



La résistance des *Campylobacter sp* : évolution croisée chez l'homme et l'animal

Pr Lehours Philippe

CHU de Bordeaux, laboratoire de Bactériologie
CNR des Campylobacters et des Hélicobacters
Université de Bordeaux, INSERM U1053.

→ Localisation

- › basé à Bordeaux depuis 1993 (gestion UB jusqu'à fin 2016)
- › renouvelé pour 2017-2021 (gestion CHU Pellegrin)

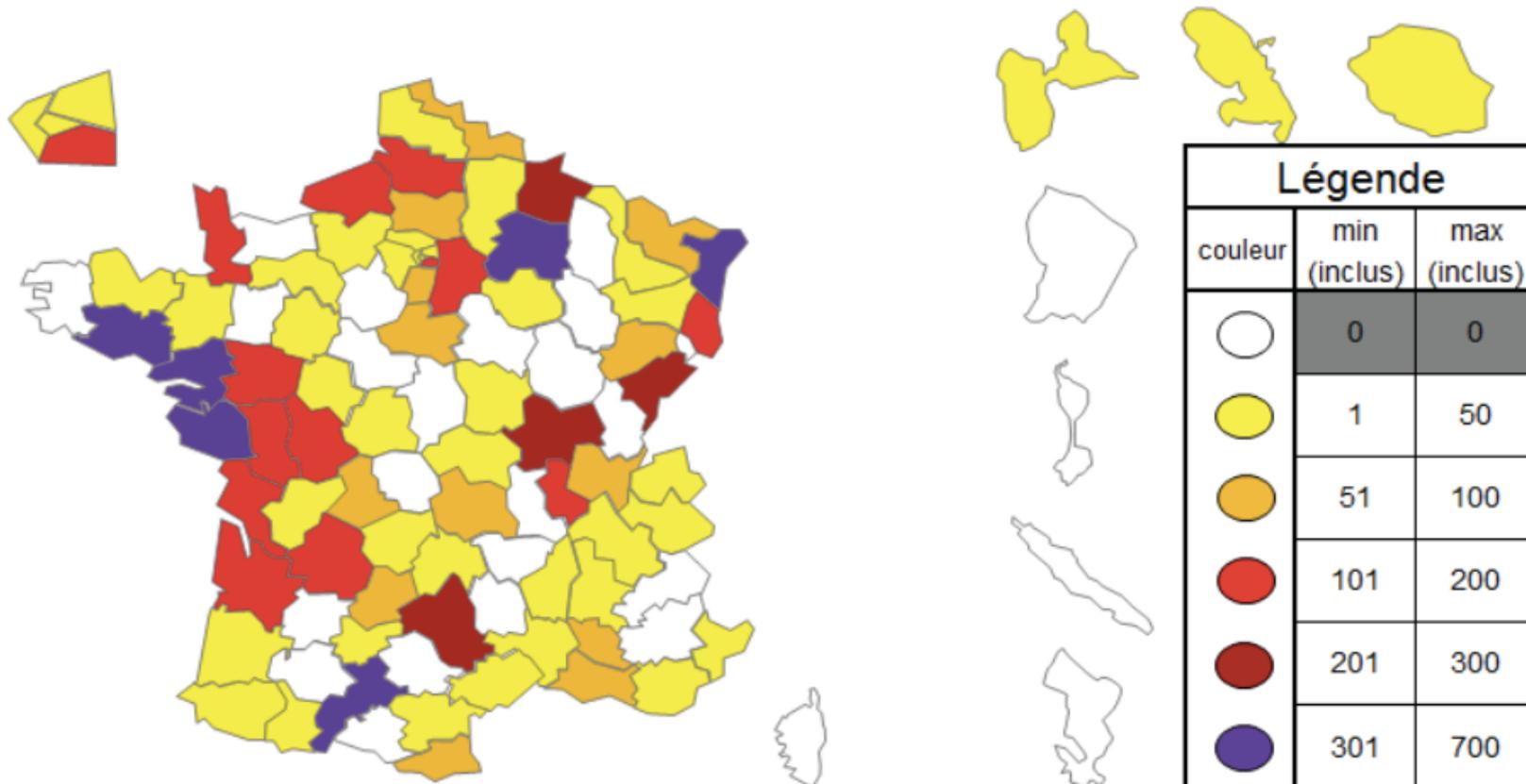
→ 4 principales missions

- › surveillance épidémiologique (identification, résistances)
- › alerte (signaler tout évènement anormal, épidémies)
- › expertise (standardisation, validation et dissémination de méthodes pour le diagnostic et le traitement de ces infections)
- › conseils aux microbiologistes et aux cliniciens, formations continues

Le CNRCH

- Réseau *Campylobacter* (laboratoires, 71 départements, 3 DOM)
 - › hospitaliers (approx. 71)
 - › privés (approx. 130)

en 2017 : 7042 souches



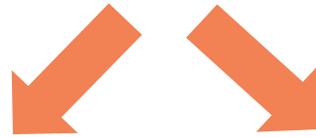
Analyses de routine sur les Campylobacters au CNRCH



Milieu de transport



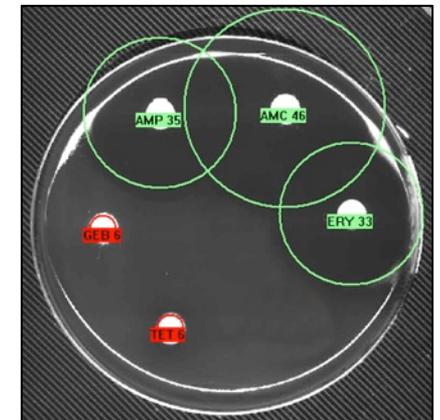
Culture



MALDI-TOF MS
(Bruker Daltonics)



ATB^{ame} (diffusion en disque)



Pathogénie des infections à *Campylobacter* sp.

- Diarrhées infectieuses
 - Syndrome de l'intestin irritable
 - Bactériémies
 - Méningites
 - Autres infections invasives
 - Syndrome de Guillain Barré
 - Arthrite réactionnelle
 - Erythème noueux
 - Urticaire
 - Maladie des chaîne lourde α
- infections intestinales
- infections invasives
- manifestations post-infectieuses
- Lymphome de type MALT

Souches identifiées au CNRCH- données 2017

	Selles	Sang	Autres	Total
<i>C. jejuni</i>	5450	65	12	
	5 676			
<i>C. coli</i>	781	8	0	
	883			
<i>C. fetus</i>	159	52	8	
	93			
<i>A. butzleri</i>	78	0	0	
	69			
<i>C. lari</i>	16	3	6	
	20			
<i>C. upsaliensis</i>	7	1	0	
	8			
<i>A. cryaerophilus</i>	7	0	3	
	6			
Autres	81	5	3	
	14			



- La campylobactériose est la cause la plus fréquente de gastro-entérite aiguë dans l'UE et dans les pays industrialisés
 - › zoonose bactérienne reconnue la plus courante
- 80% des infections à *Campylobacter sp* sont contractées via l'alimentation
 - › les poulets sont la source principale de contamination
 - › principal facteur de risque = consommation de viande poulet de chair peu cuite ou par contamination croisée

