

Comparaison génétique de *Campylobacter coli* issus de porcs et de volailles avec des isolats issus de campylobactérioses humaines

Martine DENIS (1), Bérengère CHIDAINE (1), Marie-José LAISNEY (1), Isabelle KEMPF (2), Francis MEGRAUD (3), Katell RIVOAL (1), Philippe FRAVALO (1)

(1) AFSSA, Unité HQPAP, 22440 Ploufragan

(2) AFSSA, Unité MB, 22440 Ploufragan

(3) CNR-Campylobacter et Hélicobacter, laboratoire de bactériologie, CHU Pellegrin, 33076 Bordeaux Cedex

m.denis@ploufragan.afssa.fr

Comparaison génétique de *Campylobacter coli* issus de porcs et de volailles avec des isolats issus de campylobactérioses humaines

133 isolats de *Campylobacter coli* provenant de la Bretagne et isolés en 2003 ont été génotypés par RFLP/PFGE. Ils proviennent de la filière porc (65), de la filière volaille (56) et de campylobactérioses humaines (12). Les résultats n'ont pas permis de mettre en évidence de pulsotypes communs aux 3 origines mais l'analyse de la similarité génétique à 80 % des isolats permet de construire 19 groupes de similarité. Dans 3 cas, des isolats de volailles se retrouvent dans des groupes contenant des isolats humains. Par contre, les isolats de porcs sont toujours dans des groupes ne contenant pas d'isolats de volailles et d'isolats humains. Ces résultats tendent à indiquer que les deux filières animales auraient leurs propres génotypes et que les campylobacters issus du porc seraient rarement impliqués dans les campylobactérioses humaines.

Genetic comparison of *Campylobacter coli* resulting from pigs and poultry with isolates resulting from human campylobacteriosis.

133 isolates of *Campylobacter coli* isolated from Brittany and collected in 2003 were analysed by RFLP/PFGE. They came from pig (65), poultry (56) and human campylobacteriosis (12). No pulsotype common to the 3 origins could be detected but the analysis of the genetic similarity at 80% of the isolates made it possible to build 19 groups of similarity. In 3 cases, poultry isolates were found in groups containing human isolates. Nevertheless, the pig isolates were always in groups different from the poultry isolates and the human ones. These results tend to indicate that the two animal productions would have their own genotype and that the campylobacters from pigs are rarely responsible of human campylobacteriosis.

INTRODUCTION

Campylobacter sp. est l'une des causes les plus fréquentes de gastro-entérites humaines. La viande de volaille est principalement incriminée ; elle serait responsable d'au moins 40 % des campylobactérioses humaines (Vellinga et Van Loock, 2002). L'espèce *C. jejuni* représente en France 76 % des souches collectées chez les humains contre 17 % pour *C. coli* (Gallay et al., 2005). *C. coli* est majoritairement l'espèce rencontrée dans les élevages de porcs en France (Magras et al., 2004).

Il était donc intéressant de comparer génétiquement les isolats de *C. coli* issus de la filière porc avec des isolats *C. coli* issus de campylobactérioses humaines et des isolats *C. coli* issus de la filière volaille afin d'estimer la part de ces filières animales dans les infections humaines à *Campylobacter coli*.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. Isolats

Les isolats de *Campylobacter* analysés dans ce travail ont été récoltés en Bretagne et durant l'année 2003. Douze *C. coli* d'origine humaine ont été fournis par le Pr F. Mégraud du CNR-CH de Bordeaux. Chaque isolat provient d'une analyse réalisée sur un patient présentant une gastro-entérite.

Les 121 isolats d'origine animale (56 *C. coli* volailles et 65 *C. coli* porcs) proviennent d'échantillons récoltés en élevage, en abattoir, et en grande surface. Un seul isolat a été retenu par échantillon analysé.

1.2. Méthodes

1.2.1. Typage des isolats

Le typage des isolats a été réalisé par la méthode RFLP/PFGE. Deux profils enzymatiques ont été obtenus par isolat : un profil KpnI et un profil SmaI. Le profil combiné issu des 2 enzymes a été codé KS.

