



# RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITE 2024

## CNR Campylobacter et Hélicobacter

|                        | <b>Organisme / Structure<br/>d'hébergement</b> | <b>Responsable</b>         |
|------------------------|--|----------------------------|
| <b>Laboratoire CNR</b> | <u>CHU de Bordeaux</u>                         | Pr <u>Philippe Lehours</u> |
|                        |  |                            |
|                        |  |                            |
|                        |  |                            |
|                        |  |                            |

## GUIDE DE REMPLISSAGE

Conformément à l'arrêté du 2 mars 2022 fixant leur cahier des charges, les Centres Nationaux de Référence (CNR) sont tenus de transmettre chaque année un rapport annuel portant sur l'activité du CNR pour l'année « N » à Santé publique France avant la fin du premier semestre de l'année « N+1 ». Ce rapport doit être conforme au rapport-type national défini par le Comité des CNR aux fins de définir un cadre de présentation homogène des activités du CNR et de ses éventuels laboratoires associés.

Si le CNR comporte un ou plusieurs laboratoires associés, le CNR – Laboratoire coordonnateur doit présenter un rapport commun faisant la synthèse des activités des laboratoires concourant aux missions du CNR.

*Ce rapport décrit les activités du CNR et produit une analyse des données recueillies au cours de l'année « N ». Il doit être concis, éviter les redondances, privilégier les illustrations pour les résultats (graphes, cartes, tableaux). Il s'agit de fournir un travail de synthèse mettant en exergue les points forts du bilan d'activité de l'année.*

*Ce rapport doit inclure un résumé analytique, en français et en anglais, de 300 mots maximum (2700 caractères) destiné à être publié sur le site de Santé publique France.*

Ce rapport comporte 3 annexes, regroupées à la fin du document :

- Les annexes 1 et 2 ont pour objet de rappeler les missions et l'organisation du CNR d'une part, ses capacités techniques d'autre part. Ces éléments sont pour la plupart déjà disponibles dans votre dossier de candidature. Seuls les éléments nouveaux (changement d'organisation, de locaux, nouvelles capacités ...) doivent figurer dans le corps du rapport.
- L'annexe 3 regroupe des informations confidentielles, à l'attention de Santé publique France et de son Comité des CNR, non destinées à être rendues publiques : permanence du CNR, détenteurs d'autorisations MOT (Micro-Organismes et Toxines), détenteurs d'autorisations d'exercer la biologie médicale (AEBM), résultats de recherche non encore publiés ou sous embargo, difficultés rencontrées, 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 (cf déclarations d'intérêts et engagement déontologique signé par les responsables des CNR (en précisant la nature des activités, les financements éventuels obtenus et la destination de ces financements). Cette annexe 3 doit figurer dans un document PDF distinct ou être détachable de la version papier fournie.

*Il vous est demandé de respecter rigoureusement ce plan-type qui concorde avec celui de la grille d'évaluation utilisée par les experts du Comité. A l'exception de son annexe 3, ce rapport annuel d'activité a vocation à être publié sur le site web du CNR.*

**NB** : Les contrôles de contenus insérés dans la matrice du document sont supprimés dès que vous commencez la saisie, ils rappellent ce qui est attendu par les experts du Comité des CNR

|  |           |
|--|-----------|
| <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> .....  | <b>7</b>  |
| Organigramme 2024 .....  | 7         |
| Mission et Organisation .....  | 7         |
| Démarche Qualité .....   | 7         |
| <b>2. Activités d'expertise</b> .....  | <b>8</b>  |
| 2.1 Evolution des techniques .....   | 8         |
| 2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et troussees .....   | 8         |
| 2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires .....  | 10        |
| 2.4 Collections de matériel biologique .....   | 12        |
| 2.5 Activités d'expertises .....   | 12        |
| 2.6 Activités de séquençage .....  | 14        |
| 2.7 Partage de séquences produites par les CNR.....  | 25        |
| <b>3. Activités de surveillance</b> .....  | <b>26</b> |
| 3.1 Description du réseau de partenaires .....   | 26        |
| 3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques de s infections .....  | 33        |
| 3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux.....   | 42        |
| 3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....   | 50        |
| 3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance .....  | 50        |
| <b>4. Alertes</b> .....  | <b>56</b> |
| <b>5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil</b> .....   | <b>57</b> |
| 5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé.....  | 57        |
| 5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires .....  | 59        |
| 5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...) .....   | 59        |
| <b>6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR</b> .....   | <b>60</b> |
| 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.....      | 60        |
| 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 ..... | 62        |

|  |  |           |
|--|--|-----------|
| <b>7.</b>  | <b>Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux</b>  | <b>65</b> |
| 7.1  | Projet CampySeq en collaboration avec le LNR des Campylobacters  | 65        |
| <b>8.</b>  | <b>Programme d'activité pour les années suivantes</b>  | <b>67</b> |
| <b>Annexe 1 : Missions &amp; organisation du CNR</b>                           |  | <b>71</b> |
| 1.1  | Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés  | 71        |
| 1.2  | Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés  | 72        |
| 1.3  | Locaux et équipements  | 73        |
| 1.4  | Collections de matériel biologique   | 74        |
| 1.5  | Démarche qualité du laboratoire  | 75        |
| <b>Annexe 2 : Capacités techniques du CNR</b>                                  |  | <b>78</b> |
| 2.1  | Liste des techniques de référence  | 78        |
| 2.2  | Liste des techniques recommandées par le CNR   | 78        |
| <b>Annexe 3 : Autres informations (non destinées à être rendues publiques)</b> |  | <b>84</b> |
| 3.1  | Permanence du CNR  | 84        |
| 3.2  | Autorisations MOT  | 84        |
| 3.3  | Autorisations d'exercer la biologie médicale   | 84        |
| 3.4  | Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo   | 84        |
| 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                      | 84        |
| 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 | 84        |
| 3.7  | Autres remarques à destination du comité des CNR   | 84        |
| <b>Annexe 4 : Inventaire de la collection de matériel biologique</b>           |  | <b>85</b> |

# RESUME ANALYTIQUE

## Faits marquants

En 2024, l'activité *Campylobacter* a continué à se développer. Deux caractéristiques principales se sont confirmées. Le réseau des laboratoires hospitaliers a été encore très actif cette année, résultant d'une sensibilisation et mobilisation accrues post-covid pour les épidémies et infections. L'apport de données et souches transmises au CNRCH par ce réseau a augmenté de 23% en 2024 par rapport à 2023 ; l'année 2023 était déjà en forte progression. Le nombre d'établissements hospitaliers a également progressé, créant un véritable maillage territorial, portant leurs actions à la fois sur les déclarations d'infections à *Campylobacters* mais aussi et plus fréquemment sur des cas particuliers multiples nécessitant un avis partagé et une expertise. Le réseau des laboratoires privés voit l'émergence confirmée de groupements de laboratoires qui réorganisent régulièrement leur fonctionnement et rationalisent leurs implantations géographiques. De nouveaux laboratoires nous ont rejoint sur des territoires jusqu'alors non représentés, appartenant pour la plupart à des groupements. Nos partenaires communautaires, historiques ou récemment entrés dans le réseau poursuivent leur partenariat avec intensité, régularité et très forte implication. Forts de leur groupement, ils nous permettent de couvrir les départements limitrophes souvent isolés. Certains sont souvent seuls sur un département pour participer à la surveillance épidémiologique. L'épidémiologie des infections à *Campylobacters* et bactéries apparentées se restreint en 2024 à 4 bactéries : *C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus* et *A. butzleri*. Cet appauvrissement de la diversité en espèce est probablement le reflet des stratégies d'analyse par PCR syndromiques des *Campylobacters* sur selles en amont de la culture. Les taux de résistance aux antibiotiques sont néanmoins stables par comparaison aux années précédentes.

L'activité *H. pylori* du CNR a baissé par rapport à 2023 car de nombreux laboratoires partenaires choisissent soit de mettre en place le diagnostic sur leur site, notamment par PCR, soit préfèrent délocaliser à des laboratoires type CERBA ou Biomnis. Le réseau de surveillance épidémiologique Hélico-net mis en place mi-juin 2023 sur le modèle du réseau Campy-net a permis en 2024 d'obtenir une excellente couverture nationale des infections à *H. pylori* permettant une analyse à large échelle des résistances aux antibiotiques. Le CNR a été très sollicité en 2024 pour des conseils et pour l'automatisation de PCR sur des appareils de PCR syndromique type BD MAX ou Ingenius tel que publié par le CNR.

L'année 2024, pour le CNR *Campylobacters* et *Hélicobacters*, est une année de mise en place en routine de nos projets NGS notamment pour les *Campylobacters*. Nous avons contractualisé les prestations de séquençage avec la plateforme du CHU Henri-Mondor, mis en place un serveur de dépôt des séquences et automatisé toutes les étapes des analyses bioinformatiques. Le rendu des résultats NGS dans notre système informatique a été standardisé afin de pouvoir être requêteable. Pour la partie NGS et *H. pylori*, l'approche par « target enrichment » (DNA capture) du résistome et du virulome de *H. pylori* au sein de biopsies gastriques a été améliorée : modification des paramètres analytiques pour améliorer la sensibilité, mise à jour du pipeline d'analyses, génération automatique de rapport sous format .PDF, adaptation de la technique sur ADN extraits de biopsies incluses en paraffine. Le CNR est pionnier en France, en 2024, pour proposer cette stratégie réservée à des cas sévères d'infection.

La démarche qualité du CNR a été renforcée depuis l'obtention d'un avis favorable du COFRAC sur la PCR *H. pylori*, la culture et les antibiogrammes des *Campylobacters*. Nous visons l'accréditation à 100% de nos analyses d'ici fin 2026. Les formations continues se sont poursuivies en 2024, sous la forme de webinaires, destinées à nos correspondants. Nous avons maintenu à jour et alimenté en informations récentes notre site internet qui a vu sa fréquentation augmenter en 2024. Le personnel biologiste du CNR a été par ailleurs très sollicité pour ses missions de conseils.

## Remerciements

Le CNRCH remercie chaleureusement tous les laboratoires qui participent à son réseau pour leur envoi et pour la qualité de nos échanges. Nous présentons la plupart de nos correspondants qui ont accepté de figurer sur ce rapport (avant Annexe 1), en tant que partenaire du CNR et membre du dispositif de surveillance des infections à *Campylobacters* et/ou *Hélicobacters*.

## EXECUTIVE SUMMARY

### Highlights

In 2024, *Campylobacter* activity continued to grow. Two main features were confirmed. The network of hospital laboratories was again very active this year, as a result of heightened post-covid awareness and mobilization for epidemics and infections. The contribution of data and strains transmitted to the CNRCH by this network increased by 23% in 2024 compared with 2023; 2023 was already a year of strong growth. The number of hospital establishments has also increased, creating a real territorial network, focusing their actions not only on reports of *Campylobacter* infections, but also and more frequently on multiple individual cases requiring shared opinion and expertise. The private laboratory network has seen the confirmed emergence of laboratory groupings that regularly reorganize their operations and rationalize their geographical locations.

New laboratories have joined us in previously unrepresented territories, most of them belonging to groups. Our community partners, both long-standing and those who have recently joined the network, continue to pursue their partnership with intensity, regularity and great commitment. Thanks to the strength of their groups, they enable us to cover neighbouring, often isolated, departments. Some laboratories are often the only ones in a given department to participate in epidemiological surveillance. In 2024, the epidemiology of *Campylobacter* and related bacteria will be limited to 4 bacteria: *C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus* and *A. butzleri*. This reduction in species diversity probably reflects syndromic PCR strategies for *Campylobacters* in stools prior to culture. Antibiotic resistance rates are nevertheless stable compared with previous years.

The CNR's *H. pylori* activity was down on 2024, as many partner laboratories chose either to set up diagnostics on their site, notably by PCR, or to relocate to laboratories such as CERBA or Biomnis. The Helico-net epidemiological surveillance network, set up in mid-June 2023 on the model of the Campy-net network, provided excellent national coverage of *H. pylori* infections in 2024, enabling large-scale analysis of antibiotic resistance in particular. The CNR was much in demand in 2024 for advice and for PCR automation on syndromic PCR equipment such as BD MAX or Ingenius, as published by the CNR.

For the CNR *Campylobacters* et *Hélicobacters*, 2024 was the year of the routine implementation of our NGS projects, particularly for *Campylobacters*. We have contracted sequencing services with the CHU Henri-Mondor platform, set up a sequence deposit server and automated all stages of bioinformatics analysis. The rendering of NGS results in our IT system has been standardized so that they can be queried. For NGS and *H. pylori*, the target enrichment (DNA Capture) of *H. pylori* in gastric biopsies was improved: modification of analytical parameters to improve sensitivity, updating of the analysis pipeline, automatic generation of reports in .PDF format, adaptation of the DNA technique extracted from paraffin-embedded biopsies. The CNR is a pioneer in France in 2024 in offering this strategy reserved for severe cases of infection.

The CNR's quality approach has been strengthened since we obtained a favorable COFRAC opinion on *H. pylori* PCR, *Campylobacter* culture and antibiograms. We are aiming for 100% accreditation of our analyses by the end of 2026. Ongoing training continued in 2024, in the form of webinars for our correspondents. We kept our website up to date and supplied it with new informations, and its traffic increased in 2024. The CNR's biology staff were also much in demand for their advisory services.

### Acknowledgements

The CNRCH warmly thanks all the laboratories participating in its network for their contributions and for the quality of our exchanges. We would like to introduce most of our correspondents who have agreed to appear in this report (before Appendix 1), as partners of the CNR and members of the surveillance network for *Campylobacter* and/or *Helicobacter* infections.

# 1. Missions et organisation du CNR

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

## Organigramme 2024

| Fonction                  | Prénom-Nom   | Qualification | Statut |
|---------------------------|--|---------------|--------|
| Responsable scientifique  | Philippe Lehours                                   | PharmD., PhD  | PU-PH  |
| Biologiste                | Marine Jauvain                                     | PharmD,       | AHU    |
| Ingénieur hospitalier CAQ | Lucie Bénéjat-Bruhl                                | M2            | CDI    |
| Ingénieur hospitalier     | Quentin Jehanne                                    | PhD           | CDI    |
| Ingénieur hospitalier     | Léo Gillet   | M2            | CDD    |
| TLM, CAQ                  | Astrid Ducournau                                   | BTS           | CDI    |
| TLM                       | Johanna Aptel                                      | BTS           | CDD    |
| TLM                       | Claudie Perreau                                    | BTS           | CDD    |
| TLM CHU Bordeaux          | X (pool des TLM de Bactériologie du CHU Pellegrin) | BTS           | CDI    |
| TLM CHU Bordeaux          | Léa Reybard (préparation milieu de culture)        | BTS           | CDI    |
| TLM qualité               | Marie Taymont                                      | BTS           | CDD    |
| Secrétaire                | Erick Keisler                                      | BTS           | CDI    |

Le Dr Emilie Bessède ne participe plus depuis janvier 2024 à l'activité du CNRCH. Mme Marine Jauvain est revenue en avril 2024 de congés maternité. Mme Perreau a été recrutée mi-août 2024. Mme Marie Taymont et Mr Léo Gillet sont recrutés à 50%.

## Mission et Organisation

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

## Démarche Qualité

Le CNRCH fait partie du Pôle de Biologie et Pathologie qui est entré dans une demande d'accréditation COFRAC ISO 15189. Le recrutement d'une technicienne qualité depuis 2018 permet au CNR de poursuivre sa démarche d'accréditation de ses activités.

En 2023, notre technicienne Astrid Ducournau a été habilitée à la mission de Correspondant Assurance Qualité (CAQ) ce qui permet de renforcer l'équipe qualité au CNR dorénavant composée de 3 CAQ (Marie Taymont, Lucie Bruhl, Astrid Ducournau). En 2024, l'équipe qualité est restée opérationnelle et a conservé ses activités en vue d'accréditation.

**Le laboratoire est officiellement accrédité pour l'identification et la culture des *Campylobacter* sp et autres germes apparentés (ligne de portée BM MG11) pour l'antibiogramme (ligne de portée BM MG12). Le CNR est également accrédité pour la détection de *H. pylori* par PCR (BM BA02).**

Plus de détails sur la démarche qualité du CNR sont fournis dans l'annexe 1.

## 2. Activités d'expertise

---

### 2.1 Evolution des techniques

L'activité technique relative au diagnostic des infections à *Campylobacter* et *Helicobacter* a pris un tournant radical en 2024 vers l'application en routine des stratégies NGS.

Le CNRCH a notamment mis en place fin-janvier 2024 la détermination de l'identification, du résistome, du typage MLST et de l'attribution de source en routine des *Campylobacter* grâce au pipeline d'analyses automatisées des génomes de *Campylobacter sp* et *Aliarcobacter sp*.

Côté recherche, nous avons continué à améliorer notre pipeline pour l'analyse du résistome et du virulome de *H. pylori* sur souches, sur biopsies gastriques fraîches et incluses en paraffine par technique de capture d'ADN.

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

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

##### -Évaluation des performances du kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® Fecal Bacteriology dans le diagnostic des infections bactériennes intestinales

Introduction : Notre étude visait à évaluer les performances cliniques du kit AMPLIQUICK® Fecal Bacteriology du laboratoire Biosynex pour la détection des bactéries entéropathogènes dans les cas de diarrhées aiguës communautaires.

Matériels et méthodes : Dans cette étude, 194 échantillons de selles ont été inclus rétrospectivement et 207 prospectivement, portant ainsi le nombre total d'échantillons testés à 401. Parmi les 194 échantillons rétrospectifs, 181 provenaient du CHU de Bordeaux et 13 d'une précédente étude. Pour les 207 échantillons prospectifs, 143 provenaient de la routine du CHU de Bordeaux et 64 d'un laboratoire privé de la région bordelaise.

Tous ces échantillons avaient été analysés par PCR multiplex syndromique, utilisant soit le kit BD Max panel standard (Becton Dickinson) soit le kit Allplex GI-Bacteria(I) Assay (Seegene). En cas de discordance des résultats obtenus par technique AMPLIQUICK® Fecal Bacteriology avec les résultats attendus, les échantillons ont été retestés à l'aide des kits Seegene Gastrointestinal panel 1 et 2 ou par des PCR ciblées.

Résultats : Sur les 401 échantillons, 190 étaient attendus positifs à *Campylobacter sp* (*C. jejuni* ou *C. coli*), 48 à *Salmonella spp*, 39 à *Shigella spp*/EIEC, 21 à *Yersinia enterocolitica*, 30 à *E. coli* Stx-pos et 64 étaient attendus négatifs. Neuf autres échantillons étaient soit positifs à d'autres entéropathogènes (*Pleisiomonas shigelloides*, *Vibrio spp* et *C. difficile*) soit positifs à 2 entéropathogènes.

Seules 4 discordances (3 échantillons) ont été répertoriées sur AMPLIQUICK® : 1 faux positif à ETEC, 1 faux négatif à EHEC et 1 à la fois faux positif *Salmonella spp* et faux négatif EHEC.

Globalement pour *Campylobacter spp*, *Salmonella spp*, *Yersinia sp*, *C. difficile*, *Aeromonas spp*, ECEH, EPEC, EAEC et *Shigella spp*, les sensibilités et les spécificités allaient de 99 à 100%. Les sensibilités et spécificités des *C. difficile* hypervirulents, toxine cholérique, *Vibrio spp*, ETEC et *P. shigelloides* n'ont pas pu être calculées faute de cas positifs suffisants.

Conclusion : Le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® Fecal Bacteriology permet, en une seule PCR, le criblage complet des principales bactéries des infections gastrointestinales notamment à *Campylobacter* avec une excellente performance clinique, ce qui en fait un outil fiable pour le diagnostic rapide des gastro-entérites bactériennes en pratique courante.

Un article scientifique a été soumis début 2025.

## Travaux relatifs aux infections à *Helicobacter sp*

Le CNR n'a pas été sollicité par des industriels en 2024 pour évaluer de nouveaux tests diagnostic. Les évaluations qui suivent ont été effectuées à l'initiative du CNR.

### -Evaluation des performances du kit de détection par PCR en temps réel VIASURE *Helicobacter pylori* de CerTest BIOTEC S.L.

Objectifs-Introduction : Le kit VIASURE *Helicobacter pylori* + Clarithromycine resistance (CerTest Biotec S.L., Saragosse, Espagne) permet l'identification de *H. pylori* et la détermination de la résistance à la clarithromycine dans les biopsies gastriques par PCR en temps réel. Les gènes cibles pour détecter *H. pylori* sont *ureA* et *ureB*, et la résistance aux macrolides est déterminée par la détection d'un génotype sauvage (WT) et/ou des 2 mutations A2142G et A2143G sur l'*ADNr 23S*. Les barrettes lyophilisées fournies sont prêtes à l'emploi. Le CNR a évalué les performances de ce kit sur biopsies gastriques et selles.

Matériels et méthodes : Quarante-cinq extraits d'ADN issus de biopsies gastriques et 36 issus de selles ont été analysés sur thermocycleur CFX96 (Biorad) avec le kit VIASURE selon les recommandations du fabricant. Les résultats obtenus rétrospectivement au CNR sur les biopsies gastriques (culture et PCR en temps réel maison) étaient de 5 négatifs et 40 positifs à *H. pylori*, dont 19 sensibles et 21 résistants à la clarithromycine (12 mutés A2142/3G, 8 WT+A2142/3G et 1 A2142C). Les données sur les selles testées comprenant 14 négatifs et 24 positifs dont 18 WT et 6 mutés (5 A2142/3G et 1 double population) avaient été confirmées sur biopsies gastriques en parallèle.

Résultats : Sur biopsies gastriques, le kit VIASURE a parfaitement détecté les 40 échantillons attendus positifs à *H. pylori* et les 5 attendus négatifs, ainsi que les 19 sensibles et 20 des 21 résistants à la clarithromycine (dont les double populations) sauf la mutation A2142C comme annoncé par le fabricant. La sensibilité de détection de *H. pylori* et de détermination de résistance à la clarithromycine sur biopsies gastriques étaient respectivement de 100% et 95,2%. Les performances obtenues sur selles étaient très mauvaises.

Conclusion : Le kit VIASURE *Helicobacter pylori* + Clarithromycine resistance est très facile à mettre en œuvre. Les performances sur biopsies gastriques sont excellentes, il est cependant dommage que le kit ne détecte pas la mutation A2142C même si elle est rare chez *H. pylori*. Ce kit n'est pas utilisable en routine sur selles.

### -Evaluation du kit NGS Deeplex® HeIP (Genoscreen)

Objectifs-Introduction : La culture de *H. pylori* à partir de biopsies gastriques est pratiquée en France dans un nombre limité de laboratoires. Une approche NGS présente l'avantage d'accéder directement au résistome de la bactérie. Nous présentons ici l'évaluation comparative de deux méthodes : l'une basée sur la technique de DNA Capture ou Target enrichment (sondes ARN), l'autre commercialisée par Genoscreen à l'aide du kit Deeplex® HeIP (PCR multiplex puis séquençage NGS).

Matériels et méthodes : 17 biopsies gastriques positives à *H. pylori* par culture et PCR ont été sélectionnées. Pour l'approche Target enrichment, le protocole SureSelect XT de Agilent a été adapté pour être utilisé sur un système automatisé Magnis Dx de Agilent (50 à 100 ng d'ADN). Les analyses bioinformatiques ont été réalisées sur le pipeline maison dédié à l'analyse des résultats par Target enrichment. Pour le kit Deeplex® HeIP, les recommandations du fournisseur ont été suivies pour la préparation et le séquençage des librairies, et les séquences ont été analysées par la société Genoscreen. Pour les 2 technologies, le séquençage NGS a été réalisé sur le séquenceur iSeq100 (Illumina). Les deux approches ciblent le résistome (*ADNr 23S*, *ADNr 16S*, *gyrA* et *rpoB*), le virulome (*cagA* et *vacA*) et les gènes nécessaires au typage MLST.

Résultats : Pour l'étude de la résistance aux macrolides, la concordance est parfaite entre le résultat obtenu par PCR temps réel et les deux approches NGS avec la possibilité de détecter jusqu'à 10% d'une population-R au sein d'un mélange. La concordance est également parfaite pour la lévofloxacine et la rifampicine. Pour la tétracycline, le pipeline Genoscreen catégorise à tort certaines mutations dans l'*ADNr 16S* comme associées à la résistance. Le génotypage du gène de virulence *vacA* et celle du gène *i* est à améliorer pour le kit Deeplex® HeIP.

Conclusion : Les approches NGS par Target enrichment et Genoscreen à l'aide du kit Deeplex® HeIP permettent

l'étude du résistome de *H. pylori*. La place de ces approches dans le diagnostic de routine de *H. pylori* mérite d'être discutée au regard de leur coût élevé et de la lourdeur de la technique.

Un article scientifique est en cours d'écriture.

### **-Projet d'évaluation de biopuces pour le diagnostic de l'infection à *H. pylori* sur biopsie gastrique : collaboration avec le laboratoire Dendris Molecular Diagnostics (Labège, France)**

Le laboratoire Dendris disposait d'une technologie brevetée de fonctionnalisation des supports permettant l'accroche maximalisée des sondes dans un environnement « 3D ». Cette technologie optimise le rapport signal / bruit résultant de l'hybridation des sondes ce qui permet d'augmenter considérablement la sensibilité de la puce DendrisChip.

Le principal enjeu technique de ce projet sur *H. pylori* était la détection de Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) sur puce. L'étude de faisabilité a permis de déterminer si techniquement il était possible à déterminer la présence de SNP ou si des différences d'hybridation étaient observables en présence de SNP.

Pour la détection de SNP, deux approches ont été testées :

1.Observation *in silico* des différences de repliements / de structures secondaires en fonction de la présence de SNP sur un fragment d'ADN d'intérêt ;

2.Utilisation de PNA (Peptid Nucleic Acids) dans le but de bloquer l'élongation lors de la PCR en l'absence de mutation afin d'avoir seulement l'amplification du fragment d'intérêt en présence de mutation.

Pour l'étude de faisabilité, des essais ont été réalisés sur un gène de ménage de *H. pylori* (*glmM*), un gène de résistance pour faisabilité de la détection de SNP (*ADNr 23S*) et un gène de virulence (*cagA*).

Les tests réalisés pour l'étude de faisabilité étaient concluants.

Malheureusement la laboratoire Dendris a déposé le bilan courant 2024, le projet n'a donc pas été finalisé.

### **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 avons organisé en 2024 un EEQ gratuit pour les antibiogrammes de *H. pylori* destinés aux laboratoires participant au réseau Hélico-net qui saisissent des données de CMI (22 participants en 2024 pour cet EEQ).

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 précisant le protocole à suivre afin de mettre en place les bonnes conditions préanalytiques dans leur site respectif.

Nous avons réalisé une vidéo de démonstration des étapes préanalytiques de broyage de biopsies gastriques pour recherche de *H. pylori*. Cette vidéo a été présentée lors du webinaire organisé le 2 octobre 2024 et est disponible sur <https://youtu.be/Fnx5orzFacg>.

En 2024, nous avons répondu à 15 demandes d'envoi représentant 34 isolats (23 souches de Campylobacters et 11 souches de *H. pylori*), et 5 prélèvements (extraits d'ADN).

| Date     | Destinataire   | Nature  | Nb. |
|----------|--|---|-----|
| 20/11/24 | Bioesterel Biogroup François Arnaud                    | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CERBA Frepillon, Sabine Trombert                       | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CH COLMAR, De Briel Dominique                          | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CH Valenciennes, Maxime Paluch                         | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CHI Poissy, Cheron Mireille                            | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CHU Grenoble, Léa Ponderand                            | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CHU Henri Mondor, Gallois Emmanuelle                   | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CHU Kremlin Bicêtre, Dortet Laurent                    | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CHU Lille, Claire Duployer                             | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CHU Lyon, Ranc Anne-Gaelle                             | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CHU Nantes, Sophie-Anne Gibaud                         | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CHU Poitiers, Maxime Pichon                            | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CHU Rennes, François Guerin                            | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CHU Strasbourg, Schramm Frédéric                       | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CHU Toulouse, Pauline Floch                            | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | CHU Tours Trousseau, Laura Chauffour                   | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | Eurofins Biomnis Lyon, Anais Soares                    | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | Garosud Montpellier, Rémi Fournier                     | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | GH Grand Paris Nord Est, Delaval Anne                  | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | Hôpitaux Catholiques de Lille, Georgel Anne-France     | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | AP-HP Necker Paris, Agnès Ferroni                      | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 20/11/24 | Laborizon Centre Biogroup, Anne Holstein               | Souches <i>H. pylori</i>  | 3   |
| 18/09/24 | CHRU NANCY, Corentine Alauzet, Bactériologie           | Souche <i>H. pylori</i> CCUG 17874  | 1   |
| 18/09/24 | CHRU NANCY, Corentine Alauzet, Bactériologie           | Souche <i>H. pylori</i> clarithromycine-R   | 1   |
| 27/06/24 | AP-HM Timone Marseille, Elsa Prudent, Infectiologie    | ADN témoins <i>H. pylori</i> (tests Eurogentec)   | 3   |
| 05/06/24 | CH Perpignan, Charlotte Faugères, Biologie Moléculaire | Souches <i>H. pylori</i> pour ATB   | 4   |
| 14/05/24 | DENDRIS Labège, Elodie Bernard-Lecler                  | Extraits d'ADN <i>H. pylori</i>   | 2   |
| 18/04/24 | SMALTIS Besançon, Clarisse Meneghel                    | Souches <i>Campylobacter upsaliensis</i>  | 2   |
| 18/04/24 | SMALTIS Besançon, Clarisse Meneghel                    | Souches <i>Campylobacter fetus</i>  | 2   |
| 10/04/24 | CHU Poitiers, Julie Cremniter, Bactériologie           | Souche <i>H. pylori</i> CCUG 17874  | 1   |
| 27/03/24 | CHU Nantes, Sophie-Anne Gibaud, Bactériologie          | Souche <i>H. pylori</i> CCUG 17874  | 1   |
| 27/03/24 | CH Perpignan, Charlotte Faugères, Biologie Moléculaire | Souche <i>H. pylori</i> CCUG 17874  | 1   |
| 27/03/24 | CHU Lyon Croix Rousse, Céline Fettig, Bactériologie    | Souche <i>H. pylori</i> CCUG 17874  | 1   |
| 28/02/24 | Laboratoire de Ploufragan, Ducret Linda                | Souches <i>Campylobacter</i> spp.   | 8   |
| 12/02/24 | CH Avranches, Loic Mignot                              | Souche <i>C. jejuni</i> CCUG 11284  | 1   |
| 15/01/24 | INTEGRAGEN, Evry Saraiva Jean-Paul                     | Souches <i>A. butzleri</i> , <i>A. lanthieri</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> , <i>H. pylori</i> | 10  |
| 10/01/24 | CHI Poissy, Jean-Marie Sire                            | Souche <i>H. pylori</i> CCUG 17874  | 1   |

En gris : souches envoyées pour EEQ.

## 2.4 Collections de matériel biologique

En 2024, nous avons transféré 385 souches de *Campylobacter sp* de l'année 2020 vers le Centre de Ressources Biologiques Plurithématique (CRB-P) du CHU de Bordeaux : 198 issues d'hôpitaux et 187 de laboratoires privés. Elles ont été sélectionnées selon les critères suivants et habituels (cf tableau ci-dessous).

Les répartitions exactes du nombre de souches pour 2024 sont :

| Critères  | Laboratoires privés | Hôpitaux |
|---|---------------------|----------|
| Espèces autres que <i>C. jejuni</i> et <i>C. coli</i>   | 56                  | 95       |
| <i>C. jejuni</i> et <i>C. coli</i> issus d'hémocultures | 3                   | 42       |
| Prélèvements autres que selles et hémocultures          | 1                   | 2        |
| <i>Campylobacters</i> résistants à l'érythromycine      | 23                  | 16       |
| Souches séquencées par NGS                              | 104                 | 43       |
| <b>Total</b>  | <b>385</b>          |          |

L'organisation et les conditions de stockage sont présentées en Annexe 4.

