori* reagents: automation and performance. 32nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases ECCMID 2022 (Lisbon, Portugal).

-Lehours P, Bénéjat L, A Ducournau. Automation of RIDA®GENE *H. pylori* PCR on the Ingenius Automated. EHMSG–35th International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation & Cancer (Glasgow, UK, 8-10 Sep 2022).

-Identification of *Campylobacter* amoxicillin-clavulanic acid resistance mechanism using genomics and proteomics. Quentin Jehanne, Francis Déforet, Lucie Bénéjat, Roxane Prat, Chloé Desbiolles, Astrid Ducournau, Richard Bonnet, François Vandenesch, Jérôme Lemoine, Lehours Philippe. ECCMID 2023 (Copenhagen, Denmark).

Les communications ayant un lien avec une activité recherche à cheval entre le CNR et l'équipe INSERM U1312 « Infection à *Helicobacter* : inflammation et cancer » ne sont pas mentionnées mais peuvent être fournies sur demande.

#### -Conférences sur invitations des membres du CNRCH

-P Lehours

-P Lehours. What are the best diagnostic methods for *H. pylori* in 2021? UEGW, Post Graduate Program Training (22-23 October 2021).

-P Lehours. *Helicobacter pylori* : nouveautés dans le dialogue clinico-biologique. XXIXème réunion annuelle du Groupe Français d'Etudes des Helicobacter (GEFH) (Juin 2022, Paris)

-P Lehours Vidéo-Digest, Cours intensifs organisés par la SNFGE, Paris Octobre 2022 : Explorations microbiologiques de la sensibilité aux antibiotiques de *H. pylori*.

-E Bessède

-E Bessède. "Autophagy induced by *Helicobacter pylori* is necessary for gastric cancer stem cell emergence" communication invitée à l'EHMSG Sept. 2022 (Glasgow, UK).

## 7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, 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.

Nous souhaitons poursuivre comme par le passé nos collaborations avec le LNR Campylobacter (ANSES, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, collaborateurs ; M Chemaly, M Denis, K Rivoal) via le partage de souches, la participation à des comités de thèse, et l'organisation de colloques scientifiques (journées communes LNR-CNR). Nous souhaitons également augmenter nos collaborations avec ce laboratoire de référence.

P Lehours a signalé à l'ANSES de Ploufragan (Mme Tardy Florence, Unité Mycoplasmodologie Bactériologie Antibiorésistance) l'identification d'une nouvelle méthylase chez *C. coli* associée à la résistance aux macrolides. La séquence des amorces et un ADN témoin positif, permettant d'effectuer un screening PCR de ce nouveau gène, leur ont été envoyés. Cela permet dorénavant à l'ANSES d'effectuer en routine un « screening » PCR sur leurs souches. Ceci pourra être reconduit si d'autres mécanismes sont identifiés au cours du prochain contrat.

Nous souhaitons comparer les niveaux de résistance des Campylobacters humains et vétérinaires en collaboration avec le LNR Campylobacter. Depuis 2014, des prélèvements sont faits en abattoirs : « poulets et dindes » en années paires, « porcs et veaux » en années impaires. A l'heure actuelle, seule la surveillance de la résistance des *C. jejuni* de volailles est obligatoire pour l'EFSA.

Un projet collaboratif avec le LNR-Campylobacter nommé CampOriRes (Développement d'outils pour déterminer l'origine de contaminations humaines à *C. coli* et leur résistance aux antibiotiques) n'a pu débuter au cours du contrat qui s'achève à cause notamment de la crise COVID et du manque de financements. Nous souhaitons persévérer pour le contrat en cours.

L'objectif de ce projet est (i) d'obtenir une collection de souches la plus représentative possible des *C. coli* circulant dans différents réservoirs animaux et environnementaux en France, (ii) de séquencer l'ensemble des souches de *C. coli* collectées et de déterminer l'antibiorésistance de ces souches, (iii) de déterminer des marqueurs génétiques présentant un signal fort d'association à l'hôte en analysant les séquences des génomes entiers de ces souches de *C. coli* en utilisant une approche gène-par-gène avec un pangéome d'une sélection représentative des souches caractérisées, (iv) d'effectuer une étude d'attribution de sources des cas de campylobactérioses à *C. coli* en utilisant ces nouveaux marqueurs, (v) d'étudier le lien entre le réservoir d'origine et l'antibiorésistance par association de traits génotypiques et phénotypiques et (vi) de comparer les résultats d'attribution de source en utilisant les marqueurs obtenus avec des souches représentatives de la contamination des réservoirs animaux et environnementaux en France d'une part et les marqueurs SNPs déterminés *in silico* avec des souches de diverses origines par l'équipe du CNRCH d'autre part.

Le CNR sera impliqué dans la sélection des souches de *C. coli* d'origine humaine et dans les étapes bioinformatiques du projet.

Le CNRCH est bien entendu volontaire pour continuer les échanges scientifiques avec le LNR et répondre à tout autre appel à projets pour poursuivre et renforcer nos collaborations.

### -Participation à des comités de thèse d'Université :

-Octobre 2022 : Mr Samy Julliard, Université de Dijon « Impact des aliments sur la composition et l'activité du microbiote gastrique et les marqueurs de l'inflammation. Cas d'étude chez le cheval » (P. Lehours).

## 8. Programme d'activité pour les années suivantes

### -Projets 2023-2024 concernant les *Campylobacters* et bactéries apparentées (hors NGS)

-Participer à l'évaluation de tous nouveaux kits de diagnostic (recherche d'antigènes, nouveaux kits ELISA etc...) ou PCR pour recherche des *Campylobacters*, notamment les PCR syndromiques. Des contacts ont déjà été pris avec les laboratoires Elitech, Biosynex, Bruker, Quidel etc...

-Continuer à élargir notre réseau de correspondants afin d'intégrer plus de laboratoires participants. Les CHU, CHG et gros laboratoires privés seront contactés. Notre objectif est de continuer à ne pas dépasser 6000 souches étudiées par an afin de libérer du temps technicien au développement d'autres projets notamment NGS et d'évaluation de nouvelles techniques.

-Elargir le réseau Campy-Internet à quelques laboratoires hospitaliers et privés équipés de MALDI-TOF et participant activement au réseau Campy-Internet. Continuer à suivre les activités de PCR syndromiques des participants de ce réseau.

-Nous avons entamé une analyse rétrospective des données cliniques et épidémiologiques des infections à *Aliarcobacter spp.*, à partir d'archives des années passées (2012-2022), afin de clarifier l'origine de ces infections et d'éventuels facteurs de risque prédisposant. Ce projet devrait être terminé fin 2023 et les résultats communiqués en 2024. SPF semble intéressé à intégrer dans les bilans annuels rédigés en commun, ces infections qui étaient jusqu'à présent exclues de ces analyses.

-Continuer à mettre à jour et enrichir notre base maison du MALDI-TOF afin d'intégrer toutes nouvelles espèces de *Campylobacter sp.*, *Aliarcobacter sp.* (et *Helicobacter sp.*).

