

Actualité des infections à *Campylobacter*

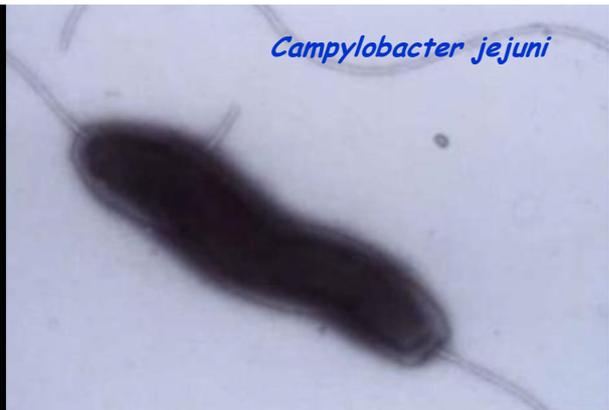
Francis Mégraud

INSERM ER110

Centre National de Référence des
Campylobacters et *Hélicobacters*

Laboratoire de Bactériologie,
Hôpital Pellegrin, Bordeaux

Campylobacter jejuni



Pourquoi existe-t-il un regain d'intérêt pour les *Campylobacters* ?

1ère cause bactérienne de gastroentérites dans le monde.

- incidence augmente dans les pays développés
- complication grave : syndrome de Guillain Barré
- résistance à certains antibiotiques (fluoroquinolones) augmente

→ regain d'intérêt récent des pouvoirs publics (FAO-OMS, CE, AFSSA, InVS)

**Caractéristiques de la superfamille VI
de bactéries à Gram négatif
(branche ε des Protéobactéries)**

- **Morphologie**
Bacilles incurvés, mobiles, Gram négatif
- **Physiologie**
Microaérophiles
Assacharolytiques
- **Écologie**
Adaptation à la vie dans le mucus

Vandamme 1991

Famille *Campylobacteraceae*

genre *Campylobacter*

- groupe thermophile
 - C. jejuni* ssp *jejuni*
 - C. jejuni* spp. *doylei*
 - C. coli*
 - C. lari*
 - C. upsaliensis*
 - C. helveticus*
- groupe « anaérobie »
 - C. consisus*
 - C. curvus*
 - C. showae*
 - C. rectus*
 - C. mucosalis*
 - C. sputorum*
 - C. gracilis*
 - C. ureolyticus*
- groupe « fetus »
 - C. fetus*
 - C. hyointestinalis* ssp *hyointestinalis*
 - ssp *lawsonii*

Famille *Campylobacteraceae*

1991 - Vandamme et Deley

genre *Arcobacter* :

- A. butzleri*
- A. skirrowii*
- A. cryaerophilus*
- A. nitrofigilis*

genre *Sulfurospirillum* :

- S. arcachonense*
- S. arsenophilum*
- S. barnesii*
- S. deleyianum*

Système de surveillance des infections à Campylobacter diagnostiquées en France

- Avril 2002
- Données des laboratoires d'analyse de biologie médicale (350/~1300) et laboratoire hospitaliers
- Envoi volontaire des souches de Campylobacter isolées au CNR
- Fiches de recueil d'informations microbiologiques et épidémiologiques

Réseau de surveillance des infections à Campylobacter Distribution par espèces des 5 089 souches étudiées 2002-2004

Espèce	Prélèvement			Non Précisé	Total	%
	Selles	Sang	Autre			
<i>C. jejuni</i>	3 728	91	18	41	3 878	69,8
<i>C. coli</i>	845	17	2	10	874	17,7
<i>C. fetus</i>	70	157	28	2	257	4,6
<i>C. lari</i>	17	4	-	-	21	0,37
<i>C. upsaliensis</i>	4	-	-	-	4	0,07
<i>C. hyointestinalis</i>	3	-	-	-	3	
<i>C. sputorum</i>	-	1	-	-	1	
<i>A. butzleri</i>	39	2	1	1	43	0,77
<i>A. cryaerophila</i>	3	-	-	-	3	
<i>Helicobacter sp.</i>	2	2	-	1	5	
Total	4 711	274	49	55	5 089	

461 souches (8,2%) n'ont pas donné de subculture

Réseau de surveillance des infections à Campylobacter Distribution par espèces des 5 089 souches étudiées 2002-2004

Espèce	Prélèvement			Non Précisé	Total	%
	Selles	Sang	Autre			
<i>C. jejuni</i>	3 728	91	18	41	3 878	69,8
<i>C. coli</i>	845	17	2	10	874	17,7
<i>C. fetus</i>	70	157	28	2	257	4,6
<i>C. lari</i>	17	4	-	-	21	0,37
<i>C. upsaliensis</i>	4	-	-	-	4	0,07
<i>C. hyointestinalis</i>	3	-	-	-	3	
<i>C. sputorum</i>	-	1	-	-	1	
<i>A. butzleri</i>	39	2	1	1	43	0,77
<i>A. cryaerophila</i>	3	-	-	-	3	
<i>Helicobacter sp.</i>	2	2	-	1	5	
Total	4 711	274	49	55	5 089	

