

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master
en

Médecine vétérinaire

THEME

Détection et étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* thermotélérants isolées chez le poulet de chair dans quelques établissements d'abattage avicoles dans la wilaya de Batna

Présenté par :

Tamarat Meryem

Medghoul Asma

Soutenu publiquement, le 14 Septembre 2022 devant le jury :

Mr. BAROUDI Djamel

Professeur (ENSV)

Président

Mme. BENMOHAND Chabha

MAA(ENSV)

Examinatrice

Mme. GUESSOUM Meryem

MCB (ENSV)

Promotrice

Année Universitaire: 2021-2022

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier « **ALLAH** » le Tout Puissant et miséricordieux, qui nous a donné les ressources morales, physiques, matérielles et intellectuelles pour accomplir cette thèse.

On remercie en premier lieu Monsieur **Baroudi** (Professeur à l'ENSV) de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury. Hommages respectueux.

Nos premiers remerciements à notre promoteur Docteur **Guessoum** (Maître de conférences classe B à l'ENSV) qui a accepté d'encadrer ce modeste travail. On la remercie davantage pour, sa disponibilité, sa bonté, sa gentillesse sans oublier sa patience et ses précieuses orientations qui m'ont été très utiles pour mener à bien mon mémoire. Hommages respectueux.

Ce travail n'aurait pu voir le jour sans la contribution aussi bien matérielle qu'humaine du Mlle. **Messaoudene Hakima** (Doctorante à l'université de Batna).

On exprime tous nos remerciements à Mme **Benmohand** pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail. Sincères remerciements

Notre profond respect envers les responsables des abattoirs, pour l'aide qu'ils nous ont apporté et pour leurs soutiens au cours de l'enquête et la récolte des prélèvements, qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.

Enfin, on remercie tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes précieux parents pour les exprimer tout le respect et l'amour que j'ai pour eux et pour les témoigner ma reconnaissance pour tous les efforts et sacrifices, merci mes parents.

Mes sœurs : Loubna ,Amira , Maria

Mes frères : Houssam, Moustapha

Toutes les amies en particulier : Ilhem, Safaa, Nourhene ,Sarra

Tous ceux qui me connaissent

Mon binôme meryem

Asma

Dédicace

Avant toute dédicace je tiens à remercier « Allah » le tout puissant qui m'a donné le courage pour mener ce travail à terme.

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers, en particulier mon cher père qui ne cesse de donner sans jamais recevoir, dont je suis fière et j'espère que Dieu lui accorde une longue vie pour qu'il puisse assister à d'autres succès.

A ma chère mère, symbole de l'abnégation et du dévouement, qui m'a accompagnée durant tout ce parcours laborieux, veillé sur moi m'offrant ce qu'une mère a de mieux, l'amour et la compréhension.

A mes chers frères : Ayoub et Mounib qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance et mes sincères gratitude

A toute ma grande famille : Grand-père, oncles et tantes, cousines et cousins.

Dédie spécifique la famille Maalem.

A tous mes amies, en particulier Saada et Sara pour leurs aides et Supports surtout dans les moments difficiles nos souvenir ensemble.

A ma binôme Asma et toute sa famille.

Meryem

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Abréviation

Résumé

Partie bibliographique

Introduction	1
I. HISTORIQUE ET TAXONOMIE	3
II. CARACTERES GENERAUX.....	4
II.1. Caractères Morphologiques.....	4
II.2. Caractères métaboliques.....	5
II.3. Caractères culturels.....	5
II.4. Caractères biochimiques.....	5
III. EPIDEMIOLOGIE.....	6
III.1. Prévalence et incidence de l'infection.....	7
III.2. Voies de transmission	7
III.3. Viabilité (développement et survie de <i>Campylobacter</i>) dans l'eau et les aliments	8
III.4. Survie des <i>Campylobacters</i> dans l'eau.....	8
III.5. Survie des <i>Campylobacters</i> dans les aliments.....	9
VI. DIAGNOSTIC.....	9
VI.1. Typage phénotypique	9
VI.2. La culture.....	9
VI.3. Biotypage.....	12
VI.4. Tests biochimiques.....	12
VI.5. Tests sérologiques.....	12
V. SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES	14