-Mettre en ligne sur le site internet du CNR des vidéos sous forme de mini travaux pratiques destinés aux techniciens et biologistes intéressés par le diagnostic des infections à *Campylobacters* et des *Hélicobacters*.

-Mettre en ligne régulièrement sur notre site internet des vidéos de présentations des principales nouveautés épidémiologiques et diagnostiques destinées aux techniciens et biologistes intéressés par le diagnostic des infections à *Campylobacters* et *Hélicobacters*.

-Continuer à former à la demande tout personnel (biologiste, technicien...) au diagnostic bactériologique des infections à *Campylobacter sp.*

-Faire accréditer par le COFRAC la sérologie *C. jejuni*.

-Collaborer avec le CA-SFM afin de proposer des bornes selon la méthode EUCAST pour le CQ *C. jejuni*.

### -Projets 2023-2024 concernant *H. pylori* et les *Hélicobacters* (hors NGS)

-Continuer à élargir notre réseau de correspondants en commençant par faire appel aux nombreux correspondants des réseaux *Campylobacters*.

-Déploiement du réseau Helico-net

Grâce au réseau de correspondants du CNRCH, développé au cours du dernier contrat, nous sommes parfaitement positionnés pour poursuivre la surveillance nationale de la résistance de *H. pylori* aux antibiotiques.

Notre réseau ne couvre cependant pas toute la France. Nous ne pouvons augmenter davantage le nombre de biopsies reçues au CNR annuellement.

Aussi afin d'élargir notre réseau de correspondants et afin de pouvoir suivre sur une plus large part possible du territoire national l'épidémiologie des infections à *H. pylori* nous développerons le réseau Helico-Internet activé mi-2023.

Les laboratoires participant à ce réseau feront parvenir 10% de leurs souches isolées/an au CNRCH accompagnés de la fiche de renseignements devant accompagner chaque souche (disponible <https://www.cnrch.fr/wp-content/uploads/2021/09/feuille-de-renseignement-Souche-Helicobacter.pdf>).



A réception de ces souches le CNRCH contrôlera *in vitro* le phénotype de sensibilité aux antibiotiques et séquencera le génome des souches afin d'accéder si possible par NGS au résistome et virulome complet ainsi qu'à la classification MLST des souches.

Le CNRCH effectuera une veille des données saisies afin de détecter tout profil de résistance inhabituel (amoxicilline, tétracycline, rifampicine) et demandera l'envoi des souches pour confirmation. Un CQ antibiogramme sera proposé annuellement aux participants à ce réseau.

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

-Continuer à former à la demande tout personnel (biologiste, technicien...) au diagnostic bactériologique des infections à *H. pylori*.

-Faire accréditer par le COFRAC la culture et les antibiogrammes de *H. pylori* ainsi que la recherche d'antigènes dans les selles.

-Suivre l'épidémiologie de l'infection à *H. pylori* en Guyanne Française (projet en cours de construction avec le CH de Cayenne).

-Finaliser conjointement avec IG Boneca, Institut Pasteur Paris, le projet en cours depuis 2021 de caractérisation des mutations responsables dans *pbp1* de la résistance à l'amoxicilline chez *H. pylori*.

-Finaliser l'écriture d'articles scientifiques en lien avec le projet collaboratif NIH (Washington, USA) concernant la caractérisation génotypique de souches de *H. pylori* provenant de toutes les régions du Monde (GWAS, et résistome).

-Participer à l'analyse de la base de données relative aux patients pris en charge pour une infection à *Helicobacter pylori* en milieu hospitalier en France (diagnostic et traitement). Responsable Scientifique Dr Frédéric HELUWAERT / Hépatogastro-entérologue CH Annecy.

L'objectif de cette base est de rassembler des données exhaustives sur la prise en charge du patient dans sa globalité, du diagnostic à l'éradication de l'infection à *Helicobacter pylori*. S'agissant des finalités, cette base de données vise à permettre les activités suivantes :

- amélioration de la qualité de la prise en charge individuelle et collective des patients de gastro-entérologie ;
- amélioration des pratiques professionnelles ;
- amélioration du pilotage de l'activité hospitalière du service de Gastro-entérologie ;
- suivi épidémiologique des patients infectés par *H. pylori* ;
- enquêtes de faisabilité pour de potentiels projets de recherche.

P Lehours sera associé à l'analyse des données microbiologiques recueillies.

-Réintégrer, au sein des analyses du CNR, la réalisation des tests respiratoires à l'urée marquée pour le diagnostic non-invasif des infections à *H. pylori*.

- Enquête ponctuelle ONERBA *H. pylori*

Comme mentionné dans la partie Campylobacters, les responsables du réseau ONERBA (Pr S Le Hello) sont sollicités pour réaliser une enquête :

- de pratique sur le diagnostic des infections à *H. pylori* ;
- des isollements de *H. pylori* (avec identification et antibiogramme).

Les données seront après avis critique du CNRCH mises en ligne et diffusées via l'ONERBA (site internet, mailing, publications, congrès).

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

-Campagne de séquençage Campylobacter 2023-2024 :

Dans la continuité de la stratégie de séquençage des souches de Campylobacters et de Hélicobacters, les génomes de nombreux isolats cliniques vont être étudiés. Nous solliciterons à nouveau la société Integragen pour séquencer le génome de souches de *C. jejuni* invasifs et non invasifs, et de *C. coli* afin de poursuivre le projet de surveillance de l'origine des souches invasives et non invasives en France.

L'implantation depuis 2021 du séquenceur iSeq 100 au CNRCH nous permettra :

- d'analyser régulièrement les génomes de souches de *C. jejuni*, *C. coli* et *H. pylori* résistantes ou multi-résistantes aux antibiotiques ;
- d'analyser en complément de la RAPD les cas groupés d'infections à *Campylobacter* ;
- d'identifier les souches posant problème pour leur identification au MALDI-TOF et d'identifier de nouvelles espèces ;
- d'identifier une résistance rare ou suspecte à un antibiotique donné. Le screening des méthylases chez *Campylobacter* par PCR sera par exemple vérifié et analysé systématiquement avec le séquençage du génome, si le résultat est positif.

#### -Evolutions de la plateforme génomique du CNRCH

Nos données génomiques sont actuellement stockées en local sur un ordinateur dédié ou sur le réseau interne de l'hôpital. De par l'important volume qu'elles représentent, l'accès à des résultats précis de manière rétrospective peut être contraignant, avec un manque de praticité et de visibilité.