Luber *et al.* 2009

Sheppard *et al.* 2009

Hermans *et al.* 2012

Mossong *et al.* 2016

Wilson *et al.* 2009

Kitti *et al.* 2013

Müllner *et al.* 2010

Un problème dans de nombreux pays-quelques chiffres

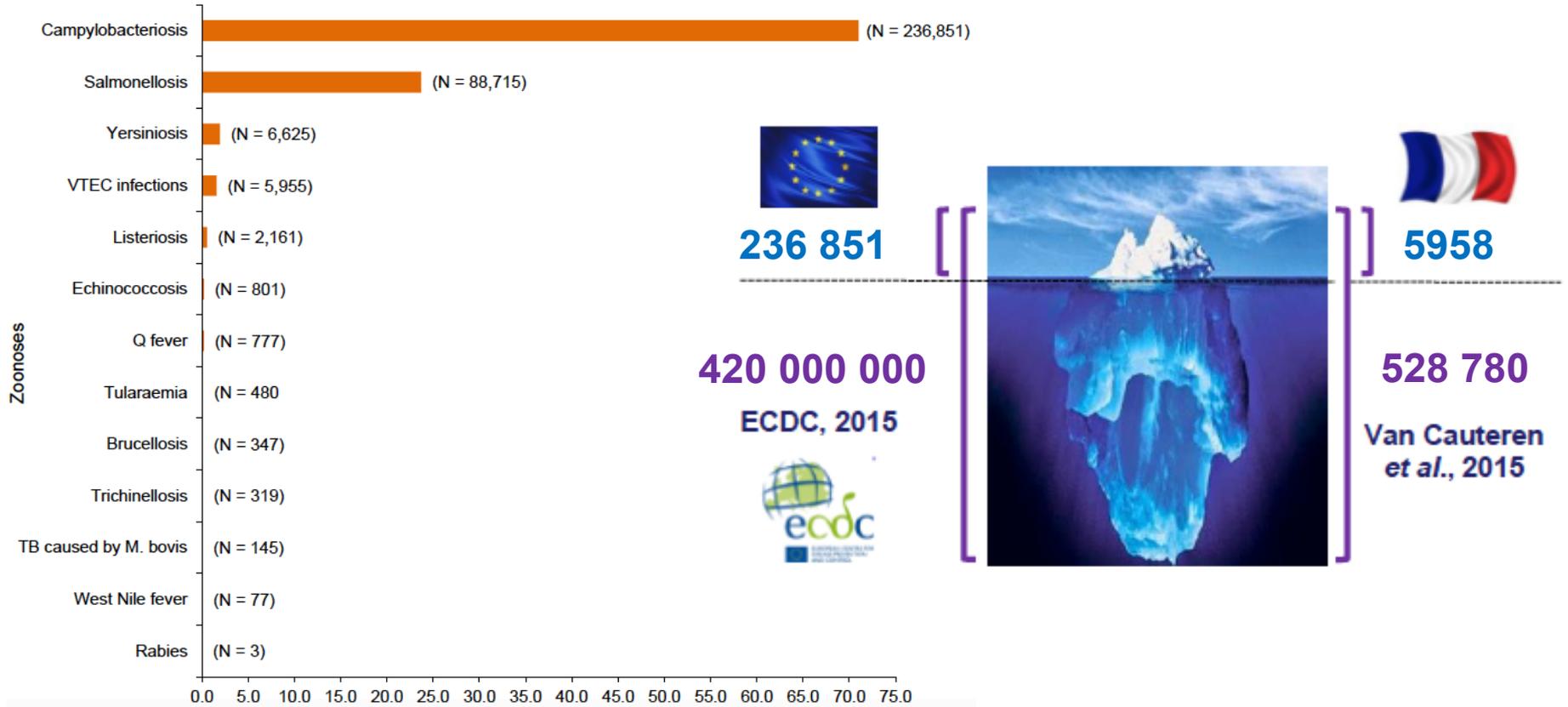
- Cas confirmés et rapportés en 2014
 - › USA : 13,3/100 000
 - › 27 pays UE : 60/100 000
 - › UK et Pays de Galles : 104/100 000
- Grande disparité :
 - › diversité dans les systèmes de surveillance et de déclaration
- Les cas rapportés ne sont que le sommet de l'iceberg



ECDC Campylobacter annual report 2016 (2014 data)
Foodnet Annual Report 2014

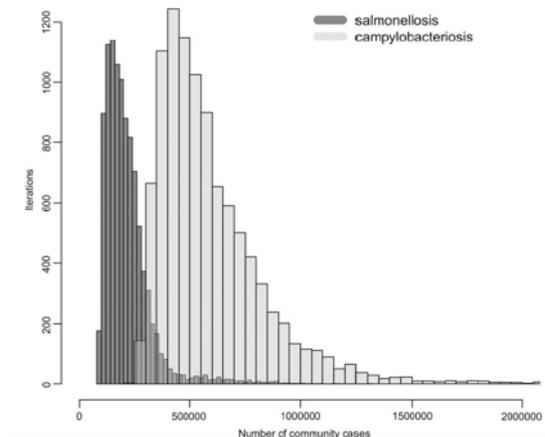


Différentiel cas déclarés-personnes infectées



- Estimation de l'incidence des infections à *Campylobacter*
- Critères pris en compte
 - › probabilité pour un cas d'avoir consulté un médecin
 - › d'avoir eu une coproculture prescrite et réalisée pour la recherche de *Campylobacter* et de *Salmonella*
 - › souche isolée envoyée au CNR
- *Campylobacters* 842 cas pour 100 000 (IC 90% 525-1690)
- *Salmonelles* 307 cas pour 100 000 (IC90% 173-611)

Van Cauteren *et al.* Foodborne Pathog Dis, 2015



De multiples sources d'infection



Facteurs de risques d'infection

NL

De

C. jejuni

Poulet, viande grillée, restaurants, chats

Poulet

C. coli

Viande peu cuite ou grillée, natation
restauration de rue

Porc

Rosner *et al.* Sci Rep 2017

- Etude cas-témoins française conduite entre Sept. 2002 et Juin 2006 (identification de facteurs de risques indépendants)
 - › peau du poulet
 - › consommation de viande de bœuf crue
 - › repas au restaurant
 - › mauvaise hygiène dans la cuisine



Gallay A *et al.* J Infect Dis 2014

Pourquoi la volaille? Forte colonisation

- 10^8 *Campylobacter*/g de contenu caecal
- Prévention
 - › pas de vaccin
 - › phages, décontamination chimique ou physique (réduction de 1-2 log seulement)

Réservoirs de *C. fetus*

→ Réservoirs de *C. fetus*

- › absent du porc
- › absent des volailles (température corporelle trop élevée)