Partie expérimentale

Objectifs.....	17
----------------	----

I. MATERIEL ET METHODES.....	17
I.1. Présentation des abattoirs.....	17
I.2. Matériel.....	17
I.2.1. Matériel biologique.....	17
I.2.1.1. Fiche d'enquête.....	17
I.2.1.2. Echantillonnage	18
I.2.2. Matériel de laboratoire.....	18
A. Réactifs chimiques.....	18
B. Milieux de culture.....	19
C. Équipements de laboratoire.....	19
I.3. Méthodes	19
I.3.1. Méthodes de prélèvement.....	19
I.3.2. Transport des prélèvements.....	19
I.3.3. Méthode de laboratoire	20
I.3.4. Détection des <i>Campylobacters thermotolérants</i>.....	20
I.2.3. Préparation échantillon a tester	21
I.2.3. Isolement des <i>Campylobacters</i>	21
1.Enrichissement en milieu sélectif liquide.....	21
II. Confirmation des colonies caractéristiques.....	22
II.1. Confirmation préliminaire	22
II.2. Purification des isolats	22
II.3. Tests de confirmation	22
II.3.1. Identification microscopique	22
II.3.2. Recherche de l'oxydase.....	23
II.3.3. Recherche de la fermentation des sucres	24
II.3.4. Détection de la croissance a 25 C	25
III. Tests additionnels de confirmation (caractérisation phénotypique des souches isolées.....	25
III.1. Identification des <i>Campylobacters spp</i> a l'aide de la galerie classiques.....	25
1.Recherche de la production d'H₂S.....	25
2.Recherche de la Catalase	26

3. Recherche de la sensibilité a l'acide nalidixique et a la céfalotine	26
III .2. Identification des <i>Campylobacters spp</i> a l'aide de la galerie APY Campy.....	27
III .3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées	28
VI. RESULTATS ET DISCUSSION.....	30
VI.1. Fiches d'enquêtes.....	30
I.2.1. Opérations de pré-abattage.....	30
I.2.2. Opérations d'abattage.....	30
I.2.3. Hygiène du personnel et de l'abattoir.....	30
II. Détection des <i>Campylobacter</i> thermotolérants.....	30
III.1. Identification des souches isolées à l'aide de la galerie classique	34
III.2. Confirmation des souches à l'aide de la galerie Api Campy.....	34
III.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....	36
Discussion antibiotique	37
Conclusion	39
Reference bibliographique.....	42
Annexes.....	48

Liste des tableaux

Tableau 01	Classification des <i>Campylobacter</i> thermotolérants	3
Tableau 02	Historique de la découverte des <i>Campylobacter</i> et de leur importance dans les maladies diarrhéiques	4
Tableau03	Caractères d'identification des principales espèces de <i>Campylobacter</i>	5
Tableau 04	Épreuves biochimiques pour l'identification de <i>Campylobacter</i>	7
Tableau 05	Taux de contamination des prélèvements par <i>Campylobacter</i>	32
Tableau 06	Taux de contamination par les <i>Campylobacter</i> thermotolérants au niveau des différents abattoirs	33
Tableau 07	Distribution des espèces de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées	36
Tableau 08	Taux de résistance et de sensibilité des 22 souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants aux différents antibiotiques testés	38

Listes des figures

Figure 01	Caractères morphologiques des <i>Campylobacter</i> (Observation au microscope électronique)	4
Figure 02	Historique de la découverte des <i>Campylobacter</i> et de leur importance dans les maladies diarrhéiques	7
Figure 03	Voies de transmission de <i>Campylobacter jejuni</i>	15
Figure 04	Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques	18
Figure 05	La réalisation des prélèvements	19
Figure 06	Aspect de colonies de <i>Campylobacter jejuni</i> sur le milieu Skirrow(Photos personnelles)	21
Figure 07	<i>Campylobacter jejuni</i> : Coloration de Gram(Photo personnelle)	23
Figure 08	<i>Campylobacter jejuni</i> : Test d'oxydase(Photo personnelle)	24
Figure 09	Aspect de <i>C. jejuni</i> sur galerie API Campy	28
Figure 10	Taux de contamination des prélèvements par <i>Campylobacter</i>	31
Figure 11	Taux de contamination par les <i>Campylobacter</i> thermotolérants au niveau des différents abattoirs	32
Figure 12	Distribution des espèces de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées	35
Figure 13	Taux de résistance et de sensibilité des 22 souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants aux différents antibiotiques testés	36