En 2023, nous avons initié le développement d'une interface web (hébergée sur le réseau interne de l'hôpital) permettant d'afficher l'intégralité des données bio-informatiques du laboratoire. Les différentes souches avec les génomes et résultats correspondants seront ainsi centralisées et accessibles via différents tableaux et formulaires. Plusieurs fonctionnalités seront également développées, qui permettront notamment :

- la filtration des souches selon les données patients (ex. sexe ou âge) et résultats bio-informatiques (ex. espèce ou marqueurs spécifiques de résistance) ;
- la génération de graphes (ex. évolution des sources de contamination selon les années) et de rapports .pdf ;
- l'affichage des discordances entre les résultats phénotypiques et génomiques ;
- le suivi des mécanismes de résistance entre les différentes souches d'un même patient ;
- la visualisation de la qualité des données brutes de séquençage.

Cette «plateforme génomique» sera incluse au sein d'un portail bio-informatique du CHU de Bordeaux (développé avec la technologie Django et le langage Python) avec différents autres projets, notamment en génétique et en virologie. Lors de la mise en production, elle contiendra environ 1500 génomes avec les différents résultats correspondants, qui seront visibles depuis chaque poste informatique du CNRCH et plus globalement du service de Bactériologie.

#### -Analyse génotypique et non phénotypique des souches de *Campylobacter sp*

Le CNRCH propose à partir de fin 2023 de déployer la stratégie NGS en routine pour les souches provenant des laboratoires participants au réseau Campy-Internet. Pour principe, ces laboratoires nous envoient 10% de leurs souches. Cela représentait pour 2021 environ 600 souches/an.

Toute discordance entre les données phénotypiques fournies par nos correspondants et génotypiques obtenues par NGS seront contrôlées et signalées.

Nos correspondants auront également accès à l'intégralité du résistome de chaque souche et non plus aux seuls résultats pour un nombre limité d'antibiotiques courants.

Cette approche nous permettra d'augmenter considérablement notre banque de génomes afin de pouvoir réaliser des analyses épidémiologiques supplémentaires et plus pertinentes. En effet, le nombre de données analysées est souvent limitant pour pouvoir apporter des conclusions significatives sur des sujets comme la source de contamination principale de ce pathogène en France ou bien le clone majoritaire parmi une espèce donnée. Nous pourrions également identifier et repérer l'émergence de nouveaux mécanismes de résistance chez *Campylobacter*.

#### -Suivi par "Core-Genome MultiLocus Sequence Typing" (cgMLST) des génotypes de *C. jejuni* :

Plusieurs analyses ont été effectuées en routine au CNRCH, tel le suivi de la détermination de la source de contamination majoritaire en France ou bien le typage moléculaire par la méthode MLST développée en 2001 par Dingle *et al.*, Récemment s'est posée la question de faire le point sur l'intégralité des génomes disponibles dans la base de génomes séquencés au CNRCH, notamment via des méthodes et des schémas de typage plus récents. Ainsi, en collaboration avec le Laboratoire National de Santé du Luxembourg (contact : Dr Catherine Ragimbeau), il a été décidé de mettre en commun nos données et notre expertise en génomique afin de comparer les clones majoritaires de *C. jejuni* au sein des deux territoires, en France et au Luxembourg. Le Dr Ragimbeau a récemment publié des arguments en faveur de l'existence de clones récurrents sur plusieurs années de *C. jejuni*. (Nenning M, Front Cell Infect Microbiol. 2021 Jan 8;10:608020. doi: 10.3389/fcimb.2020.608020. eCollection 2020.)

La méthode de typage à prioriser sera la méthode cgMLST. Cette dernière, contrairement à la MLST classique qui se base sur 7 gènes de ménage, consiste en l'analyse de l'entièreté des gènes du core-genome de l'espèce dont il est question. Plusieurs schémas seront également testés, contenant chacun un set d'allèles bien définis (schémas

disponibles sur la plateforme pubMLST.org).

Ce projet, en lien avec le LNS du Luxembourg, permettra ainsi d'avoir des éléments de réponse sur la propagation de clones communs de *Campylobacter* au sein du territoire européen mais ouvrira également la porte à de nombreuses autres possibilités d'études épidémiologiques.

-projet ABROMICS :

Le CNRCH est partenaire d'un projet collaboratif dans le cadre du programme prioritaire de recherche antibiorésistance 2020-Call for proposals Integrated microbiology and multi-omics data platform. Ce projet nommé « ABRomics-PF, a numerical platform on antimicrobial resistance to store, integrate, analyze and share multi-omics data. » est coordonné par Claudine Médigue (Institut Français de Bioinformatique) et Philippe Glaser (Institut Pasteur). Plusieurs CNR ont été associés à cette demande. Le CNRCH participera à alimenter cette plateforme avec cses génomes et à partager/développer des outils bioinformatiques.

-Standardisation des stratégies NGS

Nous continuerons comme par le passé à répondre favorablement à toute demande émanant notamment de l'ECDC, à participer à des groupes d'expertise pour la standardisation des stratégies NGS pour *Campylobacter sp* ainsi qu'à l'utilisation et l'actualisation des bases de données génomiques utilisées dans les pipelines bio-informatiques.

### **Projets NGS en lien avec les infections à *H. pylori***

-NGS appliquée aux souches de *H. pylori*

Nos travaux collaboratifs européens et avec le National Institute of Health (NIH) démontrent la bonne corrélation pour *H. pylori* entre génotype et phénotype de sensibilité. Les mutations associées à la résistance aux macrolides, quinolones et tétracycline sont bien connues. Celles associées à la résistance à l'amoxicilline et au métronidazole sont identifiées mais leur association avec la résistance *in vitro* est sujet à encore des incertitudes.

Le CNRCH continuera à séquencer toute souche présentant une résistance rare (rifampicine, tétracycline, amoxicilline).

Nous pourrions, à la demande, participer à caractériser par NGS le virulome des souches isolées ou reçues (cagPAI et vacA notamment) et à typer par MLST les souches reçues. Des travaux récents indiquent en effet un lien entre résistance et virulence (Gastli N *et al.*, J Clin Med. 2021 Jun 23;10(13):2755. doi: 10.3390/jcm10132755. PMID: 34201588).

Cent souches pourront être séquencées annuellement en routine au CNRCH.

-Mise en place d'une détection dans des biopsies gastriques par NGS du résistome et du virulome de *H. pylori* :

En 2023, dans le but de continuer à développer les nouvelles technologies au CNRCH, un nouveau projet faisant appel au séquençage haut-débit a été initié. Nous avons pour objectif l'amplification d'un panel de gènes de *H. pylori* à partir de l'ADN extrait des biopsies reçues au CNRCH.

En collaboration avec la société Agilent (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, California, USA), cette technique dite de «DNA Capture» permet, en plus d'identifier ou non la présence du pathogène dans l'échantillon, de réaliser la détection de la résistance à plusieurs antibiotiques, d'effectuer un typage moléculaire, mais aussi d'identifier la virulence et ce sans avoir recours au séquençage du génome dans son intégralité. C'est une technique qui pourrait à terme être appliquée systématiquement aux biopsies gastriques positives par PCR à *H. pylori* mais pour lesquelles la culture reste négative. Notre expérience montre que même si nous tentons de maîtriser les conditions préanalytiques et analytiques de transport et de culture de *H. pylori* à partir de biopsies gastriques, 15% environ de biopsies positives en PCR restent négatives en culture. En cas de résistance aux macrolides détectée par PCR, les cliniciens ne peuvent donc avoir accès au profil de sensibilité des autres antibiotiques utilisables dans le traitement d'éradication. Cela pourrait représenter environ 200 biopsies/an à tester par DNA capture.