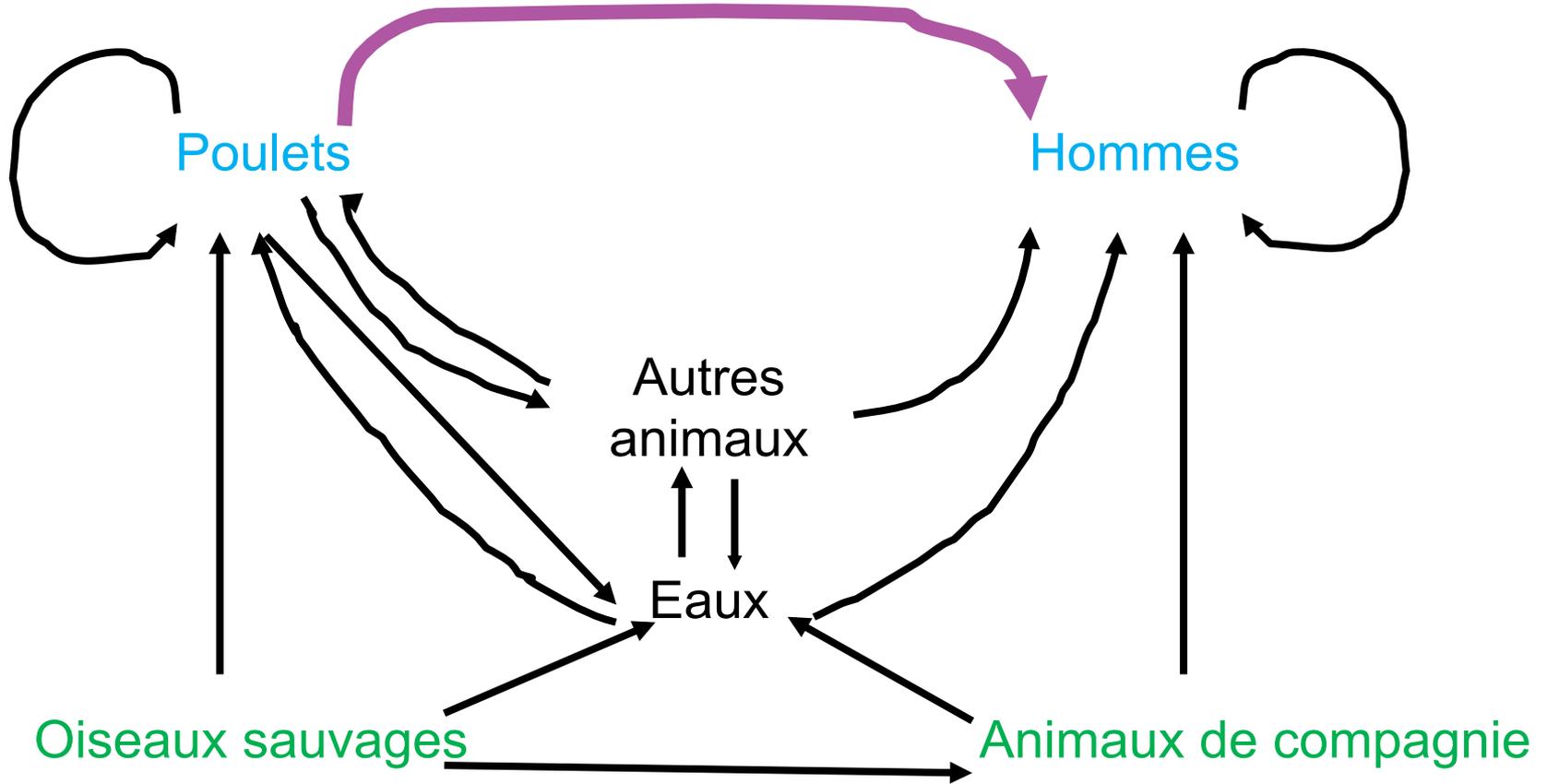
→ Les produits alimentaires provenant des bovins et des ovins sont les plus susceptibles d'être impliqués dans les voies de transmission

- › foie et produits carnés si consommés pas entièrement cuits ou même crus
- › contamination croisée dans la cuisine avec d'autres denrées alimentaires

⇒ aucune étude cas-témoins

⇒ les méthodes utilisées en industrie alimentaire ne sont pas adaptées

Voies probables de transmission de *C. jejuni*



→ Infections intestinales

- réhydratation, traitement antibiotique non systématique
- azithromycine *per os* pendant 5 jours



→ Infections systémiques : β -lactamine ou fluoroquinolone + gentamicine

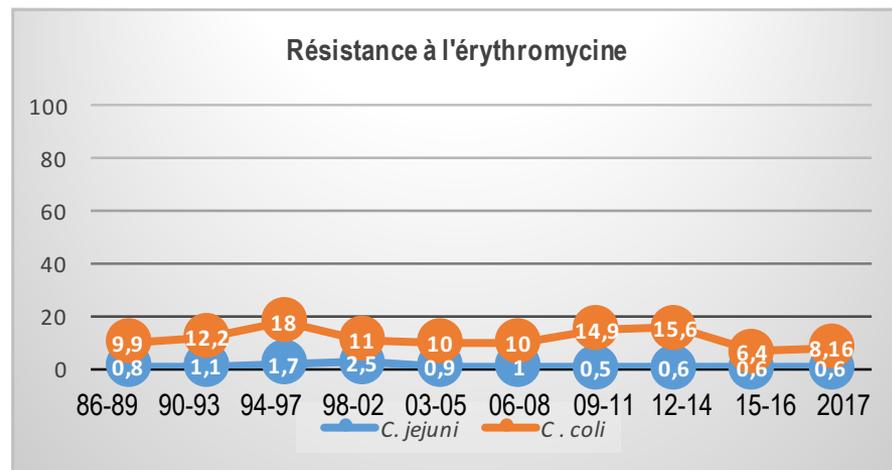
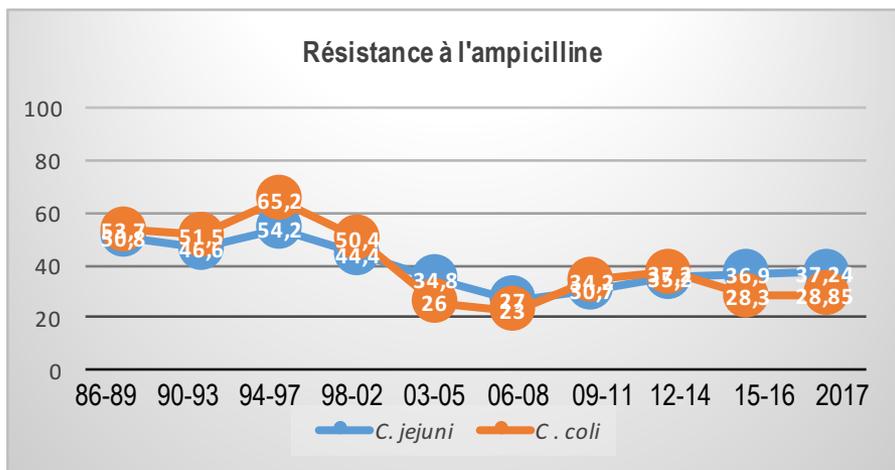
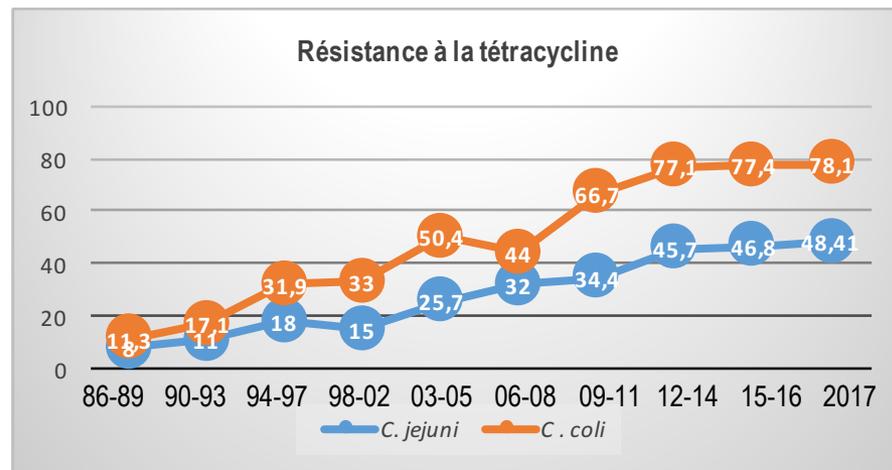
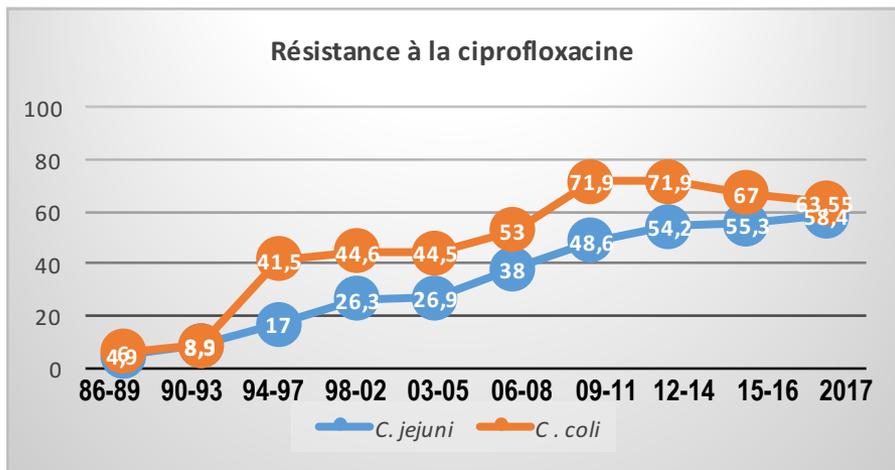
Résistances aux antibiotiques chez l'homme en 2017