Liste des abréviations

- : négatif

%: pourcentage

+ : plus ou moins

+ : positif

< : inférieur

> : supérieur

°C : degré Celsius

µg : microgramme

ATB : Antibiotique

C.: *Campylobacter*

C: cytosine

CO₂: dioxyde de carbone

E. coli : *Escherichia coli*

g : gramme

h: heure

H₂O : molécule d'eau

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₂S: sulfure d'hydrogène

HACCP : Hazard Analysis Critical Control Point

ml : millilitre

mm: millimètre

N° : Numéro

N₂: azote

NaCl: chlorure de sodium

O₂: oxygène

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

spp. : espèces

TSI : Triple Sugar Iron

UI : Unité Internationale

UPTC: Urease-Positive Thermophilic *Campylobacter*

Résumé

Les objectifs de notre travail étaient de déterminer le taux de contamination des carcasses de poulet de chair par les *Campylobacter* thermotolérants (CTT) dans quelques établissements d'abattage de la wilaya de Batna, de les caractériser phénotypiquement et d'étudier leurs sensibilités aux antibiotiques.

50 prélèvements ont été effectués au niveau de 4 abattoirs avicoles (peaux du cou). Après préparation de l'échantillon à tester, un isolement des CTT a été réalisé sur de la gélose skirrow et une identification biochimique complète des souches isolées a été effectuée suivi d'une étude de la sensibilité aux antibiotiques selon les recommandations CA SFM (2018).

Un taux de contamination globale de 48% (24 /50) a été noté et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques a révélé que 86,36%, 90,91% et 63,64% des souches testées ont présenté une résistance à l'acide nalidixique, à la tétracycline et à la ciprofloxacine respectivement.

D'après ces résultats nous constatons le taux de contamination reste important et les taux de résistance aux antibiotiques est inquiétant pour l'hygiène alimentaire.

Mots clés : *Campylobacter* thermotolérants, poulet de chair, peau de cou, Batna, antibioresistance

Introduction

Introduction

En alimentation humaine, l'apport protéique est essentiellement apporté par les produits carnés comme les viandes de volaille (poulet de chair et dinde) qui sont de loin les plus consommées en Algérie, et ce pour des raisons économiques (MADR (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural) /DSV (**BOUHAMED, 2010**).

En plus de leur apport nutritionnel, les viandes blanches notamment les viandes de poulets sont connues pour leurs faibles teneurs en matières grasses (**BRUNEL et al., 2006**) ; ce qui incite le consommateur à préférer ce type de denrées animales qu'il soit contraint ou pas (cholestérol, régime, etc.).

Cependant, les viandes n'ont pas que des bienfaits puisqu'elles sont souvent souillées par des agents pathogènes pouvant nuire à la santé du consommateur en étant à l'origine de toxiinfections alimentaires telles que la campylobactériose qui constitue, de nos jours, la principale maladie infectieuse d'origine alimentaire dans le monde (**BOLLA et GARNOTEL, 2008**).

Cette zoonose est occasionnée par des bacilles à Gram négatif incurvés ou spiralés microaérophiles dits *Campylobacter* thermotolérants qui sont généralement transmis à l'homme par l'ingestion de denrées alimentaires contaminées, entre autres les viandes de volaille ; puisque les oiseaux représentent le principal réservoir des campylobactéries (**DROMINGY, 2007**).

De même, il est important de noter que la résistance aux antibiotiques des souches appartenant à ce groupe est entrain d'émerger mondialement, et elle a même été reconnue par l'Organisation Mondiale de la Santé en tant que problème majeur de santé publique (**FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION) /OMS (ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE) /OIE (OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES), 2007**).

En effet, ces bactéries ont acquis au fil du temps des résistances à divers antibiotiques notamment aux fluoroquinolones ; principales molécules employées pour le traitement des infections à *Campylobacter* chez l'homme.

Le fait que ces bactéries posent un sérieux problème de santé publique nous a incités à la réalisation de cette présente étude qui est scindée en deux parties : une partie bibliographique et une partie expérimentale dont les principaux objectifs sont, d'une part, d'estimer le taux de

contamination des carcasses de poulets de chair par les *Campylobacter* thermotolérants chez l'espèce dinde dans quelques établissements d'abattage avicoles de la Wilaya de Batna, et d'autre part, d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter jejuni* isolées.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Historique et taxonomie

Au fil des années, plusieurs changements ont été apportés à la taxonomie du genre *Campylobacter*, et ce depuis le 20^{ème} siècle.