1.2.2. Analyse des profils génétiques

L'estimation de la taille des fragments et l'analyse des similarités sont effectuées en utilisant le logiciel BioNumerics. Les similarités entre les profils, basées sur la position des fragments restreints, sont calculées à l'aide du coefficient de Dice avec une tolérance maximale de 1 % (Struelens, 1996).

Des dendrogrammes sont construits suivant la méthode Unweight Pair Group Method (UPGMA) utilisant une moyenne arithmétique (Struelens, 1996). Les isolats qui ont une forte similarité peuvent être considérés comme dérivant de la même souche mère (Tenover et al., 1995).

L'indice de Simpson a été calculé (Hunter, 1990), pour estimer la diversité de l'échantillon.

2. RESULTATS

2.1. Variabilité des profils génétiques

Le tableau 1 donne le nombre de profils génétiques par enzyme, et par origine sur le nombre d'isolats, ainsi que l'Indice de Simpson.

Tableau 1 - Nombre de profils génétiques par enzyme et par origine

Enzyme	Origine		
	Humain	Volaille	Porc
Kpn 1	11 / 12	52 / 56	62 / 65
Sma 1	11 / 12	47 / 56	60 / 65
KS	11 / 12	53 / 56	64 / 65
Indice de Simpson	0,984	0,998	0,999

Onze, 53 et 64 profils combinés KS ont été obtenus respectivement pour 12 isolats humains, 56 isolats volailles et 65 isolats porcs. Pour les 3 origines, l'indice de Simpson est très proche de 1 ce qui indique que notre échantillonnage présente une très grande diversité.

2.2. Similarité génétique

La figure 1 représente le dendrogramme obtenu de l'analyse des profils KS. Aucun pulsotype commun aux 3 origines n'a été détecté. L'analyse de la similarité génétique à 80 % des isolats a permis de construire 19 clusters codés C1 à C19 (Tableau 2) qui regroupent 47,6 % des isolats analysés.

Dans 3 cas (en gras dans le tableau), des isolats volailles se retrouvent dans des clusters contenant des isolats humains. En revanche, les isolats porcs sont toujours dans des clusters différents des isolats volailles et des isolats humains.

CONCLUSION

La comparaison génétique par RFLP/PFGE des souches de *Campylobacter coli* issues des filières porcine et avicole avec des souches issues des campylobactérioses humaines a mis en évidence des isolats très proches entre la filière avicole et les cas humains. Malgré l'importance de l'échantillonnage des isolats issus de la filière porc et de sa diversité, il n'a pas été possible dans notre étude de mettre en évidence d'isolats identiques ou très proches génétiquement entre cette filière et les isolats humains. Par ailleurs, les isolats *C. coli* de porcs sont toujours dans des groupes génétiques différents des isolats *C. coli* de volailles et d'humains.

Ce résultat conforte d'autres études qui montrent l'implication de la volaille dans les campylobactérioses humaines (Steinhausserova et al., 2002 ; Nadeau et al., 2002 ; Kärenlampi et al., 2003 ; Michaud et al., 2005).

La séparation génétique entre les *C. coli* volaille et les *C. coli* porc a été décrite par Hopkins et al., (2004) et par Siemer et al., (2005). Ces derniers, par ailleurs, ont montré que les *C. coli* issus des volailles sont dans les mêmes groupes génétiques que les isolats issus de campylobactérioses humaines.

Ce résultat est en accord avec les résultats de Guévremont et al., (2004). Pour une même période et pour une même zone géographique au Canada, Guévremont a comparé 660 isolats issus de caecas de porcs prélevés à l'abattoir avec 24 isolats issus de diarrhées chez des patients. Aucun isolat génétiquement identique commun aux deux sources n'a été trouvé.