## 2.5 Activités d'expertises

### 2.5.1 Activités d'expertises concernant les *Campylobacters*

Notre CNR travaille avec un réseau actif de 63 laboratoires privés et 118 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 ou par leur propre organisation.

31 de ces correspondants dont 13 laboratoires communautaires et 18 hôpitaux (11 CHU, 7 CH et CHG) saisissent 9 souches isolées sur 10 directement via un accès sécurisé et intégré au site internet du CNR (réseau Campy-net). Ces 31 correspondants n'envoient que la 10<sup>ème</sup> souche au CNR comme contrôle de qualité. Ce système est fonctionnel depuis 2012 avec accord de Santé Publique France (SpFrance).

Les CHU de Saint-Etienne et de Limoges ainsi que le Plateau Technique Régional Sud du Groupe INOVIE basé à Montpellier ont intégré le réseau Campy-net en 2024.

Chaque souche reçue au CNR est identifiée par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Depuis fin janvier 2024, si la souche reçue est accompagnée d'un résultat d'antibiogramme réalisé chez le laboratoire correspondant, le génome de la souche est séquencé. En l'absence d'antibiogramme réalisé en amont de l'envoi au CNRCH, la souche est antibiogrammée selon les recommandations du CASFM sans séquençage du génome puis conservée à -80°C. Toutes les souches de cas groupés ou présentant une résistance inhabituelle (amoxicilline-acide clavulanique, gentamicine) ou rare (érythromycine) est également séquencée. Il en est de même pour toutes les discordances d'identification MALDI-TOF.

Les laboratoires participant au réseau Campy-net saisissent en ligne les données épidémiologiques de chaque souche intégrée à l'identique de celles demandées sur la fiche de renseignement accompagnant chaque souche. Toute résistance inhabituelle ou rare (cf ci-dessus) doit faire l'objet d'un envoi de souche au CNR pour vérification.

Le tableau ci-dessous récapitule le nombre de souches reçues pour les réseaux Campy.COM, Campy.HOP et/ou saisies par le réseau Campy-net en 2024

|            | Campy.HOP | Campy.COM | Campy-net | TOTAL        |
|------------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| <b>Nb.</b> | 2029      | 3095      | 8590      | <b>13714</b> |

387 souches sur 5124 reçues (7,55 %) n'ont pas donné de subculture, quasi identique à 2023 (7,26%).

La validation biologique est quotidienne (jours ouvrés). Aussi, le délai moyen de retour de résultat pour chaque souche est de 5 jours pour un résultat phénotypique et de 3 semaines pour un résultat NGS (sans compter le transfert du résultat papier par envoi postal pour les correspondants ne disposant pas d'une adresse mail sécurisée type MSsanté ou apicrypt).

## 2.5.2 Activités d'expertises concernant *H. pylori*

Le tableau ci-dessous récapitule le nombre de prélèvements reçus en 2024 par type de correspondants et par type de prélèvements.

| Prélèvements reçus au CNR | CHU de Bordeaux                   |            |        | Externes                          |            |        | Prélèvements reçus au CNR |
|---------------------------|-----------------------------------|------------|--------|-----------------------------------|------------|--------|---------------------------|
|                           | Biopsies gastriques, souches, ADN | Sérologies | Selles | Biopsies gastriques, souches, ADN | Sérologies | Selles |                           |
| Nb.                       | 170                               | 577        | 12     | 1765                              | 21         | 29     | 2574                      |
| %                         | 6,6%                              | 22,4%      | 0,5%   | 68,6%                             | 0,8%       | 1,1%   |                           |

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).

**-Détermination d'un seuil de détection de *H. pylori* et de sa résistance à la clarithromycine par PCR temps réel multiplexe à partir de biopsie gastrique avec le kit RIDA®GENE *Helicobacter pylori* sur ELITE Ingenius** (collaboration avec le Dr Emmanuelle Gallois, Unité de Bactériologie, département PDTI, GHU Henri Mondor, Créteil)

Introduction : Le kit RIDA®GENE *Helicobacter pylori* est un test de PCR en temps réel multiplexe pour la détection de *Helicobacter pylori* (Hpyl) et de sa résistance à la clarithromycine (Clar) à partir de biopsie gastrique. Installé sur automate Elite Ingenius, le résultat de la PCR de ce kit est rendu positif indépendamment du nombre de cycles de PCR (Ct) nécessaire à la détection de la cible (1 à 45). Lors de son implantation dans le laboratoire GHU Henri Mondor en avril 2023, des PCR Hpyl et Clar présentant un Ct tardif ou une fluorescence faible ont attiré l'attention du laboratoire. L'objectif de ce travail était d'établir en interne des seuils de positivité pour les PCR Hpyl et Clar du kit RIDA®GENE sur automate Elite Ingenius.

Matériels et Méthodes : De décembre 2023 à juillet 2024 au GHU Henri Mondor, tous les prélèvements pour lesquels la cible Hpyl était détectée ont été inclus. Pour chaque échantillon, le Ct des PCR Hpyl et Clar, le résultat de la culture et de l'antibiogramme, ont été extraits et analysés. Les données anatomopathologiques des biopsies et les informations cliniques des patients ont été recueillies. En cas de discordance entre les données moléculaires et phénotypiques, les extraits d'ADN de biopsies ont été transmis au CNRCH. Les résultats obtenus par le CNR ont été considérés comme le gold standard pour arbitrer les résultats discordants.

Résultats : 141 prélèvements ont été inclus. Parmi les 100 souches isolées en culture, les résultats de résistance à la clarithromycine étaient concordants entre la PCR et l'antibiogramme pour 90 d'entre elles (71 souches sensibles et 19 souches résistantes). Dans 8 cas, ces résultats étaient discordants (pour 7 biopsies : PCR Clar positive et souche clarithromycine-S, pour une biopsie : PCR Clar négative et souche clarithromycine-R). Pour les deux derniers cas, l'antibiogramme n'avait pas pu être réalisé. Après expertise des dossiers discordants par le CNR et réanalyse de l'ensemble des dossiers, la détermination d'un seuil de 34 Ct pour la PCR Hpyl et de 36 Ct pour la PCR Clar permet d'écarter l'ensemble des résultats rendus faussement positifs et ce indépendamment de l'intensité de fluorescence.

Conclusion : Un seuil de détection de 34 Ct pour la PCR *Helicobacter pylori* et de 36 Ct pour la détection de la résistance à la clarithromycine permettent d'éliminer, dans les conditions analytiques utilisées à Henri Mondor, les résultats rendus faussement positifs avec le kit RIDA®GENE *Helicobacter pylori* sur Elite Ingenius à partir de biopsie gastrique.

Ce travail illustre le fait que chaque laboratoire doit effectuer en interne son dossier de validation de méthode lors de l'adaptation sur automates BD Max ou Ingenius du kit RIDA®GENE *Helicobacter pylori*.

### 2.5.3 Activités d'expertises concernant des *Helicobacters non-pylori*

#### -Bilan des cas d'infections à *Helicobacter* du groupe Heilmannii

Le CNR a été sollicité en 2024 à 4 reprises pour confirmer le diagnostic d'infection à *Helicobacter* du groupe Heilmannii (3 blocs FFPE, 1 ADN extrait de biopsie gastrique).

Cela concernait 3 hommes et 1 femme. Nous avons confirmé la présence de 1 *Helicobacter felis* et de 3 *Helicobacter suis*.

Par PCR point final puis séquençage Sanger, nous n'avons identifié pour ces 4 cas aucune mutation dans l'ADNr 23S tandis que pour la QRDR de *gyrA* la mutation S87I a été retrouvée pour un des cas d'infection à *H. suis*.

#### -Description d'une nouvelle espèce du genre *Helicobacter* : *H. zhangjianzhongii*, un nouvel *Helicobacter* proche de *H. canis*.

Introduction : *Helicobacter zhangjianzhongii* a été proposé en 2023 comme une nouvelle espèce dans le genre *Helicobacter*. Nous décrivons ici deux cas de bactériémies à *H. zhangjianzhongii* ainsi que les analyses complémentaires microbiologiques et génomiques qui ont été effectuées.

Matériel et méthodes : Les caractéristiques cliniques de ces deux cas d'infections ont été collectées auprès de microbiologistes et cliniciens. Les deux isolats ont été caractérisés microbiologiquement en étudiant leur croissance dans différentes atmosphères et températures, et biochimiquement à l'aide d'une galerie ApiCampy (BioMérieux). Le séquençage des génomes sur iSeq100 (Illumina) et les analyses bioinformatiques ont été réalisés par le CNRCH.

Résultats : Le cas n°1 (CHU de Bordeaux, 2017) concernait une femme de 58 ans hospitalisée dans une unité d'oncologie thoracique pour altération de l'état général dans le cadre d'un carcinome à petites cellules. Elle présentait des douleurs abdominales en lien avec une importante hépatomégalie. *H. canis* a été initialement identifié dans un flacon d'hémoculture aérobie par technique MALDI-TOF. La bactériémie n'a pas été traitée.

Le cas n°2 (CH de Chambéry, 2023) concernait une femme de 78 ans sous Rituximab, hospitalisée pour douleurs thoraciques, anémie et syndrome inflammatoire. Un bacille à Gram négatif de forme hélicoïdale non identifiable par la technique MALDI-TOF a été retrouvé dans deux flacons d'hémoculture aérobies. La patiente a été traitée par amoxicilline-acide clavulanique pendant 7 jours. Ces deux souches ont des caractéristiques microbiologiques et génomiques très proches : croissance en atmosphère microaérobie à 37°C et 42°C, oxydase positive, uréase et catalase négatives. Par NGS, nous retrouvons une proximité de ces souches avec l'espèce *H. canis*, néanmoins insuffisante (ANI <95% et DDH<70%). En revanche, ces souches s'identifient comme un *H. zhangjianzhongii* (ANI >99% et DDH>94%).

Conclusion : *H. zhangjianzhongii* est une nouvelle espèce proche de *H. canis*. Elle peut être validée. Nous conseillons d'envoyer au CNRCH tout isolat identifié comme *H. canis* par MALDI-TOF ou séquençage de l'ADNr 16S pour confirmation. La source de contamination selon la description originelle de *H. zhangjianzhongii* pourrait être le chien. Les collections de références doivent modifier si besoin l'identité à l'espèce des souches de *H. canis* pour nommer correctement les représentants de cette nouvelle espèce.

Ce travail a été accepté pour publication dans Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2025 Feb 11.

### 2.6 Activités de séquençage

Depuis la mise en place du séquençage haut-débit au CNRCH en 2017, un total de 4475 souches a été séquencé jusqu'à début 2025. Au total, ce sont 4119 génomes d'espèces de *Campylobacter* stockés et disponibles à tout moment dans notre base de données, dont : 2873 *C. jejuni*, 1175 *C. coli*, 51 *C. fetus*, 5 *C. lari*, 5 *C. upsaliensis*, 3 *C. lanienae*, 2 *C. rectus*, 2 *C. curvus*, 2 *C. vicugnae* (nouvelle espèce), et 1 *C. hyointestinalis*. Nous disposons également de 61 génomes de *Aliarcobacter butzleri*, 5 *A. cryaerophilus* et 4 *A. lanthieri*.

Pour les bactéries du genre *Helicobacter*, une importante variété d'espèces a été séquencée pour une centaine de génomes. Nous avons ainsi à disposition 48 génomes de souches de *H. pylori*, 6 *H. cinaedi*, 3 *H. caesardunensis*, 5 *H. canis*, de nouvelles espèces telles *H. burdigaliensis*, *H. labetoulli*, *H. zhangjianzhongii* mais aussi des espèces rares comme par exemple *H. muridarum*, *H. pametensis* ou bien *H. fennelliae*. L'entièreté des séquences a été revue en détails en 2024 afin de ne pas prendre en compte, dans nos différents projets, les génomes ayant des

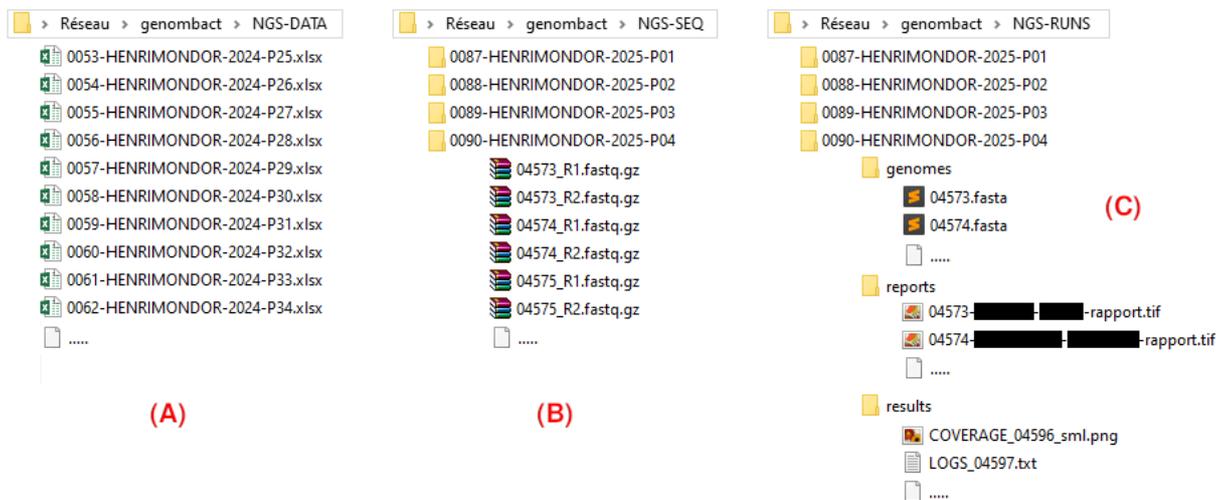
ANI non significatives (n=23) ou de mauvaises qualités (n=177).

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 différentes variantes du promoteur des bêta-lactamases (avec mutation G63T ou séquences nouvelles de 2021 et 2024, pour la résistance à l'ampicilline), les mutations dans l'*ADNr 23S* et l'expression de méthyltransférases *erm(B)*, *erm(N)* et *erm(A)* (résistance aux macrolides), une multitude de variants d'aminoglycoside-phosphotransférases de type APH, AAC, ANT et de mutations dans l'*ADNr 16S* (résistance aux aminoglycosides) et gène *tet* (pour les tétracyclines, exemple *tet(O)*, *tet(W)* ou bien *tet(O/32/O)*). Sont également représentées des mutations plus rares notamment dans la séquence de la protéine Pbp1 (amoxicilline) ou bien RpoB (rifampicine). Les séquences nucléotidiques de la toxine CDT (*cdt(A)*, *cdt(B)* et *cdt(C)*) de plusieurs espèces de *Campylobacter* ont été ajoutées en 2024 afin d'améliorer la détection de la virulence.

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=275), les génomes des différentes espèces sont représentés en triplicat afin d'obtenir une meilleure représentativité) permettant de réaliser l'identification des différentes espèces que nous séquençons, avec également les séquences de la protéine GyrA et *ADNr 16S* correspondantes.

### 2.6.1 Mise en place en routine du séquençage

L'année 2024 est marquée par la mise en place en routine du séquençage sous-traitée à l'AP-HP Henri-Mondor du génome de souches de *Campylobacter*, *Aliarcobacter* et *Helicobacter* qui sont reçues au CNRCH. Dans le but de mieux gérer une grande quantité de données et de fluidifier les analyses, une série d'outils automatisant chacune des étapes du processus a été mise en place. Ainsi, lors de la réception des données de séquençage, l'intégralité des résultats génomiques est obtenue en moins de 16h, sans intervention manuelle. Les différentes étapes du processus sont les suivantes :



-Étape 1 : Création de la plaque NGS au CNRCH. L'équipe technique du CNRCH génère un tableau contenant les échantillons à envoyer à l'AP-HP. Ce fichier est stocké dans un dossier sur le lecteur réseau du CNRCH "NGS/2024/AP-HP/LDT/" et dupliqué dans "GENOMBACT/NGS-DATA/" (A). Ce dernier fichier contient à la fois les données patient du et de la souche et les résultats bio-informatiques.

-Étape 2 : Transfert des données en provenance de l'AP-HP. L'équipe technique de l'AP-HP reçoit et séquence les différents échantillons envoyés par le CNRCH. L'équipe bio-informatique transmet les fichiers de séquençage ".fastq.gz" par SFTP (Secure File Transfer Protocol) à la DSI du CHU de Bordeaux. Après contrôle, la DSI du CHU de Bordeaux partage ces fichiers au CNRCH, qui sont ensuite dirigés vers le dossier de run correspondant dans "/GENOMBACT/NGS-SEQ/" (B).

-Étape 3 : Analyses bio-informatiques des séquences par le pipeline maison du CNRCH. Les analyses se lancent automatiquement en fin de journée et tous les fichiers de résultats sont enregistrés dans "/GENOMBACT/NGS-

RUNS/” (C). Les rapports GLIMS sont copiés sur le réseau global du CHU dans “/GLIMSRES/B/<ANNEE>/<MOIS>/” dans le but d’être intégrés dans l’application GLIMS et validés par les

## 2.6.2 Statistiques globales

Durant l’année 2024, avec la mise en place en routine du séquençage des souches reçues au CNRCH, 2749 génomes de *Campylobacter*, *Helicobacter* et *Aliarcobacter* ont été séquencés, pour un total de 58 plaques de séquençage envoyés à l’AP-HP Henri Mondor. Le CNRCH a donc à sa disposition un total de 4475 génomes, depuis que le séquençage a été mis en place en 2017 (soit environ 3 To de données).

Parmi ces 2680 génomes de 2024, 136 (3%) ne rentrent pas en compte sur ce rapport en raison d’une qualité médiocre de séquençage, de doublons (infections récidivantes avec une même souche), ou d’erreurs diverses. Sur les 2544 restants, 2373 (93.3%) souches ont été isolées en 2024 et les 171 (6,7%) autres souches proviennent d’années précédentes, séquencées dans le cadre de projets de recherche ou épidémiologiques divers. Les graphiques et tableaux suivants se basent sur ce jeu de données de 2373 génomes.

Les souches séquencées en 2024 sont issues de projets divers, avec une majorité de souches de routine (94,5%) et une forte activité en milieu d’année, en adéquation avec le pic épidémique de *Campylobacters* en période estivale (32% en juillet et août).

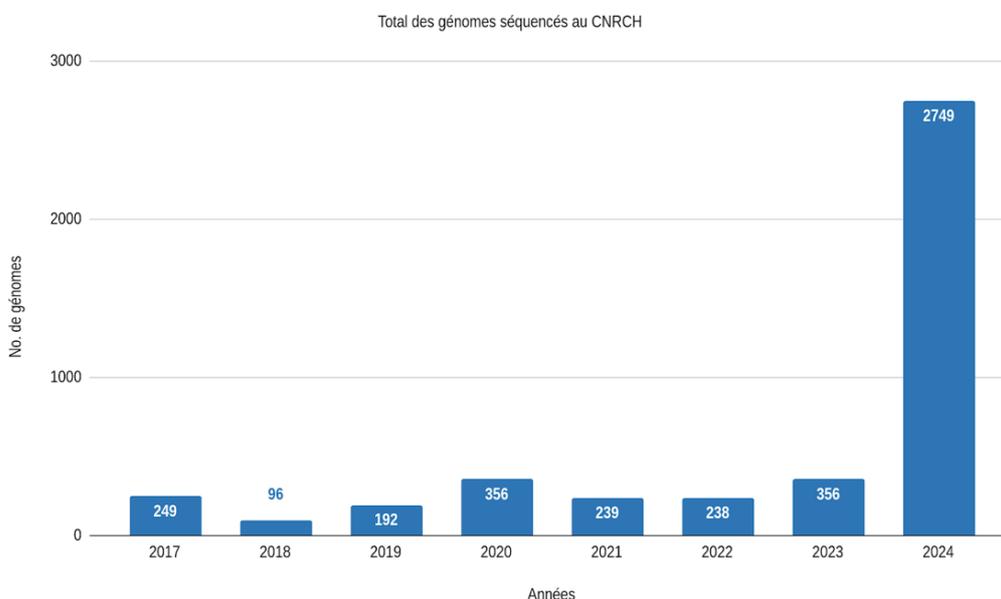
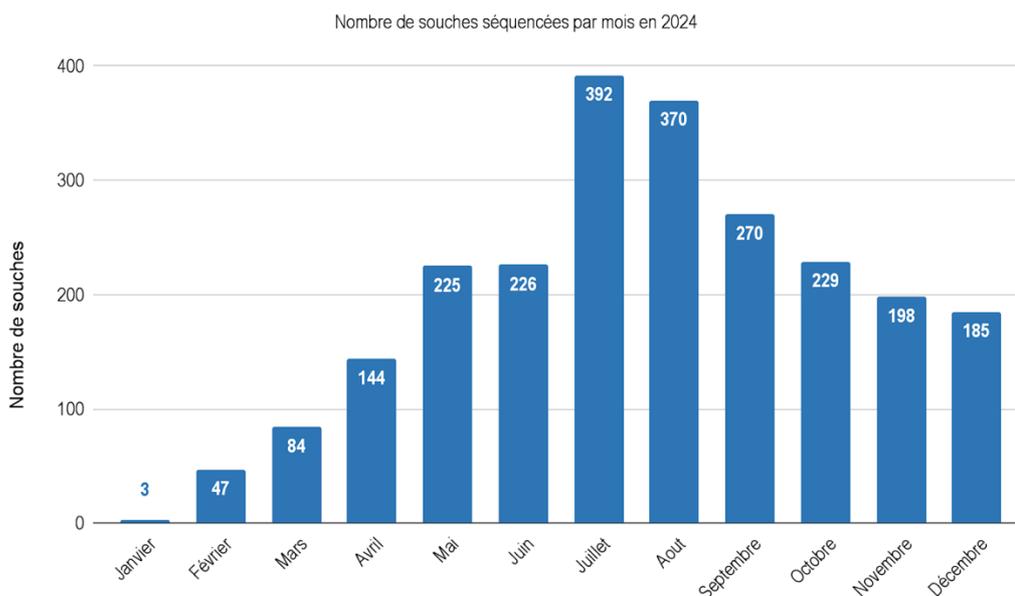


Tableau : Répartition des souches séquencées selon le contexte.

| Projets (année 2024)               | n    | %     |
|------------------------------------|------|-------|
| <b>Routine</b>                     | 2242 | 94.48 |
| <b>Cas groupés</b>                 | 41   | 1.73  |
| <b>Divers</b>                      | 37   | 1.56  |
| <b>Discordances identification</b> | 24   | 1.01  |
| <b>Souches ERY-R</b>               | 21   | 0.88  |
| <b>Infections récidivantes</b>     | 3    | 0.13  |
| <b>Contrôle qualité ECDC</b>       | 3    | 0.13  |
| <b>Souches GEN-R</b>               | 1    | 0.04  |
| <b>Souches MULTI-R</b>             | 1    | 0.04  |

ERY : érythromycine, GEN : gentamicine, MULTI-R : multirésistante.



### 2.6.3 Proportion des espèces et origines

Concernant les différentes espèces séquencées, il s'agit en très grande majorité de souches de *C. jejuni* et de *C. coli*, avec un total de 2297 génomes représentant respectivement 81,6% et 15,2% des données de 2024.

Tableau : Proportion des différentes bactéries séquencées en 2024 au CNRCH.

| Espèces                              | n    | %     |
|--------------------------------------|------|-------|
| <i>Campylobacter jejuni</i>          | 1937 | 81.63 |
| <i>Campylobacter coli</i>            | 360  | 15.17 |
| <i>Campylobacter fetus</i>           | 41   | 1.73  |
| <i>Aliarcobacter butzleri</i>        | 20   | 0.84  |
| <i>Helicobacter pylori</i>           | 4    | 0.17  |
| <i>Campylobacter lari</i>            | 2    | 0.08  |
| <i>Campylobacter curvus</i>          | 2    | 0.08  |
| <i>Aliarcobacter cryaerophilus</i>   | 2    | 0.08  |
| <i>Campylobacter upsaliensis</i>     | 2    | 0.08  |
| <i>Helicobacter cinaedi</i>          | 1    | 0.04  |
| <i>Helicobacter bilis</i>            | 1    | 0.04  |
| <i>Campylobacter hyointestinalis</i> | 1    | 0.04  |

Concernant les 2345 souches de *Campylobacter sp* analysées, la plupart a été isolée de selles (2236 souches, représentant 95,4% des *Campylobacter*), notamment pour *C. jejuni* et *C. coli*. Un nombre non négligeable de souches issues de bactériémies a également été séquencé, en particulier pour *C. jejuni* et *C. fetus*.

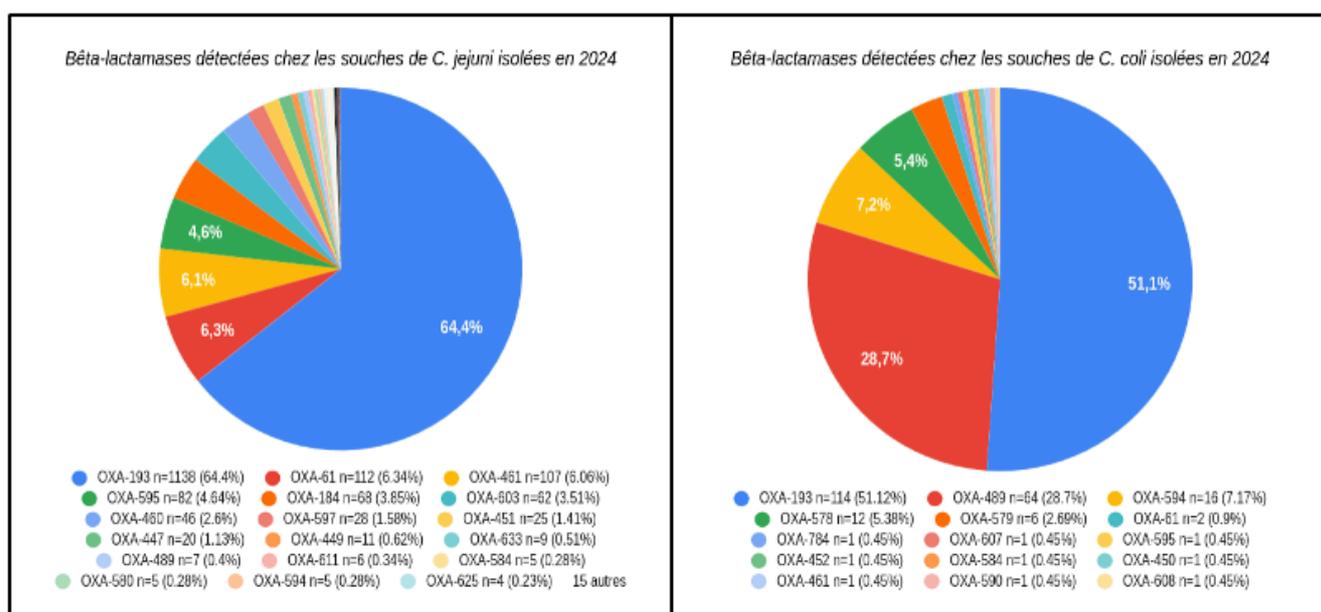
Tableau : Origine des différentes souches de *Campylobacter* reçues et séquencées en 2024.

| Origine             | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i>  | <i>C. fetus</i> | <i>C. lari</i> | <i>C. curvus</i> | <i>C. upsaliensis</i> | <i>C. hyointestinalis</i> |
|---------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-----------------------|---------------------------|
| Selles              | 1880<br>(97.06%) | 347<br>(96.39%) | 6<br>(14.63%)   | 1<br>(50.0%)   | 0                | 1 (50.0%)             | 1 (100.0%)                |
| Sang                | 45 (2.32%)       | 6 (1.67%)       | 31<br>(75.61%)  | 1<br>(50.0%)   | 0                | 1 (50.0%)             | 0                         |
| Souche              | 9 (0.46%)        | 3 (0.83%)       | 0               | 0              | 0                | 0                     | 0                         |
| Liquide pleural     | 0                | 0               | 0               | 0              | 1<br>(50.0%)     | 0                     | 0                         |
| Biopsie             | 1 (0.05%)        | 1 (0.28%)       | 0               | 0              | 0                | 0                     | 0                         |
| Non spécifié        | 2 (0.1%)         | 3 (0.83%)       | 0               | 0              | 0                | 0                     | 0                         |
| Abcès               | 0                | 0               | 0               | 0              | 1<br>(50.0%)     | 0                     | 0                         |
| Liquide articulaire | 0                | 0               | 2 (4.88%)       | 0              | 0                | 0                     | 0                         |
| LCS                 | 0                | 0               | 2 (4.88%)       | 0              | 0                | 0                     | 0                         |

#### 2.6.4 Détection par NGS de la résistance aux antibiotiques

Pour *C. jejuni*, *C. coli* et *C. fetus*, les principaux mécanismes retrouvés pour les 5 antibiotiques testés en routine sont la mutation G63T dans la région promotrice des bêta-lactamases (*blaOXA*) responsables de la résistance à l'ampicilline (83,83%), la mutation GyrA-T86I responsable de la résistance à la ciprofloxacine (98,63%), la mutation A2075G dans la séquence de l'ADNr 23S associée à la résistance à l'érythromycine (82,81%), l'expression du gène *tet(O)* responsable de la résistance aux tétracyclines (58,09%) et l'expression du gène *aph(2'')-I1* responsable de la résistance à la gentamicine (50%).

Les différentes *blaOXA* sont génétiquement très proches car elles ne se distinguent que par quelques SNPs de différence. La *blaOXA-193* est majoritaire à la fois chez *C. jejuni* et *C. coli*. Elles sont toutes chromosomiques.



Mécanismes de résistance à l'ampicilline détectés chez les espèces de *Campylobacter*

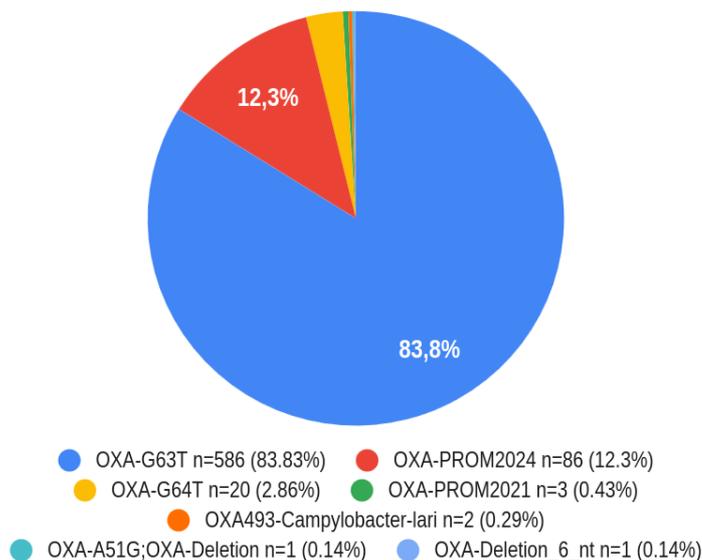


Tableau : Répartition des mécanismes selon les souches de *C. jejuni*, *C. coli* et *C. fetus*.

| Mécanismes               | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> |
|--------------------------|------------------|----------------|-----------------|
| OXA-G63T                 | 489 (81.64%)     | 97 (98.98%)    | 0               |
| OXA-PROM2024             | 86 (14.36%)      | 0              | 0               |
| OXA-G64T                 | 20 (3.34%)       | 0              | 0               |
| OXA-PROM2021             | 2 (0.33%)        | 1 (1.02%)      | 0               |
| OXA-A51G<br>OXA-Deletion | 1 (0.17%)        | 0              | 0               |
| OXA-Deletion_6_nt        | 1 (0.17%)        | 0              | 0               |

Concernant la résistance à l'ampicilline, si la mutation G63T dans la région promotrice des bêta-lactamases reste majoritaire comme c'est le cas depuis plusieurs années (cf bilans annuels du CNRCH précédents). Cependant, une proportion importante de souches portant une séquence promotrice non décrite dans la littérature (ici OXA-PROM2024, 12,3% des souches de *Campylobacter*, principalement *C. jejuni*) est visible. Cette séquence devra faire l'objet d'une étude plus approfondie au CNRCH.