→ Données du CNR pour les 3 principales espèces

Molécule	% de résistance			
	Total	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>
Erythromycine	2,3	0,6	8,2	0,0
Tétracycline	52,0	48,4	78,0	15,1
Ciprofloxacine	57,8	58,0	63,6	16,5
Ampicilline	35,7	37,2	28,9	4,2
Amoxicilline- ac clav	0,7	0,3	0,7	0,0

Evolution des résistances aux antibiotiques

→ Souches humaines sur une période de 31 ans pour *C. jejuni* et *C. coli*



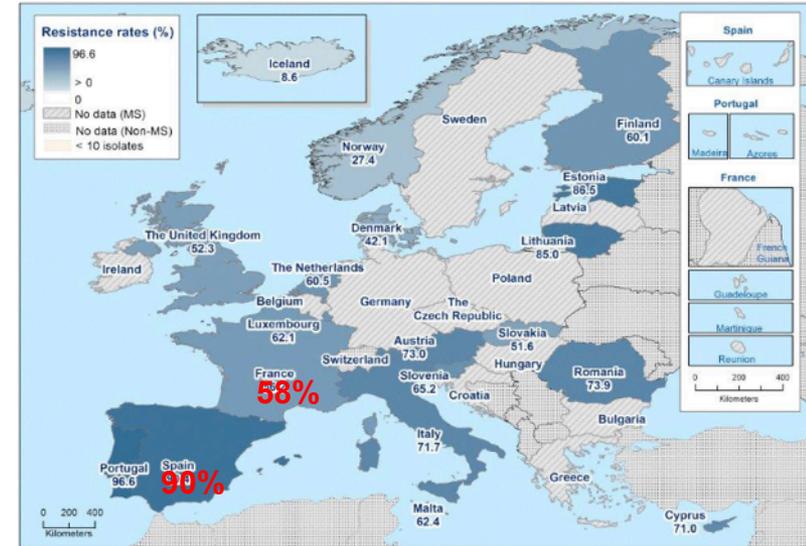
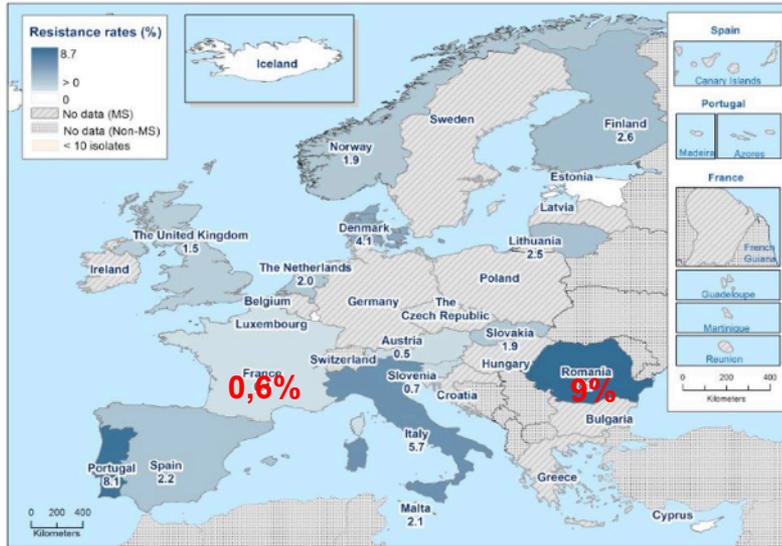
Molécule	% de résistance			
	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i> UE	<i>C. coli</i>	<i>C. coli</i> UE
Erythromycine	0,6	1,5	8,2	13,45
Tétracycline	48,4	33,5	78,0	58,1
Ciprofloxacine	58,0	54,6	63,6	66,6