Ces résultats tendent à indiquer que les deux filières animales auraient leurs propres génotypes et que les campylobacters issus du porc ne seraient pas impliqués dans les campylobactérioses humaines.

La probabilité de contamination par *Campylobacter* des humains *via* la filière porc semble donc très faible.

REMERCIEMENTS

Ce projet a été financé par la Région Bretagne et le Syndicat mixte du Zoopole de Ploufragan.

Tableau 2 - Nombre d'isolats par clusters et par origine

Code des clusters	Nombre isolats / origine			Nombre total isolats / Cluster
	Porc	Volaille	Humain	
C1	2			2
C2	2			2
C3	2			2
C4		2		2
C5		2		2
C6		2		2
C7		1	1	2
C8	12			12
C9			3	3
C10		3		3
C11		4	1	5
C12		4		4
C13		6	2	8
C14		2		2
C15		4		4
C16		2		2
C17		2		2
C18	2			2
C19	2			2
Total	22	34	7	63

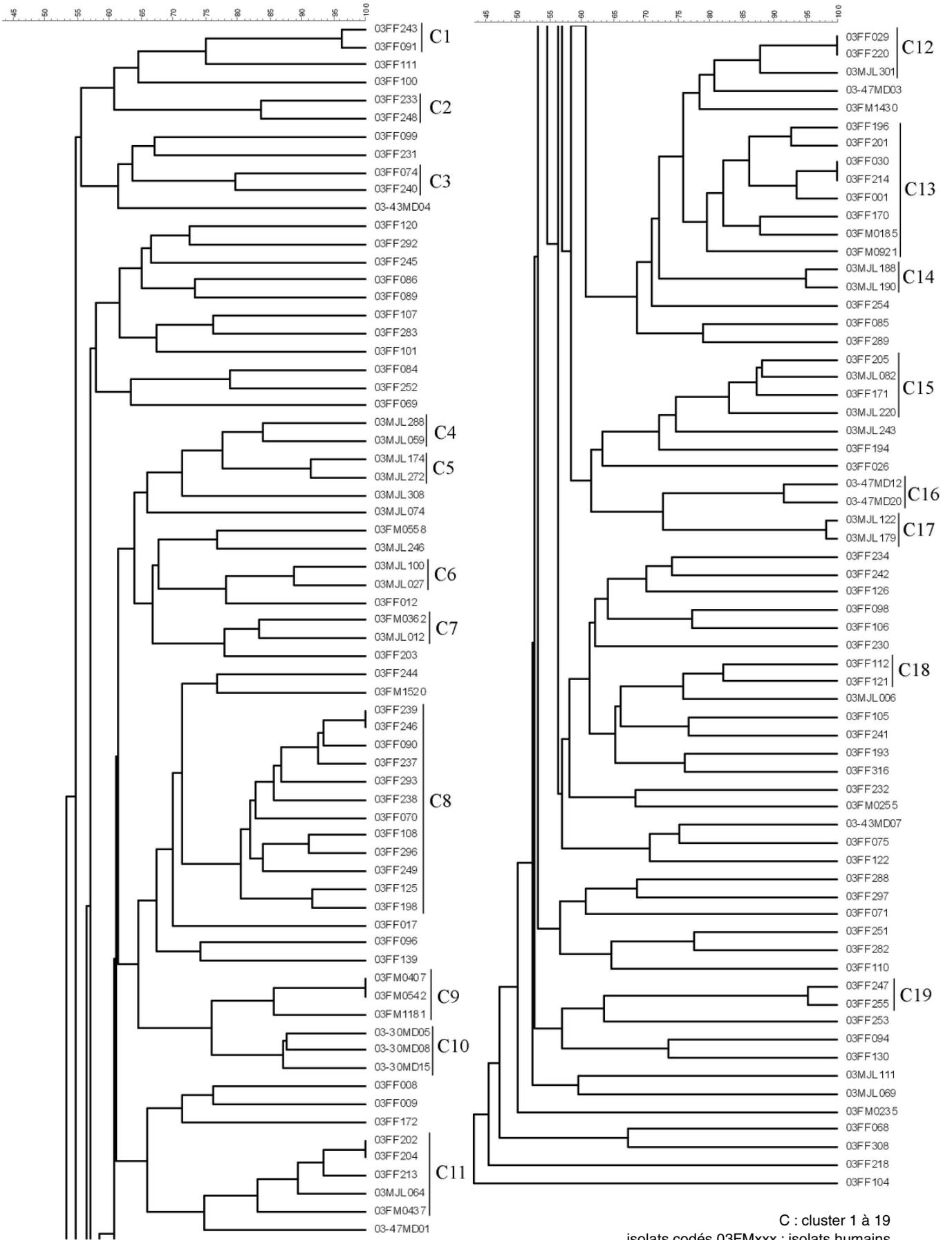


Figure 1 - Dendrogramme des isolats issus des 3 sources

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Gallay A., Prouzet-Mauléon V., Mégraud F. 2005. Les infections à *Campylobacter* en France : bilan de surveillance du réseau de laboratoire de villes et hospitaliers. Rapport CNRCH, INVS, Octobre 2005, 9 p.
- Guévremont E., Higgins R., Quessy S. 2004. Characterization of *Campylobacter* isolates recovered from clinically healthy pigs and from sporadic cases of campylobacteriosis in humans. *Journal of Food Protection*, 67, 2, 228-234.
- Hopkins K.L., Desai M., Frost J.A., Stanley J., Logan J.M.J. 2004. Fluorescent Amplified Fragment Length Polymorphism Genotyping of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains and its relationship with host specificity, serotyping, and phage typing. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 1, 229-235.
- Hunter P. 1990. Reproducibility and indices of discriminatory power of microbial typing methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 28, 1903-5.