Mécanismes de résistance à la ciprofloxacine détectés chez les espèces de *Campylobacter*

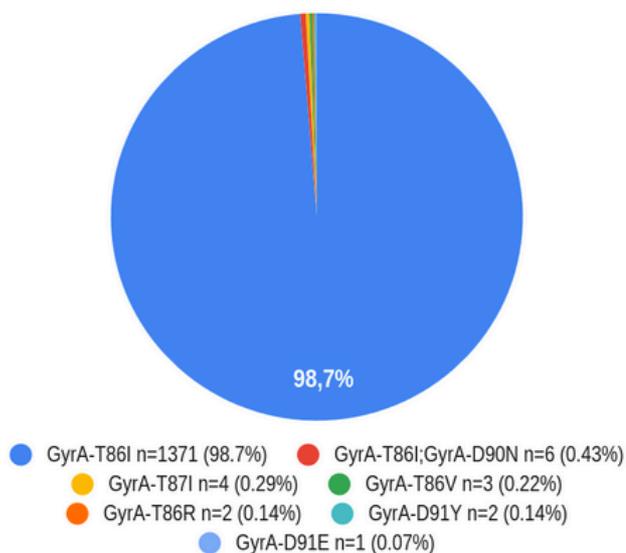


Tableau : Répartition des mécanismes selon les souches de *C. jejuni*, *C. coli* et *C. fetus*.

| Mécanismes               | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> |
|--------------------------|------------------|----------------|-----------------|
| GyrA-T86I                | 1129 (99.65%)    | 242 (97.98%)   | 0               |
| GyrA-T86R                | 2 (0.18%)        | 0              | 0               |
| GyrA-T86I ;<br>GyrA-D90N | 2 (0.18%)        | 4 (1.62%)      | 0               |
| GyrA-T86V                | 0                | 1 (0.4%)       | 0               |
| GyrA-T87I                | 0                | 0              | 3 (50.0%)       |
| GyrA-D91Y                | 0                | 0              | 2 (33.33%)      |
| GyrA-D91E                | 0                | 0              | 1 (16.67%)      |

Mécanismes de résistance à l'érythromycine détectés chez les espèces de *Campylobacter*

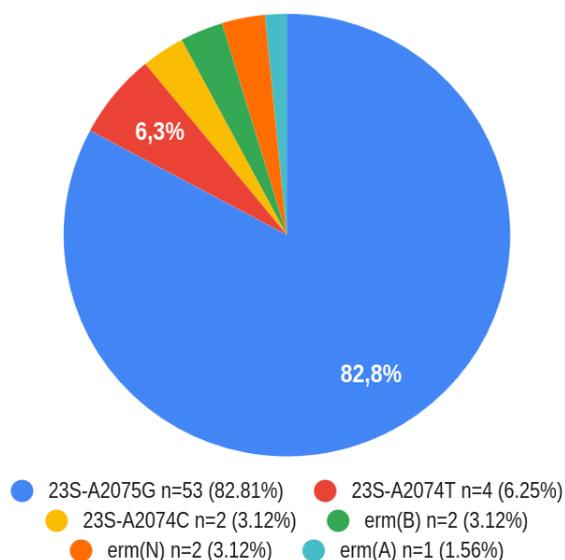


Tableau : Répartition des mécanismes selon les souches de *C. jejuni*, *C. coli* et *C. fetus*.

| Mécanismes | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> |
|------------|------------------|----------------|-----------------|
| 23S-A2075G | 5 (50.0%)        | 48 (88.89%)    | 0               |
| 23S-A2074T | 4 (40.0%)        | 0              | 0               |
| 23S-A2074C | 1 (10.0%)        | 1 (1.85%)      | 0               |
| erm(B)     | 0                | 2 (3.7%)       | 0               |
| erm(N)     | 0                | 2 (3.7%)       | 0               |
| erm(A)     | 0                | 1 (1.85%)      | 0               |

Mécanismes de résistance aux tétracyclines détectés chez les espèces de *Campylobacter*

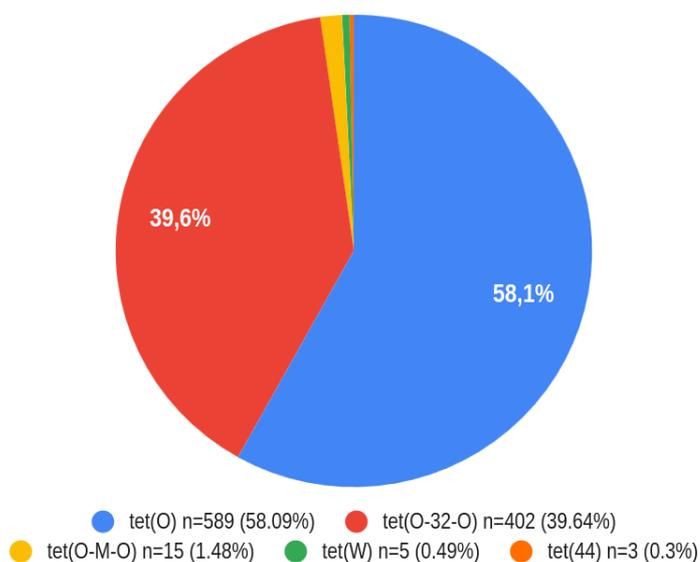


Tableau : Répartition des mécanismes selon les souches de *C. jejuni*, *C. coli* et *C. fetus*.

| Mécanismes  | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> |
|-------------|------------------|----------------|-----------------|
| tet(O)      | 410 (57.99%)     | 178 (58.75%)   | 1 (25.0%)       |
| tet(O-32-O) | 292 (41.3%)      | 110 (36.3%)    | 0               |
| tet(O-M-O)  | 5 (0.71%)        | 10 (3.3%)      | 0               |
| tet(W)      | 0                | 5 (1.65%)      | 0               |
| tet(44)     | 0                | 0              | 3 (75.0%)       |

Mécanismes de résistance à la gentamicine détectés chez les espèces de *Campylobacter*

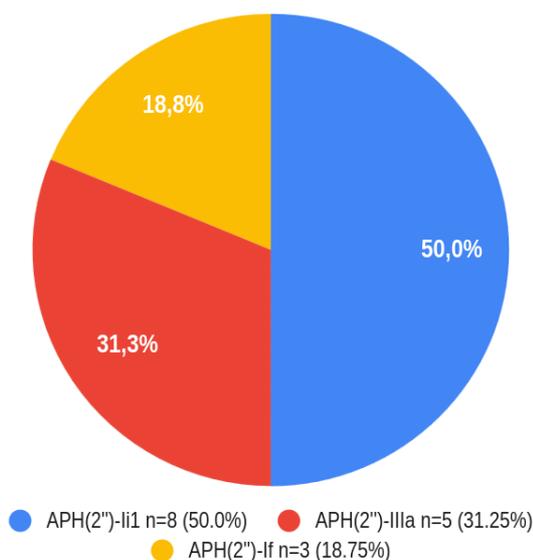


Tableau : Répartition des mécanismes selon les souches de *C. jejuni*, *C. coli* et *C. fetus*.

| Mécanismes            | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> | <i>C. fetus</i> |
|-----------------------|------------------|----------------|-----------------|
| <i>aph</i> (2'')-Ii1  | 2 (50.0%)        | 6 (50.0%)      | 0               |
| <i>aph</i> (2'')-If   | 2 (50.0%)        | 1 (8.33%)      | 0               |
| <i>aph</i> (2'')-IIIa | 0                | 5 (41.67%)     | 0               |

Le tableau ci-dessous récapitule les profils de résistances aux antibiotiques les plus fréquemment rencontrés en 2024 (minimum 10 souches ou plus). La valeur entre crochets indique le nombre d'antibiotiques impactés. Les différents mécanismes moléculaires de résistance sont séparés par un “/” et correspondent aux résistances suivantes : Ampicilline=OXA61-G63/64T, OXA61-PROM2024 ; Ciprofloxacine=GyrA-T86I ; Tétracyclines=*tet*(O), Erythromycine=23S-A2075G ; *tet*(O-32-O) ; Streptomycine=*ant*(6)-*If-aadE*, *ant*(6)-*Ig*, *sat-4* ; Kanamycine=*aph*(3')-IIIa.

Tableau : Principaux profils de résistance aux antibiotiques chez les souches de *Campylobacter* séquencées.

| Profils de résistance des <i>Campylobacters</i>                                 | n   | %     |
|---|-----|-------|
| [0] Aucun marqueur  | 634 | 27.04 |
| [1] GyrA-T86I   | 399 | 17.01 |
| [2] GyrA-T86I/ <i>tet</i> (O)   | 238 | 10.15 |
| [1] OXA-G63T  | 125 | 5.33  |
| [3] OXA-G63T/GyrA-T86I/ <i>tet</i> (O)  | 119 | 5.07  |
| [2] GyrA-T86I/ <i>tet</i> (O-32-O)  | 118 | 5.03  |
| [3] OXA-G63T/GyrA-T86I/ <i>tet</i> (O-32-O)                                     | 101 | 4.31  |
| [2] OXA-G63T/GyrA-T86I  | 101 | 4.31  |
| [1] <i>tet</i> (O)  | 78  | 3.33  |
| [3] GyrA-T86I/ <i>tet</i> (O-32-O)/ <i>ant</i> (6)- <i>If-aadE</i>              | 66  | 2.81  |
| [4] OXA-G63T/GyrA-T86I/ <i>tet</i> (O-32-O)/ <i>ant</i> (6)- <i>If-aadE</i>     | 40  | 1.71  |
| [2] OXA-G63T/ <i>tet</i> (O)  | 34  | 1.45  |
| [1] OXA-PROM2024  | 27  | 1.15  |
| [1] <i>tet</i> (O-32-O)   | 26  | 1.11  |
| [3] OXA-PROM2024/GyrA-T86I/ <i>tet</i> (O)                                      | 24  | 1.02  |
| [2] OXA-PROM2024/GyrA-T86I  | 22  | 0.94  |
| [3] OXA-G64T/GyrA-T86I/ <i>tet</i> (O)  | 20  | 0.85  |
| [3] GyrA-T86I/ <i>tet</i> (O)/ <i>ant</i> (6)- <i>Ig</i>                        | 13  | 0.55  |
| [5] OXA-G63T/GyrA-T86I/ <i>tet</i> (O-32-O)/ <i>aph</i> (3')-IIIa/ <i>sat-4</i> | 11  | 0.47  |

**Tableau : Liste des profils de résistance aux antibiotiques chez les 22 souches de *Aliarcobacter* spp. séquencées.**

| Profils de résistance des <i>Aliarcobacters</i> | n  | %     |
|---|----|-------|
| [0] Aucun marqueur                              | 11 | 50    |
| [1] GyrA-T85I                                   | 4  | 18.18 |
| [2] OXA-1108/GyrA-T85I                          | 2  | 9.09  |
| [2] GyrA-T85I/ <i>ere(B)</i>                    | 1  | 4.55  |
| [1] OXA-1108                                    | 1  | 4.55  |
| [3] OXA-64/GyrA-T85I/TetR                       | 1  | 4.55  |
| [1] TetR  | 1  | 4.55  |
| [1] OXA-64                                      | 1  | 4.55  |

Concernant les mécanismes de résistance aux antibiotiques des 20 souches de *A. butzleri* et 2 souches de *A. cryaerophilus*, seulement 50% des génomes contenaient un ou plusieurs mécanismes (en se basant sur les données publiées par le CNRCH en 2022, doi : 10.1128/spectrum.01003-22). Le reste des souches a été détectée comme wild type (soit probablement entièrement sensibles aux antibiotiques).

Parmi les marqueurs de résistance les plus courants, la mutation T85I dans la région QRDR de la Gyrase A (résistance à la ciprofloxacine) a été retrouvée chez 8 souches (36%), la présence d'une bêta-lactamase (résistance aux pénicillines du groupe A) chez 5 souches (23%) et l'expression du gène *ere(B)* ou la présence de la protéine TetR tronquée (résistance à l'érythromycine) chez 3 souches (14%).

### **2.6.5 Séquençage de *H. pylori* par DNA Capture et application aux biopsies incluses en paraffine** (étude du résistome et du virulome de *H. pylori* au sein de biopsies gastriques)

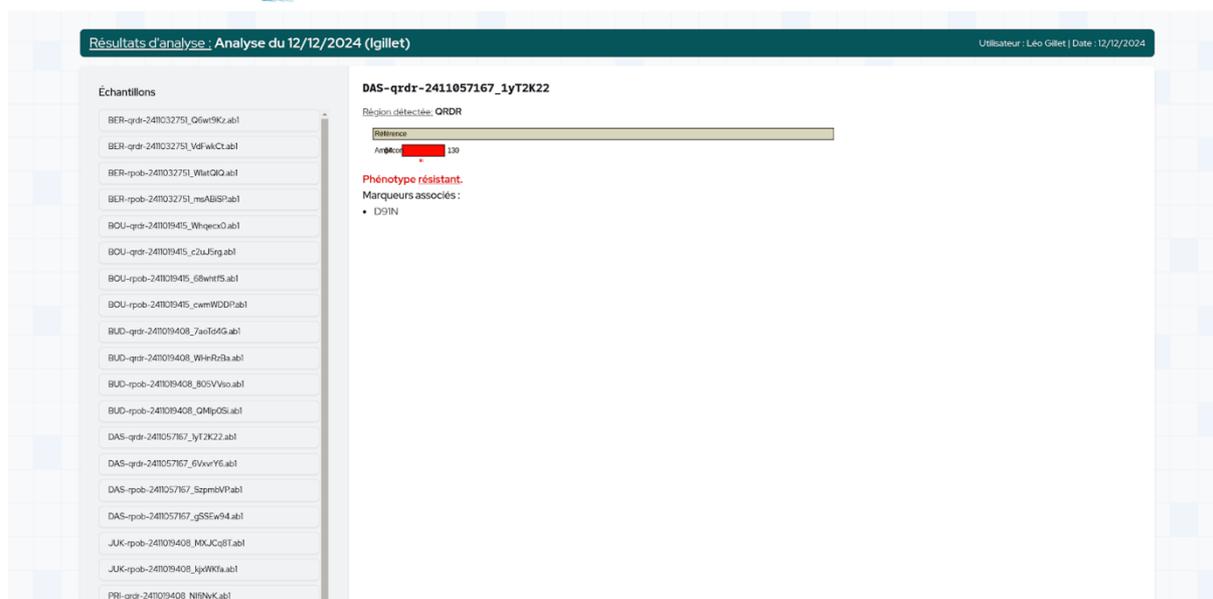
Technique développée par le CNR depuis 2023, la technique de séquençage haut-débit de *H. pylori* basée sur une capture d'ADN par hybridation de sondes (Agilent SureSelect) a évolué. Tout d'abord, une refonte de la librairie de sondes a été effectuée, avec une amélioration de la couverture des cibles – notamment *rpoB* et les facteurs de virulence *vacA* et *cagA* – et l'ajout de *htrA*, nouveau facteur de virulence.

C'est à partir de ce nouveau *design* que le protocole a évolué, notamment en ajustant le nombre de cycles d'amplification en amont et en aval de la sélection des fragments d'ADN par capture, afin d'augmenter sensiblement la capacité de séquençage à partir d'échantillons à faible charge en *H. pylori*.

La méthode a ensuite été évaluée à partir de biopsies gastriques incluses en paraffine, toutes positives à *H. pylori*. Le séquençage à partir de ces échantillons FFPE s'est révélé être de meilleure qualité qu'à partir de biopsies fraîches. La qualité de séquençage est suffisante pour dresser le résistome complet de *H. pylori*.

### **2.6.6 Développement d'une application d'analyses de résultats de PCR *H. pylori***

Pour aider le personnel du CNR à l'analyse des séquences obtenues dans le cadre des PCR QRDR *gyrA* et *rpoB* de *H. pylori*, une application mise à disposition sur la plateforme web interne du CNR a été créée. Les séquences, au format AB1/ABI ou FASTA, y sont soumises. L'analyse est rapidement conduite sur la station de travail du CNR. Les résultats y sont ensuite disponibles, par échantillon. On y retrouve la région détectée, les polymorphismes retrouvés, et le cas échéant, ceux associés à une résistance aux fluoroquinolones ou à la rifampicine, avec la prédiction du phénotype.



Capture d'écran des résultats d'une analyse de séquences

Chaque séquence est alignée sur les séquences de références de *gyrA* et *rpoB* extraites du génome de la souche *H. pylori* J99. La séquence du gène détecté est ensuite sauvegardée sur la plateforme. Les polymorphismes entre la séquence de l'échantillon et la séquence de référence sont relevés. Si une mutation associée à une résistance est détectée, la plateforme l'affiche à l'utilisateur.

Tous les résultats sont alors stockés dans la base de données de la plateforme. Un export des résultats au format Excel est à prévoir.

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

|  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> <b>NON</b>            | <b>Si NON ou accès limité, précisez les raisons</b>  |
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>OUI</b> | Un total de 59 plaques de séquençage (avec un total de 2438 souches) ont été envoyées à la plateforme de séquençage de l'AP-HP Henri-Mondor, externe au CNRCH. Le séquenceur utilisé pour chaque plaque est le séquenceur Illumina NovaSeq 6000. |

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

|  |   |
|--|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> <b>NON</b> | <b>Si NON ou accès limité, précisez les raisons</b>   |
|  | L'expertise bio-informatique est réalisée en interne par un bio-informaticien à plein temps (Mr Quentin Jehanne, pour les bactéries des genres <i>Campylobacter</i> et <i>Aliarcobacter</i> ) et à mi-temps (Mr Léo Gillet, pour les bactéries du genre <i>Helicobacter</i> ).  |
|  | Trois dispositifs majeurs ont été maintenus et améliorés en 2024 :<br>-Un pipeline d'analyse de génomes de <i>Campylobacter sp</i> et <i>Aliarcobacter sp</i> .<br>-Une plateforme interne de génomique afin de centraliser toutes les données de NGS et de pouvoir facilement les exploiter.<br>-un pipeline d'analyse génomique de <i>H. pylori</i> , à partir du séquençage de génome complet de souches, ou notamment d'enrichissement par DNA Capture à partir de biopsies gastriques (génération du résistome, virulome, MLST, ...) |

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

|   |  |
|---|--|
| <input type="checkbox"/><br><b>NON</b>            | <b>Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?</b>  |
| <input checked="" type="checkbox"/><br><b>OUI</b> | Les plaques de séquençage envoyées à l'AP-HP comportent un grand nombre de souches de routine séquencées, en premier lieu à des fins de diagnostic mais aussi pour détecter et étudier des souches problématiques (résistances rares aux antibiotiques, virulence et transmission, lors de discordances d'identification bactérienne avec la méthode MALDI-TOF) et pour l'étude de cas groupés d'infections. |

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 différentes analyses effectuées en systématique sur chacune des souches séquencées au CNRCH sont les suivantes :

- identification de l'espèce bactérienne par ANI.
- typage MLST (7 gènes).
- typage cgMLST (schéma Oxford de 1343 gènes disponible sur pubmlst.org).
- attribution de la source de contamination (pour *C. jejuni* et *C. coli*).
- détection des mécanismes de résistance aux antibiotiques.
- évaluation du virulome (*cagA*, *vacA*, *htrA* pour *H. pylori*)

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.

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Toutes les souches de *Campylobacter* séquencées sont également utilisées à des fins de surveillance. Les potentiels foyers épidémiques sont identifiés par la méthode cgMLST.

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

Les génômes assemblés des souches de *Campylobacter sp* séquencées en 2024 dans le cadre de la routine sont déposées dans la base de données publiques de l'ENA (European Nucleotide Archive), en incluant les metadata suivantes : espèce, sexe et âge du patient, le type et la date de prélèvement. Cette même plateforme est utilisée pour déposer certaines souches associées aux différentes publications scientifiques du CNRCH. Les fichiers de séquençage obtenus dans le cadre du projet de DNA capture pour *H. pylori* sur biopsies gastriques sont disponibles sur la plateforme Sequence Read Archive de NCBI.

## 2.7 Partage de séquences produites par les CNR

### Génomes de *Campylobacters* séquencés en routine

En 2024, la politique de séquençage massive du CNRCH s'est aussi accompagnée d'une volonté de partage des données générées. Ainsi, tous les génomes de *Campylobacter sp* identifiés par le nom de projet "Routine" ont été sélectionnés dans le but d'être déposés sur la plateforme de l'ENA (European Nucleotide Archive: <https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/home>).

Cela représente un jeu de données de 2225 génomes, soit précisément : 1868 *C. jejuni*, 311 *C. coli*, 41 *C. fetus*, 2 *C. lari*, 2 *C. upsaliensis*, et 1 *C. hyointestinalis*.

Le projet ENA comporte le numéro d'accèsion "PRJEB85977" et a pour titre "All genomes of *Campylobacter sp.* routinely sequenced at the French National Reference Center for *Campylobacters* in 2024". Seules les données assemblées ont été déposées, soit les génomes au format .fasta, et comportent les metadata suivantes :

- Numéro de génome, au format "CNRCH-numgenome" (ex. CNRCH-01825)
- Espèce
- Age du patient
- Sexe du patient
- Type de prélèvement (selles, sang, etc...)
- Date de prélèvement.

## 3. Activités de surveillance

---

### Éléments clés en matière de surveillance pour l'année 2024

Le volume d'activité du CNR pour *Campylobacter sp* a continué d'augmenter. Le réseau de surveillance des Campylobacters a évolué en 2024 : le nombre de laboratoires participants a augmenté par rapport à 2023 (181 versus 143). Nous continuons à couvrir la quasi intégralité des départements de l'hexagone (le département des Hautes Alpes (05) n'est pas couvert). L'activité privée pour *H. pylori* a considérablement augmentée en 2024 grâce au réseau Hélico-net.

Les quatre principales bactéries retrouvées chez l'homme sont *C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus* puis *A. butzleri*. Le nombre absolu de souches de *C. jejuni* isolées de flacons d'hémoculture est plus important que *C. fetus*. Les résistances aux antibiotiques chez *Campylobacter sp* sont globalement stables par rapport à 2023.

Le pourcentage de résistance primaire à la clarithromycine chez *H. pylori* reste stable en 2024 avec néanmoins une différence notable entre les taux estimés par les laboratoires réalisant la PCR seule en première intention. Ceci sera discuté. De rares cas de résistance à l'amoxicilline et à la rifampicine ont été identifiés et caractérisés.

### 3.1 Description du réseau de partenaires

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

-Description des partenaires, répartition par type d'activités

Comme indiqué précédemment, le CNR travaille avec un réseau de 63 laboratoires actifs et 118 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 ou par leur propre organisation. 31 de ces correspondants dont 13 laboratoires communautaires et 18 hôpitaux (11 CHU, 7 CH et CHG) saisissent 9 souches isolées directement via un accès sécurisé et intégré au site internet du CNR (réseau Campy-net). Ces 31 correspondants n'envoient que la 10<sup>ème</sup> souche au CNR comme contrôle de qualité. Ce système est fonctionnel depuis 2012 avec accord de Santé Publique France (SpFrance).

Les CHU de Saint-Etienne et de Limoges ainsi que le Plateau Technique Régional Sud du Groupe INOVIE basé à Montpellier ont intégré le réseau Campy-net en 2024.

-Répartition géographique et couverture nationale

Au total, nous répertorions 13714 souches de Campylobacters et bactéries apparentées. La carte de France ci-dessous montre la répartition par département.

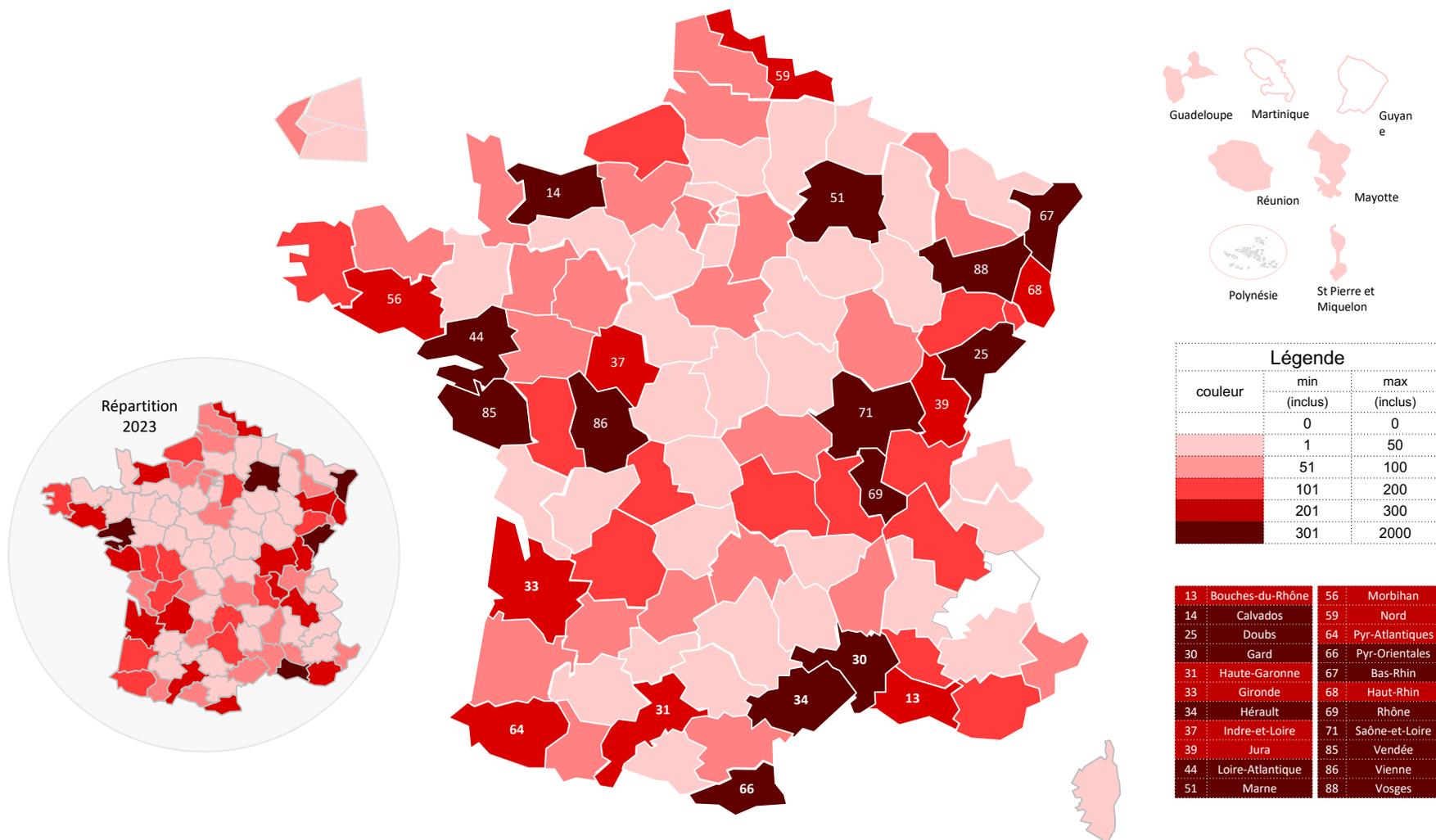


Figure. Répartition par département des souches de *Campylobacters* reçues au CNR en 2024 des réseaux Campy.COM, Campy.HOP ou déclarées en ligne par le réseau Campy-net.

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 2023 :

Nous couvrons grâce à l'amplitude de répartition de nos correspondants toutes les régions de France dans leur définition. Pour 2024, tous les départements métropolitains sauf un (Hautes Alpes\_05) sont couverts, 4 départements d'outre-mer (Guadeloupe, Mayotte, Saint Pierre et Miquelon et La Réunion) ainsi que La Polynésie française.

Le nombre de souches reçues en 2024, viables ou non, a augmenté de 2,54% par comparaison à 2023 (cf. Tableau ci-dessous). L'activité Campy.HOP augmente fortement alors que celle du réseau Campy.COM baisse légèrement. En revanche les saisies sur Campy-net ont presque doublé.

|                       | Campy.HOP | Campy.COM | Campy-net | TOTAL        |
|-----------------------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| <b>Nb. en 2024</b>    | 2029      | 3095      | 8590      | <b>13714</b> |
| <b>Nb. en 2023</b>    | 1654      | 3343      | 5761      | <b>10758</b> |
| <b>Evolution en %</b> | 22,7%     | -7,4%     | 49,1%     | <b>27,5%</b> |

#### -Laboratoires privés.COM :

L'organisation et restructuration des groupements de laboratoires nous permettent également de retrouver une meilleure couverture territoriale qu'en 2023.

C'est le cas de **BIOGROUP** par lequel nous intégrons pour la première année, le laboratoire de Chambray-lès-Tours. Cette intégration nous permet désormais de couvrir de façon très satisfaisante le département d'Indre-et-Loire (37) ainsi que les départements limitrophes.

C'est le cas également pour le département de la Vienne (86) qui voit sa couverture doubler en terme de déclarations par le biais du plateau technique BIOGROUP 86 représentant 70% des cas d'infections dans ce département avec toutefois l'appui constant du CHU de Poitiers.

Un nouveau partenariat a été préparé à l'automne 2024 avec BIOGROUP qui démarrera en 2025. Ce programme permettra à l'ensemble des laboratoires du réseau BIOGROUP, d'harmoniser les échanges avec le CNRCH. Ce programme a émergé par le biais de notre correspondant historique CBM25 à Besançon dont l'activité a fortement augmenté cette année. Il nous permettra d'atteindre entre autres, le département limitrophe de la Côte-d'Or (21) sous-représenté au niveau national mais également dans la région Sud, le département des Hautes-Alpes (05) pour lequel notre correspondant a quitté le réseau.

Nous développons avec le **Groupe INOVIE** deux types de partenariat.

Une enquête - échantillon qui a été réitérée avec le plateau technique de Muret. Il couvre le département de Haute-Garonne (31) majoritairement ainsi que les départements limitrophes comme l'Aveyron.

80 souches d'excellente qualité ont été reçues au CNRCH pour les périodes de septembre et octobre 2024.

Le deuxième site est celui d'Avignon (département du Vaucluse 84), intégré au réseau du CNRCH en juin 2024. L'échantillon de souches, d'excellente qualité, des mois d'août et septembre 2024 reste plus faiblement représentatif.

C'est la raison pour laquelle, le site INOVIE-Montpellier est entré dans le réseau Campy-net en juin 2024. Ce double partenariat complète le tableau des déclarations de cas d'infections dans cette région Sud portant le nombre de déclarations à plus de 2000.

Le **groupement des laboratoires des Carmes**, basé à Caen, 13 laboratoires, couvre le département côtier de Normandie. Sa participation toujours impressionnante voit le nombre de déclarations et souches envoyées au CNRCH augmenter de 43%. L'activité du site principal de Caen reste un des plus importants du réseau pour l'envoi de souches au CNRCH. Sa participation depuis son entrée en 2018 est permanente et nous a permis de surveiller en juillet 2024 les célébrations du D-DAY avec les CH d'Avranches et de Saint-Lô, le CHI d'Elbeuf, les laboratoires BioTardy de Barentin et Synlab Normandie à La Ferté Macé.

Certains laboratoires régionaux du **réseau SYNLAB** portent également une forte représentativité et sur trois régions.

Les plates-formes techniques d'Aurillac et de Cournon nous permettent de maintenir avec régularité une surveillance sur les territoires d'Auvergne et plus particulièrement les départements du Cantal et du Puy-de-Dôme. Une suspicion de TIAC hydrique avait été déclarée sur la commune de Saint-Simon en 2021. Les analyses furent menées par Synlab Aurillac et le CNRCH.

La région Nantaise et Vendéenne confirment également une très bonne surveillance grâce à la plateforme technique de **Bioliance** à Nantes-Saint Herblain (44) qui couvre ces deux territoires en appui avec le CHRD de Vendée (85) et le CHU de Nantes. Bioliance est un partenaire historique. Les déclarations régulières et très importantes sur ces deux départements ont augmenté de 16%.

La plateforme technique de Synlab Normandie-Maine à La Ferté Macé, assure également une couverture territoriale étendue.