Parmi les gènes qui sont ciblés :

- 16S : utilisé pour la détermination de l'espèce ainsi que pour déterminer la résistance aux tétracyclines.
- 23S : certaines mutations (plus précisément aux positions 2142 et 2143) sont associées à la résistance aux macrolides.
- *gyrA* : certaines mutations sont associées à la résistance aux fluoroquinolones.
- *gyrB*, *hsp60* : peuvent être utilisés pour réaliser des analyses de phylogénie.
- *vacA*, *cagA* : permettent d'étudier la virulence de la souche.
- *pbp1* : certaines mutations peuvent être associées à la résistance à l'amoxicilline.
- *rpoB* : certaines mutations peuvent être associées à la résistance à la rifampicine.

- *frxA, fdxB, rdxA* : certaines mutations peuvent être associées à la résistance au métronidazole.
- *atpA, mutY, yphC, ppa, efp, urel, trpC* : cette combinaison de gènes permet de réaliser l'analyse «MLST» (MultiLocus Sequence Typing), utilisée pour différencier les populations de *H. pylori* dans le monde.

Nos essais en cours de DNA Capture sont prometteurs. Cette technologie semble adaptée à l'analyse des biopsies gastriques. Quelques ajustements seront cependant nécessaires afin de disposer de résultats exploitables quelle que soit la concentration en *H. pylori* dans l'échantillon en particulier ceux avec des Ct tardifs en PCR.

Nous tenterons d'appliquer également cette stratégie sur des échantillons de selles. Ce type d'approche promue par le Pr C Buruoa au CHU de Poitiers, représente en effet une stratégie réellement non-invasive de diagnostic direct d'une infection à *H. pylori*. La présence d'inhibiteurs et la faible quantité d'ADN de *H. pylori* présents dans les selles seront des obstacles à surmonter avant de proposer cette analyse en routine.

### **Activités de conseil, formation et information**

Comme lors du précédent contrat, le CNRCH continuera à organiser des séminaires en distanciel (au minimum 2/an) à destination de nos correspondants et 1 fois par an en présentiel sous la forme de conférences d'actualisation (à Bordeaux ou à Paris) ou de travaux pratiques organisés à Bordeaux.

Nous continuerons à répondre par téléphone ou par mail à toute demande de conseil à nos correspondants microbiologistes ou cliniciens.

Une veille de notre site internet sera effectuée par le personnel du CNR pour maintenir à jour et sous leur dernière version :

- les fiches d'envoi sous forme téléchargeable en format PDF ;
- les recommandations de réalisation des antibiogrammes ;
- nos publications les plus récentes ou tout document de vulgarisation disponibles à la diffusion publique ;
- les annonces de formations organisées par le CNRCH ;
- les annonces de congrès.

Nous continuerons à répondre aux demandes des médecins et du public, à recevoir des stagiaires, à donner des conférences et à publier des articles de vulgarisation dans des journaux nationaux et internationaux.

Nous continuerons, en collaboration avec le Groupe d'Etude Français des Hélicobacters, à faire évoluer les recommandations françaises de diagnostic et de prise en charge des infections à *H. pylori*.

Notre CNR continuera à participer à l'organisation scientifique de congrès microbiologiques et cliniques en lien avec nos activités. Nous continuerons à accepter toutes sollicitations d'organisation de congrès.

# 1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

*Rappelez ici les informations suivantes (pour la plupart déjà disponibles dans votre dossier de candidature) en les mettant si nécessaire à jour :*

## 1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Les missions du CNR n'ont pas évolué par rapport au dossier de candidature de renouvellement du CNR.

Le CNR Campylobacter et Helicobacter s'engage 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 de mars 2022 fixant le cahier des charges des centres nationaux de référence pour la lutte contre les maladies transmissibles.

Il sera en outre particulièrement demandé à notre CNR les missions suivantes :

### **Pour Campylobacter**

#### 1. 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 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.

#### 2. Conseil

- pas d'exigences particulières par rapport au cahier des charges général.

#### 3. 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.

#### 4. 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**

#### 1. 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.

## 2. Conseil

- pas d'exigences particulières par rapport au cahier des charges général.

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

- en surveillant la résistance aux antibiotiques des souches.

## 4. Contribution à l'alerte

- pas d'exigences particulières par rapport au cahier des charges général.

# 1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

## Organisation générale

La responsabilité scientifique du CNR des *Campylobacters* et des *Helicobacters* est portée par le Pr Philippe Lehours. Il est secondé par le Dr Emilie Bessède (MCU-PH) ainsi que par Dr Marine Jauvain (AHU au laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux).

Conformément à notre dossier de candidature :

-la gestion du CNR restera au CHU de Bordeaux ;

-les stratégies de séquençage haut débit de génomes bactériens et l'utilisation d'outils bioinformatiques innovants vont continuer leur développement;

-la surveillance épidémiologique en lien avec l'agence nationale de santé publique qui a toujours constitué le cœur de l'activité du CNRCH est reconduite grâce au réseau des correspondants de laboratoires privés et hospitaliers historiquement construit.

Notre CNR est administrativement et géographiquement basé sur un site unique, le CHU de Bordeaux, qui assurera l'ensemble des missions.

## Ressources humaines

### -Responsables scientifiques

Philippe Lehours, 54 ans, Pharmacien Biologiste (PU-PH) (ETPT : 0,2). P Lehours a commencé à s'intéresser aux bactéries des genres *Campylobacter*/*Helicobacter* en novembre 1999 lors de sa prise de fonction au CHU de Bordeaux. Il a été désigné comme responsable adjoint dès 2004 puis est devenu en 2017 directeur scientifique lors du départ du Pr F Mégraud.

Emilie Bessède, 44 ans, Pharmacien Biologiste, MCU-PH (ETPT : 0,1), co-responsable scientifique adjoint pour l'intégralité du prochain contrat. E Bessède est référente pour les méthodes de spectrométrie de masse, ainsi que pour toutes les approches diagnostiques non invasives et moléculaires des infections à *Campylobacter*. Mme M Jauvain et Mme E Bessède participent activement à la validation biologique des résultats ainsi qu'aux projets de recherche.

### -Personnel scientifique et technique affecté au CNR

Lucie Bénéjat, 40 ans, Master 2, Ingénieur hospitalière, (ETPT : 1), recrutée en 2011. Elle est responsable du développement technologique notamment moléculaire. A ce titre, elle réalise la PCR de routine de détection de *H. pylori* et le typage moléculaire des souches de *Campylobacters* en cas de suspicion de cas groupés. Elle a développé au cours du dernier contrat une expertise en analyse de spectres obtenus par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Elle est la référente biologie moléculaire du CNRCH et référente qualité (CAQ). L Bénéjat encadre les stagiaires au CNR, supervise le personnel technique.