Jusqu'à présent, 21 espèces de *Campylobacter*, 10 sous-espèces ainsi que de nombreux biovars ont été décrits (EUZEBY, 2010).

Au sein du genre *Campylobacter*, ces espèces peuvent être classées en 3 groupes : le groupe thermotolérant, le groupe « fetus » et le groupe anaérobie (ON, 2005).

Toutefois, le groupe thermotolérant est incontestablement celui qui importe le plus en bactériologie alimentaire du fait de son incrimination considérable dans les toxi-infections alimentaires qui sont notamment causées par les espèces : *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* et *Campylobacter upsaliensis* (FITZGERALD et al., 2009).

Par ailleurs, il est admis que *C. jejuni* est essentiellement retrouvé chez la volaille.

Tableau 01 : Classification des *Campylobacters* thermotolérants (GARRITY et al., 2004).

Domaine	<i>Bacteria</i>
Phylum XII	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Epsilonproteobacteria</i>
Ordre	<i>Campylobacterales</i>
Famille	<i>Campylobacteraceae</i>
Genre	<i>Campylobacter</i>
Espèces	<i>Campylobacter jejuni</i> (<i>C. jejuni</i>) <i>Campylobacter coli</i> (<i>C. coli</i>) <i>Campylobacter lari</i> (<i>C. lari</i>) <i>Campylobacter upsaliensis</i> (<i>C. upsaliensis</i>)

Les *Campylobacter* doivent beaucoup aux vétérinaires, tant pour les premières descriptions des infections chez les bovins ou les porcins que pour la mise au point de méthodes de culture toujours d'actualité (Tableau 2).

Tableau 2: Historique de la découverte des *Campylobacter* et de leur importance dans les maladies diarrhéiques (**LEHOURS, 2005**).

Date	Évènement
1913	Première culture de bactéries Vibrio-like dans le produit d'avortement de brebis (McFayean et Stockman)
1918	Dénomination attribuée Vibrio foetus (Smith) 1927 Description de V. jejuni dans les selles de bovins (Smith)
1940	Description de V. foetus dans les produits d'avortement humain (Vinzent)
1944	Description de V. coli dans les selles de porc (Doyle)
1972	Application d'une méthode de culture par filtration (Butzler)
1977	Mise au point d'un isolement sélectif (Skirrow)

II. CARACTERES GENERAUX

II.1. Caractères Morphologiques

Les *Campylobacters* sont des bactéries à coloration Gram négative, asporulées, parfois capsulées. Ce sont des bacilles fins (0,2 à 0,5 micron de diamètre sur 8 microns de long), de forme vibrioïde (incurvée en virgule, ou spiralée en « S », ou de forme hélicoïdale), sur cultures âgées apparaissent des formes coccoïdes (arrondies) non cultivables (**SMIBERT, 1978**).

Campylobactera une membrane externe ondulée, des membranes cytoplasmiques complexes. Il possède généralement, un flagelle polaire à l'une ou à ses deux extrémités lui assurant une forte mobilité très caractéristique (en « vol de moucheron » ou en « tirebouchons»), lors de l'observation à l'état frais (**FRENEY, 2007**).

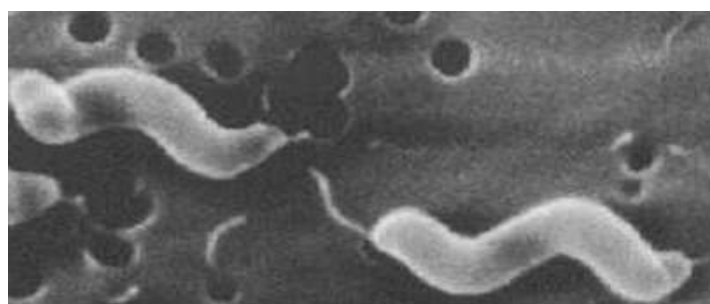


Figure 01 : Caractères morphologiques des *Campylobacter* (Observation au microscope électronique)

II.2. Caractères métaboliques

Les *Campylobacter* ont un métabolisme oxydatif strict et sont chimio-organotrophes. De ce fait leurs substrats pourvoyeurs d'énergie sont représentés par les acides aminés tels que le glutamate et l'aspartate mais aussi par les acides organiques à l'instar de pyruvate et l'acétate (GOBET, 1990).

