

*Maladies
infectieuses*

Surveillance des infections à *Campylobacter* en France : bilan de la surveillance du réseau de laboratoires de ville et hospitaliers, 2004-2005

Sommaire

1. Objectifs, modalités et qualités du système de surveillance	2
1.1 Objectifs	2
1.2 Définition des cas	2
1.3 Modalités	2
1.4 Qualités	2
2. Principales caractéristiques épidémiologiques	4
2.1 Sites de prélèvement	4
2.2 Répartition par âge et par sexe	5
2.3 Répartition par mois	5
2.4 Cas groupés d'infections à <i>Campylobacter</i>	6
2.5 Voyage à l'étranger	6
2.6 Résistance aux antibiotiques	6
3. Perspectives et recommandations	8
Références bibliographiques	

Surveillance des infections à *Campylobacter* en France : bilan de la surveillance du réseau de laboratoires de ville et hospitaliers, 2004-2005

Sources

Centre national de référence et laboratoires correspondants

Synthèse

Réalisée par Anne Gallay¹, Emmanuelle Espié¹, Valérie Prouzet-Mauléon², Étienne Rouault², Francis Mégraud²
E-mail : e.espie@invs.sante.fr ; francis.megraud@chu-bordeaux.fr

Remerciements

Les auteurs remercient les laboratoires d'analyse de biologie médicale privés et hospitaliers qui ont participé à la surveillance en envoyant leurs souches et les fiches de recueil d'information au Centre national de référence des Campylobacters et Hélicobacters.

¹ Institut de veille sanitaire, Département des maladies infectieuses

² Centre national de référence des Campylobacters et Hélicobacters, Laboratoire de bactériologie, CHU Pellegrin, Bordeaux

1. Objectifs, modalités et qualités du système de surveillance

1.1 OBJECTIFS

Les objectifs de la surveillance réalisée par le Centre national de référence (CNR) des *Campylobacters* et *Hélicobacters* sont de documenter les caractéristiques épidémiologiques des infections à *Campylobacter* survenant chez l'homme, de suivre les évolutions

temporelles et spatiales en termes d'incidence, de décrire les espèces de *Campylobacter* en cause, de détecter les cas groupés et de surveiller la résistance aux antibiotiques.

1.2 DÉFINITION DES CAS

Un cas d'infection à *Campylobacter* est défini par l'isolement d'une souche de *Campylobacter* dans un prélèvement biologique (selles, sang...) chez une personne résidant en France. Aucune information

sur les signes cliniques n'est recueillie, les souches pouvant être isolées chez des patients malades ou porteurs asymptomatiques.

1.3 MODALITÉS

Depuis avril 2002, la surveillance des infections à *Campylobacter* repose sur un réseau de laboratoires d'analyse de biologie médicale (LABM) et de laboratoires hospitaliers. Les laboratoires envoient volontairement les souches qu'ils isolent au CNR avec une fiche qui collecte des informations de nature épidémiologique (identifiant du laboratoire, département, date de naissance, sexe, notion de voyage à l'étranger dans les 15 jours précédant le début de la maladie, notion de cas groupés) et biologique (nature de l'échantillon, date d'isolement, site de prélèvement, date de réception).

Il est demandé aux laboratoires participant à la surveillance de rechercher systématiquement *Campylobacter* dans toutes les coprocultures [1].

Pour chaque souche reçue, le CNR réalise une caractérisation de l'espèce et des tests de sensibilité aux antibiotiques.

Le CNR signale hebdomadairement les cas groupés à l'InVS, qui met alors en œuvre une investigation afin d'identifier une éventuelle source de contamination commune.

1.4 QUALITÉS

Sur la période 2004 et 2005, 442 LABM et laboratoires hospitaliers ont envoyé des souches de *Campylobacter* avec une fiche d'information au CNR, ce qui représentait 9 % des 3 444 laboratoires privés réalisant des analyses bactériologiques (325/3444) et 25 % des 409 laboratoires hospitaliers participant à la surveillance (92/409).

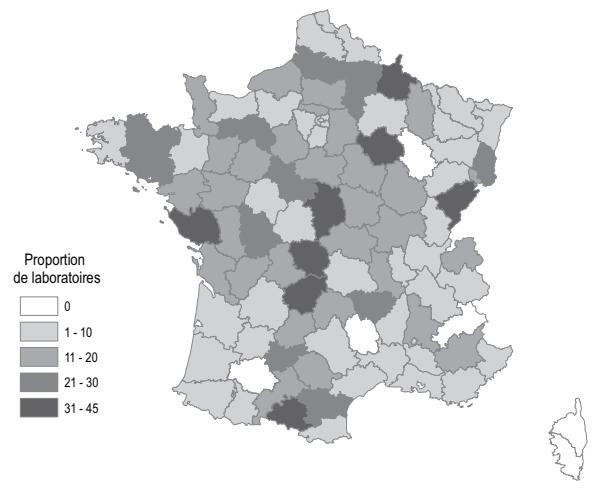
Les 325 LABM participant à la surveillance des infections à *Campylobacter* étaient répartis dans 89 des 95 départements métropolitains (figure 1). Plus d'un tiers de ces LABM étaient localisés dans huit départements.