EUSR on AMR in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food

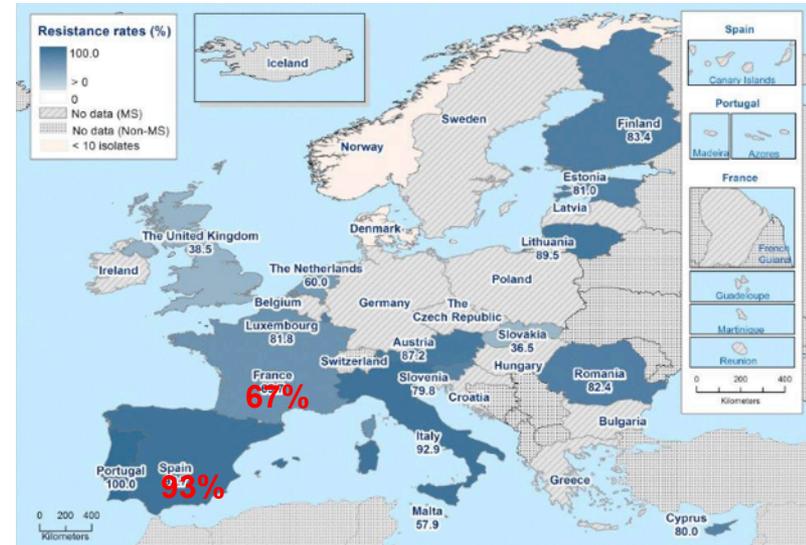
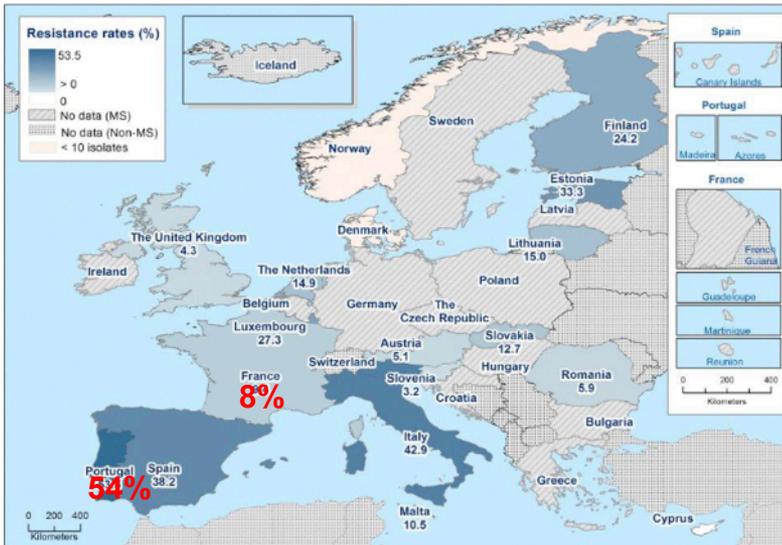
Erythromycine

Ciprofloxacin

C. jejuni



C. coli



Part de la pression de sélection dans les réservoirs *versus* utilisation en clinique humaine : cas des fluoroquinolones

- Utilisation dans le traitement des infections chez l'homme?
- Utilisation en vétérinaire (enrofloxacin)?
 - › les taux de résistance chez l'enfant (<10 ans) ne sont pas significativement différents de ceux chez l'adulte
 - › les pays où l'enrofloxacin n'est pas utilisée, ont des taux de résistance bas (Australie)

- Surveillance de la résistance aux antimicrobiens chez les bactéries zoonotiques et commensales

- La surveillance et le suivi de la résistance à ces antibiotiques
 - › évaluer et déterminer les grandes tendances
 - › identifier les sources de résistance
 - › détecter l'émergence de nouveaux mécanismes de résistances
 - › fournir des données nécessaires à l'évaluation des risques en santé publique associés à l'utilisation des antibiotiques vétérinaires

Mode de surveillance Européen des Campylobacters chez l'animal

→ EFSA-ECDC-LNR

- › poulets-dindes analysés en année paire depuis 2014 (directive 2003/99/CE, décision 2013/652/UE)
- › porc-veau en année impaire
- › seule la surveillance de *C. jejuni* chez la volaille est obligatoire



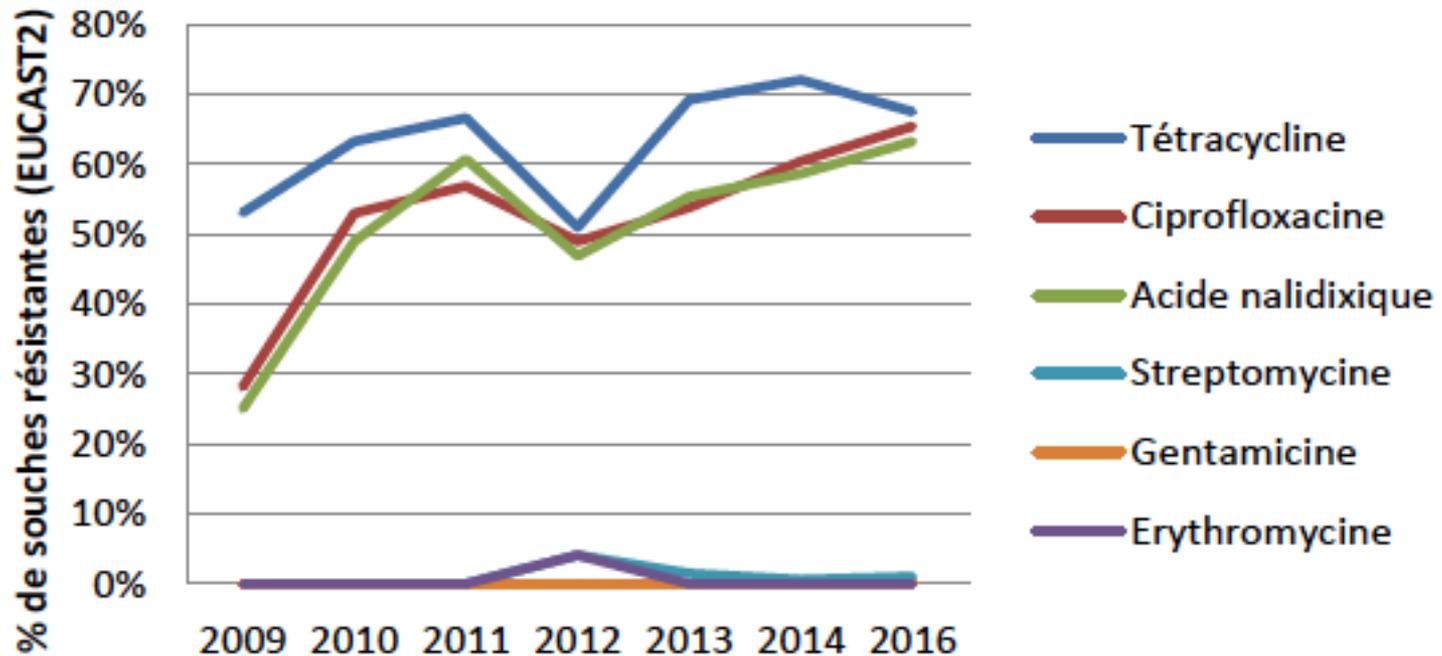
Laboratoire National de Référence

Campylobacter spp.