Deux laboratoires du **Groupe UNILABS** basés à Barentin (76) sur le territoire côtier de Normandie et à Chalons sur Saône, en Saône-et-Loire (71) ont connu également une forte augmentation de cas d'infections à *Campylobacter*. Pour Barentin, c'est une augmentation de 56%. Elle est de 83% pour le site de Biolabs-Unilabs à Chalon-sur-Saône, partenaire historique et adhérent Campy-net.

Nous regrettons le départ du site de Dax, AquBio Unilabs, sur le territoire des Landes qui participait à la couverture de ce département. La couverture du département des Landes est portée essentiellement par le CH de DAX et le Groupement BIPOLE basé à Orthez (64) qui maintient avec régularité les envois de souches au CNRCH.

Le **Groupe OUILAB 67** basé dans l'Est de la France, est également un de nos partenaires historiques représentant 10% des déclarations de cas d'infections à *Campylobacter* opérant à la fois sur le réseau Campy-net et par l'envoi régulier de souches au CNRCH. Ce groupement reçoit des prélèvements majoritairement du Bas-Rhin (67) mais également du Territoire de Belfort (90) ainsi que du Doubs (25).

Nous comptons dans le Groupe OUILAB, le plateau technique de Franconville Ile de France (IDF) dans le 95 qui nous a permis de surveiller le département durant la période des Jeux Olympiques. La région IDF manque toutefois de représentativité malgré les nombreux correspondants que nous avons sur cette région.

**Le réseau BIPOLE**, regroupe 16 laboratoires dans le Sud des Landes et les Pyrénées-Atlantiques. C'est grâce à ce groupement que nous parvenons à surveiller cette partie du Sud-Ouest et particulièrement les Pyrénées-Atlantiques. L'activité du site principal d'Orthez reste un des plus importants du réseau pour l'envoi de souches au CNRCH.

Le **Groupe B2A** basé dans l'Est de la France, regroupe 50 sites. Nous opérons avec deux plateaux techniques à Brumath dans le Haut-Rhin (67) et à Epinal dans les Vosges (88). Ces deux plateaux techniques couvrent les départements d'Alsace, des Vosges et plus faiblement de la Moselle. En 2024, 54% des cas ont été déclarés en ligne alors que 46% des souches ont été adressées au CNRCH.

La couverture territoriale de l'hexagone est meilleure qu'en 2023 grâce à la régularité et implication de tous les laboratoires privés intégrés ou indépendants de notre réseau. Ils sont autant de contacts possibles sur le territoire pouvant répondre à notre surveillance.

Au sein de notre réseau communautaire, le Laboratoire de Saint-Benoit - Pôle Sanitaire est notre correspondant sur l'île de La Réunion.

#### **-Laboratoires hospitaliers.HOP :**

L'ensemble du secteur hospitalier poursuit sa progression quant aux déclarations de cas d'infections et notamment le CH d'Aubagne, d'Avranches, d'Avignon (+50% d'augmentation de cas pour le CH d'Avignon), de Laval, Le Mans et de Mayotte. Le CHD de Vendée voit sa participation fortement augmenter de 67% et notamment via les déclarations en ligne Campy-net. Le CHU de Lyon et le CHU de Reims ont une augmentation d'activité respectivement de +26% et +90%. Le CHU de Bordeaux, où nous sommes hébergés, voit sa participation augmenter dans une moindre mesure de 16%.

28 centres hospitaliers ont intégré le réseau du CNRCH cette année, dont le CH Sud Gironde de Langon (33), le CH Centre Bretagne à Pontivy (56) et le CH de Villefranche-sur-Saône (69).

Le département des Bouches-du-Rhône n'a pas retrouvé sa représentativité des deux dernières années mais reste couvert par un maillage territorial hospitalier important et pertinent avec le CHU d'Aix-en-Provence, les CH d'Aubagne et d'Avignon.

Le réseau des laboratoires hospitaliers est particulièrement dense sur le territoire et en augmentation, situation que nous constatons depuis la pandémie du Covid. Leur participation est exceptionnelle dans leur diversité et régularité. La complémentarité des deux réseaux reste indispensable. Des ajustements seront nécessaires dans quelques départements du Centre de la France ainsi que dans les départements de l'Ariège, de l'Aude et des Hautes-Alpes.

Les DOM-TOM sont représentés par le CH de Mayotte et l'Institut Marlardé de Papeete.

#### **-Adhérents Campy-net :**

Ce réseau comportait 31 adhérents en 2024 : 18 CH-CHU et 13 laboratoires privés. L'envoi d'une souche sur 10 est globalement respecté.

Les adhérents : Biopole 66 à Cabestany est rattaché en 2024 au Groupe Inovie Montpellier (voir ci-dessus) et Astralab Biogroup à Limoges est rattaché à Biogroup de Poitiers.

Nos correspondants Campy-net, pour la majorité d'entre eux, ont augmenté les déclarations de cas d'infections de 68% ; 55% d'augmentation pour les CH et CHU et de 80% pour les laboratoires communautaires.

Quatre correspondants ont vu leurs déclarations baisser et 6 sont rester stables.

#### **-Correspondants pour la sérologie *C. jejuni* :**

L'activité de sérologie *C. jejuni* a représenté 280 analyses en 2024, en augmentation par rapport à 2023 (+29%) dont 51% provenaient de correspondants extérieurs au CHU de Bordeaux (44,7% en 2023) : AP-HP Tenon, Armand Trousseau, Saint-Antoine, les CHU de Lyon et Strasbourg, les CH de Laval, Rothschild et Valence.

La moyenne d'âge est de 48,7 ans avec un sex-ratio H/F de 1,48 (en 2023 la moyenne d'âge était de 43,7 ans et le sex-ratio de 1,16). Seules 10% étaient positives, 57,5% négatives, 5,4% douteuses et 27,1% n'ont pas pu être réalisées (non-conformité de la demande, ou du prélèvement).

Les pathologies associées à ces sérologies positives étaient : un syndrome de Guillain Barré (n=12), des douleurs abdominales avec cytolysé hépatique (1), une iléite (n=1), une arthrite réactionnelle (n=1), une polyradiculonévrite (n=2) et non renseignées (n=11) toutes pour des demandes internes au CHU de Bordeaux.

### **3.1.2 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 (4,5%), de correspondants de la région bordelaise (9%), de correspondants extérieurs à la région bordelaise (43,3%) et de laboratoires participants au réseau Hélico-net (43,3%) : 29 CHU, 22 CHU, 2 cliniques et 13 laboratoires privés. Le laboratoire Eurofins Biooffice de Lormont/Bordeaux Nord fut le plus gros demandeur en 2024.

Notre réseau de correspondants est réparti sur le territoire comme suit : 20 en Nouvelle Aquitaine (dont 7 à Bordeaux et région bordelaise), 10 en Île-de-France, 9 dans le Grand Est, 5 en Auvergne-Rhône-Alpes, 4 en région Provence-Alpes-Côte d'Azur comme en Occitanie, Centre-Val de Loire et dans les Hauts-de-France, 3 en Bretagne, 2 en Pays de Loire comme dans la région Bourgogne-Franche-Comté et 1 en Guyane avec le CH de Cayenne.

| Nos correspondants répartis sur le territoire       | %     | No.       |
|---|-------|-----------|
| <b>CHU de Bordeaux</b>                              | 4,5%  | 3         |
| <b>Région bordelaise</b>                            | 9,0%  | 6         |
| <b>Hors région bordelaise</b>                       | 43,3% | 29*       |
| <b>Adhérent Hélico-net (hors région bordelaise)</b> | 43,3% | 29        |
|   |       | <b>67</b> |

\*dont 9 nouveaux : CH Agglomération Montargoise, CH Cavillon-Lauris, CH Troyes, Hôpital de Montluçon, CH Brive La Gaillarde, CH Métropole Savoie Chambéry, GH Sud Réunion Saint Pierre.

En 2024, le CNR a reçu 1976 prélèvements (hors sérologie) pour recherche *H. pylori*. Ces prélèvements provenaient du CHU de Bordeaux, de 36 hôpitaux et 11 laboratoires privés.

Le réseau Hélico-net mis en place en 2023 a fonctionné à plein régime en 2024. La description de ce réseau et des principales informations recueillies en 2024 seront présentées dans la partie 3.5 de ce rapport.

En 2024, 2486 dossiers issus de Hélico-net furent analysables (versus 834 en 2023). Les données patients et les données microbiologiques ont été fusionnées dans ce rapport à celles obtenues sur les prélèvements reçus au CNR.

| Prélèvements    | 2023         | 2024               |
|-----------------|--------------|--------------------|
| <b>Biopsies</b> | 3405 (97,3%) | 4346 (97,4%)*      |
| <b>Souches</b>  | 48 (1,4%)    | 61 (0,4%)          |
| <b>Selles</b>   | 33 (0,9%)    | 41 (0,9%)          |
| <b>ADN</b>      | 14 (0,4%)    | 14 (0,3%)          |
| <b>Total</b>    | <b>3500</b>  | <b>4462 (+27%)</b> |

\*1860 reçues au CNRCH et 2486 provenant du réseau Hélico-net.

-Evolution du réseau par rapport à l'année 2023 :

Les 2486 patients Hélico-net représentent 55,7% des prélèvements (biopsies, souches, selles et ADN) et 57,2% des analyses sur biopsie.

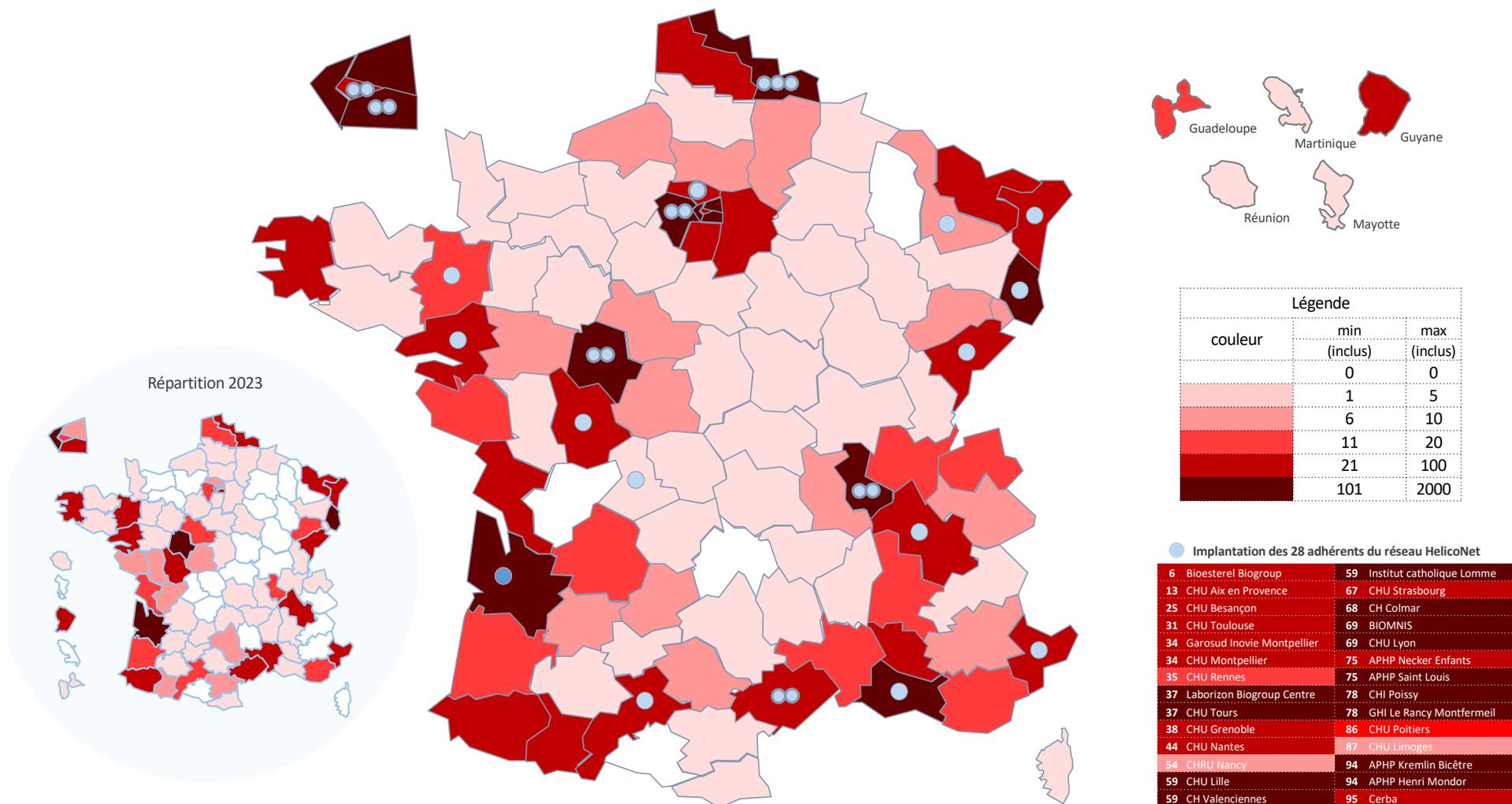
La baisse de biopsies reçues au CNR est liée à une baisse des envois en provenance du plus gros correspondant du CNR : le laboratoire Eurofins Biooffice de Lormont et de Bordeaux Nord. Le CH de Colmar a intégré le réseau Hélico-net et a arrêté ces envois de biopsies au CNR. Certains laboratoires ont également mis en place la PCR *H. pylori*. En effet, de nombreux contacts ont été pris auprès du CNRCH pour un avis ou soutien pour la mise en place de la PCR *H. pylori*. A l'inverse, le CH de Pau, le CH Foch à Suresnes et le CHU de Besançon voient leurs demandes d'analyses augmenter.

Concernant le CHU de Bordeaux, les envois de biopsies des services de Pellegrin ont augmenté en 2024 après plusieurs années de baisse (170 en 2024 vers 76 en 2023), notamment les biopsies en provenance du site de Haut Lévêque.

-Répartition géographique et couverture

La carte de France ci-dessous montre la répartition par département des biopsies reçues en 2024 au CNR pour recherche d'infection à *H. pylori* et des saisies dans Hélico-net. Les laboratoires étaient répartis sur tout le territoire français sauf 4 (versus 78 en 2023 et 40 en 2022), plus 5 DOM-TOM.

## Répartition 2024 et par département des analyses sur biopsies - *Helicobacter pylori*



**Figure. Répartition par département des biopsies reçues au CNR et saisies dans le réseau Hélico-net en 2024 pour recherche d'infection à *H. pylori*.**  
L'échelle de couleur a été choisie en fonction du nombre de biopsies.

Le CNR propose également la recherche de *H. pylori* à partir de selles (test antigénique). En 2024, 41 demandes ont été reçues dont 12 internes au CHU de Bordeaux, avec 2,6% testées positives, moyenne d'âge des patients 27 ans, et un sex ratio H/F de 1,2.

Concernant les biopsies gastriques et les souches reçues, nous réalisons en première intention, 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 rares selles reçues ne sont analysées que par PCR.

Les résultats suivants correspondent au nombre de patients dont les prélèvements ont été analysés au sein du CNR et du réseau Hélico-net : nous fournissons le détail par technique.

| Nombre de patients par technique et par prélèvement | Total       | Culture et PCR | Culture seule | PCR seule   |
|---|-------------|----------------|---------------|-------------|
| <b>Biopsie</b>                                      | 4244        | 1911           | 529           | 1804        |
| <b>Souche</b>                                       | 60          | 60             | 0             | 0           |
| <b>ADN</b>  | 7           | 0              | 0             | 7           |
| <b>Selles</b>                                       | 1           | 0              | 0             | 1           |
| <b>Total (Culture et/ou PCR)</b>                    | <b>4312</b> | <b>1971</b>    | <b>529</b>    | <b>1812</b> |

Pour 108 patients nous avons reçus au CNR à la fois une biopsie de l'antré et du fundus. 39 échantillons (23 souches, 11 biopsies, 5 ADN) ont été envoyés au CNR par des correspondants Hélico-net pour contrôles.

Si nous nous basons sur les résultats de la culture et/ou de la PCR sur biopsies gastriques, 24,4% des patients étaient positifs en 2024 pour *H. pylori*. Ceci est en diminution par rapport à 2023. Pour le réseau Hélico-net, seuls les cas positifs par PCR et /ou culture ont été saisis.

| Nombre de patients (biopsies) | <i>H. pylori</i> positif 2023 | <i>H. pylori</i> positif 2024 |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| <b>Par culture et PCR*</b>    | 512/512 (100%)                | 419/424 (100%)                |
| <b>Par PCR seule</b>          | 193/1939 (9,95%)              | 5/1331 (9,95%)                |
| <b>Total</b>                  | <b>705/2451 (28,8%)</b>       | <b>424/1755 (24,2%)</b>       |

\*positivité basée sur le résultat de la PCR.

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

#### 3.2.1 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-net. Les différences notables entre ces réseaux seront notées si besoin pour chaque sous-section.

- Résultats globaux :

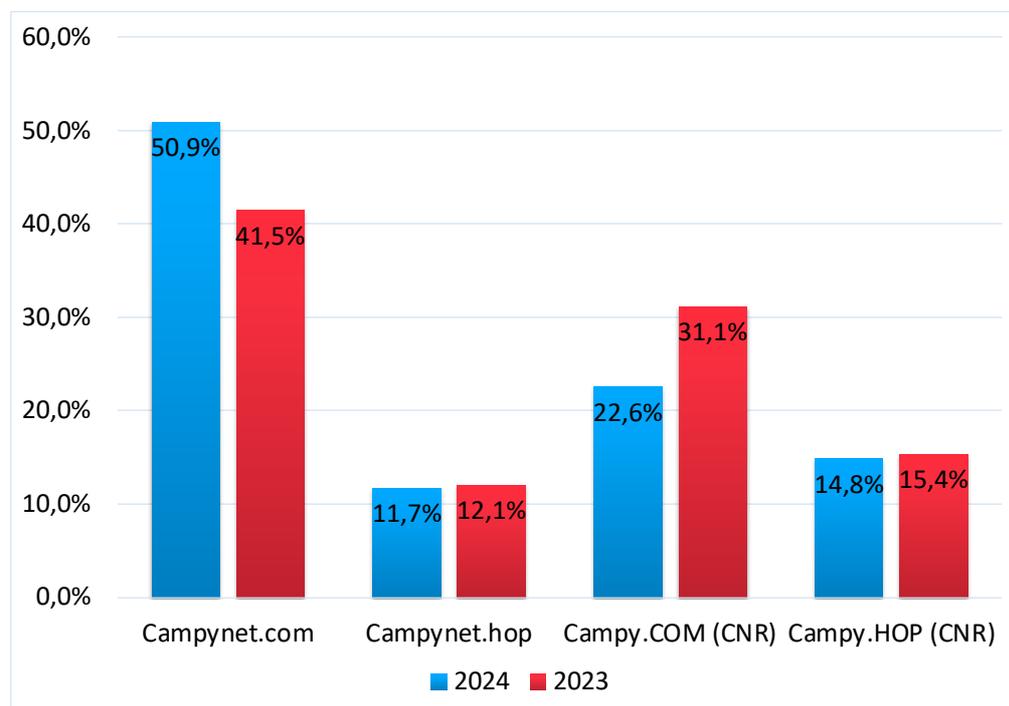
Nombre de souches répertoriées (viabiles ou non) : 13714\*

Nombre de souches ayant pu être étudiées dans les locaux du CNR : 5124

\* 8590 dossiers saisis sur Campy-net.

387 souches sur 5124 (7,55 %) n'ont pas donné de subculture, quasi identique à 2023 (7,26%).

L'activité de Campynet.COM est majoritaire représentant la moitié des déclarations totales en 2024. Cependant, l'augmentation constante des déclarations du secteur hospitalier permet de maintenir sa position dans la répartition et par rapport à 2023.



- Répartition par espèce et par nature de prélèvements :

Cette répartition est basée sur 10395 isolats (viables et en incluant les doubles populations).

Les trois principales espèces répertoriées sont *C. jejuni* (61,8%), *C. coli* (9,5%), *C. fetus* (0,9%), *A. butzleri* (0,5%) arrive en 4<sup>ème</sup> position en 2024 (Tableau 1 et Tableau 2). *C. jejuni* et *C. coli* sont majoritairement isolés de selles : 98,7% et 98,2% respectivement. *C. jejuni* dépasse pour la 6<sup>ème</sup> année consécutive en nombre absolu *C. fetus* comme première espèce isolée de flacons d'hémocultures même si cela ne concerne que 1,2% des isolats de *C. jejuni* versus 69,3% des *C. fetus*. *A. butzleri* est majoritairement isolé de selles (94,5%). A noter que 27,2% de souches saisies dans le site Campy-net le sont comme *Campylobacter* sp dont 99,3% isolées de selles. Ces saisies sont effectuées par des laboratoires qui n'identifient plus les *Campylobacter* à l'espèce. Les pourcentages mentionnés ci-dessous sont donc potentiellement biaisés.

Les isolats des autres espèces des genres *Campylobacter*, *Aliarcobacter* et *Helicobacter* sont rares en 2024. Cinq *Helicobacter* sp (3 *H. pullorum* isolés de selles et 2 bactériémies dont 1 *H. cinaedi* et 1 à *H. bilis*) sont répertoriés en 2024.

Cette baisse de diversité bactérienne est probablement une conséquence de l'utilisation en routine sur selles des PCR syndromiques qui ne détectent que *C. jejuni* et *C. coli* et l'utilisation de la culture uniquement en cas de PCR positive. *C. ureolyticus* est majoritairement isolé de pus et de sang. Ce *Campylobacter* anaérobie est un ancien *Bacteroides*.

La proportion de *C. fetus* diffère en fonction des réseaux : elle est de 2,5% pour le réseau Campy.HOP alors qu'elle n'est que de 0,08% pour le réseau Campy.COM. La proportion de souches invasives de *C. jejuni* est également plus importante au sein du réseau Campy.HOP, 2,8%, contre 0,14% pour Campy.COM.

La stratégie de séquençage en routine des souches reçues au CNR en 2024, nous a permis d'évaluer les discordances au genre et à l'espèce. Le tableau ci-après récapitule les principales discordances d'identification répertoriées en 2024 entre nos correspondants et notre CNR. Au total 2% de discordances a été relevé.

Nous avons noté aucune discordance entre l'identification NGS et celle obtenue au CNR sur notre MALDI-TOF Bruker.

**Tableau 1 : Répartition par espèce et par nature de prélèvements des Campylobacters et bactéries apparentées pour l'année 2024.**

Cinq *Helicobacter sp* (3 *H. pullorum* isolés de selles et 2 bactériémies dont 1 *H. cinaedi* et 1 à *H. bilis*) sont répertoriés en 2024. 3619 *Campylobacter sp* ont été saisis dans Campy-net sans identification.

| 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. ureolyticus</i> | * <i>Campylobacter. sp</i> | * <i>Helicobacter. sp</i> | * <i>Aliarcobacter. sp</i> | Total |
|-------------|------------------|----------------|-----------------|--------------------|----------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|-------|
| Sang        | 102              | 21             | 61              | 2                  | 1              | -                       | 6                     | 2                          | 2                         | -                          | 197   |
| Selles      | 8122             | 1245           | 18              | 69                 | 4              | 7                       | -                     | 3595                       | 3                         | -                          | 13063 |
| Biopsie     | 5                | 2              | 1               | -                  | 1              | -                       | 5                     | 2                          | -                         | -                          | 16    |
| Abcès & pus | -                | -              | 1               | -                  | -              | -                       | 12                    | 6                          | -                         | -                          | 19    |
| Liquide     | 2                | -              | 6               | -                  | -              | -                       | 3                     | 11                         | -                         | -                          | 22    |
| Autres      | 1                | -              | 1               | 2                  | -              | -                       | 3                     | 3                          | -                         | -                          | 10    |
| Total       | 8232             | 1268           | 88              | 73                 | 6              | 7                       | 29                    | 3619                       | 5                         | -                          | 13327 |
| %           | 61,8             | 9,5            | 0,7             | 0,5                | 0,0            | 0,1                     | 0,2                   | 27,2                       | 0,0                       | 0,0                        | 100,0 |

**Tableau 2 : Répartition en pourcentage des espèces par nature de prélèvements des Campylobacters et bactéries apparentées pour l'année 2024.**

| 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. ureolyticus</i> | <i>Campylobacter sp</i> | <i>Helicobacter sp</i> | <i>Aliarcobacter sp</i> | Moy% |
|-------------|------------------|----------------|-----------------|--------------------|----------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|------|
| Sang        | 1,2              | 1,7            | 69,3            | 2,7                | 16,7           | -                       | 20,7                  | 0,1                     | 40,0                   | -                       | 1,5  |
| Selles      | 98,7             | 98,2           | 20,5            | 94,5               | 66,7           | 100,0                   | -                     | 99,3                    | 60,0                   | -                       | 98,0 |
| Biopsie     | 0,1              | 0,2            | 1,1             | -                  | 16,7           | -                       | 17,2                  | 0,1                     | -                      | -                       | 0,1  |
| Abcès & pus | -                | -              | 1,1             | -                  | -              | -                       | 41,4                  | 0,2                     | -                      | -                       | 0,1  |
| Liquide     | -                | -              | 6,8             | -                  | -              | -                       | 10,3                  | 0,3                     | -                      | -                       | 0,2  |
| Autres      | -                | -              | 1,1             | 2,7                | -              | -                       | 10,3                  | 0,1                     | -                      | -                       | 0,1  |

| Discordances identifications*                   |           |
|---|-----------|
| <i>C. jejuni</i> / <i>C. coli</i>               | 33        |
| <i>C. coli</i> / <i>C. jejuni</i>               | 7         |
| <i>C. jejuni</i> / <i>C. fetus</i>              | 1         |
| <i>C. jejuni</i> / <i>C. upsaliensis</i>        | 1         |
| <i>C. coli</i> / <i>A. butzleri</i>             | 1         |
| <b>Discordances d'identification constatées</b> | <b>42</b> |
| <b>Discordances d'identification constatées</b> | <b>2%</b> |

\*données basées sur 2447 souches séquencées

La stratégie NGS nous a également permis de vérifier systématiquement la concordance entre le phénotype fourni par le laboratoire correspondant et le résistome identifié par NGS. Chaque discordance a été contrôlée *in vitro* au CNR (disque ou CMI).

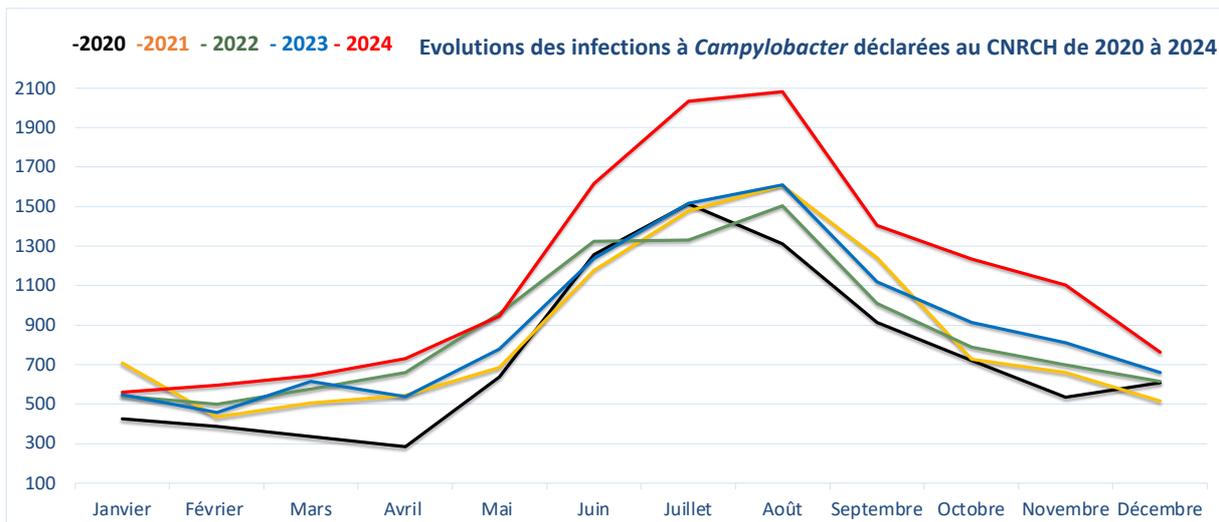
Cela a représenté 14,2% des souches séquencées. Le détail est présenté dans le tableau ci-dessous.

| Discordance ATB *                   | Nombre discordances | % par rapport aux souches séquencées |
|-------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|
| <b>Ampicilline</b>                  | 131                 | 5,4%                                 |
| <b>Amoxilline-ac clav.</b>          | 19                  | 0,8%                                 |
| <b>Gentamicine</b>                  | 18                  | 0,7%                                 |
| <b>Erythromycine</b>                | 20                  | 0,8%                                 |
| <b>Ciprofloxacine</b>               | 77                  | 3,1%                                 |
| <b>Tétracycline</b>                 | 82                  | 3,4%                                 |
| <b>Total des discordances (NGS)</b> | <b>347</b>          | <b>14,2%</b>                         |

\*données basées sur 2447 souches séquencées

- Répartition mensuelle des souches isolées :

Le graphique ci-dessous indique le nombre de souches répertoriées au cours de l'année 2024 avec un comparatif depuis 2021.

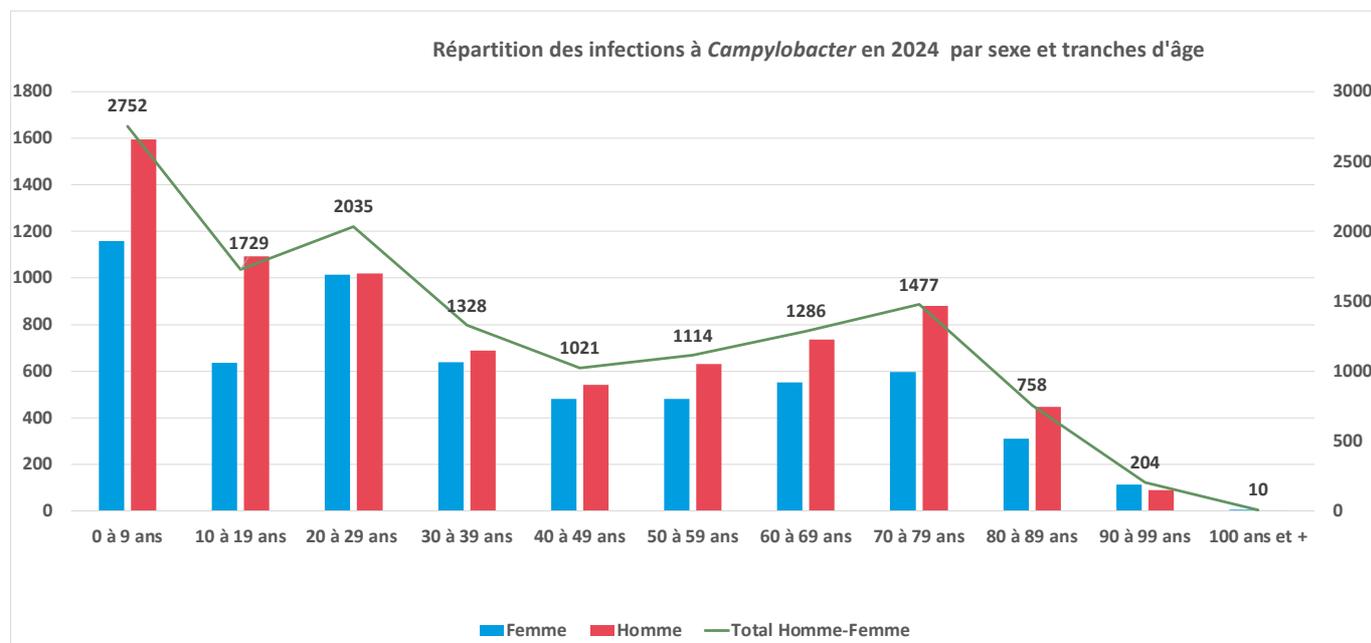


Ces données confirment la saisonnalité habituelle des infections à *Campylobacter* et montrent l'importance de l'augmentation constatée en 2024 des cas d'infections à *Campylobacter*. Même si nous recevons des souches tout au long de l'année, les mois de Mai à Septembre regroupent 59,4% des souches répertoriées en 2024.