461 souches (8,2%) n'ont pas donné de subculture

Évolution clinique dans 116 cas d'infection systémique

Variables	Modalités	n	Total (%)
Évolution	Favorable	88	75,9
	Défavorable	28	24,1
Décès		18	15,5
	Lié à l'infection	7	
	Lié au terrain	11	
Rechutes		10	8,8

Syndromes post-infectieux observés avec *C. jejuni*

- Syndrome de Guillain Barré
- Arthrite réactionnelle
- Erythème noueux
- Urticaire

Incidence des infections à *Campylobacter* en France

- Charente Maritime (1996)
33 laboratoires /33 du département
Incidence : 27/100 000 habitants
- Mayenne (1998 - 1999)
9 laboratoires /11 du département
Incidence : 38/100 000 habitants

Incidence des infections à Campylobacter chez les voyageurs suédois en fonction du pays visité 1997-2003

14 829 infections - Nombre de voyageurs estimé

Nbre de cas pour 100 000 voyageurs :

> 100	Turquie, Portugal, Bulgarie
50-100	Pologne, Rép Tchèque, Roumanie, Espagne
25-50	Chypre, ex Yougoslavie, France (33,6), Hongrie, Irlande, Malte, Russie
5-25	Autriche, États Baltes, Belgique, Grèce, Italie, Luxembourg, Pays Bas, Suisse, Angleterre
< 5	Danemark, Allemagne, Finlande, Islande, Norvège

Estimations du nombre d'infections à Campylobacter confirmées, France.

Morbidité et mortalité	Cas confirmés	Cas hospitalisés	Cas décédés
annuelle totale	15 995- 21 652	3 247- 4 395	16 à 22
d'origine alimentaire	12 796- 17 322	2 598- 3 516	13 à 18

Rapport mortalité morbidité - InVS 2004

Mortalité dans les 30 jours suivant le début d'une infection à Campylobacter Danemark (1991-1999)

Groupe d'âge	Décès	Cas	Mortalité (%)	Différence avec mortalité de base
< 5 ans	1	2 737	0,04	0,03
5 - 54 ans	3	115 56	0,03	0,02
> 55 ans	40	1 886	2,12	1,76
Tous âges confondus	44	16 179	0,47	0,38

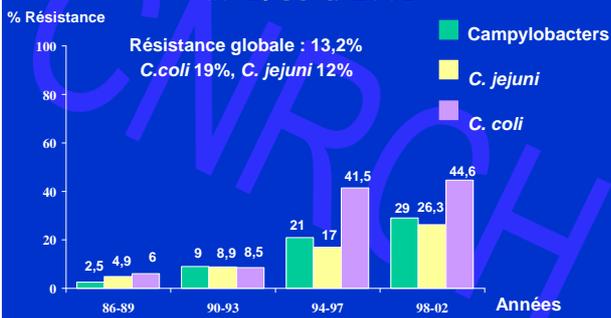
Molbak - WHO Consultation 2001

Réseau de surveillance des infections à *Campylobacters*. Résistance aux antibiotiques des 5 089 souches testées de 2002 à 2004

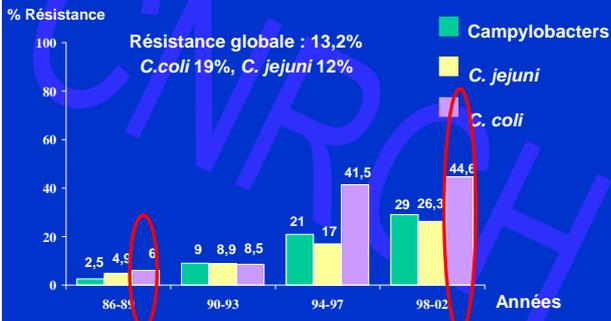
Antibiotique	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i>
Erythromycine	1,16%	8,6%	0,8%
Doxycycline	29,6%	47,1%	12,7%
Ampicilline	41%	36,3%	10%
Acide Nalidixique	26,8%	38,5%	100%
Ciprofloxacine			12,3%