La répartition des laboratoires hospitaliers participant à la surveillance était moins homogène sur l'ensemble des départements ; dans 25 départements, essentiellement situés au centre et dans le sud de la France, aucun laboratoire hospitalier ne participe à la surveillance (figure 2).

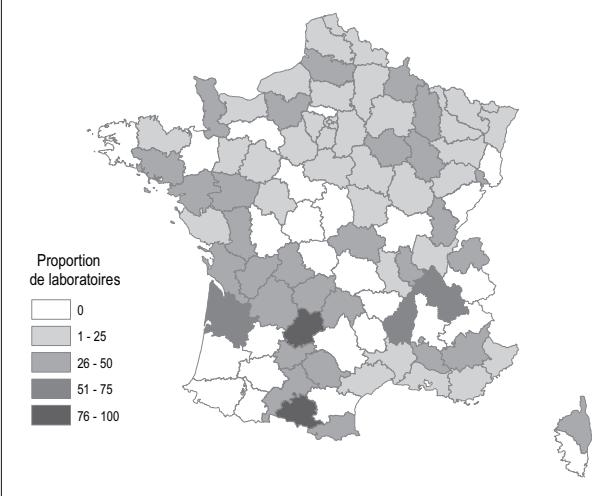
Le nombre de souches par département d'isolement envoyées au CNR reflétait la participation des laboratoires (figures 3 et 4).

FIGURE 1

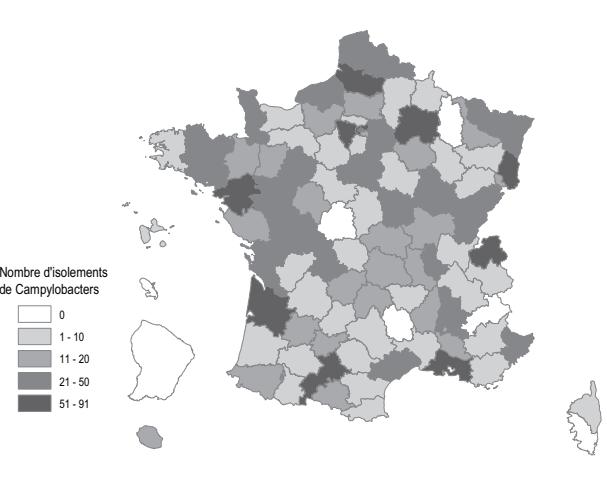
PROPORTION DE LABORATOIRES
D'ANALYSE ET DE BIOLOGIE MÉDICALE
PARTICIPANT AU RÉSEAU
DE SURVEILLANCE DES INFECTIONS
À CAMPYLOBACTER, FRANCE, 2002-2004

**FIGURE 2**

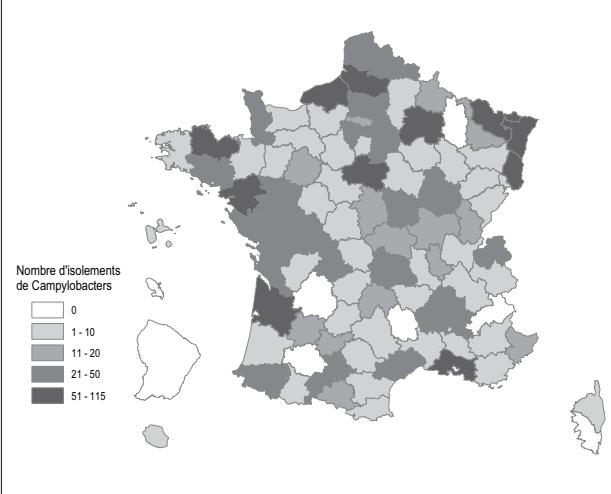
PROPORTION DE LABORATOIRES
HOSPITALIERS PARTICIPANT AU RÉSEAU
DE SURVEILLANCE DES INFECTIONS
À CAMPYLOBACTER, FRANCE, 2002-2004