II.3. Caractères cultureux

Campylobacter jejuni peut être cultivé sur un milieu sélectif particulier "CAMP" à 42°C, la température normale du corps des oiseaux plutôt qu'à 37 °C, la température utilisée pour la plupart des autres bactéries pathogènes.

Campylobacter jejuni préfère les conditions microaérophiles (elle privilégie les atmosphères pauvres en dioxygène) et capnophile, nécessitant une atmosphère de croissance aux proportions suivantes : 5 % O₂ (dioxygène), 10 % CO₂ (dioxyde de carbone) et 85 % N₂ (diazote).

Elle se multiplie entre 30°C et 47°C avec une température optimale de croissance à 42°C.

Elle est dite thermotolérante (comme *C. lari*, *C. coli* et *C. upsaliensis* par exemple) par comparaison avec une autre espèce ne cultivant pas à 42°C mais capable de se développer à 25°C, *Campylobacter fetus*.

La zone optimale de pH pour obtenir une croissance convenable se situe entre 6,5 et 7,5.

D'autres milieux de culture peuvent être utilisés : milieu sélectif de Karmali par exemple.

II.4. Caractères biochimiques

Les *Campylobacter* ne sont capables de fermenter ni les sucres ni les composés azotés ; cette absence du métabolisme fermentatif sépare nettement le genre *Campylobacter* du genre *Vibrio*, et sont positifs au test de l'oxydase (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

Ils ont un métabolisme énergétique oxydatif strict. Leurs substrats énergétiques sont essentiellement les métabolites du cycle de Krebs ou des acides aminés (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

Les principaux caractères biochimiques de différenciation entre les différentes espèces de *Campylobacter* sont cités dans le tableau 2.

Tableau 3: Caractères d'identification des principales espèces de
Campylobacter(BURUCOA, 2007)

Espèces	Cat- Alas e	Croissance		Ind Acet	Uré- ase	Hip- Purate	Céf	Nal	Nit	H ₂ S TSI
		25°C	42°C							
<i>C jejuni</i> spp. <i>jejuni</i>	+	-	+	+	-	+	R	S*	+	-
<i>C jejuni</i> spp. <i>doylei</i>	+f/-	-	-	v	-	v	S	S	-	-
<i>C coli</i>	+	-	+	+	-	-	R	S	+	+f
<i>C fetus</i> spp. <i>veneralis</i>	+	+	-	-	-	-	S	R	+	-
<i>C fetus</i> spp. <i>fetus</i>	+	+	-	-	-	-	S	R	+	-
<i>C sputorum</i> bv. <i>sputorum</i>	-	-	+	-	-	-	S	S	+	+
<i>C sputorum</i> bv. <i>fecalis</i>	+	-	+	-	-	-	S	S	v	+
<i>C mucosalis</i>	-	-	+	-	-	-	S	R	+	+
<i>C concisus</i>	-	-	+	-	-	-	R	R	+	+
<i>C lari</i>	+	-	+	-	v	-	R	R	+	-
<i>C rectus</i>	-	-	+	+	-	-	nd	S	+	+
<i>C hyointestinalis</i>	+	v	v	-	-	-	S	R	+	+
<i>C curvus</i>	-	-	+	+	-	-	nd	S	+	+
<i>C upsaliensis</i>	+f/-	-	+	+	-	-	S	S	+	-
<i>C showae</i>	+	-	v	v	-	-	S	S	+	v
<i>C helveticus</i>	-	-	+	+	-	-	S	S	+	-
<i>C lanienae</i>	+	-	+	-	-	-	nd	R	+	-
<i>C gracilis</i>	-	-	+	+	-	-	nd	v	+	-

III. EPIDEMIOLOGIE

D'une manière générale, une épidémie est définie par un regroupement spatio-temporel d'un nombre de cas supérieur au nombre de cas attendu, ces cas étant recensés durant la même période, la même aire géographique et avec le même système de surveillance que celui utilisé dans les années antérieures (MEGRAUD *et al.*, 2003).

Une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) à *Campylobacter* est définie par un regroupement spatio-temporel d'au moins deux cas dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire (MEGRAUD *et al.*, 2003).

III.1. Prévalence et incidence de l'infection

Les *Campylobacters* sont la cause la plus fréquente des gastro-entérites bactériennes dans les pays industrialisés. L'incidence annuelle estimée des infections à *Campylobacter* dans la population générale varie selon les pays et est en augmentation dans plusieurs d'entre eux (**GALLAY et al., 2005**).