- Répartition par sexe :

| 2024                 |       | Nombre de souches par sexe et % |  |
|----------------------|-------|---------------------------------|--|
| <b>Sexe Féminin</b>  | 5990  | 43,7%                           |  |
| <b>Sexe Masculin</b> | 7724  | 56,3%                           |  |
| <b>Total</b>         | 13714 |                                 |  |
| <b>Sex Ratio</b>     | 1,29  |                                 |  |

La prédominance masculine est toujours marquée avec un sex-ratio H/F de 1,29 en moyenne. Cette répartition est valable pour toutes les tranches d'âge malgré une tendance à un rééquilibrage pour les 20-29-ans.



-Répartition par âge :

| Catégories d'âges                         | .COM         | %    | .HOP        | %    | Total        | %    |
|---|--------------|------|-------------|------|--------------|------|
| <b>Adultes, &gt;15 ans</b>                | 7668         | 76,1 | 2478        | 68,1 | 10146        | 74   |
| <b>Enfants, &lt;15 ans et ≥1 an</b>       | 2314         | 23   | 960         | 26,4 | 3274         | 23,9 |
| <b>Nourrissons &lt;12 mois et ≥1 mois</b> | 81           | 0,8  | 168         | 4,6  | 249          | 1,8  |
| <b>Nouveaux nés &lt;1 mois</b>            | 12           | 0,1  | 33          | 0,9  | 45           | 0,3  |
| <b>Total (Nb.)</b>                        | <b>10075</b> |      | <b>3639</b> |      | <b>13714</b> |      |

Les infections à *Campylobacter* touchent toutes les tranches d'âge avec 26% de cas pédiatriques (<15 ans). La proportion de nourrissons (<12mois) est plus importante au sein du réseau Campy.HOP (4,62% versus 0,8% 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.

| Tranches d'âge | 0-9  | 10-19 | 20-29 | 30-39 | 40-49 | 50-59 | 60-69 | 70-79 | 80-89 | 90-00 | >100 |
|----------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| <b>Total</b>   | 20,1 | 12,6  | 14,8  | 9,7   | 7,4   | 8,1   | 9,4   | 10,8  | 5,5   | 1,5   | 0,07 |
| <b>.COM</b>    | 17,9 | 12,8  | 16    | 10,8  | 8,4   | 9,2   | 9,5   | 10,1  | 4,4   | 0,8   | 0,06 |
| <b>.HOP</b>    | 26   | 12    | 11,6  | 6,5   | 4,9   | 5,2   | 9,1   | 12,6  | 8,7   | 3,4   | 0,11 |

La proportion de cas âgés (supérieurs à 60 ans) est de 34 % au sein du réseau Campy.HOP identique à l'an dernier et de 25% au sein du réseau Campy.COM qui était de 14%. Comme évoqué ci-dessus, la proportion de cas pédiatriques (0-9 ans) et des patients de 80 à 89 ans est plus importante au sein du réseau Campy.HOP. La tranche d'âge 0-29 ans représente 48% des infections à *Campylobacter sp.* L'âge moyen des cas d'infections était de 37,8 ans en 2024 (37,1 ans en 2023).

-Répartition en fonction du type de malade : Les données présentées ci-dessous concernent le réseau Campy.HOP, Campy.COM et Campy-net (soit 13714 cas).

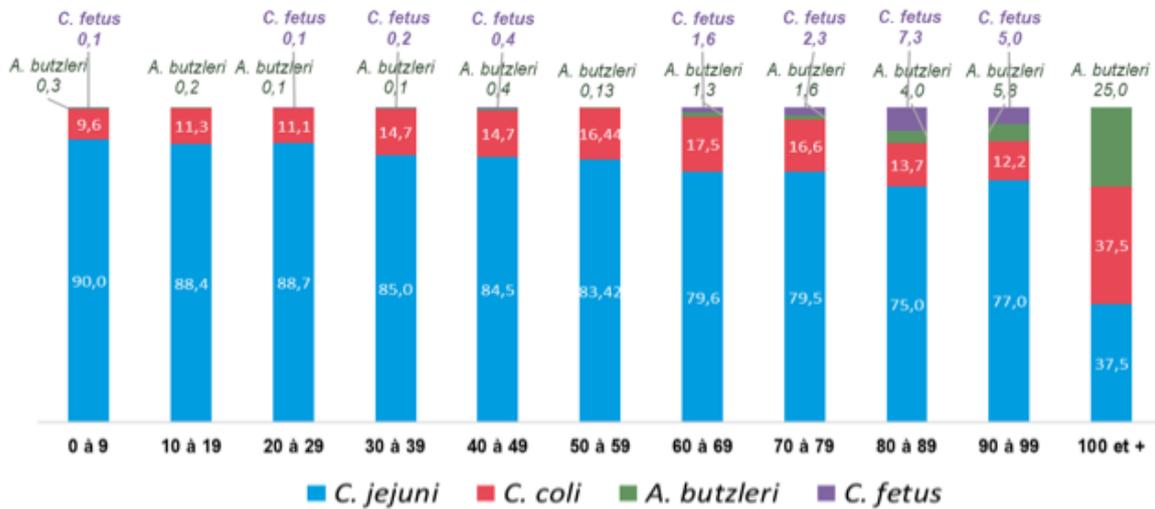
|                        |               |              |
|------------------------|---------------|--------------|
| <b>Hospitalisation</b> | <b>n=2453</b> | <b>17,9%</b> |
| <b>Consultation</b>    | n=9300        | 67,8%        |
| <b>Non précisé</b>     | n=1961        | 14,3%        |

#### -Analyse des bactéries identifiées par tranches d'âge et pour les 4 pathogènes majeurs

Nous présentons pour la deuxième année consécutive ces chiffres. La même tendance se confirme.

| Tranche d'âge   | Nb.  | <i>C. jejuni</i> % | <i>C. coli</i> % | <i>A. butzleri</i> % | <i>C. fetus</i> % |
|-----------------|------|--------------------|------------------|----------------------|-------------------|
| <b>0 à 9</b>    | 2081 | 90,0               | 9,6              | 0,3                  | 0,1               |
| <b>10 à 19</b>  | 1245 | 88,4               | 11,3             | 0,2                  | 0,0               |
| <b>20 à 29</b>  | 1457 | 88,7               | 11,1             | 0,1                  | 0,1               |
| <b>30 à 39</b>  | 953  | 85,0               | 14,7             | 0,1                  | 0,2               |
| <b>40 à 49</b>  | 695  | 84,5               | 14,7             | 0,4                  | 0,4               |
| <b>50 à 59</b>  | 748  | 83,4               | 16,4             | 0,1                  | 0,0               |
| <b>60 à 69</b>  | 872  | 79,6               | 17,5             | 1,3                  | 1,6               |
| <b>70 à 79</b>  | 958  | 79,5               | 16,6             | 1,6                  | 2,3               |
| <b>80 à 89</b>  | 505  | 75,0               | 13,7             | 4,0                  | 7,3               |
| <b>90 à 99</b>  | 139  | 77,0               | 12,2             | 5,8                  | 5,0               |
| <b>100 et +</b> | 8    | 37,5               | 37,5             | 25,0                 | 0,0               |

### Répartition en % par tranche d'âge des infections à *C. jejuni*, *C. coli*, *A. butzleri*, *C. fetus*



De manière intéressante, la proportion d'infection à *C. fetus* augmente chez les patients très âgés ainsi que les infections à *A. butzleri* au détriment des infections à *C. jejuni*. L'étude rétrospective des caractéristiques épidémiologiques des infections à *A. butzleri* fait partie des projets 2025 du CNR.

-Voyage à l'étranger : Une notion de voyage à l'étranger a été renseignée (Oui/Non) dans 5610 cas sur 13714 cas (40,9%). Le pays, ou la région du monde, a été précisé dans 495 cas. Les principales régions concernées étaient l'Europe et l'Afrique (cf figure et tableau ci-dessous).

| Répartition par zones géographiques | Nbre       | %             |
|-------------------------------------|------------|---------------|
| <b>Maghreb</b>                      | 125        | 25,3%         |
| <b>Europe du Sud</b>                | 120        | 24,2%         |
| <b>Asie</b>                         | 73         | 14,7%         |
| <b>Europe de l'Ouest</b>            | 38         | 7,7%          |
| <b>Europe de l'Est</b>              | 29         | 5,9%          |
| <b>Afrique (hors Maghreb)</b>       | 28         | 5,7%          |
| <b>Iles de l'Océan indien</b>       | 22         | 4,4%          |
| <b>Proche Orient</b>                | 18         | 3,6%          |
| <b>Amérique du Nord</b>             | 12         | 2,4%          |
| <b>Caraïbes</b>                     | 11         | 2,2%          |
| <b>Amérique du Sud</b>              | 7          | 1,4%          |
| <b>Amérique centrale</b>            | 6          | 1,2%          |
| <b>Europe du Nord</b>               | 3          | 0,6%          |
| <b>Océanie</b>                      | 2          | 0,4%          |
| <b>Moyen Orient</b>                 | 1          | 0,2%          |
|                                     | <b>495</b> | <b>100,0%</b> |

#### - Contexte épidémique :

|              |      |       |
|--------------|------|-------|
| Cas isolés   | 6171 | 45%   |
| Cas groupés* | 298  | 2,2%  |
| Non précisé  | 7245 | 52,8% |

\*279 cas familiaux (93,6%), 19 cas en collectivités (6,4%).

Les infections à *Campylobacters* et bactéries apparentées sont donc principalement des cas isolés (lorsque l'information est disponible). Les cas groupés sont essentiellement familiaux (en augmentation pour la deuxième année consécutive), 60,3% d'entre eux surviennent entre mai et septembre.

En 2024, sur 113 cas groupés analysés par NGS, nous disposons d'au moins 2 isolats pour seulement 30 cas. Pour 18 de ces 30 cas (60%), l'identité génétique des souches reçues a été confirmée par NGS. Cela concernait 8 cas groupés à *C. jejuni* et 1 à *C. coli*. La source identifiée par NGS était la viande de volaille (n=5), de ruminant (n=2) ou une source environnementale (n=2).

-Origine supposée de la contamination : L'origine alimentaire est précisée dans 454 cas sur 13714 soit 3,31% des dossiers (proportion identique à l'an dernier) : 2,4% du réseau Campy.hop et 3,6% du réseau Campy. Com. La source de contamination pour *C. jejuni* et *C. coli* a été attribuée à 2375 souches séquencées en 2024.

| Identification NGS avec attribution de source | Volaille    | Porc      | Ruminant   | Environnement | Inconnu   |             |
|---|-------------|-----------|------------|---------------|-----------|-------------|
| <b><i>C. jejuni</i></b>                       | 1286        | 0         | 591        | 57            | 61        |             |
| <b><i>C. coli</i></b>                         | 349         | 29        | 1          | 0             | 1         |             |
| <b>Total par attribution</b>                  | <b>1635</b> | <b>29</b> | <b>592</b> | <b>57</b>     | <b>62</b> | <b>2375</b> |

Pour 115 cas, nous avons une double information relative à l'origine alimentaire, c'est-à-dire, l'information transmise par le laboratoire et l'attribution de source par NGS

| Origines alimentaires mentionnées par les laboratoires | No.        | %          | Souches analysées par NGS | Volaille     | Porc        | Ruminant     | Environnement | ND          |
|--|------------|------------|---------------------------|--------------|-------------|--------------|---------------|-------------|
| <b>Viande</b>  | 140        | 30,8       | 29                        | 23           |             | 3            | 1             | 2           |
| <b>Produits de la Mer</b>                              | 100        | 22,0       | 20                        | 18           | -           | 2            | -             | -           |
| <b>Volaille</b>  | 73         | 16,1       | 22                        | 20           | -           | 2            | -             | -           |
| <b>Plat préparé - Restauration</b>                     | 58         | 12,8       | 14                        | 10           | -           | 1            | 1             | 2           |
| <b>Eau</b>   | 22         | 4,8        | 8                         | 6            | -           | 2            | -             | -           |
| <b>Charcuterie</b>                                     | 20         | 4,4        | 3                         | 3            | -           | -            | -             | -           |
| <b>Produits laitiers</b>                               | 19         | 4,2        | 8                         | 5            | -           | 3            | -             | -           |
| <b>Oeuf</b>  | 11         | 2,4        | 4                         | 1            | -           | 3            | -             | -           |
| <b>Fruits et légumes</b>                               | 6          | 1,3        | 4                         | 1            | 3           | -            | -             | -           |
| <b>Porc</b>  | 5          | 1,1        | 3                         | 3            | -           | -            | -             | -           |
|  | <b>454</b> | <b>100</b> | <b>115</b>                | <b>90</b>    | <b>3</b>    | <b>16</b>    | <b>2</b>      | <b>4</b>    |
|  |            |            | <b>25,3%</b>              | <b>78,3%</b> | <b>2,6%</b> | <b>13,9%</b> | <b>1,7%</b>   | <b>3,5%</b> |

ND : non déterminé par NGS.

Les origines alimentaires souvent signalées par les patients sont les "produits de la mer" alors que la source de contamination par NGS reste en majorité la volaille.

La majorité était des cas isolés.

| Origine alimentaire signalée et type de cas |           |
|---|-----------|
| <b>Cas groupé</b>                           | 76 20,0%  |
| <b>Cas isolé</b>                            | 364 95,3% |
| <b>Inconnu</b>                              | 84 22,5%  |
|   | 526       |

### 3.2.2 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*

Nous incluons ici les données du CNR (biopsies, souches et ADN) et celles collectées dans le réseau Hélico-net. La majorité des cas positifs avait entre 30 et 69 ans (71%), majoritairement des femmes dans la quasi intégralité des tranches d'âge.

| Âges             | 0-9        | 10-19 | 20-29 | 30-39 | 40-49 | 50-59 | 60-69 | 70-79 | 80-89 | 90+ | Total       |
|------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|-------------|
| <b>H</b>         | <b>25</b>  | 112   | 98    | 212   | 224   | 259   | 250   | 136   | 35    | 7   | <b>1358</b> |
| <b>F</b>         | <b>27</b>  | 78    | 122   | 283   | 309   | 281   | 253   | 166   | 36    | 3   | <b>1558</b> |
| <b>Total</b>     | <b>52</b>  | 190   | 220   | 495   | 533   | 540   | 503   | 302   | 71    | 10  | <b>2916</b> |
| <b>Ratio H/F</b> | <b>0,9</b> | 1,4   | 0,8   | 0,7   | 0,7   | 0,9   | 1,0   | 0,8   | 1,0   | 2,3 | <b>0,9</b>  |

Concernant les sérologies *H. pylori* sur 598 demandes les caractéristiques étaient les suivantes : moyenne d'âge 53 ans, sex ratio 1,34 ; vs 56,7 ans en 2022 et un sex ratio de 1,23. 40,2 % d'entre elles étaient positives vs 34,3 % en 2022, 0,9 % équivoques, 56,6 % négatives et 2,3 % non réalisées pour raisons diverses.

Nous avons reçu 41 selles pour recherche d'antigènes de *H. pylori* (48,8% en provenance du CHU de Bordeaux) : sex ratio 1,2, moyenne d'âge 27 ans. Pour ces selles, 90,2% étaient négatives, 2,6% étaient positives et 7,3% n'ont pu être testées.

-Corrélation culture et PCR : La culture de *H. pylori* est réalisée sur gélose sélective préparée au CNR et en cas de contrôle sur gélose commerciale Pylori bioMérieux et depuis fin 2023, après évaluation, également sur gélose BD Helicobacter Agar (Becton Dickinson). La PCR est réalisée selon la technique publiée en 2003 (Oleastro M *et al.*, J Clin Microbiol). Nous utilisons depuis mars 2019 des barrettes préparées par Eurogentec et prêtes à l'emploi (cf rapport 2019, et Bénéjat *et al.*, Helicobacter 2021).

Pour 2024, nous avons identifié 9 correspondants qui nous font parvenir des biopsies ou des broyats de biopsies pour lesquels nous avons des doutes sur les conditions préanalytiques (transport-congélation/décongélation, ou de préparation/conservation des broyats). Ces 9 laboratoires ont en effet des % de faux négatifs par culture *versus* PCR de plus de 40%.

| Culture             | PCR      | Nombre de patients 2024* |
|---------------------|----------|--------------------------|
| <b>+</b>            | <b>+</b> | 272                      |
| <b>-</b>            | <b>+</b> | 60                       |
| <b>non réalisée</b> | <b>+</b> | 4                        |
| <b>-</b>            | <b>-</b> | 11 (dont 6 HH)**         |
| <b>non réalisée</b> | <b>-</b> | 1287                     |

\*les données de 9 laboratoires ont été retirées (cf explications ci-avant)

\*\*HH : infections à *Helicobacter* du groupe Heilmannii

La culture de *H. pylori* a sous-estimé 18,1% des infections par rapport à la PCR (stable par rapport à 2022). 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. Malheureusement 9 correspondants n'arrivent pas à respecter ces conditions malgré nos conseils répétés.

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

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

Tous les antibiogrammes ont été réalisés selon les recommandations du CA-SFM : milieu MH-F 5% sang de mouton, inoculum 0,5 McF, écouvillonnage, incubation à 35°C en atmosphère microaérobie en jarre (génération d'atmosphère à l'aide d'un Anoxomat (Mart)). 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 (Tableau 3) tiennent compte des valeurs de diamètres critiques ou concentrations critiques telles que définies dans le CA-SFM 2024 ainsi que des données de résistome obtenues en 2024. Nous indiquons pour 2024 les résultats obtenus pour les principales espèces identifiées : *C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus*, et *A. butzleri*.

Nous présentons seulement les résultats pour l'ampicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la ciprofloxacine et la gentamicine. En utilisant les «cut-offs» publiés par le CNR pour *A. butzleri* (Jehanne *et al.*, Microbiol Spectr. 2022), nous présentons les données pour l'ampicilline, l'amoxicilline-ac. clav et la ciprofloxacine.

Nous présentons également pour la première fois les pourcentages de résistances à des antibiotiques non classiquement testés *in vitro* en nous basant sur les données de résistome : cela concerne la streptomycine, la spectinomycine et la kanamycine.

Tableau 3. Résistance aux antibiotiques en 2024 chez *C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus* et *A. butzleri*.

| <                                | Ampicilline | Amox-clav | Ciprofloxacine | Erythromycine | Tétracycline | Gentamicine | Streptomycine | Spectinomycine | Kanamycine |
|----------------------------------|-------------|-----------|----------------|---------------|--------------|-------------|---------------|----------------|------------|
| <b><i>C. jejuni</i></b>          |             |           |                |               |              |             |               |                |            |
| Total <i>C. jejuni</i> étudiés   | 6835        | 7019      | 7044           | 6882          | 7014         | 5676        | 1995          | 1995           | 1995       |
| % de Résistance                  | 31,1        | 0,0       | 59,8           | 0,2           | 37,9         | 0,1         | 2,0           | 0,2            | 1,3        |
| <b><i>C. coli</i></b>            |             |           |                |               |              |             |               |                |            |
| Total <i>C. coli</i> étudiés     | 1068        | 1094      | 1098           | 1062          | 1093         | 893         | 379           | 380            | 380        |
| % de Résistance                  | 27,3        | 0,3       | 62,9           | 5,7           | 78,8         | 1,3         | 34,6          | 4,2            | 6,3        |
| <b><i>C. fetus</i></b>           |             |           |                |               |              |             |               |                |            |
| Total <i>C. fetus</i> étudiés    | 84          | 88        | 88             | 87            | 87           | 85          | 46            | 46             | 46         |
| % de Résistance                  | 0,0         | 0,0       | 10,2           | 0,0           | 12,6         | 0,0         | 10,9          | 0,0            | 4,3        |
| <b><i>A. butzleri</i></b>        |             |           |                |               |              |             |               |                |            |
| Total <i>A. butzleri</i> étudiés | 57          | 38        | 56             | -             | -            | -           | -             | -              | -          |
| % de Résistance                  | 42,1        | 68,4      | 10,7           | -             | -            | -           | -             | -              | -          |

La résistance à l'ampicilline reste stable pour *C. jejuni* (31,1%) et *C. coli* (27,3%) : comme par le passé, la résistance est plus élevée chez *C. jejuni*. *C. fetus* reste parfaitement sensible. Ceci est conforme aux années précédentes, tout comme la quasi absence de résistance à l'amoxicilline-acide clavulanique excepté chez *A. butzleri* (68,4%). La résistance à la ciprofloxacine pour *C. jejuni* (59,8%) est presque aussi élevée que pour *C. coli* (62,9%). La résistance de *C. fetus* à la ciprofloxacine est de 10,2%, stable par rapport à 2023.

La résistance à l'érythromycine reste à un niveau très faible pour *C. jejuni* (0,2%), *C. coli* étant comme par le passé plus résistant (5,7%). La résistance à la tétracycline reste à un niveau très élevé (et semble stagner) notamment pour *C. coli* (78,8%) et pour *C. jejuni* (37,9%). La résistance à la gentamicine reste anecdotique pour *Campylobacter sp* mais peut être rencontrée pour *C. jejuni* (0,1%) et *C. coli* (1,3%). Le taux de résistance à la streptomycine chez *C. coli* est élevé (34,6%).

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

| Phénotypes + Résistome                   | <i>C. coli</i> (n=845)* | <i>C. jejuni</i> (n=5109)* |
|--|-------------------------|----------------------------|
| Sensible à tous les ATB                  | 111 (13,3%)             | 1446 (28,3%)               |
| <b>Erythromycine et Ciprofloxacine-R</b> | 8 (0,95%)               | 3 (0,06%)                  |
| <b>Résistant à tous les ATB**</b>        | 0 (1,0%)                | 0 (0%)                     |

\*déduction faite des souches non testées sur Campy-net ; \*\* sauf amoxicilline-ac. clavulanique, streptomycine, spectinomycine et kanamycine

-Tendances évolutives sur une période de 38 ans (Figure ci-après).

La résistance à la ciprofloxacine chez *C. coli* se stabilise depuis sa descente amorcée en 2012. Depuis 2019, la résistance à la ciprofloxacine est maintenant 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 le gène *ermN*.

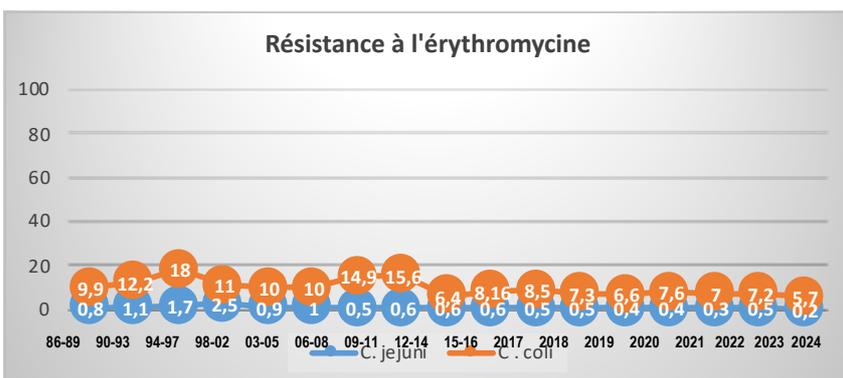
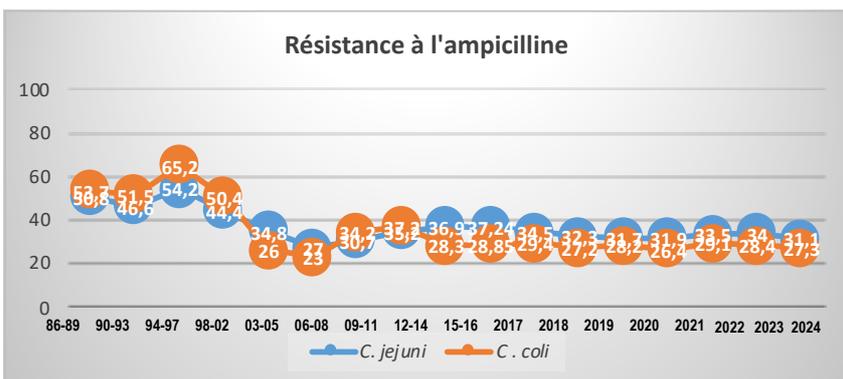
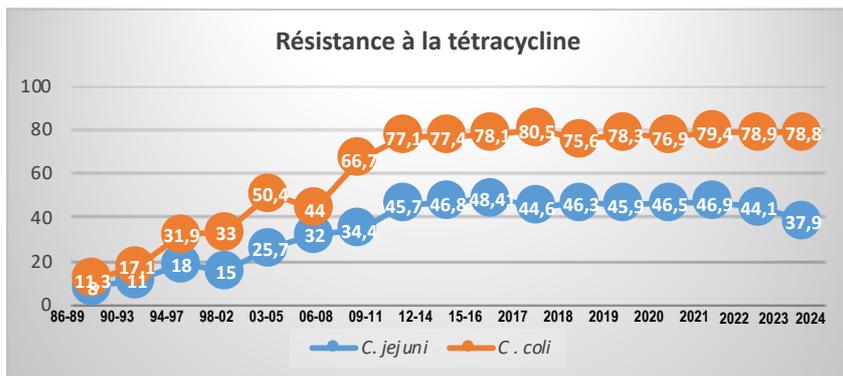
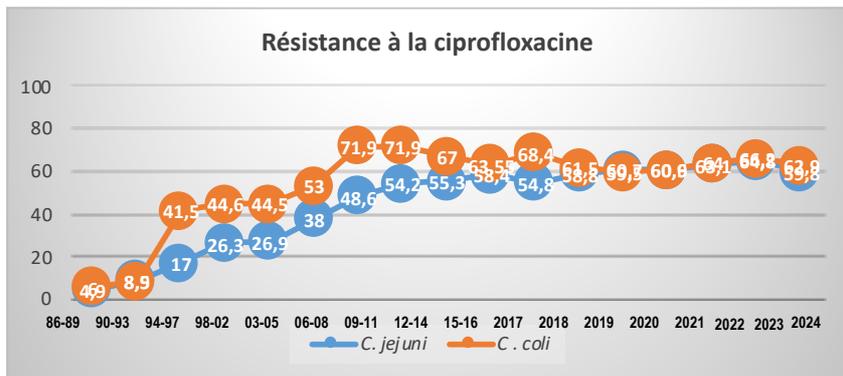


Figure. Evolution en France de la résistance aux antibiotiques chez *C. jejuni* et *C. coli* sur une période de 38 ans. Les résultats sont exprimés en pourcentage.

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

Tous les antibiogrammes ont été réalisés par Etest selon les recommandations du CA-SFM 2024. Les milieux utilisés étaient pour 2024, soit le milieu MH-10% sang de cheval (préparé au CNR), soit la gélose Schaedler vit K1 soit la gélose MH-F (bioMérieux), avec un inoculum 3 McF, par inondation, incubation à 37°C en atmosphère microaérobie dans une enceinte (Ruskinn 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 géloses, 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.

Le CNR teste l'ensemble des molécules en liste principale et complémentaire tel que mentionné dans les recommandations du CASFM. Ce n'est pas le cas des participants du réseau Hélico-net. Aussi, les principaux phénotypes de sensibilité récapitulés dans le tableau ci-après sont ceux obtenus au CNR.

| Nb.        | %          | Phénotype (résistant à) |   |   |   |   |   |  |
|------------|------------|-------------------------|---|---|---|---|---|--|
|            |            | A                       | C | L | M | R | T |  |
| 104        | 30,1       |                         |   |   | X |   |   | Métronidazole-R  |
| 95         | 27,5       |                         |   |   |   |   |   | Sensible à tous les antibiotiques testés                   |
| 28         | 8,1        | X                       |   | X |   |   |   | Clarithromycine-Métronidazole-R                            |
| 19         | 5,5        | X                       | X | X |   |   |   | Clarithromycine-Métronidazole-Lévofloxacine-R              |
| 14         | 4,1        | X                       |   |   |   |   |   | Clarithromycine-R  |
| 13         | 3,8        |                         |   | X |   |   |   | Lévofloxacine-R  |
| 5          | 1,4        | X                       | X |   |   |   |   | Clarithromycine-Lévofloxacine-R                            |
| 4          | 1,2        | X                       | X | X | X |   |   | Clarithromycine-Lévofloxacine-Métronidazole-Rifampicine-R  |
| 2          | 0,6        | X                       |   | X | X |   |   | Clarithromycine-Métronidazole-Rifampicine-R                |
| 1          | 0,3        |                         |   | X | X | X |   | Lévofloxacine-Métronidazole-Rifampicine-R                  |
| 1          | 0,3        | X                       | X |   |   | X |   | Clarithromycine-Lévofloxacine-Rifampicine-R                |
| 1          | 0,3        | X                       |   |   |   |   | X | Clarithromycine-Tétracycline-R                             |
| 1          | 0,3        | X                       | X | X | X |   |   | Amoxicilline-Clarithromycine-Lévofloxacine-Métronidazole-R |
| <b>345</b> | <b>100</b> |                         |   |   |   |   |   |  |

A : amoxicilline ; C : clarithromycine, L : lévofloxacine ; M : métronidazole ; R : rifampicine, T : tétracycline.

La majorité des souches en France (57,6%) sont soit sensibles à tous les antibiotiques d'intérêt soit uniquement résistantes au métronidazole. Tous phénotypes confondus, seul 9% des souches en 2024 sont résistantes à la fois à la clarithromycine et à la lévofloxacine. Sur l'ensemble des données du CNR et du réseau Hélico-net, 139 souches testées résistantes à ces deux molécules ont été isolées chez des patients avec en échec de traitement d'éradication (66,2%).

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 1530 souches viables pour 2024 (données CNR + Hélico-net).

| Génotype clarithromycine | Clarithromycine-S | Clarithromycine-R |
|--------------------------|-------------------|-------------------|
| WT (n=1025)              | 1016              | 9*                |
| Muté (n=432)             | 4*                | 428               |
| WT + muté (n=46)         | 17                | 29                |
| <b>Total = 1503</b>      |                   |                   |

Les discordances sont rares entre phénotype de sensibilité à la clarithromycine et génotype déterminé par PCR : 0,9% (13/1457) uniquement de discordances majeures. Ces discordances sont probablement liées à la présence

de double populations S+R mal détectées par PCR. Ces données montrent néanmoins l'intérêt de la PCR et la qualité des résultats obtenus *in vitro* au CNR et au sein des laboratoires participants au réseau Hélico-net.

La répartition du génotype de l'ADNr 23S déterminant la sensibilité à la clarithromycine déterminée par PCR s'établit comme ceci.

| Génotype                     | Nombre de patients<br>(par génotype) en 2023 et %* | Nombre de patients<br>(par génotype) en 2024 et %* |
|------------------------------|--|--|
| WT                           | 969 (72,5%)  | 1788 (73%)   |
| A2142-3G**                   | 292 (21,9%)  | 596 (24,3%)  |
| A2142C                       | 2 (0,15%)  | 2 (0,15%)  |
| A2142T                       | 1 (0,07%)  | 0  |
| A2142-3G + WT***             | 71 (5,3%)  | 62 (2,5%)  |
| A2142C + WT                  | 1 (0,07%)  | 1 (0,07%)  |
| <b>Total Clari-R par PCR</b> | <b>366/1336 (27,4%)</b>                            | <b>661/2449 (27%)</b>                              |

\*CNR+ réseau Hélico-net

\*\*ou muté pour Hélico-net

\*\*\*ou double population pour Hélico-net

Comme par le passé, la mutation A2142-43G est la plus fréquente. La proportion de double population (WT + muté) est en baisse pour le deuxième année consécutive (2,6% versus 5,4%). Ceci est probablement lié à l'intégration des données Hélico-net cette année car la plupart des laboratoires participants utilisent des formats de PCR *H. pylori* en temps réel qui ne sont pas en mesure de détecter la présence de double population. La mutation A2142C reste anecdotique en France (0,22%). La mutation A2142T, que le CNR a participé à décrire par le passé, n'est pas retrouvée en 2024 (1 cas en 2023).