**FIGURE 3**

NOMBRE D'ISOLEMENTS DE
CAMPYLOBACTER PAR DÉPARTEMENT,
FRANCE, 2004

**FIGURE 4**

NOMBRE D'ISOLEMENTS DE
CAMPYLOBACTER PAR DÉPARTEMENT,
FRANCE, 2005



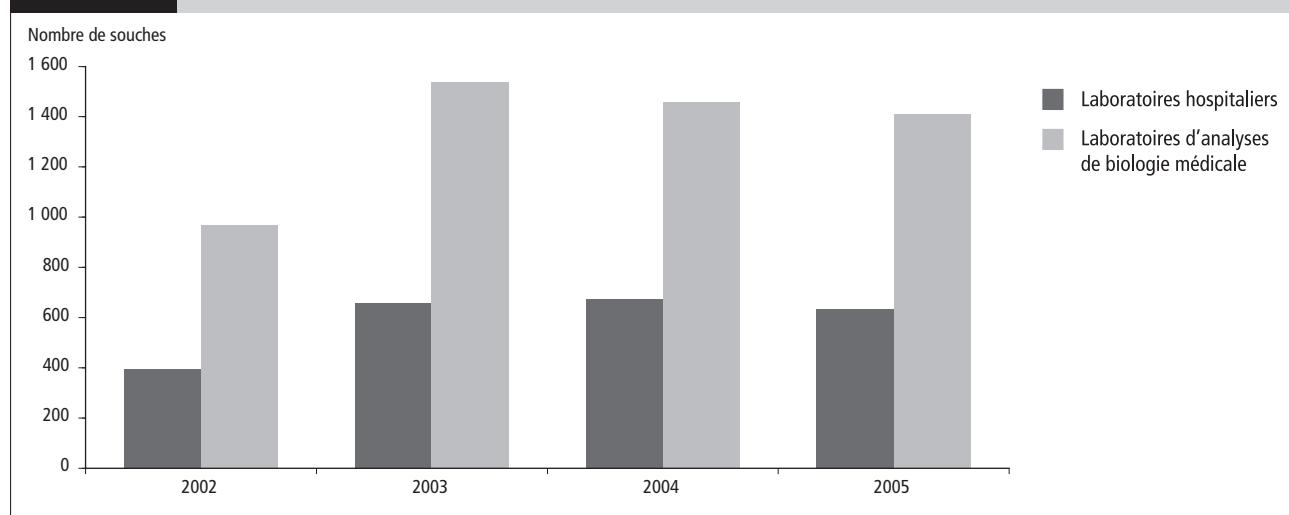
2. Principales caractéristiques épidémiologiques

Le CNR a reçu 4 176 souches (2 132 en 2004 et 2 044 en 2005), dont 306 (7,3 %) n'ont pas donné de subculture. Les laboratoires hospitaliers et les LABM ont envoyé respectivement 1 308 et 2 868 souches (figure 5). Le nombre de souches envoyées au CNR en 2004 et 2005 était comparable à celui observé en 2003.

L'espèce a été caractérisée pour 3 870 souches. L'espèce *C. jejuni* (77,2 %) était la plus fréquente, suivie de *C. coli* (15,7 %) et *C. fetus* (5,3 %) (tableau 1).

FIGURE 5

NOMBRE D'ISOLEMENTS DE CAMPYLOBACTER SELON L'ANNÉE ET LE TYPE DE LABORATOIRES, FRANCE, 2002-2004



2.1 SITES DE PRÉLÈVEMENT

La grande majorité (92,8 %) des souches a été isolée des selles et 6,7 % ont été isolées d'hémoculture (tableau 1). *C. fetus* représentait 62,4 % des souches isolées d'hémocultures et 58,9 % des *C. fetus* étaient isolées d'hémocultures. La proportion d'isolements provenant

du sang ne variait pas selon le sexe, mais variait selon l'âge. Les personnes ayant une hémoculture positive à *Campylobacter* étaient plus âgées (médiane d'âge : 72 ans) que les personnes pour lesquelles *Campylobacter* avait été isolé dans les selles (médiane d'âge : 20 ans).

TABLEAU 1

RÉPARTITION DES ESPÈCES DE CAMPYLOBACTER ET BACTÉRIES APPARENTÉES IDENTIFIÉES AU CNR PAR TYPE DE PRÉLÈVEMENT, FRANCE, 2004-2005

Espèces	Selles	Hémocultures	Selles + sang	Autres prélèvements	Inconnu	Total (%*)
<i>C. jejuni</i>	2 892	41	2	22	30	2 987 (77,2)
<i>C. coli</i>	587	12	1	6	3	609 (15,7)
<i>C. fetus</i>	55	122	6	23	1	207 (5,3)
<i>A. butzleri</i>	28	1	0	0	1	30 (0,8)
<i>C. lari</i>	15	5	0	1	0	21 (0,5)
<i>C. upsaliensis</i>	4	0	0	0	0	4 (0,1)
<i>C. hyoilectinalis</i>	3	0	0	0	0	3 (0,1)
<i>C. cryaerophila</i>	5	0	0	0	0	5 (0,1)
<i>H. pullorum</i>	2	0	0	0	0	2 (0,1)
Inconnu	284	13	1	1	7	306
Total	3 876	195	10	53	42	4 176

C. : *Campylobacter*; A. : *Arcobacter*; H. : *Helicobacter*.

* % calculé sur le total de souches identifiées.