Quentin Jehanne, 32 ans, Ingénieur hospitalier, PhD, bioinformaticien, CDI, ETPT : 1) qui a en charge toutes les analyses bioinformatiques en lien avec les projets de séquençage de génomes bactériens.

Astrid Ducournau, 31 ans, Technicienne hospitalière, CDI (ETPT : 1) a été recrutée en 2013. Elle participe au travail de routine (identification, antibiogramme, biologie moléculaire), aux différents protocoles en cours ainsi qu'au maintien des documents qualité. Elle est depuis 2023 CAQ.

Johanna Aptel, 23 ans, Technicienne hospitalière, CDD (ETPT : 1) a été recrutée en 2022 suite au départ de Marine Bouhier. Elle participe au travail de routine (identification, antibiogramme, biologie moléculaire) ainsi qu'aux différents protocoles en cours.



Marie Taymont, 35 ans, Technicienne hospitalière, CDD (ETPT : 0,4) s'occupe de la qualité pour participer à l'accréditation des activités du CNRCH. Elle participe également pour 0,4 ETPT à l'activité qualité du CNR-IST (Pr C Bébear) et pour 0,2 ETPT au laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux.

Une ou une technicien(ne) du laboratoire de bactériologie du CHU de Bordeaux (ETPT : 0,07) participe au travail de routine des souches de *Campylobacters* reçues du réseau hospitalier (Campy.hop) et aux cultures de *H. pylori*. Le cadre du laboratoire de bactériologie du CHU de Bordeaux participe à l'encadrement administratif du personnel du CNRCH (Mme Vanessa Duprat, ETPT : 0,05). Enfin, une technicienne, Mme Léa Reybard, du pôle de Biologie Pathologie du CHU de Bordeaux, participe à la préparation des milieux de culture « maison » du CNRCH (ETPT : 0,1).

Erick Keisler, 56 ans, Adjoint administratif du CNRCH, CDI (ETPT : 0,8) participe activement au rendu des résultats du CNR, au suivi des envois extérieurs, aux statistiques d'activités du CNR, à l'écriture des rapports, aux nombreux contacts email et téléphoniques, au suivi des saisies sur Campy-Internet et à la maintenance de notre site internet. En l'absence du secrétaire, l'ensemble du personnel biologique et technique participe aux réponses des appels téléphoniques. Les appels concernant les conseils extérieurs en antibiothérapie ou autres types de conseils sont tracés et transmis systématiquement aux biologistes responsables.

L'organigramme du CNR pour la période 2023-2027 est indiqué ci-après.

| Fonction                 | Nom              | Qualification   | Statut    | ETPT      |
|--------------------------|------------------|-----------------|-----------|-----------|
| Responsable scientifique | Philippe Lehours | Ph., Dr. ès Sci | PU-PH     | 0,2       |
| Responsable adjoint      | Emilie Bessède   | Ph., Dr. ès Sci | MCU-PH    | 0,1       |
| Biologiste               | Marine Jauvain   | Ph.,            | AHU       | 0,1       |
| Ingénieur hospitalier    | Lucie Bénéjat    | M2              | CDD       | 1         |
| Ingénieur hospitalier    | Quentin Jehanne  | Dr. ès Sci      | CDI       | 1         |
| Ingénieur hospitalier    | Léo Gillet       | M2              | CDD (50%) | 0,5       |
| Technicienne             | Astrid Ducournau | BTS             | CDI       | 1         |
| Technicienne             | Johanna Aptel    | BTS             | CDD       | 1         |
| Techniciens(nes)         | X                | BTS             | CDI       | 0,07+ 0,1 |
| Technicienne Qualité     | Marie Taymont    | BTS             | CDD (40%) | 0,4       |
| Secrétaire               | Erick Keisler    | BTS             | CDI (80%) | 0,8       |
| Cadre de Santé           | Vanessia Duprat  | BTS             | CDI       | 0,05      |

X= (pool des techniciens du laboratoire de Bactériologie du CHU Pellegrin)

Léo Gillet secondera à partir de juillet 2023 Quentin Jehanne dans tous les projets de routine NGS du CNR. Quentin Jehanne aura pour mission de former et coordonner le travail des bioinformaticiens des deux CNR au sein d'une cellule bioinformatique partagée. Nous avons prévu en effet dans notre projet 2023-2027 une augmentation importante de l'activité NGS de notre CNR.



## 1.3 Locaux et équipements

Les locaux principaux du CNR (Laboratoire de Bactériologie du CHU Pellegrin) sont composés de deux pièces techniques et du bureau administratif, 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  $-80^{\circ}\text{C}$  à la disposition du CNR, une laverie, une 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'équipe 4 de l'U1312 UMR BRIC, 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 équipements au niveau du laboratoire principal du CNRCH sont constitués de :

- une enceinte microaérobie Concept-M400 (Ruskin Technology Ltd.) remplacée en 2017 ;
- un appareil Anoxomat (MART) et des jarres adaptées ;
- un automate d'extraction d'ADN Arrow (NorDiag) ;
- un lecteur de plaque ELISA (acheté en 2020) ;
- un inoculateur multipoint (pour CMI en milieu gélosé) (acheté en 2020) ;
- un appareil de PCR temps réel, le CFX96 Biorad (acheté en 2020 et mis à disposition sur le Plateau de Biologie Moléculaire du CHU de Bordeaux) ;
- un appareil de PCR syndromique, le BD MAX de Becton Dickinson, loué en 2020 pour 2 ans par le CNR et mis à disposition du laboratoire de Bactériologie du CHU Pellegrin ;
- un PSM ThermoFisher (remplacé en 2020) ;
- un microscope équipé d'une caméra (Olympus)
- une étuve à  $35^{\circ}\text{C}$  (remplacée en 2020) ;
- deux combinés réfrigérateur-congélateur ;
- cinq ordinateurs connectés au SIL et au réseau du CHU de Bordeaux ;
- un photocopieur/imprimante/scan/fax acheté en 2018 et remplacé en 2021 ;
- un congélateur à  $-20^{\circ}\text{C}$  ;
- 6 congélateurs à  $-80^{\circ}\text{C}$  (New Brunswick Scientific).

Les étuves et congélateurs sont reliés au système de surveillance de la température Sirius géré par le CHU de Bordeaux. La cartographie des enceintes est réalisée par le service de Métrologie du CHU de Bordeaux.

Au niveau du laboratoire INSERM U1312, nous disposons de 3 thermocycleurs (2 thermocycleurs Eppendorf 25 puits, 1 thermocycleur Eppendorf de 96 puits et d'un lecteur multifonction (dosages acides nucléiques en microplaque, lecteur de plaque type ELISA).