Evolution des résistances aux antibiotiques

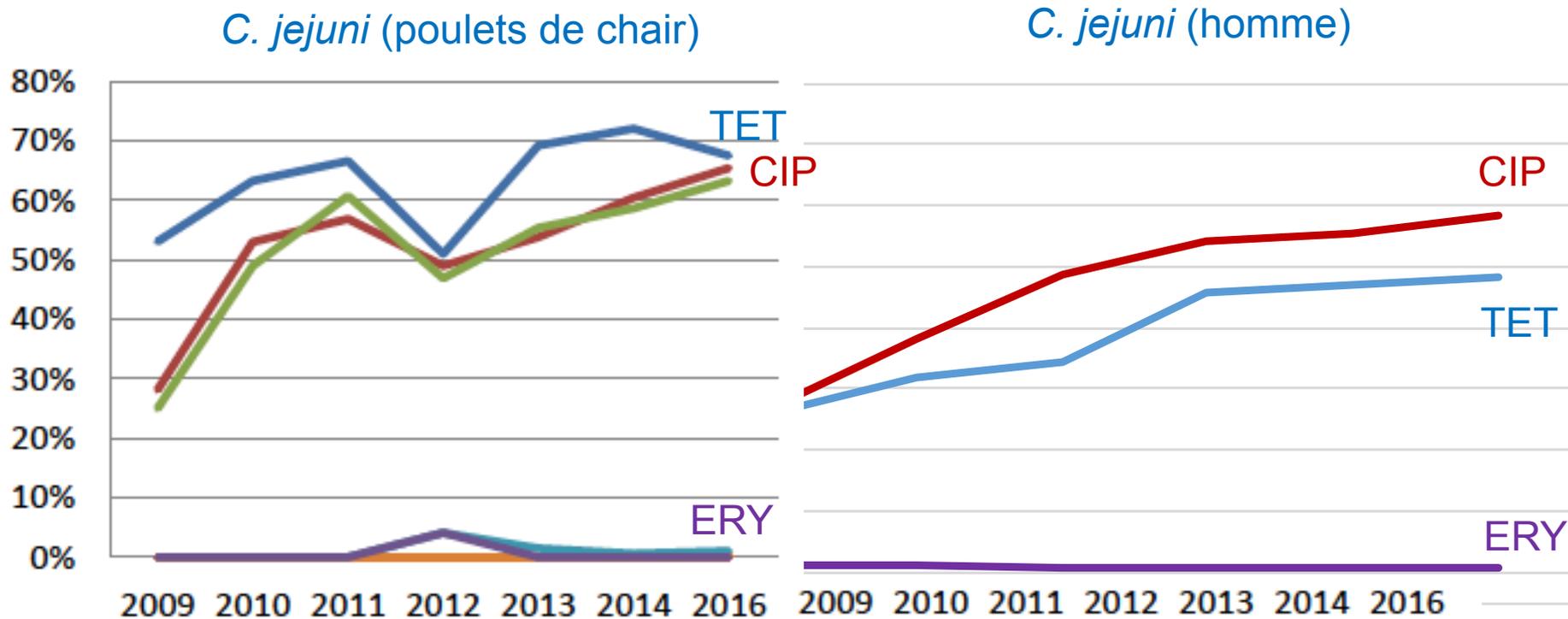
→ Souches animales : données EFSA-ECDC entre 2009 et 2016

C. jejuni-poulets



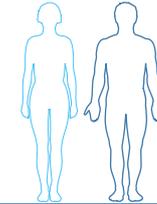
Evolution des résistances aux antibiotiques

→ *C. jejuni* : données EFSA-ECDC versus CNRCH-France



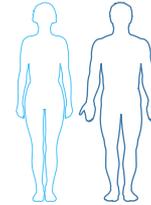
Mêmes tendances d'évolution mais pas de concordance de %R pour la tétracycline

Sensibilité aux antibiotiques/*Campylobacter jejuni*



Antibiotiques	Poulet (N=188)-caeca		Homme (N=5527)
	n	% [intervalle de confiance]	%
Ciprofloxacine	123	65,4 [58,6-72,2]	58,04
Tétracycline	127	67,6 [60,9-74,2]	48,4
Gentamicine	0	0,0 [0,0-1,6]	0,4
Erythromycine	0	0,0 [0,0-1,6]	0,6

Sensibilité aux antibiotiques/*Campylobacter coli*



	Porc (N=263)-colon		Homme (N=789)
	n	% [intervalle de confiance]	%
Ciprofloxacine	92	35 [28-43]	63,6
Tétracycline	222	84,4 [77-93]	78,1
Gentamicine	1	0,0 [0,0-1]	1,1
Erythromycine	87	33 [18-50]	8,2

Kempf I et al, Front Microbiol 2017

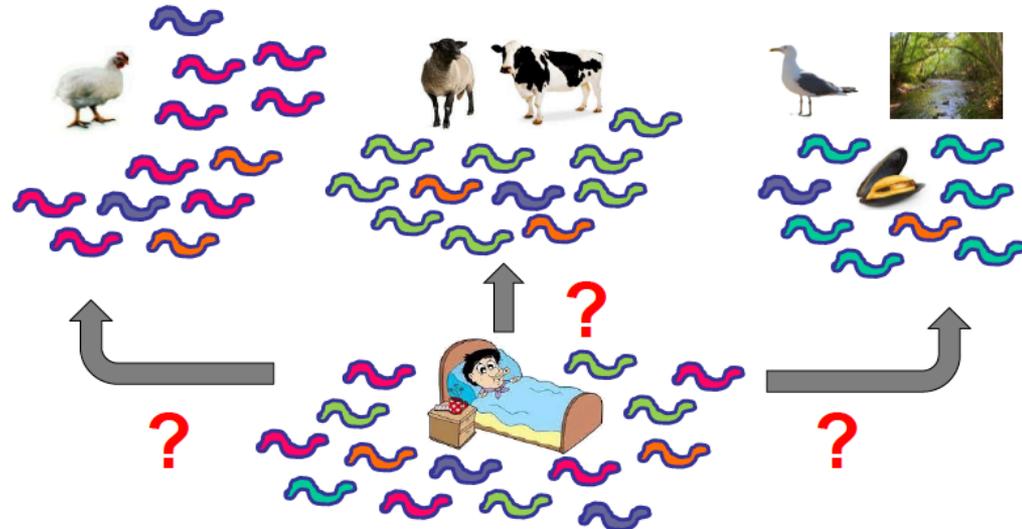
données CNRCH 2017

Attribution de source : le saint Graal de l'épidémiologie

- Cibler les mesures de prévention
- Mesurer l'efficacité des mesures de prévention
- Identifier les modes de transmission
 - › part de la nourriture, de l'eau, du contact animal et humain



- Quelle méthode?
 - › MLST
 - › WGS



Identification de source-Etude suisse (2011-2012)