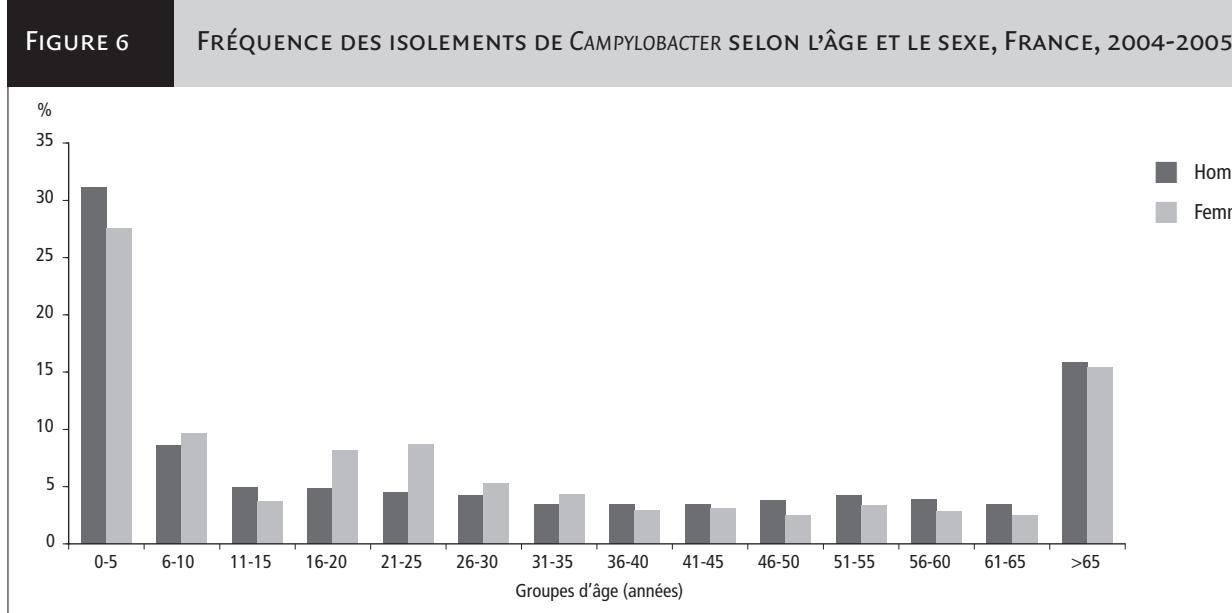
2.2 RÉPARTITION PAR ÂGE ET PAR SEXE

Trente-huit pour cent des souches de *Campylobacter* ont été isolées chez des enfants âgés de moins de 10 ans et 15,2 % chez des personnes âgées de plus de 65 ans. Le nombre de souches isolées chez les nourrissons de moins de 1 an représentait 4,0 % du nombre total de souches de *Campylobacter*.

Les personnes infectées par *C. fetus* étaient plus âgées (médiane d'âge : 74 ans) que les personnes infectées par *C. jejuni* (médiane d'âge : 19 ans) ou par *C. coli* (médiane d'âge : 27 ans).

L'âge médian des personnes infectées par *C. lari* et *A. butzleri* était de 56,0 et 54,3 ans respectivement.

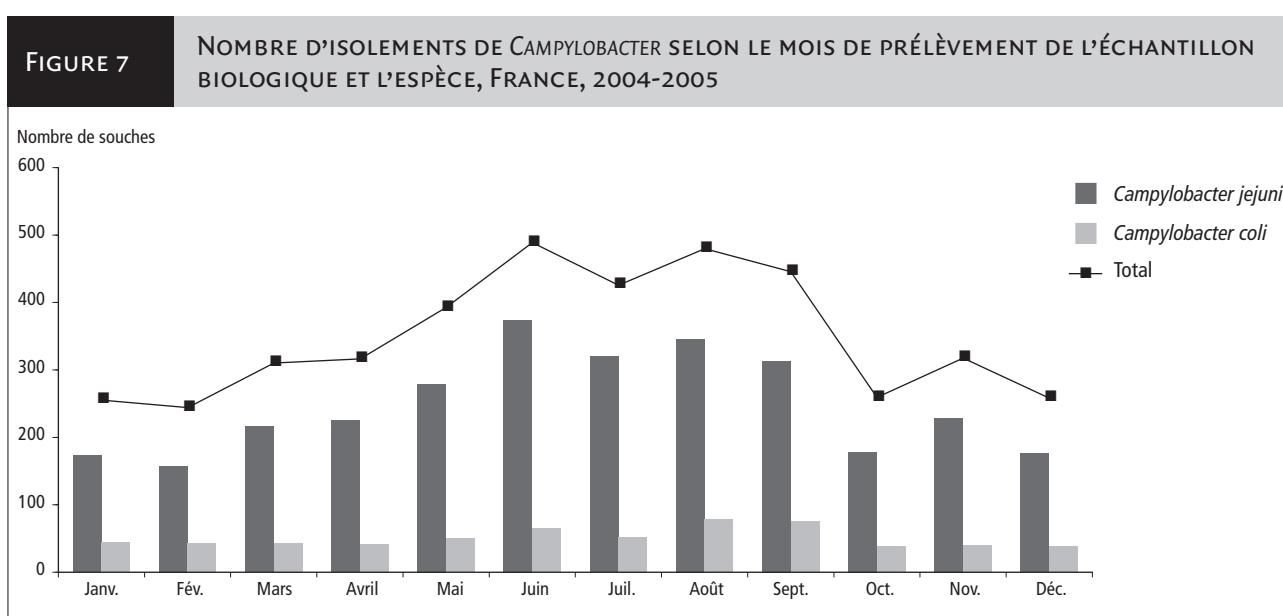
Parmi les personnes âgées de 16 à 35 ans, la proportion d'isolements de *Campylobacter* chez les femmes était supérieure à celle observée chez les hommes (différence non significative) (figure 6).