Nous avons accès au SIRScan auto (I2A) aux 2 MALDI-TOF (Bruker) du laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux, au plateau de biologie moléculaire du CHU et à celle du Département Sciences Biologiques et Médicales (Université de Bordeaux) pour réaliser nos PCR en temps réel.

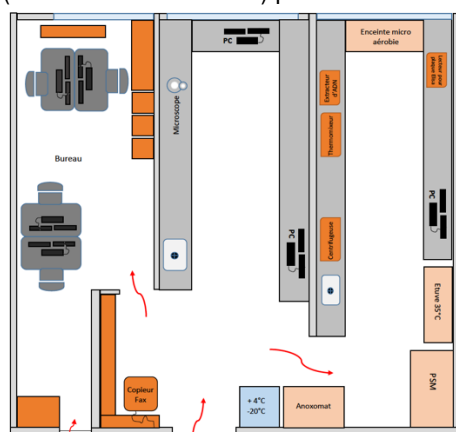


Figure : Plan simplifié des locaux du CNRCH.

## 1.4 Collections de matériel biologique

La gestion de nos collections de souches est confiée depuis janvier 2017 au Centre de Ressources Biologiques (CRB) du CHU de Bordeaux. Le contrat sera reconduit pour le prochain contrat 2023-2027.

Le CNR maintient congelées à -80°C les souches de référence acquises auprès des collections internationales et plusieurs milliers de souches provenant :

- pour les *Campylobacters* du réseau de surveillance public et privé Français,
- pour les *Hélicobacters* : de divers protocoles et essentiellement des malades de Bordeaux et de sa région.

Le CNR conserve l'intégralité des isolats de *Campylobacters* et bactéries apparentées (*Aliarcobacters*, *Hélicobacters* entérohépatiques) de 2019 à 2022 (environ 4000 souches/année). Nous disposons également de nombreuses souches de *H. pylori*. Elles ont été conservées une année sur deux jusqu'en 2015 et intégralement depuis 2015 (n=4500 environ).

Nous avons en 2022 transféré 234 souches de *Campylobacter sp* de l'année 2018 vers le Centre de Ressources Biologiques (CRB) du CHU de Bordeaux : 166 issues d'hôpitaux et 158 de laboratoires privés.

Elles ont été sélectionnées selon les critères suivants habituels (cf tableau ci-dessous) en rajoutant pour 2022 les souches séquencées par NGS. Les répartitions exactes du nombre de souches sont :

| Critères                                               | Laboratoires privés | Hôpitaux |
|--------------------------------------------------------|---------------------|----------|
| Espèces autres que <i>C. jejuni</i> et <i>C. coli</i>  | 77                  | 69       |
| <i>C. jejuni</i> et <i>C. coli</i> issus d'hémoculture | 11                  | 41       |
| Prélèvements autres que selle et hémoculture           | 1                   | 7        |
| <i>Campylobacters</i> résistants à l'érythromycine     | 33                  | 20       |
| Souches séquencées par NGS                             | 36                  | 29       |
| <b>Total</b>                                           | <b>324</b>          |          |

Le CNR dispose d'une collection de souches types pour de nombreuses espèces du genre *Campylobacter sp* (n=14), *Aliarcobacter sp* (n=3) ou *Helicobacter sp* (n=20).

L'ensemble des souches ou de leur ADN est disponible gratuitement : les demandes peuvent être formulées par mail courrier ou téléphone.

Tableau. Collection de souches de référence du CNRCH.

| Genre                | Espèce               | Sous-espèce | ATCC  | CCUG   | CIP    | NCTC  | Autres    |
|----------------------|----------------------|-------------|-------|--------|--------|-------|-----------|
| <i>Arcobacter</i>    | <i>butzleri</i>      |             | 49616 | 30485  | 103493 | 12481 |           |
| <i>Arcobacter</i>    | <i>butzleri</i>      |             |       | 34397B |        |       |           |
| <i>Arcobacter</i>    | <i>butzleri</i>      |             |       |        |        |       | NADC 3257 |
| <i>Arcobacter</i>    | <i>cryaerophilus</i> |             | 43158 | 17801  | 104014 | 11885 |           |
| <i>Arcobacter</i>    | <i>skirrowii</i>     |             | 51132 | 10374  | 103588 |       |           |
| <i>Campylobacter</i> | <i>armoricus</i>     |             |       | 73571  | 111675 |       |           |
| <i>Campylobacter</i> | <i>coli</i>          |             |       |        | 70.70  |       |           |
| <i>Campylobacter</i> | <i>coli</i>          |             | 33559 | 11283  | 70.80  | 11366 |           |
| <i>Campylobacter</i> | <i>coli</i>          |             |       |        | 68.25  |       |           |
| <i>Campylobacter</i> | <i>concisus</i>      |             | 33237 | 13144  | 103757 | 11485 |           |
| <i>Campylobacter</i> | <i>curvus</i>        |             | 35224 | 13146  | 103747 | 11649 |           |
| <i>Campylobacter</i> | <i>curvus</i>        |             |       | 11644  |        |       |           |
| <i>Campylobacter</i> | <i>fetus</i>         | fetus       | 27374 | 6823A  | 53.96  | 10842 |           |
| <i>Campylobacter</i> | <i>fetus</i>         | fetus       |       |        | A169   |       |           |
| <i>Campylobacter</i> | <i>fetus</i>         | venerealis  | 19438 | 33899  | 68.29  | 10354 |           |
| <i>Campylobacter</i> | <i>fetus</i>         | venerealis  |       | 33902  | 69.45  |       |           |
| <i>Campylobacter</i> | <i>fetus</i>         | venerealis  |       |        | 54.19  |       |           |