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 conjointement au réseau Hélico-net, nous pouvons estimer pour 2024 et pour la septième année consécutive, la résistance primaire et secondaire aux antibiotiques pour les souches isolées de biopsies gastriques en routine au CNRCH. Nous fusionnons comme en 2023 les données recueillies à l'aide du réseau Hélico-net.

Nous disposons pour 2024 des renseignements cliniques de 2447 patients.

| Pathologie                               | 2023        |                   | 2024        |                   |
|--|-------------|-------------------|-------------|-------------------|
|  | Nombre      | % par pathologies | Nombre      | % par pathologies |
| <b>Non renseignée</b>                    | 401         | 26,1              | 548         | <b>22,4</b>       |
| <b>Gastrite</b>                          | 328         | 21,4              | 418         | <b>17,1</b>       |
| <b>Epigastralgies</b>                    | 239         | 15,6              | 449         | <b>18,3</b>       |
| <b>Autres</b>                            | 164         | 10,7              | 275         | <b>11,2</b>       |
| <b>Ulcères</b>                           | 95          | 6,2               | 132         | <b>5,4</b>        |
| <b>Anémies (fer-B12)</b>                 | 95          | 6,2               | 236         | <b>9,6</b>        |
| <b>Reflux</b>                            | 73          | 4,8               | 133         | <b>5,4</b>        |
| <b>CB/Sleeve</b>                         | 44          | 2,9               | 94          | <b>3,8</b>        |
| <b>Dyspepsie NU</b>                      | 32          | 2,1               | 74          | <b>3,0</b>        |
| <b>Sérologie positive</b>                | 30          | 2                 | 28          | <b>1,1</b>        |
| <b>Cancer (ou ATCD familial) ou MALT</b> | 34          | 2,3               | 60          | <b>2,5</b>        |
|  | <b>1535</b> | <b>100</b>        | <b>2447</b> | <b>100</b>        |

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. En 2024, le pourcentage de résistance aux macrolides était selon les données de la PCR de 18,4% versus 49,8% en secondaire ou selon les données de la culture de 23% versus 49,3% en secondaire.

La différence entre les taux de résistance primaire selon les deux calculs est expliquée par le fait que de nombreux laboratoires participants au réseau Hélico-net réalisent la culture en respectant scrupuleusement la nomenclature du mode de remboursement de la PCR. La PCR est donc réalisée en première intention chez des patients naïfs de traitement ou en l'absence de renseignements cliniques. Une analyse préliminaire des données saisies dans Hélico-net montrent que certains gros laboratoires participant au réseau Hélico-net appliquent cette stratégie et ont pour certains un fort recrutement de patients nés à l'étranger. Ce phénomène (ou biais épidémiologique) sera à surveiller pour les années à venir.

Nous avons par ailleurs organisé en 2024 un EEQ sur les antibiogrammes de *H. pylori* destinés aux laboratoires participant au réseau Hélico-net et qui saisissent des résultats d'antibiogramme. Tous les EEQ étaient conformes.

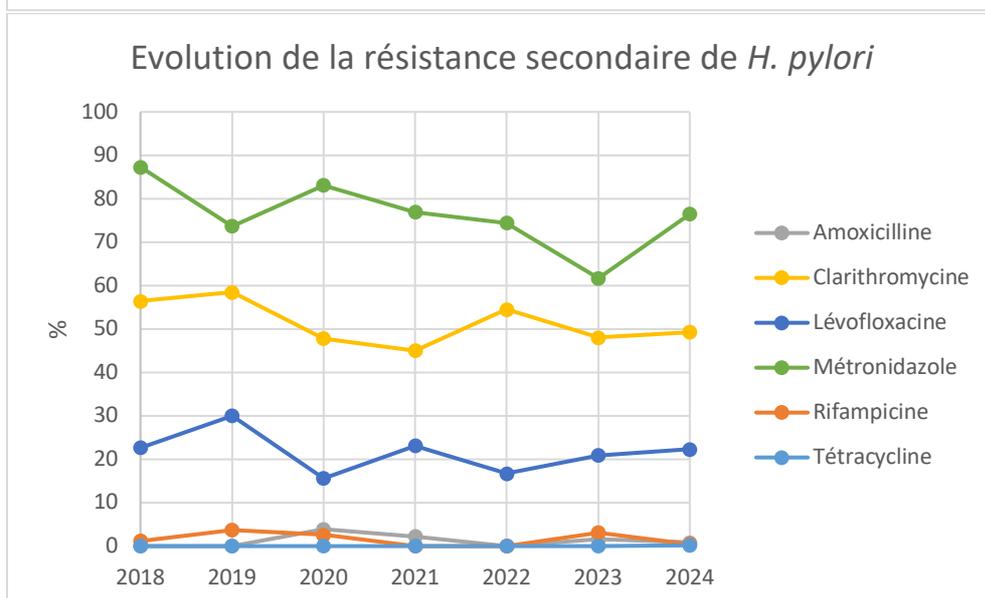
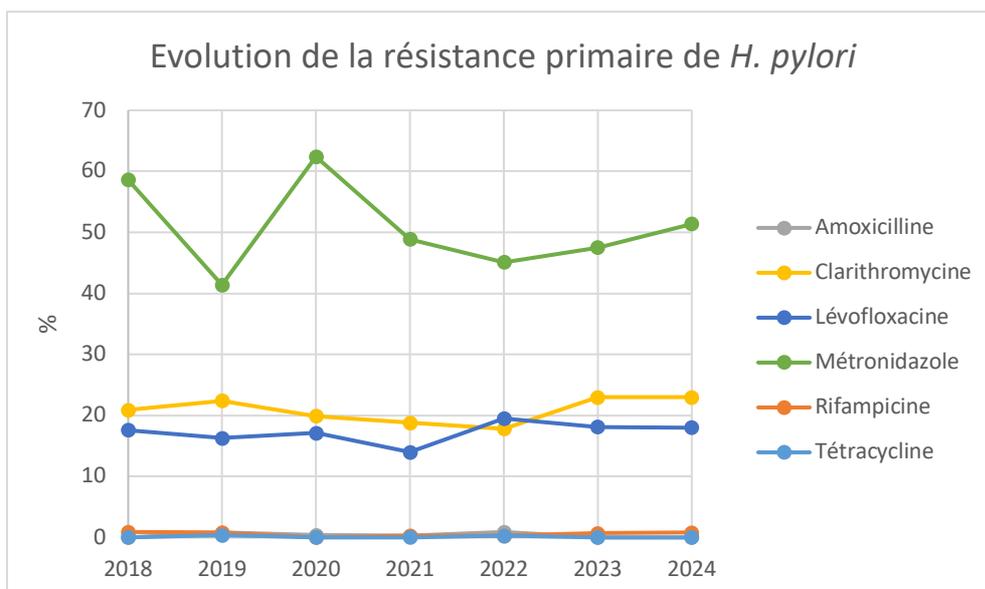
La résistance primaire à la clarithromycine reste supérieure au seuil de 15% au-delà duquel cette molécule ne peut être utilisée en probabiliste.

Si l'on considère les données basées sur les antibiogrammes, elle reste identique en 2024 aux chiffres de 2023 : 23%.

La résistance primaire à la lévofloxacine reste, elle aussi, à un niveau élevé en 2023 (18%) mais sans réelle évolution depuis 2018. L'augmentation de la résistance est faible chez les patients en échec de traitement d'éradication (22,3%). La lévofloxacine n'est en effet pas utilisée en traitement probabiliste.

|                         | Résistance primaire% |      | Résistance secondaire% |      |
|-------------------------|----------------------|------|------------------------|------|
|                         | 2023                 | 2024 | 2023                   | 2024 |
| <b>Amoxicilline</b>     | 0                    | 0    | 1,6                    | 0,8  |
| <b>Clarithromycine*</b> | 23                   | 23   | 48                     | 49,3 |
| <b>Lévofloxacine</b>    | 18,1                 | 18   | 20,9                   | 22,3 |
| <b>Métronidazole</b>    | 47,5                 | 51,4 | 61,7                   | 76,5 |
| <b>Rifampicine</b>      | 0,7                  | 0,8  | 3,1                    | 0,5  |
| <b>Tétracycline</b>     | 0                    |      | 0                      | 0,2  |

\*clarithromycine : résultats basés sur la culture.



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

La résistance au métronidazole reste à un niveau élevé à la fois chez les patients naïfs ou en échec de traitement d'éradication.

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

Les résultats de la surveillance 2023 ont été transmis par l'intermédiaire de Santé publique France au réseau Européen Tessy de l'ECDC.

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

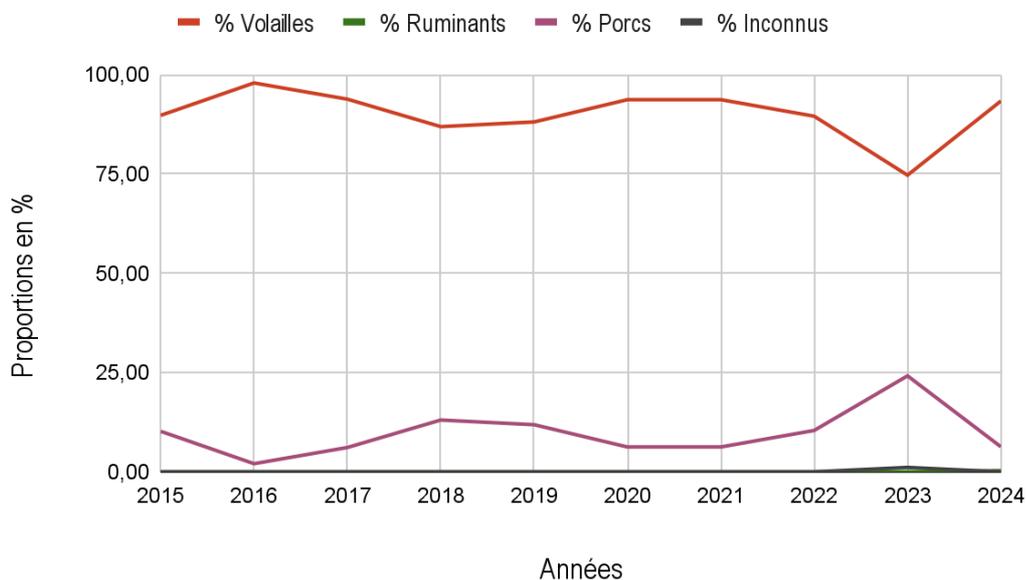
#### 3.5.1 Détection des sources potentielles de contamination

Comme chaque année, la détection de la source potentielle de contamination a été réalisée sur les différents génomes de *C. jejuni* et *C. coli* invasifs (bactériémies) et non invasifs (gastro-entérites). Lors du précédent bilan annuel du CNRCH, cette analyse a été actualisée à partir des génomes des souches reçues en 2022. A l'aide de la mise en place en routine du séquençage, les années 2023 et 2024 ont été ajoutées à ce suivi.

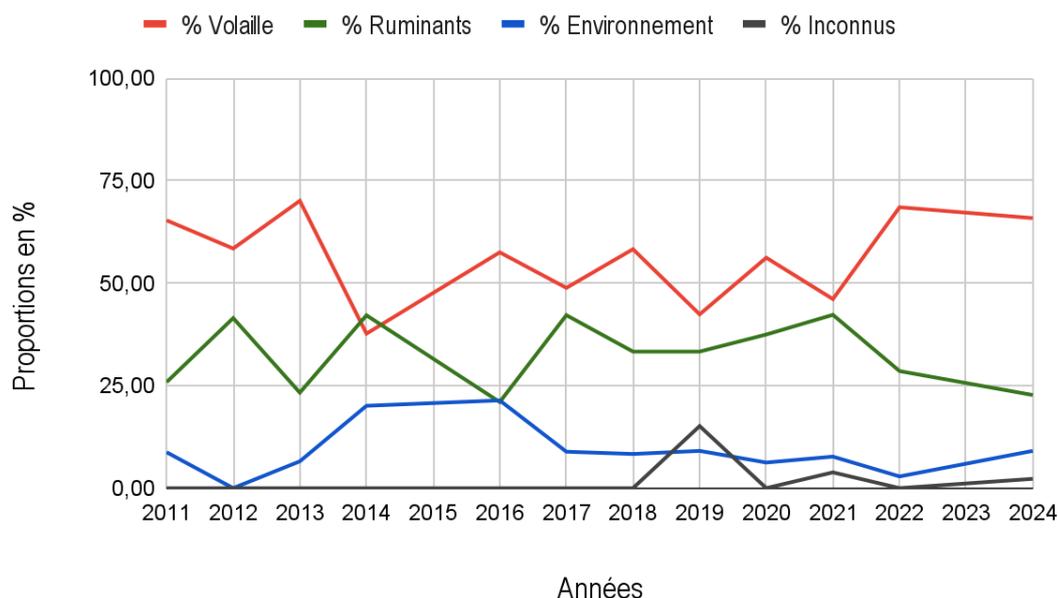
Pour les souches de *C. jejuni*, 44 souches invasives et 1909 souches non invasives de 2023 et 2024 ont été attribuées aux réservoirs volailles, ruminants et de l'environnement à l'aide des données décrites par Thépault *et al.*, en 2017 (doi : 10.1128/AEM.03085-16). Pour les souches de *C. coli*, 440 génomes séquencés en 2023 et 2024 ont été attribués aux réservoirs volailles, ruminants et porcs à l'aide des données décrites par Jehanne *et al.*, en 2020 (doi : 10.1128/AEM.01787-20).

Le réservoir de la volaille est une fois de plus fortement majoritaire, en particulier pour les souches de *C. coli* avec en 2024 plus de 90% des souches séquencées pour cette espèce. Les proportions des différents réservoirs de *C. jejuni*, que ce soit pour les souches invasives comme non invasives, sont très stables depuis 2021-2022, avec une distribution d'approximativement  $\frac{2}{3}$  de souches de volailles et  $\frac{1}{3}$  de souches de ruminants.

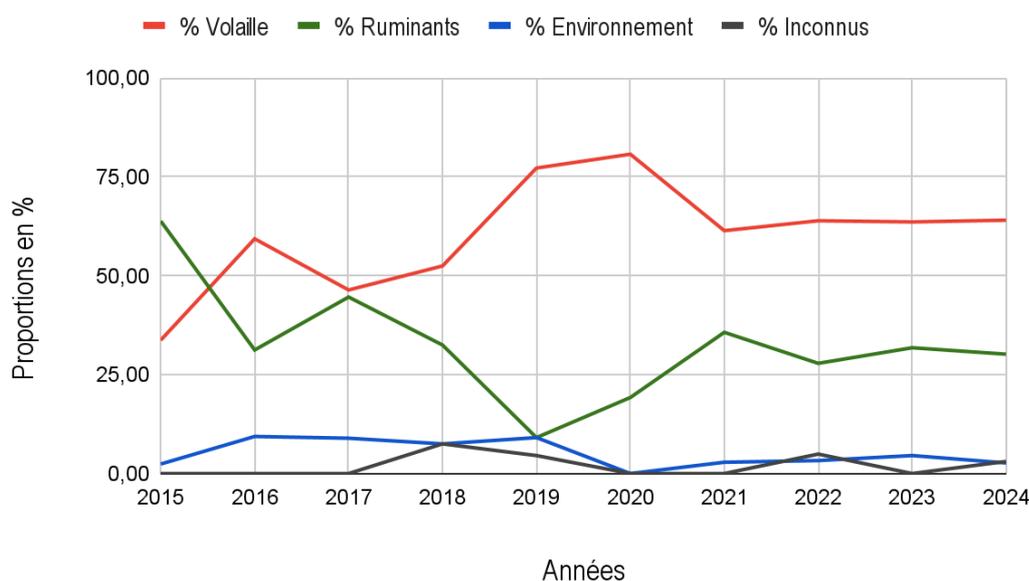
Évolution des sources potentielles de contamination des souches de *C. coli* en France entre 2015 et 2024



Évolution des sources potentielles de contamination des souches de *C. jejuni* invasives en France entre 2011 et 2024



Évolution des sources potentielles de contamination des souches de *C. jejuni* non invasives en France entre 2015 et 2024

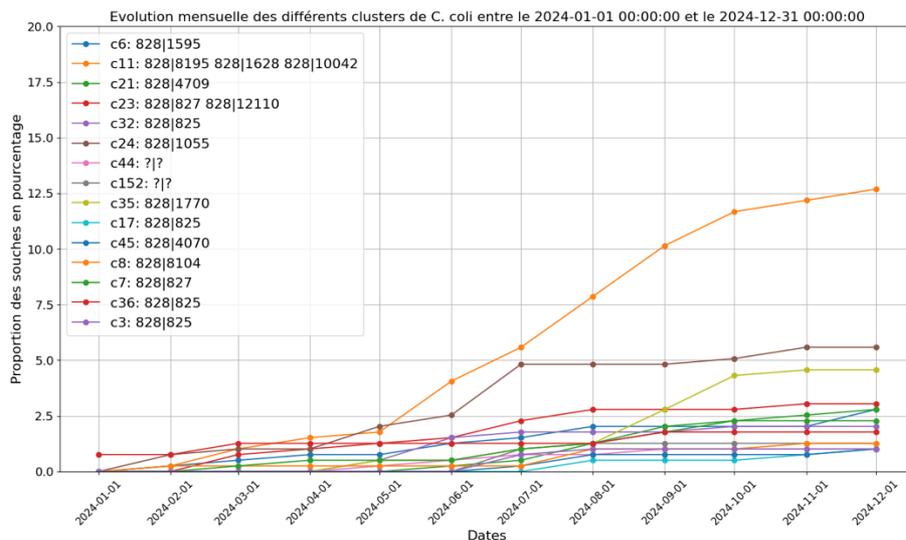
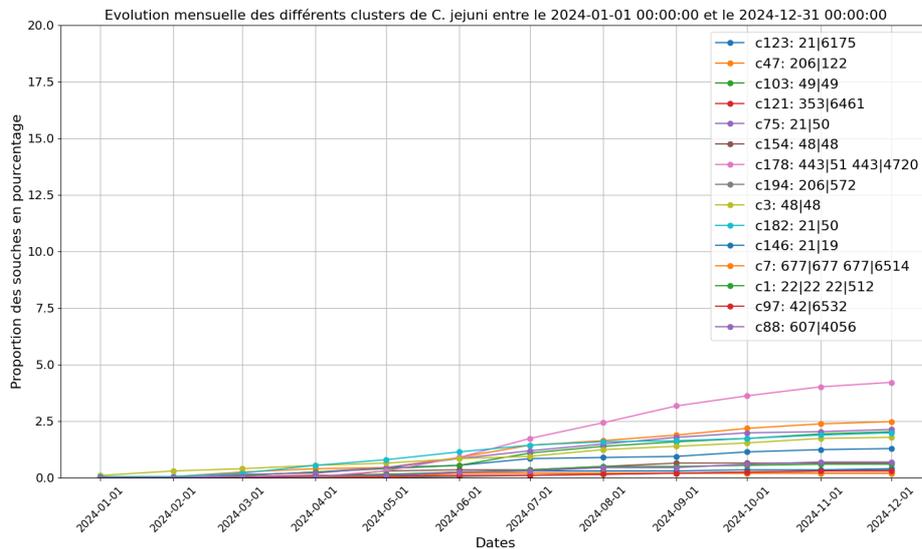
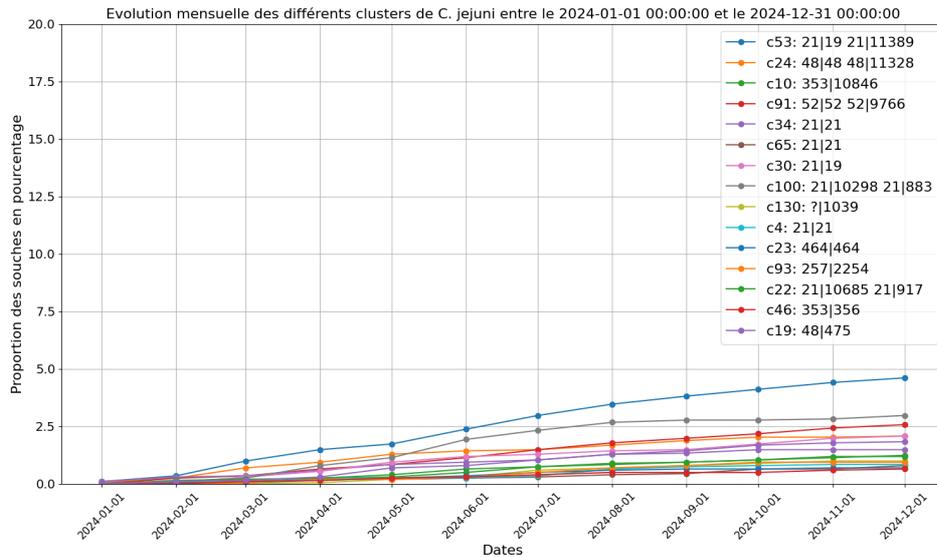


### 3.5.2 Identification des différentes souches de *C. jejuni* et *C. coli* circulant sur le territoire en 2024

Le CNRCH a développé en interne un outil permettant de suivre l'évolution des proportions des différentes souches de *C. jejuni* et *C. coli* circulant en France, et ce dans le but d'identifier des phénomènes épidémiques à l'échelle nationale.

Cet outil se base sur les données de séquençage obtenues en routine et les données de core-genome MLST générées par la base de données PubMLST (n=1343 gènes, <https://pubmlst.org/>). Plus précisément, chaque gène du core-genome (c'est-à-dire les gènes retrouvés systématiquement chez toutes les souches d'une espèce donnée) est extrait parmi les génomes du CNRCH et sont comparés entre eux. Lorsque deux souches ont moins de 50 gènes de différence elles sont associées au sein d'un même "cluster"; seuil fixé arbitrairement, faute d'un consensus scientifique

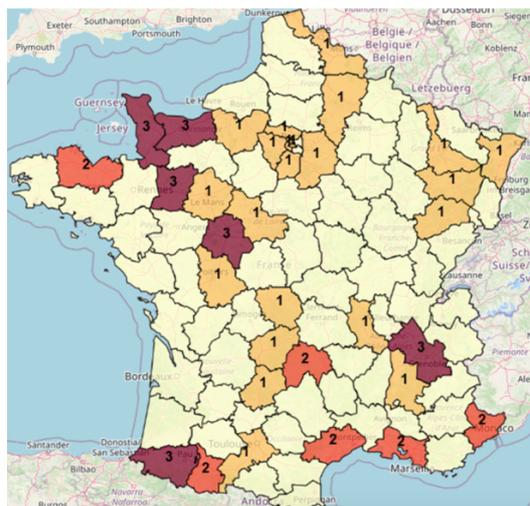
(exemples, seuil à 200 pour Harisson *et al.* 2021, [doi.org/10.3389/fmicb.2021.703890](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.703890), seuil à 13 pour Strakova *et al.* 2024, [doi.org/10.1007/s12223-023-01093-5](https://doi.org/10.1007/s12223-023-01093-5)). Lorsque l'analyse est terminée, une figure est générée et affiche la proportion des différents clusters trouvés en fonction du mois de l'année.



En 2024, aucun cluster majeur n'a été trouvé pour *C. jejuni*. Seuls les types CC-21/ST-19, CC-21/ST-11389, CC-443/ST-51 et CC-443/ST-4720 semblent se démarquer légèrement avec environ 8% des souches du CNRCH. Pour *C. coli* en revanche, une forte augmentation d'un cluster comportant les types CC-828/ST-8195, ST-1628 et ST-10042

est visible, représentant 12.5% des souches de *C. coli* du CNRCH en décembre. Les souches de ce cluster ont toutes pour source potentielle de contamination le réservoir volaille et sont toutes résistantes à la ciprofloxacine (mutation GyrA-T86I ou double mutation GyrA-T86I+D90N), aux tétracyclines (expression du gène *tet(O-32-O)*) et à la streptomycine (expression du gène *ANT(6)-If-aadE*).

Les souches appartenant à ce cluster étaient réparties sur tout le territoire national.



En diminuant le seuil de différence entre les souches à 4 variations alléliques (i.e. un cluster de souches se forme lorsque deux souches ont moins de 4 gènes du core-genome de différence), ce cluster ne se démarque plus. Cela ne correspond donc pas à une diffusion épidémique d'un clone. Toutefois, ces souches de *C. coli* seront surveillées de très près en 2025.

Depuis 2023 la moitié des volailles consommées en France sont importées (Pologne, Ukraine, Belgique notamment), l'émergence de clusters est donc un élément important à surveiller. Cependant l'absence de politique de séquençage massif dans ces pays de souches potentiellement présentes dans les réservoirs empêche tout comparatif à l'échelle européenne et ce dans une optique One Health.

### 3.5.3 Développement du réseau Hélico-net comme outil de surveillance épidémiologique des infections à *H. pylori* en France

L'objectif premier était d'élargir le réseau de surveillance des infections à *H. pylori* du CNR et si possible à l'ensemble du territoire national. L'objectif second était de faire un état des lieux des pratiques diagnostic au sein des laboratoires de biologie, notamment la place de la culture et de la PCR.

En 2024, 28 laboratoires (18 CHU, 5 CH et 5 laboratoires privés) ont saisi des données dans le site Hélico-net. Ces laboratoires ont accès, via le site internet du CNR, à l'aide d'un login et mot de passe à un site de saisie. Seuls les cas d'infection à *H. pylori* sont saisis (par culture et/ou PCR).

Les principales données demandées sont :

- des données patients (anonymisées) : âge, sexe, code postal, pays de naissance ;
- nature et localisation des biopsies ;
- données cliniques : diagnostic, notion de traitement d'éradication antérieur ;
- données microbiologiques : PCR, culture, kit de PCR utilisé, géloses, données antibiogramme.

Les données ont été intégrées aux données du CNR dans le bilan épidémiologique 2024 pour *H. pylori*.

Les CHU et CH ont un recrutement majoritairement local alors que les réseaux de CERBA et Biomnis permettent d'accéder à une couverture nationale plus large.

La moyenne d'âge des patients était de 46 ans (+/-20) avec un sex ratio de 0,93 (données similaires à celles du CNR).

Une notion de traitement était renseignée dans 65,3% des cas avec 355 patients naïfs de traitement et 190 patients en échec. Le détail des traitements était renseigné pour 91 dossiers sur 190 (47,9%) avec une notion de prescription de Pylera® dans 79,2% (seul ou associé à 1 ou 3 autres lignes de traitement).

Le format de PCR *H. pylori* majoritairement utilisé est le kit Rida®Gene *H. pylori* de rbiopharm (63%) suivi du kit Allplex™ *H. pylori* Clari R assay de Seegene (19%). Ces deux kits ont par le passé été évalués au CNR.

La PCR *H. pylori* est pratiquée dans 23 des 28 laboratoires participants (82,1%), 2 laboratoires ne réalisent que la PCR et 5 uniquement la culture.

La gélose pour primoculture est en majorité la gélose Pylo bioMérieux (85,7%). La gélose antibiogramme plébiscitée est la gélose MH-F (67,8%) suivie de la gélose Schaedler vit K1 (19,3%).

Les données antibiogrammes ont été évaluées à l'aide d'un EEQ envoyé aux laboratoires participants.

Les données PCR ont été analysées pour vérifier la concordance génotype/phénotype pour la résistance aux macrolides. Le CNR a demandé à chaque laboratoire d'envoyer l'ADN ou le reliquat de broyat au CNR pour vérification des quelques discordances.

Le pays de naissance était renseigné dans 51% des dossiers saisis (environ 50% de patients nés en France).

Les données d'antibiorésistance ont été intégrées aux données 2024 du CNR.

Nous remercions chaleureusement les biologistes participant à ce nouveau réseau. Les données collectées sont d'excellente qualité. Notre CNR, grâce à ce réseau, améliore sa surveillance épidémiologique des infections à *H. pylori* en France. Le recrutement de nouveaux participants continue. L'intégration en janvier 2024 du laboratoire CERBA nous a permis d'augmenter significativement la couverture de notre réseau : un grand merci au Dr S. Trombert.

### 3.5.4 Participation au PHRC REBALANCE (2019-2024)

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 2019-2024 est présenté ci-dessous.

| Bilan REBALANCE  |      |      |      |      |      |      |             |
|--|------|------|------|------|------|------|-------------|
|  | 2019 | 2020 | 2021 | 2022 | 2023 | 2024 | Total       |
| <b>Nombre total de selles reçues</b>                       | 42   | 0    | 7    | 27   | 40   | 22   | <b>138</b>  |
| <b>Nombre de selles positives à <i>Campylobacter</i> :</b> | 0    | -    | 1    | 1    | 4    | 0    | <b>6</b>    |
| <b>par culture</b>   | -    | -    | 0    | 0    | 0    | -    | <b>0</b>    |
| <b>par PCR</b>   | -    | -    | 1    | 1    | 4    | -    | <b>6</b>    |
| <b>par ELISA</b>   | -    | -    | 0    | 0    | 1    | -    | <b>1</b>    |
| <b>Nombre de donneurs</b>                                  | 23   | -    | 7    | 13   | 16   | 13   | <b>72</b>   |
| <b>Moyenne d'âge (par donneur)</b>                         | 25   | -    | 30   | 26   | 25   | 23   | <b>25</b>   |
| <b>Ratio H/F (par donneur)</b>                             | 1,6  | -    | 1,3  | 0,9  | 1,28 | 1,2  | <b>1,26</b> |

### 3.5.5 Surveillance des mutations associées à la résistance aux rifamycines, à la tétracycline et à l'amoxicilline chez *H. pylori*

En 2024, le gène *rpoB* de 9 souches de *H. pylori* (5 isolées au CNRCH et 1 isolée au CH de Colmar) ayant une CMI à la rifampicine supérieure à 4 mg/L a été séquencé afin de déterminer les mutations responsables de cette résistance.

| Souche | CMI rifampicine (mg/L) | Mutation <i>rpoB</i> |
|--------|------------------------|----------------------|
| 1      | >32                    | Q527H                |
| 2      | >32                    | D530V                |
| 3      | 32                     | L547F                |
| 4      | >32                    | I586F+T593A          |
| 5      | >32                    | D530A                |
| 6      | >32                    | D530E                |
| 7      | >32                    | D530N                |
| 8      | >32                    | H540N                |
| 9      | >32                    | D530E                |

Les mutations en positions 527, 530, 540 et 547 étaient déjà toutes connues comme étant responsables de la résistance aux rifamycines. Aucune nouvelle mutation n'a été retrouvée.

En 2024, une souche de *H. pylori* présentait une CMI à la tétracycline > à 1 mg/L. Le codon 926-928 de l'ADNr 16S de cette souche est CTA au lieu de AGA, soit 2 nucléotides de différence. Cette position est connue pour être responsable de résistance à la tétracycline, mais ce changement de codon n'avait jamais été rencontré au CNR.

En 2024, 3 souches de *H. pylori* présentaient une CMI à l'amoxicilline supérieure à 0,125 mg/L. Leur génome a été séquencé par la plateforme Henri Mondor.

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.

| Souche | CMI Amoxicilline (mg/L) | Mutation <i>pbp1</i>  |
|--------|-------------------------|-----------------------|
| 1      | 0,38                    | S414R + S417T         |
| 2      | 0,5                     | S414R + S589G         |
| 3      | 0,38                    | V374L + S414R + N562Y |

Les mutations en position 414 et 417 ont été décrites comme potentiellement responsables de la résistance constatée *in vitro*.

### 3.5.6 Surveillance des mutations associées à la résistance aux rifamycines et aux fluoroquinolones chez *H. pylori* pour des biopsies positives en PCR mais négatives en culture

En 2024, nous avons mis en place pour les biopsies positives en PCR mais négatives en culture, la recherche systématique par PCR point final + séquençage Sanger de mutations responsables de la résistance aux fluoroquinolones et rifamycines.

En effectuant des mélanges de souches S et R nous avons déterminé les limites de détection des mutants résistants au sein d'une biopsie qui sont de 10 et 20% respectivement pour les mutations dans la QRDR de *gyrA* (résistance à la lévofloxacine) et *rpoB* (résistance aux rifamycines).