2.3 RÉPARTITION PAR MOIS

Une recrudescence saisonnière des isolements de *Campylobacter* a été observée pendant la période estivale. Cette saisonnalité était surtout marquée pour l'espèce *C. jejuni*. La saisonnalité peu marquée pour

C. coli pouvait être la conséquence d'un faible nombre de souches isolées (figure 7).



2.4 CAS GROUPÉS D'INFECTIONS À CAMPYLOBACTER

Cent onze foyers de cas groupés ont été signalés au CNR (soit 4,7 % des 2 342 fiches d'information pour lesquelles l'information était renseignée) ; 74 % de ces foyers étaient survenus en milieu familial, 22 % en collectivités et 4 % en restauration commerciale. Les foyers familiaux n'excédant pas deux malades, seuls 64 % (16/25) des foyers survenus en collectivités ou en restauration commerciale ont fait l'objet

d'une investigation par la Direction départementale des affaires sanitaires et sociales (Ddass), la Cellule interrégionale d'épidémiologie (Cire) ou l'Institut de veille sanitaire (InVS). Pour six d'entre eux, une origine alimentaire a été suspectée (poulet : 3 foyers ; viande de kebab : 1 foyer).

2.5 VOYAGE À L'ÉTRANGER

Pour 173 patients (4,1 %), la notion de voyage dans un pays étranger, dans les 15 jours précédant le début de leurs symptômes, était

mentionnée. Les destinations les plus fréquentes étaient l'Afrique du Nord (35,3 %), l'Afrique subsaharienne (21,4 %) et l'Asie (16,2 %).

2.6 RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Comme pour la période 2002-2003, la résistance à l'érythromycine était toujours faible (3,3 %), la résistance à l'ampicilline élevée (33,9 %) et la résistance à la gentamicine quasi inexiste (tableau 2).

La résistance à la doxycycline demeurait élevée (34,4 % vs 32,7 % en 2002-2003). Cette fréquence de résistance élevée aux tétracyclines pourrait en partie être liée à une utilisation fréquente de cette classe d'antibiotiques dans les élevages de volailles.

La résistance aux quinolones, qui avait diminué en 2003, ré-augmente en 2004 et 2005. Pour l'acide nalidixique, elle était de 33,7 % pour les souches isolées par les LABM (27,2 % en 2002-2003) et 33,5 % pour les souches isolées par les laboratoires hospitaliers (31,5 % en 2002-2003).

La résistance à la ciprofloxacine suivait les mêmes tendances.

TABLEAU 2

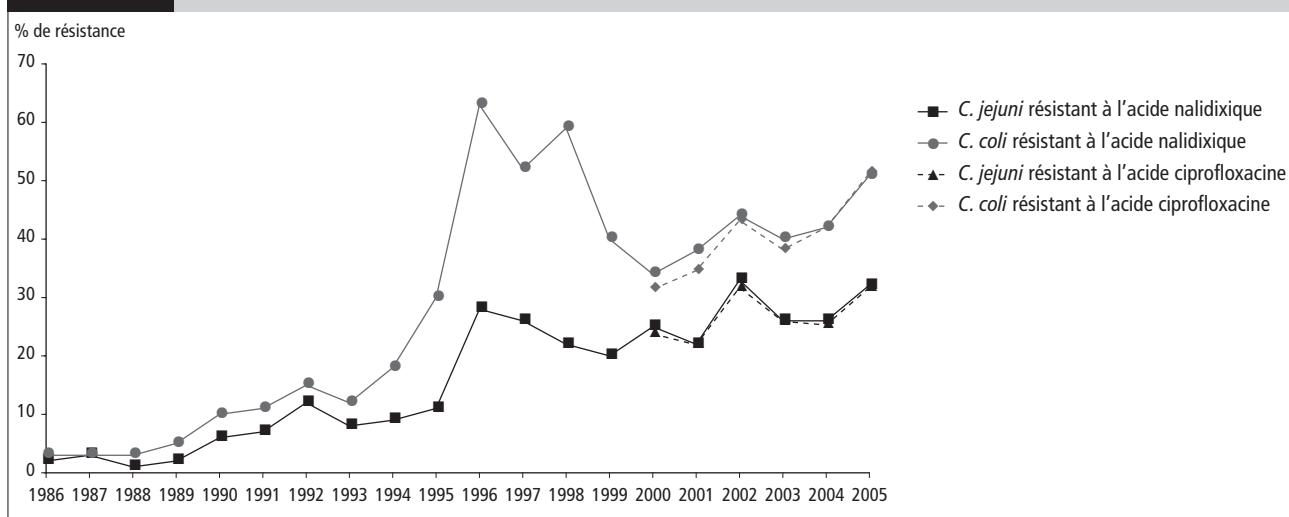
TEST DE SENSIBILITÉ DES CAMPYLOBACTERS AUX ANTIBIOTIQUES (% DE RÉSISTANCE), FRANCE, 2004-2005