Il existe une recrudescence du nombre d'infections à *Campylobacter* au cours des mois les plus chauds. *C. jejuni* représente 80 à 90 % des agents identifiés parmi les infections à *Campylobacter*. L'infection touche tous les groupes d'âge et l'incidence est maximale chez le nourrisson et le jeune enfant (**POLY, 2005**).

III.2. Voies de transmission

Les *Campylobacters* sont peu pathogènes pour l'animal et de nombreux animaux sont porteurs de *Campylobacters*.

Les réservoirs sont les animaux domestiques (volaille, bovins, porcins, ovins et caprins), les animaux de compagnie (chiens, chats) et les animaux sauvages (oiseaux, rongeurs). Si le contact avec des animaux domestiques ou de compagnie a été retrouvé comme facteur de risque des infections à *Campylobacter* chez l'homme dans certaines études, le lien épidémiologique avec les animaux sauvages est en revanche difficile à établir. Cependant les animaux sauvages sont à l'origine d'une contamination environnementale, notamment de l'eau (**FRIEDMAN et al., 2000**).

La fréquence des *Campylobacters* chez les animaux et chez l'homme explique qu'on les retrouve dans les boues d'épandage et les égouts, ce qui contribue à la diffusion de ces bactéries dans l'environnement.

Des *Campylobacters* ont été isolés dans des échantillons de sable de plage et de fruits de mer, sans toutefois qu'ils n'aient été incriminés dans des cas humains à ce jour (**BOLTAN et al., 1999**).

L'infection à *Campylobacter* est une zoonose et la transmission principale semble se faire par ingestion d'aliments contaminés insuffisamment cuits, principalement la volaille, ou d'aliments (légumes) contaminés indirectement (**FRIEDMAN et al., 2000**).

La transmission interhumaine est rare (**VELLINGA et VAN LOOCK, 2002**)

L'eau, le lait cru sont les principales sources de contamination identifiées lors de grandes épidémies aux Etats-Unis et dans les pays d'Europe du Nord (**ZEINHOM et LATEF, 2014**).

III.3. Viabilité (développement et survie de *Campylobacter*) dans l'eau et les aliments

Comme bon nombre de bactéries impliquées dans les Toxi-Infections Alimentaires, les *Campylobacters*, ou plus exactement certaines souches, ont été décrits sous une forme VNC (Formes viables non cultivables) lors d'un séjour dans un microcosme aqueux (DHANSHEKAR, et al, 2012), et le recouvrement du caractère cultivable de ces formes VNC a pu être obtenu après passage sur différents modèles animaux (ZEINHOM et LATEF, 2014).

III.4. Survie des *Campylobacters* dans l'eau

Les *Campylobacters* sont souvent retrouvés dans des eaux de surface et de ruissellement (SCHAFFER et PARRIAUX, 2002).

La survie est plus importante à basse température (4°C- 10°C) et est diminuée par une aération-oxygénation des eaux (OBIRI-DANSO et al., 2001). Des variations ont également été constatées entre les espèces : les populations de *C. jejuni* et de *C. lari* semblent plus résistantes dans de l'eau de rivière à 5°C et les temps de survie (mesurés par culture) peuvent être très variables en fonction des souches (de 6 à plus de 60 jours) (TALIBART et al., 2000).

L'application d'UV mimant une exposition solaire d'une journée montre que les populations deviennent non cultivables après 30 à 90 minutes dans des eaux de surface (OBIRI-DANSO et al., 2001).

III.5. Survie des *Campylobacters* dans les aliments

De nombreuses expérimentations ont porté sur l'évolution du nombre des *Campylobacters* dans les aliments. Dans les conditions habituelles de transformation, transport et distribution, le nombre de *C. jejuni* diminue au cours du temps quels que soient la température, l'atmosphère, le pH ou la nature du substrat.

Il est à noter qu'une multiplication a été montrée dans la viande conservée à 37 ou 42°C.

Campylobacter est une bactérie sensible à des traitements tels que la congélation, la dessiccation, les traitements thermiques (traitements thermiques > 60°C à cœur), les rayonnements ionisants (rayonnements UV et micro-ondes), ainsi qu'aux substances suivantes : le sel, les désinfectants, le phosphate trisodique (MEGRAUD et al., 2003).