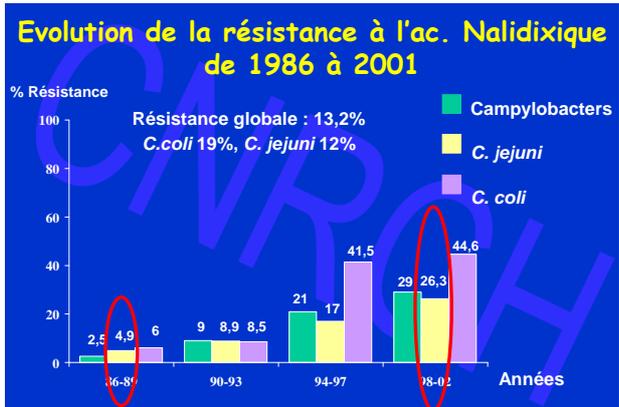
Pas de résistance à la gentamicine

Evolution de la résistance à l'ac. Nalidixique de 1986 à 2001



Evolution de la résistance à l'ac. Nalidixique de 1986 à 2001





Existe-t-il une différence dans le taux de résistance des Campylobacters à l'acide nalidixique en fonction de l'âge du malade ?

	<i>C. jejuni</i>			<i>C. coli</i>		
	Nbre testés	Nbre résist	% résist	Nbre testés	Nbre résist	% résist
≤ 10 ans	265	1 065	24,9%	790	71	37,3%
> 10 ans	407	1 518	26,8%	472	156	37,0%

Malades ayant voyagé outremer exclus

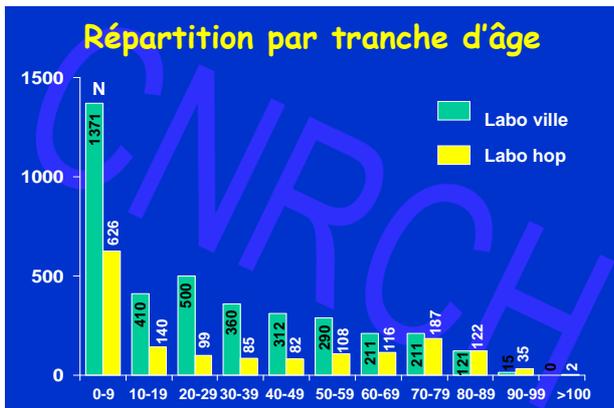
Données démographiques

Répartition par sexe

Sexe masculin 56,4%
Sexe féminin 43,6%
Sex ratio 1,3

Répartition par catégorie d'âge

Adultes 56,7%
Enfants 39,9%
Nourrissons 3,1%
Nouveaux nés 0,1%





Données sur l'origine de la contamination

Notion de voyage outremer
204 / 1 536 13,3%

Notion de cas groupés
137 / 3 301 4,1%

Mais nombreuses données manquantes

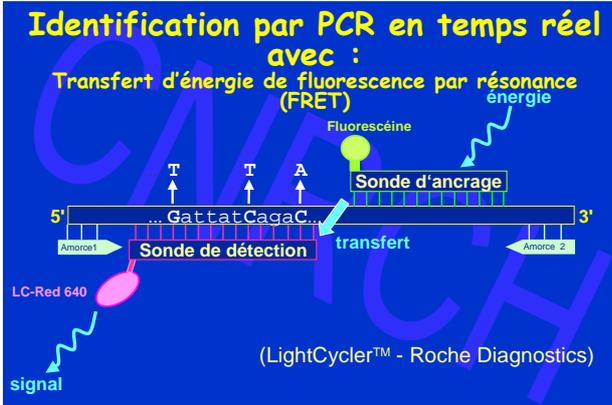
Comparaison des résultats des 2 réseaux

- Nombreux résultats communs :
 - la proportion de *C. coli*
 - la résistance aux antibiotiques
 - le sexe ratio
 - la proportion d'adultes infectés

Comparaison des résultats des 2 réseaux

- Des différences existent :
 - le type de prélèvement ($p < 10^{-3}$)
 - la proportion des espèces rencontrées notamment *C. jejuni* et *C. fetus* ($p < 10^{-3}$)
 - la répartition saisonnière ($p < 10^{-3}$)
 - la répartition selon l'âge ($p = 0,001$)
 - la résistance des *C. jejuni* aux fluoroquinolones ($p = 0,0002$)





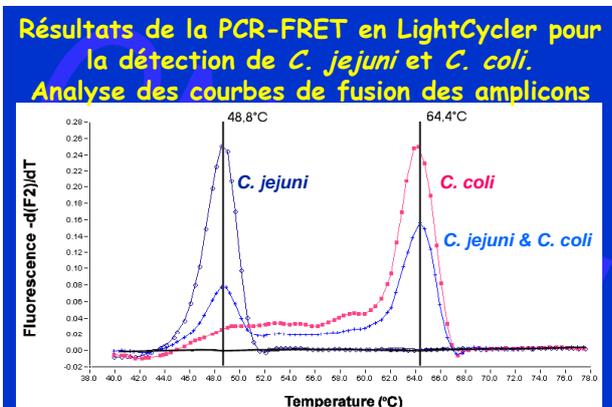
Choix du gène

Notre objectif a été de développer une PCR simplex avec des sondes de FRET :