	Total (% résistance)		<i>C. jejuni</i> (% résistance)		<i>C. coli</i> (% résistance)		<i>C. fetus</i> * (% résistance)	
	LABM	LH	LABM	LH	LABM	LH	LABM	LH
Erythromycine	3,4	3,0	1,2	1,3	10,6	11,4	0,6	0
Doxycycline	35,6	31,6	32,2	30,3	53,9	55,1	14,8	13,0
Ampicilline	34,7	32,2	35,1	36,5	32,4	27,5	11,1	7,2
Acide nalidixique	33,7	33,5	30,2	29,8	48,3	45,5	-	-
Ciprofloxacine	33,2	31,7	30,1	28,7	48,5	46,1	-	-
Gentamicine	0,1	0,2	0,04	0,1	0	0	0	0
Augmentin	0,2	0,5	0,09	0,2	0,2	0	0	0

LABM : laboratoires d'analyses de biologie médicale ; LH : laboratoires hospitaliers.

* Résistance naturelle à l'acide nalidixique et à la ciprofloxacine.

FIGURE 8

RÉSISTANCE À L'ACIDE NALIDIXIQUE ET À LA CIPROFLOXACINE DE *C. JEJUNI* ET *C. COLI* ISOLÉS CHEZ L'HOMME, FRANCE, 1986-2005

Le pourcentage de résistance à l'acide nalidixique et à la ciprofloxacine était statistiquement plus élevé chez les souches de *Campylobacter* isolés chez les malades ayant voyagé à l'étranger dans les quinze jours précédant le début des symptômes comparativement à celles isolées chez les non-voyageurs (tableau 3).

La résistance à l'ampicilline de *C. jejuni* était statistiquement supérieure chez les malades n'ayant pas voyagé à l'étranger (38,2 % vs 28,3 %

pour les malades qui avaient voyagé à l'étranger dans les quinze jours précédant le début des symptômes). L'inverse était observé pour les *C. coli*, pour lesquels la résistance à l'ampicilline était supérieure chez les malades ayant voyagé à l'étranger (44,7 % vs 30,9 % pour les malades n'ayant pas voyagé à l'étranger ; différence non significative) (tableau 3).

TABLEAU 3

FRÉQUENCE DES RÉSISTANCES DES CAMPYLOBACTERS AUX ANTIBIOTIQUES SELON L'EXISTENCE OU NON D'UN VOYAGE À L'ÉTRANGER DANS LES QUINZE JOURS PRÉCÉDANT LA DATE DE DÉBUT DES SYMPTÔMES, FRANCE, 2004-2005

	Total (% résistance)		<i>C. jejuni</i> (% résistance)		<i>C. coli</i> (% résistance)		<i>C. fetus*</i> (% résistance)	
	Voyage		Voyage		Voyage		Voyage	
	oui	non	oui	non	oui	non	oui	non
Erythromycine	8/162 4,9	26/897 2,9	1/113 0,9	8/677 1,2	5/38 13,2	14/123 11,4	0/3 -	0/84 -
Doxycycline	49/162 30,3	293/898 32,6	30/113 26,5	210/678 31,0	17/38 44,7	67/123 54,5	0/3 -	12/84 14,3
Ampicilline	55/162 33,9	311/898 34,6	32/113 28,3	259/678 38,2	17/38 44,7	38/123 30,9	0/3 -	7/84 8,3
Acide nalidixique	80/159* 50,3	270/814* 33,2	54/113 52,2	212/678 31,3	21/38 55,3	50/123 40,6	-	-
Ciprofloxacine	79/159* 49,7	262/814* 32,2	56/113 49,6	209/678 30,8	21/38 55,3	50/123 40,6	0/3 -	13/84 15,5
Gentamicine	1/162 0,6	1/898 0,1	0/113 0,2	1/678 0,2	0/38 0,2	0/123 0,2	0/3 -	0/84 -

*Analyse excluant *C. fetus* qui a une résistance naturelle aux quinolones.