Cette bactérie est en revanche plutôt résistante à la réfrigération (0 à 10°C), cette survie variant selon les conditions de réfrigération (bactérie plus résistante sur supports solides) Des formes viables non cultivables (VNC) étant décrites pour *Campylobacter*, elles pourraient induire une sous-estimation du niveau de contamination (MEGRAUD et al., 2003).

VI. DIAGNOSTIC

VI.1. Typage phénotypique

La différenciation des souches est nécessaire pour l'identification des sources de contamination et la détermination des voies de transmission ; ce qui pourrait à son tour nous permettra de détecter avec plus de précision les épidémies et de limiter la propagation des infections à *Campylobacter*.

Un large éventail de techniques de sous-typage phénotypiques a été appliquée aux espèces de *Campylobacter* à améliorer notre compréhension de l'épidémiologie de l'infection (**THIBODEAU, 2013**).

VI.2. La culture

C'est la méthode d'identification la plus utilisée et elle peut être réalisée selon de multiples modalités, avec ou sans membrane de filtration, avec ou sans agents antimicrobiens. Chacune de ces procédures, offre des avantages et présente des inconvénients qui leur sont propres.

Les méthodes de culture ne sont pas très adaptées à l'isolement des espèces rares comme *C. upsaliensis* et *C. lari*, ce qui peut entraîner un sous diagnostic ou une sous-estimation de la vraie prévalence de ce germe (**CORRY et al., 1995**).

La plupart des milieux sélectifs contenant du sang, tels que le milieu Skirrow, ont été conçus pour une utilisation à 42 ° C afin d'améliorer leurs propriétés sélectives, tandis que le CCDA et Karmali montrent de bonnes propriétés sélectives à 37 ° C (**CORRY et al., 1995**). Deux possibilités existent pour cultiver sélectivement les bactéries de genre *Campylobacter* : L'utilisation de milieux sélectifs ou d'une technique de filtration (non sélectif).

La reconnaissance des *Campylobacter* comme agent pathogène est devenue possible grâce à la mise en place par Butzler (1973) et Skirrow(1977) des milieux sélectifs efficaces pour la culture de ces bactéries (**POLY, 2005**).

Plusieurs milieux sélectifs ont été réalisés pour la culture de *Campylobacter* (*Campylobacter jejuni* et *C. coli* principalement). La sélectivité de tous ces milieux est assurée grâce à une combinaison d'antibiotiques et d'antifongiques, qui est nécessaire étant donné que l'on doit procéder à l'isolement de *Campylobacter* à partir d'échantillon poly microbiens (fèces, viande) (**TEYSSOU et al., 2003**).

Les milieux les plus utilisés sont ceux formulés par Skirrow, Butzler et ses collègues, Blaser et al, et Bolton et Robeston qui sont constitués par un milieu de base additionné de sang **(POLY, 2005)**. D'autres milieux ont ensuite été proposés comme le milieu de Karmali et enfin le milieu de Bolton et Hutchinson, milieux dans lesquels le sang est remplacé par du charbon **(RENE et GOBET, 1999)**.

Le pouvoir inhibiteur du milieu de Skirrow est considéré comme assez faible et les cultures obtenues à partir d'isolement de selles sont souvent envahies par des bactéries de la flore fécale non inhibée, en particulier des souches de *Proteus* ou de *Pseudomonas* **(BONNEFOY et al., 2002)**, ce qui gêne l'exploitation de l'isolement. Cependant, pour isoler *C.jejuni* à partir d'un produit alimentaire (dont la flore associée est moins dense), le milieu de Skirrow reste un des plus adaptés **(BONNEFOY et al., 2002)**. Ce problème de contaminants est commun pour l'ensemble des milieux qui contiennent du sang.

Des études comparatives de la plupart des milieux de culture donnent la préférence au milieu de Karmali qui est à base de charbon. Ce milieu contient trois agents antibactériens, ce qui permet une meilleure croissance tout en ayant une sélectivité excellente **(RENE et GOBET, 1999)**.

Une méthode de filtration a été utilisée pour isoler les *Campylobacters* à partir d'échantillons fécaux, principalement pour certaines espèces sensibles aux différents antibiotiques présents dans les milieux sélectifs **(VANDAMME et al., 2008)**.

Cette méthode a été développée par Steele et McDermott **(OIE, 2005)**.