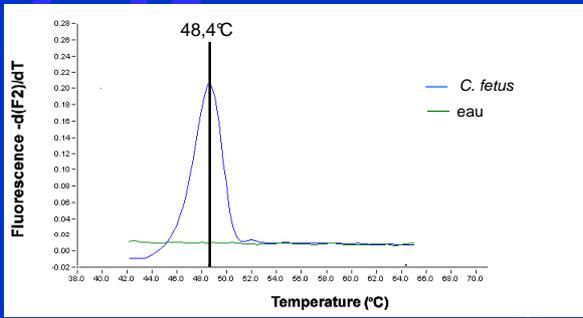
- Gène commun entre les deux espèces (et non spécifique d'espèce)
- Gène essentiel pour la viabilité bactérienne
- Exclusion des gènes codant pour les ARNr

➔ Choix du gène de la gyrase (*gyrA*)

Ménard et al. Clin Microbiol Inf 2005;11:281-7



Résultats de la PCR-FRET en LightCycler pour la détection de *C. fetus*



Résultats de la PCR-FRET des 807 souches de campylobacters (2)

Corrélation avec l'identification phénotypique :

- ✓ 782/785 en accord (99,6%)
 - ✓ 3/785 discordants (0,4%)
 - 2 souches de *C. jejuni* hippurate négative donc mal identifiées par les tests phénotypiques
 - 1 souches de *C. coli* contenant le gène *gyrA* de *C. jejuni*
- 1/785 souches mal identifiées par la PCR en temps réel (0,1%)

Durée du protocole : 2 heures

Colonies de Campylobacter

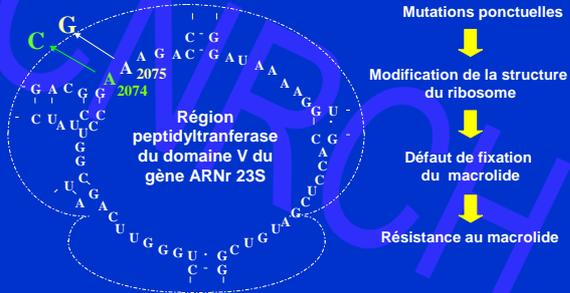
1 heure ↓ Lyse bactérienne et extraction de l'ADN

ADN

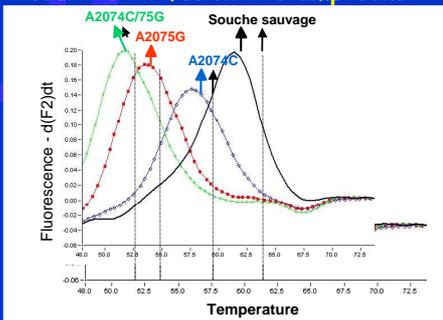
45 minutes ↓ PCR (LightCycler®)

Détection et identification des mutations ponctuelles

Mécanisme de résistance des *Campylobacters* aux macrolides



Détection des mutations associées à la résistance des *Campylobacters* aux macrolides. Analyse des courbes de fusion des amplicons



Comparaison des résultats obtenus par PCR aux résultats phénotypiques

CMI (mg/l)	Nombre de souches détectées en PCR en temps réel				
	Souche sauvage	A2074C	A2075G	Mélanges A2074C A2075G phénotypes	Total
< 8	48	0	0	0	48*
≥ 8	0	2	82	1	92**
Total	48	2	82	1	140

1 génotype: 133 cas

*26 *C. jejuni*, 20 *C. coli* and 2 *C. lari*

**25 *C. jejuni*, 66 *C. coli* and 1 *C. lari*

Vacher et al. *Microb Drug Resist.* 2005;11:40-7.

Génome de *C. jejuni* NCTC 11168

1,6 millions pb

G+C % = 30,6 %

Pas IS

Peu de séquences répétées

Présence de régions hypervariables
(gènes concernant surface)

Parkhill et al., Nature 2000, 403: 665-8

Génome de 4 espèces de *Campylobacter*

C. jejuni RM 1221

1,7 millions pb

G+C % = 30,3 %

60% ORF ont une fonction prédite

Présence de 4 îlots génomiques
(origine phagique et plasmidique)

C. coli, *C. lari*, *C. upsaliensis*

Conservation de gènes impliqués dans la
colonisation.

Variation des LOS et du profil
métabolique entre espèces

Fouts et al., PLoS Biol. 2005;3:e15