3. Perspectives et recommandations

Le système de surveillance des infections à *Campylobacter* survenant en ville est encore récent. Les caractéristiques épidémiologiques des infections à *Campylobacter* observées en France présentent des similarités avec celles observées dans d'autres pays industrialisés : pic saisonnier pendant la période estivale, incidence plus élevée chez les enfants, fréquence plus importante de l'espèce *C. jejuni* et résistance plus élevée aux quinolones [2]. Il existe, cependant, des différences, notamment une fréquence élevée d'infections chez les femmes jeunes, une résistance plus élevée à l'ampicilline (40 % en France vs 23 % en Allemagne, 17 % en Finlande) et une proportion plus élevée de *C. coli* parmi les *Campylobacters* isolés (17 % en France vs 11 % en Belgique, 5 % aux Pays-Bas et < 1 % aux États-Unis) [3].

Une étude réalisée par l'InVS a permis d'estimer, à partir des données de surveillance, l'incidence des infections à *Campylobacter* entre 1 667 et 2 733 pour 100 000 habitants, soit 800 000 à 2 millions d'infections à *Campylobacter* par an en France [4]. L'incidence des infections confirmées microbiologiquement a été estimée à 31 pour 100 000 habitants, soit 18 485 infections confirmées par an.

En France, la recherche de *Campylobacter* dans les selles reste à l'initiative du microbiogiste, sauf si elle est spécifiquement prescrite par le médecin. Contrairement aux *Salmonella* et *Shigella* recherchées systématiquement dans toute coproculture, la recherche de *Campylobacter* dans les selles est techniquement plus lourde et plus coûteuse sans qu'il y ait, en contrepartie, une majoration de la cotation forfaitaire de la coproculture. Cependant, une enquête réalisée en 2001 a montré que sur un échantillon de 661 laboratoires, 48,6 % des coprocultures faisaient systématiquement l'objet d'une recherche de *Campylobacter* [5].

Étant donné leur implication fréquente dans les diarrhées aiguës survenant dans les pays industrialisés (première cause bactérienne de maladies d'origine alimentaire devant *Salmonella*), les *Campylobacters* devraient être systématiquement recherchés dans toute coproculture. Ainsi, les sociétés françaises de microbiologie, de gastro-entérologie et de médecine générale recommandent que, lors d'une prescription de coproculture devant une diarrhée présumée infectieuse, le praticien précise systématiquement "coproculture standard avec recherche de *Campylobacter*" [6].

Afin que le réseau de surveillance réponde mieux à ces objectifs, notamment obtenir une meilleure exhaustivité et représentativité des infections en population générale, le réseau sera étendu en 2007 par l'inclusion de nouveaux laboratoires. Ces futurs laboratoires participant au réseau seront incités à rechercher en routine *Campylobacter* dans les selles et à envoyer leurs souches au CNR. Le CNR, quant à lui, poursuit les recherches pour améliorer les techniques diagnostiques de *Campylobacter* et harmoniser leur utilisation en routine dans les laboratoires.

Pour permettre au réseau de surveillance de jouer son rôle d'alerte et d'identifier des populations ou situations à risque, la qualité des informations recueillies au CNR est essentielle. Ainsi, lors de notion de "cas groupés", qui fait suspecter une toxi-infection alimentaire collective (maladie à déclaration obligatoire), il est important que les laboratoires signalent cette information à la Ddass de leur département. Ce signalement permettra la mise en œuvre précoce d'une investigation pour identifier l'origine de la contamination et la mise en place d'éventuelles mesures de contrôle, contribuant, ainsi, à une amélioration des connaissances sur l'épidémiologie des infections à *Campylobacter* chez l'homme en France.

L'étude sur les facteurs de risque de survenue des infections à *Campylobacter* sporadiques en France a mis en évidence une association avec la consommation de bœuf peu cuit, une hygiène insuffisante des mains lors de la préparation des aliments en cuisine et un voyage à l'étranger [4]. D'autres études sont nécessaires pour confirmer ces résultats.

Par ailleurs, après un pic de résistance aux quinolones observé pour *C. jejuni* et *C. coli* à la fin des années 90, une tendance à la baisse était observée jusqu'en 2004, notamment pour *C. jejuni*. Les données de surveillance pour l'année 2005 sont, cependant, à nouveau en faveur d'une progression sensible de cette résistance. La fréquence élevée de la résistance aux antibiotiques, et notamment l'augmentation des résistances aux quinolones, indique donc la nécessité de poursuivre la surveillance de ces résistances et de continuer la recherche des causes [7]. L'utilisation des antibiotiques en santé animale semble jouer un rôle majeur ; des travaux collaboratifs avec le CNR des *Campylobacters* et *Helicobacters* et l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) sont actuellement en cours.