Les principaux résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous.

|                        | <i>gyrA</i>   | <i>rpoB</i> |
|------------------------|---|-------------|
| <b>Sauvage</b>         | 44  | 56          |
| <b>Muté</b>            | 10  | 1           |
| <b>No. de dossiers</b> | 54  | 57          |
| <b>Mutations</b>       | N87I (n=2), N87K (n=4), D91G (n=2),<br>D91N (n=1) et D91Y (n=1) | H540N       |

## 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 2024.

Cependant, le CNR a été en contact avec certains ARS pour des suspicions de TIAC via nos laboratoires partenaires :

- Janvier 2024 GHD Oudot Bourgoin Jallieu = via ARS Rhône Alpes, cas groupés cantine dans le 38.
- Mars 2024 CHU Lyon – ARS + Fanny Chéreau = demande de séquençage d'une souche Lyon Croix Rousse.
- Mai 2024 CH Valenciennes – TIAC ARS HDF.
- Mai 2024 ARS 69 + Fanny Chéreau - ARS Auvergne TIAC Aurillac, 2 souches envoyées au CNR.
- Mai 2024 Fanny Chéreau – Cluster épidémique Co-infection *Campylobacter* + *Yersinia enterocolitica*.

-Réponse en septembre 2024 à une alerte de l'ECDC suite à une épidémie signalée en Irlande à *C. jejuni* CC353, ST8334 : la France selon les données du CNR n'était pas concernée.

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 surtout 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-net et les requêtes réalisées sur le système informatique du laboratoire, nous permettent de vérifier à la demande 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.

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

---

## 5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

-Accueil de stagiaires pour le transfert de techniques

Elhadji Aly NIANG, PhD à l'Institut Pasteur de Dakar, Sénégal : stage d'observation de 8 semaines du 22/01/2024 au 15/03/2024 : approches bactériologiques du diagnostic de l'infection à *H. pylori*.

Accueil de 2 biologistes du laboratoire Eurofins Biomnis (Dr A Soares et Dr T Blanchot) le 05 avril 2024 : perfectionnement dans la réalisation et la lecture des antibiogrammes de *H. pylori*.

Accueil de personnel du CNR Campylobacter belge (biologistes et techniciens) du 2 au 3 juillet 2024 : échanges scientifiques, partage de techniques.

FCIL Biotechnologies Parcours Bio-Diagnostic et Biomédicament, Lycée Technologique Saint Louis : Claudie Perreau (5 mois de stage)

BTS Analyses Biotechnologiques (Lycée de Blanquefort, Gironde) : Marie Pivard, 12 semaines de stage.

Elève de 3<sup>ème</sup>, stage d'observation : Léa Piquet, 1 semaine.

Internes en Biologie Médicale : Sahel Wandji et Quentin Beaufiles. Travaux effectués dans le cadre de leur thèse d'exercice (direction P Lehours).

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

Bilan épidémiologique annuel Campylobacters en collaboration avec SPF disponibles sur <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/campylobacter/donnees/#tabs>

Fanny Chéreau, Marine Jauvain, Henriette De Valk, Philippe Lehours. Bilan de la surveillance des infections à Campylobacter en France en 2023.

-Organisation et participation à des webinaires

-7 février 2024 webinaire du CNRCH pour ses correspondants sous format Zoom :

Bilan des 6 premiers mois de saisies du réseau Hélico-net : un outil de suivi épidémiologique des infections à *H. pylori* en France (Pr P Lehours).

Evaluation au CNR de la gélose sélective *H. pylori* commercialisée par BD (Lucie Bruhl).

Emergence de méthyltransférases chez *Campylobacter* associées à la résistance aux macrolides (Q Jehanne).

-2 Octobre 2024 webinaire du CNRCH pour ses correspondants (webinaire organisé avec la SFM)

Bilan de la mise en place par NGS de l'étude du résistome et de l'épidémiologie des infections à Campylobacters en France par Quentin Jehanne & Philippe Lehours.

Mini-formation Wooclap sur les infections à Campylobacters et Hélicobacters par Marine Jauvain.

Vidéo de démonstration : Broyage des biopsies gastriques pour diagnostic des infections à *Helicobacter pylori* par Lucie Bruhl & Claudie Perreau.

Étapes pré analytiques pour la détection de *Helicobacter pylori* par PCR temps réel et/ou autre culture par Lucie Bruhl.

-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 aussi 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 en lien avec 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 2024, le site a accueilli environ 3692 visiteurs dont 1872 nouveaux visiteurs qui ont vu plus de 13580 pages.

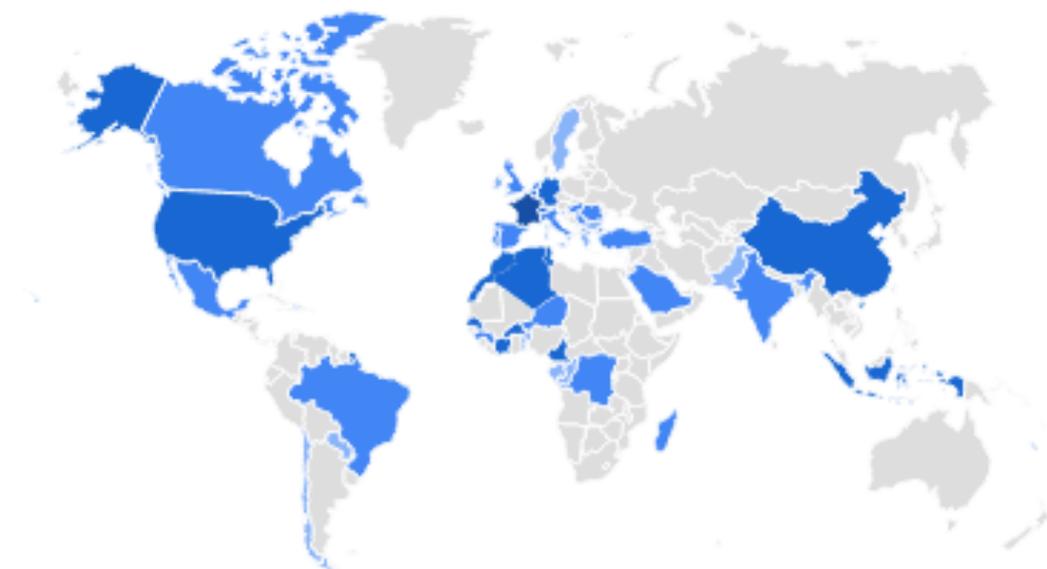
L'augmentation de la fréquentation et du nombre de pages visitées est due à la mise en ligne de webinaire, de la vidéo de démonstration pour le broyage de biopsies gastriques et de nouveaux documents relatifs aux analyses effectuées au CNRCH.

Les pages les plus consultées sont :

- Page d'accueil et actualités : 53%
- Catalogue des actes : 22%
- Fiches techniques : 12%
- Contact : 6%
- Bilans et Publications : 7%.

De 2014 à 2024, le site a accueilli environ 36875 visiteurs qui ont visités plus de 106000 pages.

La majorité des visiteurs proviennent de régions francophones : France 87% dont 2 % pour les départements d'Outre-Mer, suivi par les pays du Maghreb 3%. Nous notons également, en tant que nouveaux utilisateurs, des visiteurs venus de Chine, du Brésil, de Turquie ainsi que des pays d'Afrique de l'Ouest.



Les principales mises à jour du site internet du CNRCH en 2024 sont listées ci-dessous :

- Bon de demande et de renseignements pour l'analyse *Helicobacter sp* sur les extraits d'ADN – janvier 2024.
- Bon de demande et de renseignements pour les demandes d'étude du résistome de *Helicobacter pylori* par NGS (capture d'ADN) (février 2024).
- Document présentant la lecture des nouveaux comptes rendus de résultats NGS pour *Campylobacter* et *Aliarcobacter* (février 2024).
- Webinaire de février 2024 en partenariat avec le GEFH.
- Sensibilisation des correspondants à la période des Jeux Olympiques et Paralympiques, mobilisation par SpF des CNR. avril 2024.
- Bilan de surveillance des Campylobacters en France 2023 par SpF.
- Webinaire d'octobre 2024 en partenariat avec le SFM.

-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 emails et des appels téléphoniques a été réalisé. Les contacts pour conseils thérapeutiques et/ou techniques ont été répertoriés ainsi que les échanges relatifs aux déclarations de cas groupés et TIAC : 497 contacts (versus 258 en 2023), 198 par téléphone et 299 par email.

L'activité des contacts est en forte augmentation par rapport à 2023. Les contacts ne sont pas proportionnels aux évolutions des infections mais se répartissent tout au long de l'année avec une légère hausse en été.

Les contacts furent comme l'an dernier majoritairement destinés aux conseils techniques pour 68 % des contacts et 32 % pour les conseils thérapeutiques. En outre, les contacts concernent à 44 % les infections à *Campylobacter*, à 54 % les infections à *H. pylori* et 2% aux *Aliarcobacters*.

P Lehours participe également à la RCP du Groupe d'Etudes Français des Hélicobacters ([www.helicobacter.fr](http://www.helicobacter.fr)). En 2024, il a participé à l'analyse de la totalité des 135 dossiers soumis.

Les emails sont adressés soit directement aux biologistes du CNR soit *via* le système de messagerie intégré au site internet. Dans ce dernier cas, les biologistes du CNR (P Lehours 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*.

-Pathogen Surveillance in Agriculture, Food and Environment (PATH-SAFE) Programme WS1a Consortium. P Lehours est membre de l'International Interactions Advisory Group.

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

Le CNR n'a pas été sollicité en 2024.

## 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

#### 6.1.1 Pour *Campylobacter*

##### -Participation au protocole CAMPYLODIP de recherche clinique interne au CHU de Bordeaux (2022-2024)

Contexte. L'hypogammaglobulinémie (HG), qu'elle soit primaire ou secondaire, prédispose les patients aux complications infectieuses, notamment par des bactéries encapsulées affectant les voies respiratoires, mais aussi par des infections bactériennes gastro-intestinales, notamment à *Campylobacter*. Cette étude avait pour objectif d'évaluer la prévalence du portage de *Campylobacter* spp. chez les patients atteints d'HG substituée par des immunoglobulines (Ig).

Matériel et méthodes. Nous avons mené une étude prospective monocentrique au CHU de Bordeaux sur une cohorte de patients atteints d'HG primaire ou secondaire recevant un traitement de substitution par Ig. Les patients éligibles consécutifs ont été inclus. Les échantillons de selles ont été analysés pour *Campylobacter* par culture (Campyloset, biomérieux) et PCR (BD MAX enteric panel) au CNRCH. Des évaluations comprenaient une mesure de la calprotectine fécale et un profil immunitaire cellulaire/humoral. Un deuxième échantillon de selles a été collecté chez les patients 6 à 12 mois plus tard.

Résultats. Au total, 73 patients (42 femmes, âge médian 61 ans [48-71]) ont été inclus sur une période de 2 ans (juillet 2022 à juillet 2024), 38 patients ayant fourni un second échantillon de selles, ce qui a donné lieu à 111 échantillons de selles. Parmi les participants, 53 patients présentaient une HG primaire (32 déficits immunitaires variables communs [DICV], 7 déficits de sous-classe d'IgG, 4 agammaglobulinémies de Bruton) et 20 une HG secondaire (7 induite par des médicaments, 8 liées à une hémopathie lymphoïde, 5 mixtes). La durée médiane de substitution d'Ig était de 9 ans et le taux résiduel moyen d'Ig était de  $10 \pm 5,86$  g/L. Le taux d'infection était faible, avec seulement 8,3 % des patients utilisant des antibiotiques plus de trois fois au cours de l'année précédant l'inclusion.

Onze patients (15,1 %) ont été testés positifs pour *Campylobacter*, dont un patient positif à deux reprises. Parmi les 7 cultures positives, les espèces identifiées étaient : *C. jejuni* (n=4), *C. coli* (n=2) et *A. butzelri* (n=1). Parmi les patients positifs, 82 % souffraient d'HG primaire (6 avec CIVD et 3 avec Bruton). Une diarrhée était présente chez 42 % des patients positifs pour *Campylobacter* au moment du prélèvement, contre 15 % chez les patients négatifs pour *Campylobacter*. Les taux médians de calprotectine fécale étaient élevés chez les patients positifs à *Campylobacter* (255 µg/g [149-678], contre 52 µg/g [10-209] chez les patients négatifs. Les taux médians d'Ig résiduelles étaient similaires entre les groupes (8,8 g/L [7,5-10,8] chez les patients positifs contre 8,4 g/L [7-10,7] chez les patients négatifs). Les taux d'IgA et d'IgM étaient plus faibles chez les patients avec des échantillons positifs, mais la différence n'était pas statistiquement significative (IgA : 0 [0-0,72] g/L contre 0,36 [0-1,04] g/L ; IgM : 0,17 [0-0,51] g/L contre 0,40 [0,17-0,83] g/L). Le rapport CD4/CD8 moyen était également plus faible dans le groupe positif ( $1,71 \pm 0,85$  contre  $2,06 \pm 1,18$ ), bien que cette différence ne soit pas significative.

Conclusion. Cette étude identifie une prévalence notable de *Campylobacter* spp. dans les selles des patients atteints d'HG malgré un traitement de substitution Ig adéquat. L'association de symptômes gastro-intestinaux avec des taux élevés de calprotectine fécale chez les patients positifs à *Campylobacter*, suggère une infection active plutôt qu'un portage asymptomatique. Le dépistage de *Campylobacter* spp. doit être envisagé chez les patients atteints d'HG présentant des symptômes digestifs

Ce travail a été intégré au projet de thèse d'un interne en médecine interne du CHU de Bordeaux, Mr Basile Mecherdene.

Un article scientifique est en cours de finalisation.

### 6.1.2 Pour *Helicobacter*

#### -Investigation par NGS d'un cas de bactériémie à *H. pylori*.

Objectifs-Introduction : L'infection par *H. pylori* reste localisée à l'estomac et n'est que rarement associée à des bactériémies. Nous avons caractérisé un cas d'une bactériémie identifiée au CHU de Lyon chez une patiente de 88 ans, présentant un purpura vasculaire disséminé avec un syndrome inflammatoire biologique sans cause infectieuse retrouvée. La culture d'un flacon aérobie d'hémoculture périphérique positif en 94h42 min, retrouve un *H. pylori*. Le CNRCH a été sollicité pour confirmer ce cas.

Matériels et méthodes : L'isolat bactérien a été identifié par MALDI-TOF (Vitek MS) à partir d'une gélose au sang incubée en aérobie pendant 96h et caractérisé au CNR par séquençage NGS. Le génome a été analysé à l'aide du pipeline interne du CNRCH. Suite à cette découverte fortuite, des biopsies gastriques ont été prélevées et envoyées au laboratoire d'histologie du CHU de Lyon qui a confirmé le diagnostic d'infection gastrique. Le bloc FFPE a été envoyé au CNRCH pour extraction d'ADN et séquençage NGS par une technique de Target enrichment selon un protocole adapté aux prélèvements inclus en paraffine. Les séquences reconstruites ont été comparées à celles obtenues par NGS sur la souche isolée du flacon d'hémoculture.

Résultats : Par NGS et technologie Target enrichment, les séquences ciblées ont pu être reconstruites. La souche du flacon d'hémoculture possède le profil d'une souche hyper virulente *cagA* positive (*cagA*, EPIYA ABC) et de génotype *vacA s1i1m1*. L'étude génomique du résistome de cette souche concorde avec le phénotype hyper sensible obtenu *in vitro*. Le résistome obtenu par Target enrichment sur bloc FFPE est identique à celui par séquençage de l'ADN génomique de la souche de l'hémoculture. La classification MLST est également identique : la souche appartient au groupe *HpEurope*.

Conclusion : L'approche NGS confirme la probable identité génétique de la souche de *H. pylori* isolée du flacon d'hémoculture avec les séquences reconstruites par Target enrichment à partir de l'ADN extrait du bloc FFPE. La porte d'entrée ne peut être que gastrique bien qu'aucun élément ne permette d'expliquer cette translocation. Cette stratégie NGS a ensuite été validée sur un plus grand nombre d'échantillons FFPE.

Un article scientifique a été soumis pour publication début 2025.

#### -Adaptation de la technique de capture d'ADN au diagnostic par NGS sur biopsie gastrique incluses en paraffine de l'infection à *H. pylori*. Collaboration avec les laboratoires Agilent.

Contexte : Le diagnostic bactériologique de l'infection par *H. pylori* à partir de biopsies gastriques nécessite soit une PCR, soit une culture. La culture échoue parfois en raison de la fragilité et de la croissance complexe de la bactérie. Le séquençage NGS, à partir d'échantillons primaires, est une solution pour étudier le résistome bactérien. Nous décrivons ici l'adaptation sur biopsies incluses en paraffine de la technique de capture d'ADN développée entre 2022 et 2023 au CNR sur biopsies fraîches pour permettre l'étude du résistome et du virulome de la bactérie.

Matériels et méthodes : 30 biopsies gastriques incluses en paraffine (blocs FFPE) ont été utilisés. Ces blocs proviennent du CHU de Bordeaux (via le CRB Cancer) de patients infectés par *H. pylori* : diagnostic posé par histologie et au CNR par culture et PCR sur biopsies. La majorité de ces patients souffraient de gastrites ou d'épigastralgies. Pour ces patients, l'âge moyen était de 38,8 ans.

Le protocole SureselectXT de Agilent a été adapté pour être utilisé sur automate Magnis (50 à 100ng d'ADN). Le séquençage NGS a été réalisé sur le séquenceur iSeq100 (Illumina). Les sondes ARN utilisées sont celles du virulome (*cagA* et *vacA*), du résistome (*ADNr 23S*, *ADNr 16S*, *gyrA*, *rpoB*, *pbp1*, *rdxA*, *frxA*, *fdxb*) et du typage MLST. Les séquences ont été comparées à celles obtenues par séquençage NGS des souches de *H. pylori* isolées au CNR pour ces mêmes patients.

Résultats : Sur les ADN extraits de ces 30 blocs, tous étaient analysables en DNA capture. Les mutations de l'*ADNr 23S* associées à la résistance aux macrolides et celles de la QRDR de *gyrA* associées à la résistance à la lévofloxacine, celles associées à la résistance aux rifamycines sont correctement détectées. La classification MLST obtenue par cette technique est cohérente avec celle obtenue après analyse des séquences Sanger. Le gène *cagA* est bien détecté, ainsi que les génotypes de *vacA*.

Conclusion : Nos résultats montrent que la technique de DNA capture permet un accès fiable au résistome et au

virulome de *H. pylori* directement à partir de biopsies. Cette approche sur blocs FFPE représente une avancée technologique majeure. En effet de nombreux gastroentérologues ne souhaitent pas envoyer des biopsies en bactériologie alors que les envois en histologie sont systématiques.

Un article scientifique est en cours d'écriture.

### **-Evaluation d'une adaptation technologique des barrettes de PCR temps réel pour le diagnostic de *H. pylori* au sein de biopsies gastriques (collaboration avec le Dr Gabor Lotz, Hongrie)**

Le but de ce projet était de tester une version modifiée de la PCR *H. pylori* de routine du CNR publiée en 2003 et adaptée en 2021 en barrettes.

Ce projet a été réalisé en collaboration avec le Pr Gabor Lotz (Molecular Pathology Laboratory at the 2nd Institute of Pathology, Faculty of Medicine, Semmelweis University). Cette équipe a modifié l'une des amorces utilisées réduisant la taille du produit de PCR obtenu afin d'améliorer les performances sur des ADN extraits de biopsies en paraffine (ADN dégradé).

Nous avons testé 16 ADN extraits de biopsies gastriques FFPE envoyés par M. Lotz pour une validation préliminaire et 99 ADN extraits au CNRCH de biopsies gastriques de routine (89 POS, 10 Neg).

Les valeurs de Ct obtenues avec les amorces de M. Lotz étaient en effet plus précoces sur ADN extraits de biopsies FFPE et les courbes de fusion des amplifiats conformes aux attentes permettaient de différencier les infections à *H. pylori* sensibles ou résistantes aux macrolides.

L'évaluation des amorces de M. Lotz sur ADN extraits de biopsies du CNRCH a donné des résultats parfaitement concordants (amplification et génotype de résistance aux macrolides) avec ceux du CNRCH, mais avec une perte de 0,5 Ct en moyenne sur les échantillons positifs. Par ailleurs, les cas de double population *H. pylori* sensibles et résistantes aux macrolides (n=20) ont été plus difficiles à interpréter avec les amorces de M. Lotz.

En conclusion, la version hongroise de la PCR *H. pylori* du CNR est adaptée aux ADN de biopsies FFPE, en revanche la version bordelaise de la PCR *H. pylori* doit être conservée pour les ADN de biopsies gastriques fraîches.

## **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=9)**

#### **Publications internationales**

-Maurille C, Guérin F, Jehanne Q, Audemard-Verger A, Isnard C, Verdon R, Lehours P, Bonnet R, Giard JC, Le Hello S, Gravey F. Occurrence of in vivo carbapenem-resistant *Campylobacter coli* mediated by *porA* point mutation and overexpression of *blaOXA-489* under meropenem treatment. **Clin Microbiol Infect.** 2024 Jul 3:S1198-743X(24)00307-0. doi: 10.1016/j.cmi.2024.06.027. Online ahead of print.

-Vale FF, Roberts RJ, Kobayashi I, Camargo MC, Rabkin CS; HpGP Research Network. Gene content, phage cycle regulation model and prophage inactivation disclosed by prophage genomics in the *Helicobacter pylori* Genome Project. **Gut Microbes.** 2024 Jan-Dec;16(1):2379440. doi: 10.1080/19490976.2024.2379440. Epub 2024 Aug 12.

-Q Jehanne, L Bénéjat, L Azzi Martin, V Korolik, A Ducourneau, J Aptel, A Ménard, M Jauvain, C Aguilera, A Doreille, L Mesnard, C Eckert, P Lehours. First isolation of *Campylobacter vicugnae* sp. nov. in humans suffering from gastroenteritis. **Microb Spectrum** 2024. Nov 5;12(11):e0152324. doi: 10.1128/spectrum.01523-24. Epub 2024 Oct 4. PMID: 39365090

-F Bos, R Gueneau, T Crepin, C Tinévez, B Taton, L Couzi, K Moreau, B Schwartz, P Perrin, P Gatault, A Scemla, V Chatelet-Pouliquen, C Levi, N Kamar, F Lanternier, D Neau, P Merville, P Lehours, M Puges, H Kaminski Epidemiology of *Campylobacter* spp. infection in kidney transplant recipients: a retrospective multicentric case-control study in France. **Open Forum Infect Dis.** 2024. Sep 4;11(9):ofae498. doi: 10.1093/ofid/ofae498. eCollection 2024 Sep. PMID: 39296338.

-Quentin Jehanne, Lucie Bénéjat, Astrid Ducourneau, Johanna Aptel, Marie Pivard, Léo Gillet, Marine Jauvain, Philippe Lehours. Increasing rates of *erm(B)* and *erm(N)* in human *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* erythromycin-

resistant isolates between 2018 and 2023 in France. **Antimicrob Agents Chemother.** 2024. Dec 31:e0166824. doi: 10.1128/aac.01668-24. Online ahead of print.

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

-L. Seeneevassen, A Zaafour, E Sifré, C Genevois, TL Nguyen, Y Pobiedonascew, A Giese, J Guignard, C Tiffon, B Rousseau, AA Raymond, G Bellannée, H Boeuf, C Gronnier, O Martin, J Giraud, P Lehours, P Dubus, C. Varon. Targeting metastasis-initiating cancer stem cells in gastric cancer with leukaemia inhibitory factor. **Cell Death Discov.** 2024 Mar 7;10(1):120. doi: 10.1038/s41420-024-01839-1. PMID: 38453889

-Jauvain M, Lepied G, Bénéjat L, Roudier N, Dussert C, Lehours P, Varon C, Bessède E. Effect of *Lactobacillus gasseri* BIO6369 and *Lacticaseibacillus rhamnosus* BIO5326 on Gastric Carcinogenesis Induced by *Helicobacter pylori* Infection. **Helicobacter.** 2024 Jul-Aug;29(4):e13108. doi: 10.1111/hel.13108. PMID: 39021274

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

-Brousse X, Andry F, Lahouati M, Desmoulin A, Lehours P, Rignol L, Petitgas P, Leroy AG, Charroyer Q. Temocillin efficacy against AmpC  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacterales: a relevant alternative to cefepime? **J Antimicrob Chemother.** 2024 Dec 23:dkae449. doi: 10.1093/jac/dkae449. Online ahead of print. PMID: 39710890

-Gérard R, Pauquet E, Ros B, Lehours P, Renesme L. Continuous Versus Intermittent Vancomycin Infusions for Coagulase-negative Staphylococcus Bacteremia in Neonates: A Propensity-matched Cohort Study. **Pediatr Infect Dis J.** 2024 Sep 5. doi: 10.1097/INF.0000000000004538. Online ahead of print. PMID: 39259856.

#### Publications didactiques

-**Chapitres de livres** : participation à l'écriture d'un chapitre *Campylobacter* pour l'édition 2025 du référentiel le PILY.

#### -Communications nationales

##### Oraux

-Léo Gillet, Pierre Louis Maunet, Lucie Bénéjat, Astrid Ducournau, Marine Jauvain, Emilie Bessède, Quentin Jehanne, Philippe Lehours. Étude du résistome et du virulome de *Helicobacter pylori* par une approche NGS utilisant la technologie de capture d'ADN. Réunion annuelle du Groupe Français d'Etudes des Helicobacter (GEFH) (Janvier 2024, Paris)

-F. Heluwaert, A. Amiot, P. Lehours, D. Moussata, C. Burucoa, J. Raymond, A.L. Betegnien, S. Diamantis, E. Bessède, M. Pichon, S. Trombert-Paolantoni, J.D. de Korwin, F. Mégraud, C. Ribaud, D. Lamarque. *Helicobacter pylori* : le meilleur traitement est parfois l'abstention. Données issues de 364 dossiers de la RCP du Groupe d'Etude Français des Helicobacter (GEFH). Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive (JFHOD). 14-17 Mars 2024 (Paris).

-Johanna Aptel, Léo Gillet, Quentin Jehanne, Erick Keisler, Lucie Bénéjat, Astrid Ducournau, Christophe Rodriguez, Marine Jauvain, Philippe Lehours. Séquençage en routine des Campylobacters : impacts sur l'épidémiologie et l'antibiorésistance. RICAI 2024, 16-17décembre 2024, Paris. CO-104.

-Lucie Bénéjat, Léo Gillet, Claudie Perreau, Marine Jauvain, Philippe Lehours. Evaluation comparative de deux méthodes NGS d'étude du résistome et du virulome de *Helicobacter pylori* à partir de biopsies gastriques. RICAI 2024, 16-17décembre 2024, Paris. CO-026.

##### Posters

-Léo Gillet, Pierre-Louis Maunet, Lucie Bénéjat, Astrid Ducournau, Marine Jauvain, Émilie Bessède, Quentin Jehanne, Philippe Lehours. Étude du résistome et du virulome de *Helicobacter pylori* par une approche NGS utilisant la technologie de capture d'ADN. E-Poster. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive (JFHOD). 14-17 Mars 2024 (Paris).

-Sahel Wandji, Quentin Jehanne, Lucie Bénéjat, Astrid Ducournau, Johanna Aptel, Marion Levast, Marine Jauvain, Philippe Lehours. Description des deux premiers cas humains d'infection à *Helicobacter zhongjianshensis*, un nouvel Helicobacter proche de *H. canis*. RICAI 2024, 16-17décembre 2024, Paris.

-A. Blosse, E. Lembeye, F. Rosenbaum, C. Terjanian, H. Trenthomas, P. Lehours, D. Lamireau, J. Gonzalez, C. Bébéar. Automatisation de l'ensemencement du lait maternel : évaluation des performances. RICAI 2024, 16-17décembre 2024, Paris.

-Anne Gaëlle Ranc, Claudie Perreau, Léo Gillet, Lucie Bénéjat, Astrid Ducournau, Johanna Aptel, Quentin Jehanne, Chantal Sobas, Marine Jauvain, Philippe Lehours. Une bactériémie inattendue à *Helicobacter pylori* : apport du NGS pour confirmation du cas. RICAI 2024, 16-17décembre 2024, Paris.

-Quentin Beauvils, Lucie Bénéjat-Bruhl, Astrid Ducournau, Alicia Chevalier, Philippe Lehours. Evaluation des performances du kit AMPLIQUICK® Fecal Bacteriology (Biosynex) dans le diagnostic des infections bactériennes intestinales. RICAI 2024, 16-17 décembre 2024, Paris.

## -Communications internationales

### Oraux

-Jehanne Quentin, Bénéjat Lucie, Ducournau Astrid, Aptel Johanna, Jauvain Marine, Lehours Philippe. Emergence of methyltransferases associated with erythromycin resistance in *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* in France. 22nd International Workshop on Campylobacter, Helicobacter & Related Organisms, 7 - 9 October 2024 in Perth, Western Australia.

-M. Jauvain, M. Marty, C. Gronnier, C. Varon, E. Bessède « Characterisation of the intratumoral microbiota in gastric cancer » European Helicobacter and Microbiota Study Group (EHMSG), 13 septembre 2024 (Porto).

-Q. Jehanne, L. Bénéjat, A. Ducournau, J. Aptel, M. Jauvain, P. Lehours " Emergence of methyltransferases associated with erythromycin resistance in *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* in France." Food- and Waterborne Diseases Antimicrobial Resistance - Reference Laboratory Capacity (FWD AMR-RefLabCap) Network meeting, 29 octobre 2024 (Copenhague).

### Posters

-Pierre Louis Maunet, Léo Gillet, Lucie Bénéjat, Astrid Ducournau, Marine Jauvain, Emilie Bessède, Quentin Jehanne, Philippe Lehours. Study of the resistome and virulome of *H. pylori* by NGS approach using DNA capture technology. ESCMID Global 2024; 27-30 Avril 2024, Barcelona, Espagne.

-Jehanne Quentin, Raphaële Nove Josserand, Nicolas Benech, Conrad Anne, Charlene Levi, Lucie Bénéjat, Astrid Ducournau, Johanna Aptel, Marine Jauvain, Emilie Bessède, Olivier Dauwalder, Philippe Lehours. Recurrent *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections: the contribution of genomics to the characterization of two cases. ESCMID Global 2024; 27-30 Avril 2024, Barcelona, Espagne. E-Poster.

-Lucie Bénéjat, Astrid Ducournau, Juliette Gebhart, Marine Jauvain, Emilie Bessède, Jürgen Becker, Philippe Lehours. Evaluation of the analytical and clinical performance of a new diagnostic test for the detection of *Campylobacter* antigens in stool specimen. ESCMID Global, Barcelona, Spain, on 27 - 30 April 2024

-Léo Gillet, Lucie Bénéjat, Pierre-Louis Maunet, Claudie Perreau, Astrid Ducournau, Quentin Jehanne, Marine Jauvain, Philippe Lehours. Study of the resistome and virulome of *Helicobacter pylori* by NGS approach using DNA Capture technology. 22nd International Workshop on Campylobacter, Helicobacter & Related Organisms, 7 - 9 October 2024 in Perth, Western Australia.

-A. Blossé, E. Lembeye, P. Lehours, C. Bébéar. Performance assessment of an automated liquid handling module for the bacteriological analysis of pasteurized maternal milks. ESCMID Global 2025; 27-30 Avril 2024, Barcelona, Espagne.

-A. Nunes, M. Azevedo, M.-L. Lemos, A. Amaro, L. Clemente, C. Leão, C. Ragimbeau, J. Mossong, S. Banerji, F. Flieger, D. Espadilha, K.G. Joensen, O.E. Van Den Berg, Q. Jehanne, P. Lehours, J.P. Gomes, M. Oleastro. Multi-country outbreak of multi-drug resistant *Campylobacter coli* ST-10042 strain (2018-2023). ESCMID Global 2024; 27-30 Avril 2024, Barcelona, Espagne.