|                      |                        |                |            |            |             |                 |                                |
|----------------------|------------------------|----------------|------------|------------|-------------|-----------------|--------------------------------|
| <i>Campylobacter</i> | <i>hyointestinalis</i> | lawsonii       |            |            | 104686      |                 |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>iguaniorum</i>      |                |            |            |             | SP3             |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>iguaniorum</i>      |                |            |            |             | 03.427          |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>iguaniorum</i>      |                |            |            |             | CNRCH 2012/706h |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>jejuni</i>          | jejuni         | 33560      | 11284      | 70.2        | 11351           | DSM 4688                       |
| <i>Campylobacter</i> | <i>jejuni</i>          | jejuni         |            | 81.176     |             |                 |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>jejuni</i>          | jejuni         |            |            |             |                 | 260.94                         |
| <i>Campylobacter</i> | <i>jejuni</i>          |                | 70081<br>9 | 19506/6824 | 107370      | 11168           |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>jejuni</i>          |                |            | 10937      |             |                 |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>jejuni</i>          | Hipp neg       |            |            |             |                 | D 1712                         |
| <i>Campylobacter</i> | <i>jejuni</i>          | Hipp neg       |            |            |             |                 | D 1713                         |
| <i>Campylobacter</i> | <i>jejuni</i>          | doylei         | 49349      | 24567      | 103751      | 11951           |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>lanienae</i>        |                |            |            | 106745      |                 |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>lari</i>            |                | 35221      | 23947      | 102722      | 11352           |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>ornithocola</i>     |                |            |            |             |                 | CECT9147, LMG29815,<br>WBE38   |
| <i>Campylobacter</i> | <i>showae</i>          |                |            |            | 103970      |                 |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>sputorum</i>        | bv<br>sputorum | 35980      | 9728       | 103749      | 11528           |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>sputorum</i>        | bv<br>sputorum | 33562      | 11289      | 53.103      | 11367           |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>sputorum</i>        | bv<br>sputorum |            |            | 54.20       |                 |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>sputorum</i>        | bv<br>sputorum |            |            | 54.22       |                 |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>sputorum</i>        | bv<br>sputorum |            |            | 81.11       |                 |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>sputorum</i>        | bv fecalis     |            | 12014      |             |                 |                                |
| <i>Campylobacter</i> | <i>upsaliensis</i>     |                | 43954      | 14913T     | 103681      | 11541           |                                |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>anseris</i>         |                |            | 52421      |             |                 |                                |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>bilis</i>           |                | 51630      | 38995      | 104752<br>T |                 |                                |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>bizzozeroni</i>     |                |            | 35545      | 105233<br>T |                 |                                |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>brantae</i>         |                |            | 52420      |             |                 |                                |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>burdigaliensis</i>  |                |            |            | 111660      |                 | CECT 8850, CNRCH<br>2005/0566H |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>caesarodunensis</i> |                |            | 68986      | 111406      |                 | DSM 105791                     |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>canadensis</i>      |                | 70094<br>8 | 47163      |             | 13241           |                                |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>canadensis</i>      |                |            |            |             | 13242           |                                |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>canis</i>           |                | 51401      |            | 104753<br>T | 12739           |                                |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>cholecystus</i>     |                | 70024<br>2 |            | 105596      |                 |                                |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>cinaedi</i>         |                |            |            | 105369      |                 |                                |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>cinaedi</i>         |                |            | 18818T     | 103752      | 12423           |                                |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>fennelliae</i>      |                | 35683      |            |             |                 | CLO1                           |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>fennelliae</i>      |                |            |            |             | 11613           | CLO2 441                       |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>hepaticus</i>       |                | 51449      |            |             |                 |                                |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>labetoulli</i>      |                |            | 73475      | 111659<br>T |                 |                                |
| <i>Helicobacter</i>  | <i>muridarum</i>       |                | 49282      | 29262      | 104248      |                 |                                |

|                     |                     |       |         |             |           |
|---------------------|---------------------|-------|---------|-------------|-----------|
| <i>Helicobacter</i> | <i>mustelae</i>     | 43772 | 25715   | 103759<br>T | 12198     |
| <i>Helicobacter</i> | <i>nemestrinae</i>  |       | 44615   | 104754      |           |
| <i>Helicobacter</i> | <i>pametensis</i>   | 51478 | 29255   | 104249      |           |
| <i>Helicobacter</i> | <i>pullorum</i>     | 51801 | 33837   | 104787      | 12824     |
| <i>Helicobacter</i> | <i>pullorum</i>     | 51802 | 33838   |             | 12826     |
| <i>Helicobacter</i> | <i>pullorum</i>     |       | 33839   |             |           |
| <i>Helicobacter</i> | <i>pullorum</i>     |       | 33840   |             |           |
| <i>Helicobacter</i> | <i>pullorum</i>     |       | 33842   |             |           |
| <i>Helicobacter</i> | <i>pullorum</i>     |       |         |             | 13154     |
| <i>Helicobacter</i> | <i>pullorum</i>     |       |         |             | 13156     |
| <i>Helicobacter</i> | <i>pullorum</i>     |       |         |             | 13157     |
| <i>Helicobacter</i> | <i>pylori</i>       | 43504 | 17874 T | 103995      | 11637     |
| <i>Helicobacter</i> | <i>pylori</i>       |       | 18943   | 101260      |           |
| <i>Helicobacter</i> | <i>valdiviensis</i> |       |         |             | CECT 8610 |

## 1.5 Démarche qualité du laboratoire

Le CNRCH fait partie du Pôle de Biologie et Pathologie et une demande d'accréditation COFRAC ISO 15189. Le recrutement d'une technicienne qualité en 2018 a permis au CNR de rentrer concrètement dans la démarche d'accréditation de ses activités.

Audits : Un audit de traçabilité sur la culture des *Campylobacters* a été réalisé au sein du CNR le 18/10/22. Il a fait l'objet de 4 écarts et de 3 remarques. Les 4 écarts ont tous été clôturés. Le CNR a eu sa 1ère visite COFRAC en décembre 2022. A l'issue de cet audit, aucun écart n'a été soulevé. Le laboratoire sera officiellement accrédité sur l'identification des *Campylobacters* et autres germes apparentés et la détection de *Helicobacter pylori* par PCR en temps réel en juillet 2023.

Indicateur de rendu des résultats : Une extraction a été réalisée entre septembre 2022 et novembre 2022. Elle concerne le délai de rendu des résultats pour la détection de *H. pylori* dans les biopsies gastriques. Cette extraction a montré que le CNR respectait les délais de rendu de résultats affichés sur le site internet du CNR.

EEQ du pipeline bioinformatique du CNR : régulièrement, l'ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) au travers du réseau «FWDAMR-RefLabCap» (<https://www.fwdamr-reflabcap.eu>) propose aux laboratoires nationaux de références d'analyser une sélection de souches de *Campylobacter sp.* dans le but d'harmoniser, au sein de l'union européenne, la détection de l'espèce ainsi que la surveillance de la résistance aux antibiotiques.

Il s'agit d'un test important pour pouvoir valider le pipeline d'analyses automatiques de génomes du CNRCH. En 2022, 2 contrôles qualité ont été proposés et effectués : le premier à partir de 5 souches de *C. jejuni* ou *C. coli* et le second directement à partir de fichiers de séquençage .fastq. Les résultats génomiques obtenus étaient en adéquation avec ce que l'ECDC attendait. Le pipeline d'analyses du CNR et plus particulièrement la base de données de résistance établie et affinée au cours du temps a permis de retrouver précisément chaque mutation et gène de résistance.

Projets pour l'année 2023 : Le CNR continue sa démarche qualité avec la formation et l'habilitation supplémentaire de notre technicienne Astrid Ducournau à la mission de Correspondant Assurance Qualité (CAQ) afin de renforcer l'équipe qualité au CNR. L'accréditation se poursuit et va s'étendre avec l'ajout d'autres examens. Actuellement, la réalisation des tests et la rédaction des dossiers de vérification de méthode sur la culture de *Helicobacter pylori*, la sérologie de *Campylobacter jejuni* et la détection des antigènes de *H. pylori* dans les selles sont en cours. Ces dossiers seront déposés au COFRAC en vue d'obtenir l'accréditation de 100% des techniques lors de la prochaine visite. Un nouvel audit interne est programmé le 27 Juin 2023.