Références bibliographiques

- [1] Gallay A, Mégraud F. Mise en place d'un système de surveillance des infections à *Campylobacter* en France. Revue française des laboratoires. 2003;juin/juillet. N° 354.
- [2] Nachamkin I, Blaser MJ. *Campylobacter*. 2nd Edition. ASM Press, Washington D.C. 2000 (545 p).
- [3] Vandenberg O, Dediste A, Houf K, Ibekwem S, Souayah H, Cadarrel S, Douat N, Zissis G, Butzler JP, Vandamme P. *Arcobacter* species in humans. Emerging Infectious Diseases. 2004;10(10):1863-7.
- [4] Gallay A. Contribution à l'épidémiologie des infections à *Campylobacter* en France. Rapport de thèse, Université Paris XI, 2006. Disponible sur le site de l'Institut de veille sanitaire : <http://www.invs.sante.fr>
- [5] Gallay A, Simon F, Mégraud F. Surveillance of human *Campylobacter* infections in France - Part 2 - Implementation of national surveillance. EuroSurveillance. 2003;8(11):218-218.
- [6] Société française de microbiologie, Société française de gastro-entérologie et Société française de médecine générale. Recommandations pour la pratique clinique sur les indications des examens de selles chez l'adulte. Bulletin de la Société française de microbiologie. 2003;18(4):287-94.
- [7] Mégraud F, Prouzet-Mauléon V. Évolution de la résistance des *Campylobacters* aux antibiotiques en France (1986-2002). Bulletin épidémiologique hebdomadaire. 2002;32-33:156-8.

Surveillance des infections à *Campylobacter* en France, 2004-2005

Un réseau de surveillance des infections à *Campylobacter*, coordonné par le CNR des Campylobacters et Hélicobacters, a été mis en place en France en 2002, à partir de laboratoires hospitaliers et de laboratoires d'analyses de biologie médicale (LADM) volontaires répartis sur tout le territoire métropolitain.

Entre 2004 et 2005, 442 LADM et laboratoires hospitaliers ont envoyé des souches de *Campylobacter* avec une fiche d'information au CNR ; 4 176 souches (2 132 en 2004, 2 044 en 2005) ont été étudiées. Il s'agissait de *Campylobacter jejuni* (77 %), *Campylobacter coli* (15,7 %), *Campylobacter fetus* (5,3 %). Les autres Campylobacters (*C. lari*, *C. upsaliensis*, *C. hyoilealis*) ont été rarement trouvés. L'immense majorité des souches (93 %) ont été isolées de selles dans le contexte d'infections intestinales et 7 % lors de septicémies ou de localisations secondaires d'infections systémiques parmi lesquelles *C. fetus* est la principale espèce (59 %). La résistance à l'ampicilline et celle à la doxycycline restent élevées (34 %). La résistance aux quinolones, qui avait diminué en 2003, re-augmente en 2004-2005 jusqu'à 32 %, pour *C. jejuni* et 51 % pour *C. coli*.

Les caractéristiques épidémiologiques des infections à *Campylobacter* observées en France présentent des similarités avec celles observées dans d'autres pays industrialisés. Il existe, cependant, des différences, notamment une proportion plus élevée de *C. coli* parmi les Campylobacters isolés (16 %) et une résistance plus élevée à l'ampicilline et aux quinolones.

Surveillance of human *Campylobacter* infections in France, 2004-2005

Since 2002, *Campylobacter* surveillance is based on a network of voluntary medical laboratories that send their isolates to the National Reference Laboratory for *Campylobacter*. This system includes primary diagnostic laboratories as well as public hospital laboratories.

Between 2004 and 2005, 442 laboratories sent an isolate of *Campylobacter*. Among the 4 176 *Campylobacter* isolates received by the NRL (2132 in 2004, 2044 in 2005), 77% were *Campylobacter jejuni*, 15.7% *Campylobacter coli* and 5.3% *Campylobacter fetus*. The other Campylobacters (*C. lari*, *C. upsaliensis*, *C. hyoilealis*) were rarely isolated.

Among the isolates, 93% were isolated from stools, 7% from blood and from other sites presumably seeded as a result of bacteremic infections. Both *C. jejuni* and *C. coli* were isolated essentially from stools, whereas 59% of *C. fetus* isolates were from blood. Resistance to ampicillin and doxycycline remained high (34%). Quinolone resistance, which decreased in 2003, increased for both *C. coli* (51%) and *C. jejuni* (32%).

The characteristics of *Campylobacter* infections in France are in accordance with those of other European countries. However, data are marked by a relatively high proportion of *Campylobacter coli* (16%) isolates compared to other European countries, and the high frequency of resistance to quinolones and ampicilline.