## -Conférences sur invitations des membres du CNRCH

### -P Lehours

-Chairman de session pour le congrès de l'ESCMID Global 2024 ; 27-30 Avril 2024, Barcelona, Espagne : Twisted tales of curved and spiral bacteria. 30 avril 2024.

-56th Annual Meeting of the European Society For Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Helicobacter pylori* in Children: Update on PCR and molecular testing. Milan, Italie (15-18 Mai 2024).

-31ème réunion annuelle du Groupe Français d'Etude des Helicobacter (GEFH) Un nouveau réseau de surveillance des infections à *H. pylori* en France : le réseau Hélico-net. Bilan des 6 premiers mois de saisies. (Janvier 2024, Paris)

-Session : Infection à *Helicobacter pylori* : similitudes et différences entre les 2 rives de la méditerranée. Que nous apprennent les données épidémiologiques ? Les données françaises. (15 mars 2024, JFHOD 2024, Paris).

-*Campylobacter* infections: past and present. Journée de la recherche translationnelle. Gut and Microbes. Institut Pasteur Paris. 19 novembre 2024.

## 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.

Le CNR a entretenu comme par le passé ses 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).

P Lehours signale à l'ANSES de Ploufragan (Mme Tardy Florence, Unité Mycoplasmodologie Bactériologie Antibiorésistance) l'émergence de tout nouveau mécanisme de résistance tel que 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.

### 7.1 Projet CampySeq en collaboration avec le LNR des *Campylobacters*

Les principales personnes impliquées dans ce projet sont : Amandine Thépault<sup>1</sup>, Quentin Jehanne<sup>2</sup>, Arnaud Felten<sup>3</sup>, Gwenaëlle Mourand<sup>4</sup>, Linda Ducret<sup>1</sup>, Florence Tardy<sup>4</sup>, Martine Denis<sup>1</sup>, Philippe Lehours<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ANSES, LNR des *Campylobacters*, Ploufragan, France

<sup>2</sup>CNRCH, Bordeaux, France

<sup>3</sup>ANSES, Plateforme de séquençage, Ploufragan, France

<sup>4</sup>ANSES, LNR résistance aux antibiotiques chez *Campylobacter*, Ploufragan, France

En début d'année 2024, dans une volonté de renforcer la collaboration entre le CNRCH et le LNR des *Campylobacters* (Laboratoire National de Référence *Campylobacter* spp., ANSES, Ploufragan), laboratoire de référence pour le réservoir animal, le projet CampySeq s'est formé. Ce projet s'est déroulé sur toute l'année et a eu pour ambition de mettre en commun la méthodologie de séquençage des souches de *C. jejuni* et de *C. coli* et l'analyse de ces séquences afin de développer une surveillance coordonnée et efficace des *Campylobacters* dans les réservoirs animaux, sur la chaîne alimentaire ainsi que chez l'Homme sur le territoire national.

Ce projet consiste à comparer un ensemble de souches de *C. jejuni* et *C. coli* d'origines humaines et vétérinaires en provenance des deux centres (CNRCH et LNR, respectivement) afin d'harmoniser les méthodes et analyses NGS et de détecter la présence de clones bactériens et mécanismes de résistance ou virulence au sein de ces deux réservoirs. L'objectif est d'associer d'éventuels cas groupés de campylobactérioses humaines à leurs réservoirs de contamination, avec une surveillance renforcée pendant les événements à grande échelle, particulièrement lors des jeux olympiques de Paris de cette même année.

Afin d'évaluer l'impact des différentes méthodologies de production et d'analyse de données génomiques entre les deux laboratoires, deux tâches ont été définies :

-Tâche 1 : Évaluation de l'impact des différentes méthodes de séquençage sur le clustering d'un panel de souches de *Campylobacter*.

Jeu de données de 16 souches : 6 *C. jejuni* et 2 *C. coli* isolés chez l'animal et 6 *C. jejuni* et 2 *C. coli* isolés chez l'homme. Huit méthodes d'extractions + séquençages différents.

Un total de 128 génomes :

- Extraction QIAGEN, NGS MiSeq (n=16).
- Extraction QIAGEN, NGS NextSeq (n=16).
- Extraction KING FISHER, NGS MiSeq (n=16).
- Extraction KING FISHER, NGS MiSeq (n=16).
- Extraction ROBOT GVB, NGS MiSeq (n=16).
- Extraction ROBOT GVB, NGS MiSeq (n=16).
- Extraction ILLUMINA, NGS iSeq100 (n=16).

- Extraction AP-HP, NGS NovaSeq 6000 (n=16).

-Tâche 2 : Évaluation de l'impact des différents outils et données bio-informatiques sur le clustering d'un jeu de données de séquençage de *Campylobacter* préalablement séquencés.

Jeu de données de 200 génomes : 80 *C. jejuni* et 20 *C. coli* isolés chez l'animal et 80 *C. jejuni* et 20 *C. coli* isolés chez l'homme.

Deux méthodes d'assemblage des génomes différentes : Shovill (LNR) et SKESA (CNR).

Deux méthodes de clustering différentes : ChewBBACA (LNR) et Blast (CNR).

Deux méthodes de détection de la résistance différentes : ResFinder (LNR) et Blast (CNR).

Les résultats seront présentés en annexe 3 de ce rapport.

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

---

### **-Projets 2025-2026 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 rbiopharm.

-Continuer à élargir notre réseau de correspondants afin d'intégrer plus de laboratoires participants. Les CHU, CHG et 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.

-Élargir le réseau Campy-net à quelques laboratoires hospitaliers et privés équipés de MALDI-TOF et participant activement à ce réseau.

-Publier l'analyse rétrospective des données cliniques et épidémiologiques des infections à *Aliarcobacter spp*, à partir d'archives des années passées (2002-2024), afin de clarifier l'origine de ces infections et d'éventuels facteurs de risque prédisposant.

-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 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. Un webinaire de démonstration de la réalisation des antibiogrammes de *H. pylori* sera organisé en avril 2025 par la SFM.

-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*.

-Continuer à collaborer avec le CA-SFM pour la mise à jour annuelle des recommandations.

-Continuer à collaborer avec l'ECCMID pour les recommandations de réalisation et d'interprétation des antibiogrammes des Campylobacters.

-Continuer à collaborer avec les CNR européens (Campylobacters et *H. pylori*).

### **-Projets 2025-2026 concernant *H. pylori* et les Hélicobacters (hors NGS)**

-Continuer le déploiement du réseau Hélico-net afin d'élargir encore la surveillance épidémiologique des infections à *H. pylori* en France ainsi que l'émergence de résistances aux antibiotiques.

-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 (Appolon Biotek, AUS Diagnostics).

-Continuer à former à la demande, tout personnel (biologiste, technicien, étudiants français ou étrangers...) 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 Guyane Française (publication scientifique en cours de finalisation).

-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*.

-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 *H. 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.

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

#### **Mis en place en routine de l'évaluation par NGS du résistome des souches de *Campylobacter sp***

Nous poursuivrons l'analyse en routine du résistome de *Campylobacter* pour les laboratoires nous faisant parvenir des souches déjà identifiées et antibiogrammées. Nous limiterons à 1500 le nombre de génomes séquencés en 2025 (1 semaine/2 sauf période juin-juillet-août) pour respecter notre budget.

#### **Autres projets NGS :**

#### **En parallèle de la mise en place en routine du séquençage des *Campylobacters* nous continuerons :**

- d'analyser régulièrement les génomes de souches de *C. jejuni* et *C. coli* résistantes ou multi-résistantes aux antibiotiques ;
- d'analyser par NGS les cas groupés d'infections à *Campylobacter* ;
- d'identifier les souches posant problème pour leur identification au MALDI-TOF ;
- identifier de nouvelles espèces ;
- de caractériser par NGS tout phénotype de résistance inhabituel.

#### **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.

Nous entretenons également des liens étroits avec le CNR du Portugal et de Belgique et échangeons régulièrement avec eux sur l'émergence de nouveaux ST ou mécanismes de résistance.

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

#### **-Mise en place début 2025 de la stratégie NGS de DNA Capture sur biopsies gastriques incluses en paraffine**

Cf plus haut dans ce rapport

#### **-NGS appliquée aux souches de *H. pylori***

Nos travaux collaboratifs européens et avec le National Institute of Health (NIH, USA) démontrent la bonne corrélation pour *H. pylori* entre génotype et phénotype de sensibilité. Les mutations associées à la résistance aux macrolides, quinolones et tétracyclines 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 toujours sujet à des incertitudes d'interprétation.

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.

Cent souches pourront être séquencées annuellement en routine au CNRCH et gratuitement.

### **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 est et 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.

## Nos correspondants ayant accepté de figurer sur ce rapport en tant que partenaires du CNR et membres du dispositif de surveillance des infections à Campylobacters et-ou Helicobacter

|  |   |
|--|---|
| Plateau technique de Microbiologie OUILAB Biosphère  | Laboratoire Eurofins Biomnis, Lyon, France  |
| Laboratoire Interlabo-Unilabs  | Laboratoire Bioesterel-Biogroup   |
| Laboratoire Biopteam, Bourg en Bresse  | Laboratoire de Microbiologie Clinique, Hôpital Universitaire Necker Enfants Malades AP-HP Centre Paris                      |
| Laboratoires de Biologie Médicale B2A  | Laboratoire de Microbiologie, Hôpitaux Civils de Colmar   |
| Laboratoire du Centre hospitalier intercommunal Toulon-La Seyne sur mer                        | Laboratoire de Microbiologie, CHRU de Nancy   |
| Groupement Biologique des Carmes, Caen   | Laboratoire du GHT Lorraine-Nord, Metz  |
| MEDILAB-Group  | Centre de Biologie Nord Yonne, CH de Sens   |
| Laboratoire Ouilab Biosmose IDF  | Laboratoire BIO 86  |
| Centre de Biologie Médicale, Le Chesnay  | Laboratoire de Biologie, Hôpital Saint-Joseph Saint-Luc Lyon  |
| Laboratoire Inovie Bioaxiome Avignon   | BIO-VSM LAB   |
| Laboratoire Inovie CBM   | Laboratoire de Microbiologie, Centre Hospitalier Inter Communal Nord-Ardenne  |
| Laboratoire Synlab Bioliance   | Bactériologie bi site Saint-Louis Lariboisière, Laboratoire associé au CNR des IST bactériennes, Paris                      |
| Laboratoire de Biologie Médicale NOVABIO   | Laboratoire de microbiologie -Centre Hospitalier de Valenciennes  |
| Laboratoire de Biologie Médicale, Biopole, Pau   | Service de Bactériologie-Hygiène, Centre de Biologie Pathologique Génétique, CHU de Lille                                   |
| Laboratoire de Biologie Médicale du GH du Centre Bretagne, Pontivy                             | Laborizon Centre Biogroup   |
| Laboratoire Delest Dubos, Landes   | Laboratoire du CHI Elbeuf-Louviers- Val de Reuil  |
| Laboratoire de Biologie Médicale de Saint-Benoit, Île de La Réunion                            | Laboratoire de Biologie Médicale, Centre Hospitalier Pierre Oudot, Groupement Hospitalier Nord-Dauphiné                     |
| Laboratoires Mlab  | Laboratoire Centre Hospitalier de Cholet  |
| Laboratoire Océalab, Vannes  | Service de Biologie, Centre Hospitalier d'Antibes Juan Les Pins   |
| Laboratoire du Centre Hospitalier d'Alès-Cévennes, Gard  | Laboratoire du Centre Hospitalier de Dax-Côte d'Argent  |
| Laboratoire de Biologie Médicale, CH d'Angoulême   | Département des agents infectieux, U1070 PHAR2 INSERM, Université de Poitiers, CHU de Poitiers                              |
| Laboratoire Inter Hospitalier de Biologie d'Aubagne, La Ciotat                                 | Laboratoire de Microbiologie, Centre Hospitalier d'Avignon  |
| Laboratoire de Biologie Médicale du Centre Hospitalier d'Ardèche Méridionale, Aubenas          | Synlab Auvergne   |
| Laboratoire d'Avranches, GHT Mont-Saint-Michel   | BIOPTIMA  |
| Laboratoire du Centre Hospitalier Bagnols-sur-Cèze, Hôpital Louis Pasteur                      | Service de Microbiologie du centre Hospitalier Intercommunal Aix-Pertuis  |
| Laboratoire de Bactériologie, CHU de Besançon  | Laboratoire du Centre Hospitalier d'Albi  |
| Laboratoire de Bactériologie, CHU de Brest   | Unité de Bactériologie, Département de Prévention, Diagnostic et Traitement des Infections, GHU Henri Mondor, Créteil       |
| GCS hospitalier Ingres Quercy, CH de Cahors  | Unité de Bactériologie et Hygiène hospitalière, Hôpital Trousseau, Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène CHRU de Tours |
| Laboratoire du Centre Hospitalier de Cambrai   | GCS Biologie 85   |
| Laboratoire de Biologie Médicale, CH de Grasse   | Service de Biologie Clinique, Hôpital Foch, Suresnes  |
| Laboratoire de Biologie Médicale, CH de Guéret   | Laboratoire BIOXA   |
| Service de Biologie Médicale CH Sud Gironde - Site de Langon                                   | LBM Bioalliance, réseau SYNLAB France   |
| GCS de la Mayenne  | GHT Yvelines Nord, CHI de Poissy  |
| Laboratoire de Microbiologie, Pôle Biologie Pathologie, CH Le Mans                             | Laboratoire de Biologie Médicale - Centre Hospitalier Métropole Savoie  |
| Laboratoire du Groupe Hospitalier Bretagne Sud, Lorient  | CHU de Rennes - Hôpital Pontchaillou - Service de Bactériologie - Hygiène hospitalière                                      |
| Laboratoire de Bactériologie - Virologie - Hygiène, CHU de Limoges                             | Service de Bactériologie - Hygiène, CHU de Toulouse   |
| Plateau de microbiologie - Instituts des Agents Infectieux - Hospices Civils de Lyon           | Laboratoire du Centre Hospitalier des Pays de Morlaix   |
| Laboratoire CH de Mayotte  | Laboratoire du Centre Hospitalier d'Abbeville   |
| Laboratoire de Biologie Médicale, Hôpital François Quesnay, Mantes-La-Jolie                    | Laboratoire de Bactériologie et Contrôles microbiologiques du CHU de Nantes   |
| Laboratoire de Bactériologie, CHU de Montpellier   | Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène du CHU de REIMS  |
| Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Archet, CHU de Nice                                      | Centre Hospitalier Mémorial France Etats-Unis de Saint-Lô   |
| Laboratoire Inter Hospitalier de Biologie de Vaucluse, CH d'Orange                             | Laboratoire du Centre Hospitalier de Boulogne-sur-Mer   |
| Laboratoire de Microbiologie, CHU d'Orléans  | Laboratoire Biogroup SELAS CBM 25   |
| Institut Louis Malardé, Papeete  | Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Hôpital Bretonneau CHRU de Tours  |
| Laboratoire de Bactériologie, Pr L. Armand, CHU Bichat Claude Bernard, Paris                   | Laboratoire Commun de Biologie du GHT Béarn et Soule, plateau technique de Microbiologie Est, CH de Pau                     |
| Laboratoire de Biologie Médicale de l'Union Hospitalière de Cornouailles                       | Laboratoire Unilabs Biolab, Chalon sur Saône  |
| Laboratoire du Centre Hospitalier de Saint-Brieuc, Paimpol et Tréguier                         | LBM Synlab SYLAB  |
| Service des Agents Infectieux et d'Hygiène, Laboratoire de Bactériologie, CHU de Saint-Etienne | Laboratoire Synlab Provence, Maison médicale de Provence, plateau diagnostic maladies infectieuses, Aix-en-Provence         |
| Laboratoire de Biologie, CH Tarbes et Lourdes  | Laboratoire de Microbiologie, Centre Hospitalier de Troyes  |
| Laboratoire de Bactériologie et Hygiène hospitalière, CHU Grenoble Alpes                       | Laboratoire du Centre Hospitalier de Saumur   |
| Laboratoire de Biologie du Grand Hôpital de l'Est Francilien                                   | Laboratoire de Biologie Médicale, CHI de Créteil  |
| Inovie Garosud Montpellier   | Groupement des Hôpitaux de l'Institut Catholique de Lille   |
| Service de Bactériologie-Hygiène, CHU de Bicêtre   | Laboratoire de Bactériologie - Centre Hospitalier de Cayenne  |
| Service de Bactériologie, Centre de Biologie, CHU de Clermont-Ferrand                          | Laboratoire des Hôpitaux Nord-Ouest - Villefranche-sur-Saône  |
| Service de Bactériologie - Hygiène Hôpital Antoine Béclère - AP-HP Université Paris Saclay     | Laboratoire jp Varlot, Louhans  |

# Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

---

## 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 :

### 1.1.1 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 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.

### 1.1.2 Pour *Helicobacter*

#### 1. Expertise

- en identifiant et en caractérisant les souches, notamment en termes 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 *Hélicobacters* est portée par le Pr Philippe Lehours. Il sera secondé jusqu'à fin avril 2025 par le Dr Marine Jauvain et à partir de mai 2025 par le Dr Moeava Martin (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, 56 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.

-Personnel scientifique et technique affecté au CNR

Lucie Bénéjat, 42 ans, Master 2, Ingénieur hospitalière, (CDI, ETPT : 1), recrutée en 2011. Elle est responsable du développement technologique notamment moléculaire. A ce titre, elle supervise 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, 34 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.

Léo Gillet, 24ans, Ingénieur hospitalier, M2, (CDD, ETPT : 0,5) seconde depuis juillet 2023 Quentin Jehanne dans tous les projets de routine NGS du CNR. Il participe également pour 0,5 ETPT à l'activité bioinformatique du CNR-IST (Pr C Bébéar).

Astrid Ducournau, 33 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, 25 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, 37 ans, Technicienne hospitalière (CDD, ETPT : 0,5) s'occupe de la qualité pour participer à l'accréditation des activités du CNRCH. Elle participe également pour 0,5 ETPT à l'activité qualité du CNR-IST (Pr C Bébéar).

Un(e) 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, 58 ans, Adjoint administratif du CNRCH, CDI (ETPT : 0,8) participe 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, aux saisies sur Campy-net 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 2024-2027 est indiqué ci-après.

| Fonction                 | Nom                          | Qualification | Statut    | ETPT      |
|--------------------------|------------------------------|---------------|-----------|-----------|
| Responsable scientifique | Philippe Lehours             | PharmD, PhD   | PU-PH     | 0,2       |
| Biologiste               | Marine Jauvain/Moeava Martin | PharmD        | AHU       | 0,1       |
| Ingénieur hospitalier    | Lucie Bénéjat                | M2            | CDD       | 1         |
| Ingénieur hospitalier    | Quentin Jehanne              | PhD           | 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%) | 0,5       |
| 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)

### 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°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, Bâtiment BBS) à moins de 200 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°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°C ;
- 6 congélateurs à -80°C (New Brunswick Scientific).

Les étuves et congélateurs sont reliés au système de surveillance de la température MySirius 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 Orion (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.

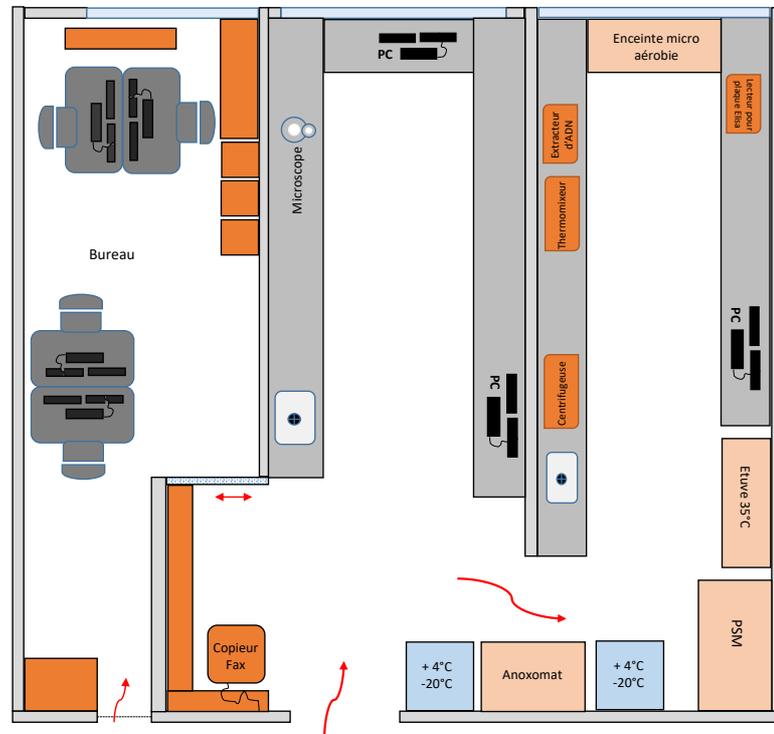


Figure : Plan simplifié des locaux du CNRCH.

### Acquisition d'une station de travail pour les analyses bioinformatiques

En parallèle d'une augmentation de l'activité de séquençage dès le début de l'année 2024, une augmentation du temps et des besoins d'analyses bioinformatique a été résolue par l'achat d'une nouvelle station de travail par le CNR, permettant l'exécution automatisée et accélérée du pipeline *Campylobacter* développé par Quentin Jehanne, sollicité chaque semaine, à la réception des fichiers de séquençage. Elle est aussi adaptée aux multiples travaux de recherches actuels et à venir, ainsi qu'à l'hébergement des différentes applications web utilisées au CNR, telles que les plateformes NGS et PCR *Helicobacter pylori*. Enfin cette station de travail est utilisée conjointement avec le CNR IST (Pr C Bébéar).

#### 1.4 Collections de matériel biologique

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=21).

L'ensemble des souches ou de leur ADN est disponible gratuitement : les demandes peuvent être formulées par mail, courrier ou téléphone. Plus de détails seront présentés dans l'annexe 4 de ce rapport.

### 1.5 Démarche qualité du laboratoire

Le CNRCH fait partie du Pôle de Biologie et Pathologie qui est entré dans une demande d'accréditation COFRAC ISO 15189. Le recrutement d'une technicienne qualité depuis 2018 permet au CNR de poursuivre sa démarche d'accréditation de ses activités.

En 2023, notre technicienne Astrid Ducournau a été habilitée à la mission de Correspondant Assurance Qualité (CAQ) ce qui permet de renforcer l'équipe qualité au CNR dorénavant composée de 3 CAQ (Marie Taymont, Lucie Bruhl, Astrid Ducournau). En 2024, l'équipe qualité est restée opérationnelle et a conservé ses activités en vue d'accréditation.

Audits : Un audit de traçabilité sur sérologie *C. jejuni* a été réalisé au sein du CNR en 2024. Tous les écarts relevés ont été solutionnés. La finalisation du dossier de validation de méthode pour la culture de *H. pylori* est prévue pour la fin 2025. Un audit interne qualité est programmé, sur la culture de *H. pylori*, au deuxième semestre 2025.

**Le laboratoire est officiellement accrédité pour l'identification et la culture des *Campylobacter* sp et autres germes apparentés (ligne de portée BM MG11) pour l'antibiogramme (ligne de portée BM MG12). Le CNR est également accrédité pour la détection de *H. pylori* par PCR (BM BA02).**

Pour garantir le bon déroulement de l'activité, le CNRCH effectue des extractions informatiques afin de produire des indicateurs de rendu de résultats. En 2024, tous les indicateurs étaient conformes aux engagements annoncés sur le site internet du CNR ([www.cnrch.fr](http://www.cnrch.fr)).

EEQ/CIL :

| Programme EEQ          | Examen   | Méthode   | No. | No. conformes | Précisions                         |
|------------------------|--|---|-----|---------------|------------------------------------|
| <b>ECDC</b>            | *Identification (souche) <i>Campylobacter</i> sp + antibiogramme | MALDI-TOF + diffusion en milieu gélosé                                | 5   | 5             |                                    |
|                        | *NGS seul pour <i>Campylobacter</i> (traitement Data)            | Analyse bioinformatique   | 3   | 3             | WGS-EQA                            |
|                        |  | ADN, séquençage, analyse bioinformatique                              | 3   | 3             | RT3-EQA                            |
| <b>QCMD</b>            | PCR <i>H. pylori</i>   | PCR en temps réel   | 10  | 10            |                                    |
| <b>Ring Test (CIL)</b> | Culture <i>H. pylori</i> + identification antibiogramme          | Milieu sélectif maison, identification conventionnelle, CMI par Etest | 3   | 3             |                                    |
| <b>LabQuality</b>      | Détection des antigènes de <i>H. pylori</i> dans les selles      | Détection immunochromatographique                                     | 6   | 5             | Echantillon en limite de détection |
| <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.

En 2024 et pour la dernière fois, 2 contrôles qualité ont été organisés :

-Avril 2024, contrôle qualité 1, "WGS-EQA-C24" : ce contrôle a été réalisé à partir de 3 échantillons d'ADN envoyés par le DTU et consistait à utiliser le protocole NGS établi en routine au CNRCH puis les différents outils bio-informatiques.

-Mai 2024, contrôle qualité 2, "RT3-EQA-C24" : ce contrôle a été réalisé à partir de 3 échantillons déjà séquencés au préalable (3x2 fichiers.fastq.gz, exemple : RT3-EQA-01\_R1.fastq.gz et RT3-EQA-01\_R2.fastq.gz) et consistait à utiliser uniquement les outils bio-informatiques mis en place au CNRCH.

**Tableau : Résultats obtenus par le pipeline d'analyses bio-informatiques du CNRCH sur les deux contrôles qualités.**

| Échantillons | ANI              | CC  | ST    | Détection des mécanismes de résistance  |
|--------------|------------------|-----|-------|---|
| WGS-EQA-01   | <i>C. coli</i>   | 828 | 872   | <i>bla_oxa</i> -G63T ; GyrA-T86I ; 23S-A2075G ; <i>tet(O)</i> ; <i>ant(6)-lg</i>  |
| WGS-EQA-02   | <i>C. coli</i>   | 828 | 12073 | <i>bla_oxa</i> ; GyrA-T86I ; <i>erm(B)</i> ; <i>tet(O-32-O)</i> ; <i>aph(3')-IIIa</i> ; <i>sat-4+ant(6)-lf-aadE</i> ; <i>ANT(9)-lc-aad9</i> ; <i>cat(pC194)</i> |
| WGS-EQA-03   | <i>C. jejuni</i> | 353 | 7433  | <i>bla_oxa</i> -PROM2021 ; GyrA-T86I ; <i>tet(O)</i> ; <i>aph(2'')-lf</i> ; <i>aph(3')-IIIa</i> ; <i>ant(9)-lc-aad9</i> ; C589                                  |
| RT3-EQA-01   | <i>C. coli</i>   | 828 | 828   | <i>bla_oxa</i> -G63T ; GyrA-T86I ; 23S-A2075G ; <i>tet(O-32-O)</i> ; <i>sat-4</i> ; <i>aph(3')-IIIa</i> ; <i>aac(6')-lm</i>                                     |
| RT3-EQA-02   | <i>C. coli</i>   | 828 | 12073 | GyrA-T86I ; <i>erm(B)</i> ; <i>tet(O-32-O)</i> ; <i>aph(3')-IIIa</i> ; <i>sat-4+ant(6)-lf-aadE</i> ; <i>ant(9)-lc-aad9</i> ; <i>cat</i>                         |
| RT3-EQA-03   | <i>C. jejuni</i> | 464 | 464   | <i>bla_oxa</i> ; GyrA-T86I ; <i>tet(O-32-O)</i>   |

Les résultats en **vert** sont ceux attendus par le DTU et rendus par le CNRCH et en **rouge** ceux attendus par le DTU mais non rendus par le CNRCH. Les résultats sans couleur sont ceux rendus par le CNRCH mais non attendus par le DTU.

De manière générale, quel que soit le contrôle qualité, les différentes espèces (identifiées ici par la méthode Average Nucleotide Identity ou ANI, doi : 10.1038/s41467-018-07641-9) et typages attendus (CC=Complexe clonal, ST=Sequence type, selon le typage MLST défini par Dingle *et al.* en 2001, doi : 10.1128/JCM.39.1.14-23.2001) ont bien été retrouvés.

Concernant la détection moléculaire de la résistance aux antibiotiques, le pipeline d'analyses bio-informatiques du CNRCH a montré à nouveau d'excellentes performances. Sur un total de 36 mécanismes attendus par ces deux contrôles qualité, 33 ont été rendus par le CNRCH, soit 92% d'efficacité. Comme les années précédentes, le DTU estime que la résistance aux pénicillines du groupe A est uniquement associée à la présence d'une bêta-lactamase (ici notée comme "OXA") et non via la mutation G63T de sa région promotrice comme décrit par Zhang *et al.* en 2014 (doi : 10.1093/jac/dkt515). Si on omet cette discordance dans le rendu des résultats, à savoir pour les échantillons WGS-EQA-02 et RT3-EQA-03, le pourcentage d'efficacité du pipeline du CNRCH monte à 97% (33 mécanismes rendus sur 34 attendus). Un seul gène n'était finalement pas présent dans la base de mécanismes de résistance du CNRCH et a été ajouté, à savoir le gène *aac(6')-lm* associé à la résistance à la néomycine.

### Projets pour l'année 2025 :

L'accréditation se poursuit et sera élargie avec l'ajout de nouveaux examens. Une demande d'extension est prévue pour inclure la culture, l'identification et l'antibiogramme de *H. pylori*, ainsi que l'ajout de la sérologie de *Campylobacter*. L'objectif est d'atteindre une **accréditation complète** de toutes les techniques lors de la prochaine visite COFRAC.

Il est envisagé si besoin de reprendre la collaboration avec le laboratoire de référence des Campylobacters au Portugal (Institut National de la Santé Ricardo Jorge à Lisbonne), dirigé par le Dr Mónica Oleastro. En effet, un échange de souches avait été réalisé en 2023 dans ce cadre précis et avait montré des résultats très satisfaisants (cf bilan annuel pour cette année).

# Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

## 2.1 Liste des techniques de référence

Les éléments surlignés en gris correspondent aux techniques qui sont ou seront accréditées prochainement.

### **Pour *Campylobacters* et bactéries apparentées (Aliarcobacters), 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 et biopsies incluses en paraffine ;
- sérologie par chimioluminescence (LIAISON® *H. pylori* IgG, commercialisé par Diasorin) et Immunoblot (Helicoblot 2-1, Genelabs, Singapour).
- recherche de *H. pylori* dans des prélèvements de selles : tests immunochromatographiques rapides.

## 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*. La spectrométrie de masse MALDI-TOF 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 *Aliarcobacter* 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 aiguës 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 *Aliarcobacter*.

### -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 réfléchi. 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 *Aliarcobacter* 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-cerveau, 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 trousse 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 trousse 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.

L'application de stratégies NGS pour la détection du résistome et du virulome de *H. pylori* représente pour les années à venir une révolution dans le diagnostic de cette infection.

## 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 trousse 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 diagnostic 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 diagnostic 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. A ce jour aucun format de PCR commercial n'est adapté pour la détection sur selles à la fois de la bactérie et des mutations associées à la résistance aux macrolides (Donnars A. Diagn Microbiol Infect Dis. 2025 Feb 25;112(2):116771. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2025.116771. Online ahead of print. PMID: 40043336.)

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, MH-F 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.

# Annexe 3 : Autres informations (non destinées à être rendues publiques)

---

Non rendue publique.

**3.1 Permanence du CNR <sup>1</sup>**

**3.2 Autorisations MOT <sup>2</sup>**

**3.3 Autorisations d'exercer la biologie médicale**

**3.4 Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo**

**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**

**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**

**3.7 Autres remarques à destination du comité des CNR**

---

*1 Ces informations seront conservées exclusivement par Santé publique France aux seules fins de contacter un CNR en cas d'urgence ; elles ne seront pas rendues publiques.*

*2 Micro-Organismes et Toxines de la liste prévue à l'article R. 5139-1 du code de la santé publique. La liste des MOT est actuellement fixée par l'arrêté du 30 avril 2012 modifié par les arrêtés du 6 novembre 2014 et par l'arrêté du 2 octobre 2015.*

# Annexe 4 : Inventaire de la collection de matériel biologique

---

Non rendue publique.