Données basées sur la MLST + *flaB* typing

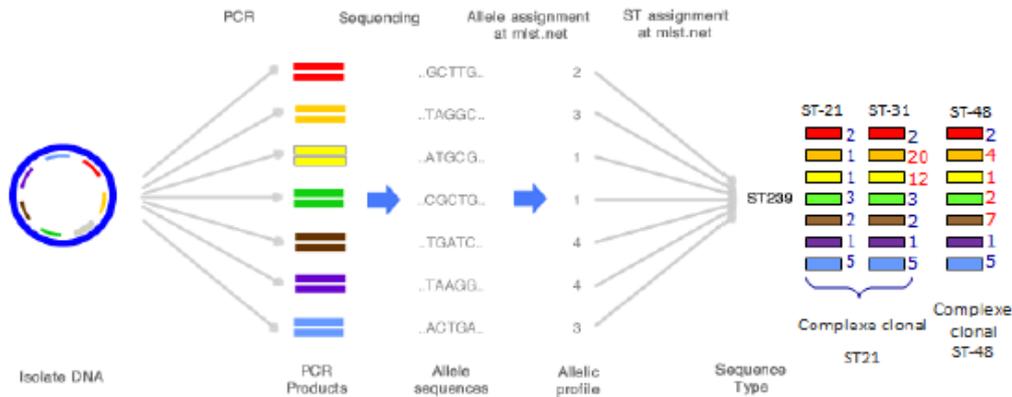


C. jejuni + *C. coli* {
poulets (70,9%)
bovins (19,3%)
chiens (8,6%)
porcs 1,2%

Kittl S *et al.* PLoS One 2013

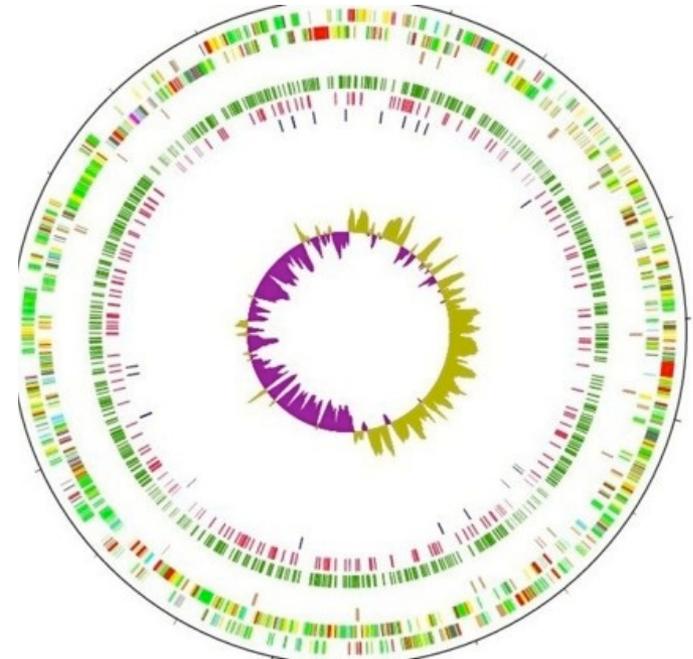
WGS : alternative à la MLST

MLST (7 gènes)



7 gènes

Whole Genome Sequencing (pan-génomme de 1810 gènes)



15 marqueurs génomiques (Host-segregating (HS) markers)

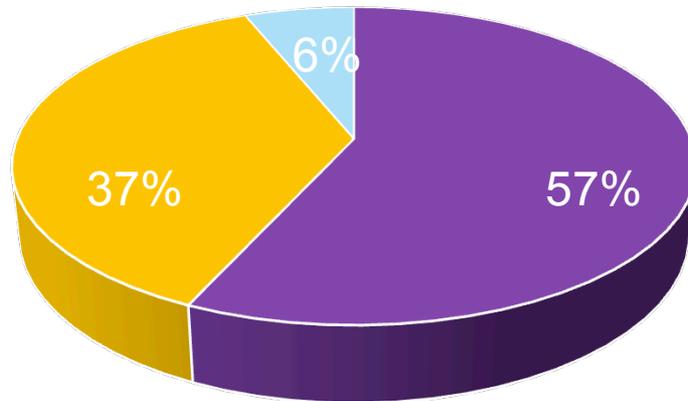
Thepault *et al.* Applied and Environmental Microbiology 2017

Comparatif France-UK : souches humaines de 2009

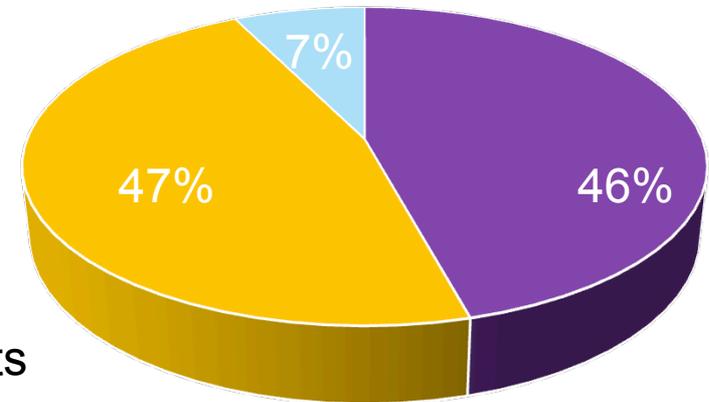
HS marqueurs



N=281



N=42



■ poulets
■ ruminants
■ environnement

Hypothèses

- habitudes alimentaires différentes entre les deux pays
- consommation de poulet : UK 30 kg/pers./an vs. 25 kg/pers./an en France
- plus de diversité alimentaire en France : abats, veau, carpaccio, pâtés...

Emergence de nouveaux mécanismes de résistances dans les réservoirs

- Exemple de la résistance à l'érythromycine chez *C. jejuni* et *C. coli*
- Mécanismes de résistance :
 - › mutation dans ARNr 23S
 - › ARNr méthylase : *erm(B)*
- Émergentes en Asie de *erm(B)*
 - › *C. coli* et *C. jejuni* d'origine animale (poulets, canards, porcs) et homme
 - › souches multirésistantes
- 3 cas décrits en Europe chez *C. coli* (Espagne)
- Campagne de dépistage en 2016 chez les poulets et dindes
 - › absence de *erm(B)*

Emergence de nouveaux mécanismes de résistances dans les réservoirs

- Exemple de la résistance à la gentamicine chez *C. jejuni*
- Anecdotique en France : 0,3 % de résistance à la gentamicine toutes espèces confondues sur la période 2012-2015
- Taux similaires dans le reste de l'Europe et aux États-Unis
- Émergentes en Asie :
 - › dans les filières animales

Données CNRCH, EFSA, ECDC et NARMS.
Ghosh *et al.* J Clin Diagn Res. 2013 ;
Ma *et al.* Int J Food Microbiol. 2014.



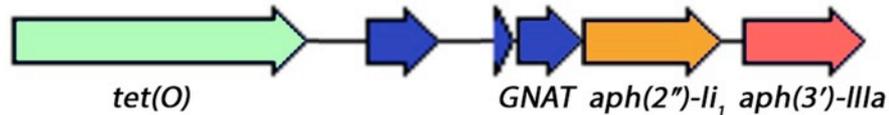
Souches de *Campylobacter* étudiées par NGS au CNRCH (n=12)

Souche	Espèce	Source/Origine	Profil de résistance				CMI
			Aminoglycosides		Autres antibiotiques		
2006/550	<i>C. coli</i>	Humaine/France	Kan Tob	Gen	Spc Stp	Cip Tet Amp	>256
2006/1293	<i>C. jejuni</i>	Humaine/France	Kan Tob	Gen	Spc Stp	Cip Tet	>256
2014/1809	<i>C. coli</i>	Humaine/Portugal	Kan Tob	Gen	Spc Stp	Cip Tet Amp Ery	48
226199	<i>C. coli</i>	Viande porc/Portugal	Kan Tob	Gen	Spc Stp	Cip Tet Ery	8
2006/490H	<i>C. coli</i>	Humaine/France	Kan Tob	Gen	Spc Stp	Cip Tet Amp	64
2010/378	<i>C. coli</i>	Humaine/France	Kan Tob	Gen	Spc	Cip Tet Amp Ery	96
2014/105H	<i>C. jejuni</i>	Humaine/France	Kan Tob	Gen	Spc	Cip Tet Amp	32
2012/873	<i>C. coli</i>	Humaine/Portugal	Kan Tob	Gen	Spc	Cip Tet Amp Ery	64
2007/817	<i>C. coli</i>	Humaine/France	Kan Tob	Gen	Stp	Cip Tet Amp Ery	>256
2009/2424	<i>C. jejuni</i>	Humaine/France	Kan Tob	Gen	Stp	Cip Tet	48
2012/2640	<i>C. jejuni</i>	Humaine/France	Kan Tob	Gen		Cip Tet	>256
2010/223	<i>C. coli</i>	Humaine/Portugal	Kan Tob	Gen		Cip Tet Amp Ery	64

Kan, kanamycine ; Tob, tobramycine ; Gen, gentamicine ; Spc, spectinomycine ; Stp, streptomycine
Cip, ciprofloxacine ; Tet, tétracycline ; Amp, ampicilline ; Ery, érythromycine. CMI en mg/L.