## 2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

### 2.1 Liste des techniques de référence

Les éléments surlignés en gris correspondent aux techniques qui seront accrédités en 2023 ou en 2024.

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

- culture, identification standard (Gram, catalase, oxydase, etc...) et par galerie Api Campy ;
- identification au niveau de l'espèce par spectrométrie de masse MALDI-TOF (E. Bessède *et al.*, 2011) ;
- 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* ;
- PCR syndromiques à partir d'échantillons de selles sur appareil BD MAX (Becton Dickinson) ;
- séquençage de l'ADNr 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 ;
- étude de marqueurs épidémiologiques de typage 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 ELISA ;
- «pipeline» d'analyses bioinformatiques appliquées à l'étude des génomes de *Campylobacters*.

**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'ADNr 23S pour détecter *H. pylori* et les mutations à l'origine de la résistance à la clarithromycine selon la technologie développée au laboratoire (Oleastro M *et al.*, 2003). La détection de ces mutations est également disponible si besoin, à l'aide de PCR temps réel commerciales ;
- antibiogramme de *H. pylori* ;
- PCR en point final (puis séquençage) de détection des mutations associées aux résistances aux fluoroquinolones (QRDR du gène *gyrA*), amoxicilline (*pbp1*) et rifamycines (*rpoB*) ;
- 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 ;
- typage MLST ;
- typage du résistome et du virulome de *H. pylori* par technique DNA Capture au sein de biopsies gastriques ;
- sérologie par chimiluminescence (LIAISON® *H. pylori* IgG, commercialisé par Diasorin) et Immunoblot (Helicoblot 2-1, Genelabs, Singapour).
- recherche d'antigènes de *H. pylori* dans des prélèvements de selles : tests immunochromatographiques rapides ou test ELISA.

### 2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

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

La détection des *Campylobacter sp* fait partie des bactéries à rechercher systématiquement au cours des diarrhées infectieuses de plus de 48h au même titre que la détection de Salmonelles car la fréquence des *Campylobacters*, 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 sp* 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 sp*, les selles doivent être acheminées en moins de 2h 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 et sélectif 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 *Campylobacters* 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 *Aliarcobacter sp* et d'autres espèces de *Campylobacter sp* plus rares.

L'incubation est réalisée impérativement en atmosphère microaérobie (en sachet, en jarre, en enceinte dédiée) et les géloses doivent être incubées immédiatement après ensemencement. Les cultures sont observées après 24h, 48h et 72h 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 *Campylobacters*. Cette méthode permet d'identifier des genres et espèces difficilement accessibles par les tests d'identification conventionnels, notamment : *Campylobacter lari*, *Campylobacter upsaliensis*, les *Campylobacters* «anaérobies» (*Campylobacter ureolyticus* notamment), les *Aliarcobacters* et les *Hélicobacters* entérohépatiques dont, pour certains, la pathogénie est proche des *Campylobacters* (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 immunoenzymatique ou moléculaire :

Des tests ELISA et des tests immunoenzymatiques rapides sont maintenant commercialisés pour la détection de *Campylobacter sp* dans les selles. Les tests ELISA disponibles sur le marché ont une bonne concordance avec la PCR en temps réel. Ces tests 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 aux autres *Campylobacter sp* et bactéries apparentées. Aussi, les tests ELISA commercialisés ont été recommandés pour la recherche de *Campylobacter sp* lors de tests réalisés pour des transplantations fécales. Les tests rapides immunoenzymatiques 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. Cependant, ces tests sont à réserver à des populations cibles à forte prévalence potentielle d'infection à *Campylobacters* : diarrhées communautaires aigües fébriles.

La recherche par amplification génique est maintenant commercialisée dans des trousseaux multiplexés permettant la détection de nombreux entéropathogènes dont *C. jejuni* et *C. coli*. Ce type d'approche commence à être réalisé 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. Une interprétation clinico-biologique des résultats peut être réalisée après évaluation des performances de ces tests avec celle de la culture. Aucun test à ce jour n'inclut la détection de *C. fetus* et des *Aliarcobacters*.

### -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 sp*. 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 sp* 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 ou IgM) ou par réaction de fixation du complément (ces tests commerciaux vont progressivement disparaître).

### 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,  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , 24h. Si la culture est insuffisante après 24h, réincuber immédiatement et effectuer une lecture après 40-48h 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 *Aliarcobacter 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 *Aliarcobacter sp* ne sont pas encore disponibles. Pour les Aliarcobacters les « cut-offs » utilisés pour les Entérobactéries sont recommandés pour catégoriser la sensibilité à l'ampicilline, amoxicilline-acide clavulanique, ciprofloxacine et gentamicine. Les macrolides et les tétracyclines ne sont plus catégorisés.

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 1h. 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). Cela permet de classer la gastrite selon le score de Sydney (systèmes OLGA et OLGIM). L'autre avantage est de permettre la visualisation, de par 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'antré 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) : le délai de transport doit être idéalement de 24h. Une autre solution est de congeler les biopsies immédiatement 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 (microtube + 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 37°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 de l'espèce est facile sur les critères d'exigence culturale (microaérobie), de par l'aspect incurvé ou spiralé au Gram et de 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 troupes diagnostiques commercialisées et performantes, sont disponibles et donnent un résultat en 2 à 4h. La sensibilité est supérieure à celle de la culture. L'automatisation de l'extraction en facilite la réalisation. Ces troupes renseignent toutes sur la présence de l'infection et des mutations associées à la résistance aux macrolides. La PCR est remboursée depuis décembre 2022.

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.

Un format de PCR temps réel utilisable pour PCR sur échantillon de selles a été publié (Pichon M *et al.*, J Clin Microbiol 2020). La version commercialisée actuellement de ce kit de PCR semble cependant poser des problèmes techniques impactant la sensibilité et la spécificité des résultats.

## 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 protons. 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 condition particulière 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. Ce test est remboursé depuis décembre 2022 en primo diagnostic et en contrôle de traitement d'éradication.

### -Sérologie

De nombreuses troupes diagnostiques utilisant les techniques ELISA, chimiluminescence ou Western-blot sont commercialisées. Cependant, 4 ELISA seulement 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 immunochromatographiques 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. En outre, 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 immunochromatographique 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). La recherche d'antigènes dans les selles est remboursée depuis décembre 2022 en primo diagnostic et en contrôle de traitement d'éradication.

### -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 2020) :

-milieu MH-10% sang de cheval ou gélose Schaedler vit K1 ;

-inoculum : 3 McFarland ;

-incubation : atmosphère microaérobie, 37°C, 48h. Si la culture est insuffisante après 48h, réincuber immédiatement et effectuer une lecture après 72h d'incubation ;

-lecture : mesurer les CMI à l'intersection de l'ellipse d'inhibition avec la bandelette de Etest. 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 Hélicobacters, 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.