- Kärenlampi, R., Rautelin, H., Hakkinen, M., Hänninen, M.L. 2003. Temporal and geographical distribution and overlap of Penner heat-stable serotypes and pulsed-field gel electrophoresis genotypes of *Campylobacter jejuni* isolates collected from humans and chickens in Finland during a seasonal peak. *Journal of Clinical Microbiology*, 41, 10, 4870-4872.
- Magras C., Garrec N., Laroche M., Rossero A., Mircovich C., Desmonts M-H., Fédérighi M. 2004. Sources of *Campylobacter* sp. Contamination of piglets in farrowing units of farrow-to-finish farms : first results. *International Society for Animals Hygiene*, Saint-Malo, 2004.
- Michaud S., Ménard S., Arbeit R.D. 2005. Role of real-time molecular typing in the surveillance of *Campylobacter enteritidis* and comparison of pulsed-field gel electrophoresis profiles from chicken and human isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 1105-1111
- Nadeau E., Messier S., Quessy S. 2002. Prevalence and comparison of genetic profiles of *Campylobacter* strains isolated from poultry and sporadic cases of campylobacteriosis in humans. *Journal of Food Protection*, 65, 1, 73-78.
- Siemer B.L., Nielsen E.M., On S.L.W. 2005. Identification and molecular epidemiology of *Campylobacter coli* isolates from humans gastroenteritis, food and animal sources by amplified fragment length polymorphism analysis and Penner serotyping. *Applied and Environmental Microbiology*.
- Steinhäuserova I., Ceskova J., Nebola M. 2002. PCR/Restriction fragment length polymorphism (RFLP) typing of human and poultry *Campylobacter jejuni* strains. *Letters in Applied Microbiology* 34, 354-358.
- Struelens, M.J., Members of the European Study Group on Epidemiological Markers (ESGEM), 1996. Consensus guidelines for appropriate use and evaluation of microbial epidemiologic typing systems. *Clinical Microbiology and Infection*, 2, 2-11.
- Vellinga A., Van Look F. 2002. The dioxin crisis as experiment to determine poultry-related *Campylobacter enteritis*. *Emergent Infectious Diseases* 8, 19-22.