Enzymes portées par des plasmides de résistance

C. jejuni 2012/2640 (28,6 kb)



C. jejuni 2006/1293 (49,8 kb)

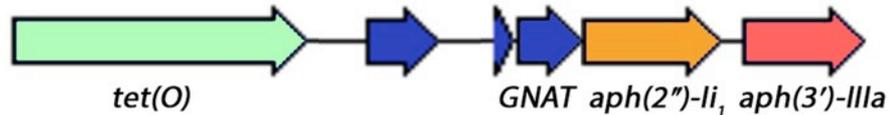


- codent également pour un système de sécrétion de type IV (T4SS) permettant les échanges génétiques et semblant indispensable à la conjugaison
- T4SS retrouvé dans 47% de *C. jejuni* tétra-R et 30% de *C. coli* tétra-R versus respectivement 0% et 2,9% des souches tétra-S

Fabre *et al.* J Clin Microbiol 2018

Enzymes portées par des plasmides de résistance

C. jejuni 2012/2640 (28,6 kb)



C. jejuni 2006/1293 (49,8 kb)



- Diffusion horizontale de gènes de résistance *in vitro* via des plasmides conjugatifs : pourraient contribuer à l'émergence de souches multirésistantes

Fabre *et al.* J Clin Microbiol 2018

Nouveaux gènes résistances identifiés par NGS

→ Gène *apmA* :

- › aminocyclitol acétyltransférase
- › pour la 1^{ère} fois retrouvé chez *Campylobacter*
- › découvert chez souches *S. aureus* issues de bovins et porcins (100% identité protéique avec notre séquence)
- › résistance à l'apramycine et **phénotype I/R à la gentamicine (CMI = 8 mg/L)**

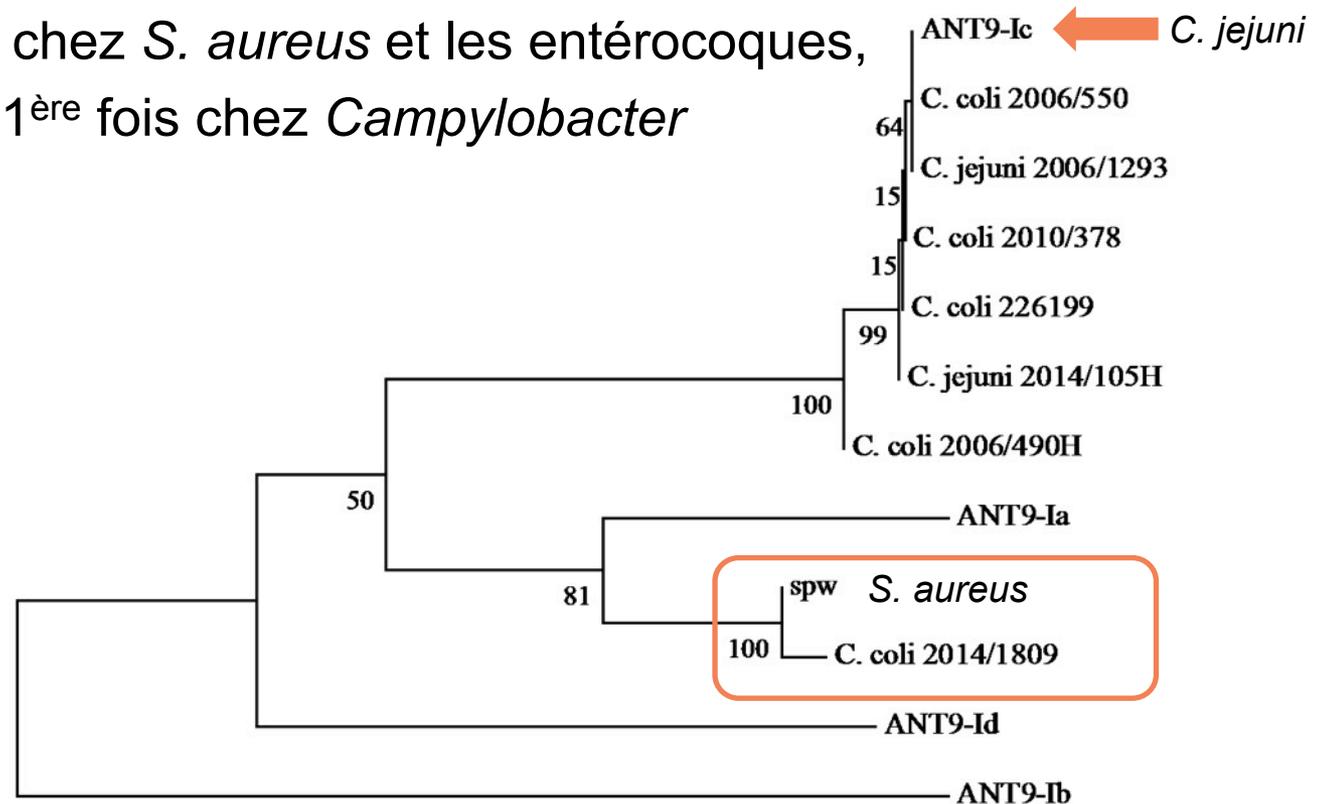
Fabre *et al.* J Clin Microbiol 2018

Nouveaux gènes résistances identifiés par NGS

→ Résistance à la spectinomycine lié à une ANT(9) :

- › ANT(9)-Ic
- › ANT(9) spw (gène *spw*)

initialement décrit chez *S. aureus* et les entérocoques, retrouvée pour la 1^{ère} fois chez *Campylobacter*



- Fort potentiel du NGS pour identifier de nouvelles enzymes ou de nouveaux mécanismes de résistance
- Le séquençage haut débit est un très bon moyen prédictif du phénotype
- Diffusion horizontale de gènes de résistance *in vitro* via des plasmides conjugatifs
- Echanges avec d'autres genres bactériens
- Marqueurs de résistance non suivis chez les animaux :
 - › nécessité d'harmoniser la surveillance (et les méthodes)

Conclusion

- Rôle majeur de la volaille
- Evolution croisée homme/animal de l'antibiorésistance
- Attribution de source plus précise
 - › incluant l'attribution de la résistance aux ATB
- Cibler de nouvelles stratégies de prévention
 - › industrie de la volaille, du bétail
- Evolutions à mettre en place
 - › rendre la surveillance de *C. coli* obligatoire
 - › surveiller *C. jejuni* et *C. coli* chez les ruminants
 - › harmoniser les techniques? (température d'incubation, cut-off...)
 - › harmoniser les antibiotiques surveillés (animal/homme)



Erythromycine

Ciprofloxacine

C. jejuni
(poulet)



C. coli
(porc)