Pour la filtration passive, les fèces sont mélangées avec le PBS (dilution au 1/10e environ) pour préparer une suspension. Environ 100µl de cette suspension sont ensuite déposés délicatement sur une membrane avec des pores de 0,45 ou 0,65 µm, qui a été au préalable placée à la surface d'une gélose au sang non sélective. Il faut prendre soin de ne pas laisser l'inoculum déborder des bords du filtre. Une incubation de 30 à 45 min à 37°C ou à température ambiante permet de laisser les bactéries migrer à travers les pores du filtre. Le filtre est ensuite retiré, le fluide qui a traversé le filtre est étalé à l'aide d'un étaleur stérile en verre ou en plastique et la boîte est incubée en atmosphère microaérophile à 42°C (ou à 37°C pour isoler également les espèces autres que *C. jejuni* et *C. coli*) **(VANDAMME et al., 2008)**.

Une combinaison d'un milieu sélectif et la technique de filtration peut améliorer la sensibilité de détection de *Campylobacter* dans les selles, même si cela est plutôt gênant et coûteux pour le laboratoire de diagnostic de routine en moyenne avec un haut débit d'échantillons **(VANDAMME et al., 2008)**.

Des milieux d'enrichissement ont été utilisés pour l'isolement de *Campylobacter* à partir d'échantillon de selles. L'intérêt de ce type de milieux reste controversé, sauf dans le cas où l'on suspecte la présence d'une quantité faible de bactéries comme au décours d'une infection, s'il y a eu problèmes d'acheminement au laboratoire, ou encore lors de la recherche de *Campylobacter* dans les aliments. Ces milieux sont incubés 24h à 37°C avant d'être repiqués sur milieu d'isolement (**TEYSSOU et al., 2003**).

Trois milieux peuvent être utilisés (**BONNEFOY et al., 2002**):

- ✓ Le bouillon de Preston additionné d'agar à 0,16% des antibiotiques du milieu Campylosel, il est incubé une nuit à 4°C,
- ✓ Le milieu de Preston additionné de sulfate de fer, métabisulfite de sodium et pyruvate de sodium (mélange FBP), incubation durant 18 heures à 37°C,
- ✓ Le milieu de Parck et Sander.

Il est à noter que les *Campylobacters* peuvent être cultivés en milieux liquides, les troubles occasionnés par leur croissance sont généralement situés juste en dessous de la surface du bouillon dans la zone de micro-aérophile(**BOLLA et GARNOTEL, 2008**).

Les colonies typiques de *Campylobacter* sont plates, brillantes et étalées, et ont tendance à diffuser (**OMS, 1985**), lorsqu'elles sont bien espacées, elles évoquent des gouttelettes qui auraient éclaboussé la gélose. Toutefois, certaines souches, forment des colonies plus distinctes et bombées (**BOLLA et GARNOTEL, 2008**). Cet aspect macroscopique des colonies diffère d'un milieu à un autre. Sur le milieu Karmali par exemple, les *Campylobacters* forment des colonies brillantes, lisses ou granuleuses, d'aspects blancs grisâtre. Alors que, sur le milieu Skirrow les colonies sont plutôt petites, brunâtres, peuvent être muqueuse ou en voiles (**MEDEIROS et HOFMANN, 2002**).

VI.3.Biotypage

Les méthodes de biotypage les plus utilisées sont ceux développés par Skirrow et Benjamin (1980), Lior et Pattel(**LIOR, 1984 ; LIOR et PATTEL, 1987**) et Bolton et al (1984). Ce dernier est aussi appelé le biotypage de Preston.

Parmi eux, le schéma de Loir est le plus utilisé en épidémiologie pour distinguer les *Campylobacters* (**GOOSSENS et al., 1992**). Il utilise l'hydrolyse d'hippurate, la production de H₂S et l'activité de l'ADNase.

VI.4. Tests biochimiques

Les tests biochimiques sont utilisés dans les méthodes officielles pour l'identification des *Campylobacters* (THIBODEAU, 2013). Ils sont résumés dans le tableau 4.

L'épreuve la plus discriminante pour l'identification de *C. jejuni* est l'hydrolyse de l'hippurate. Cependant, tel que mentionné précédemment, certaines souches de *C. jejuni* possèdent le gène codant pour l'hippurate hydrolase, mais ne l'expriment pas. Ceci peut engendrer des faux négatifs (CANER et al., 2008).

Les épreuves biochimiques requièrent souvent plusieurs jours de mise en culture et d'analyse ; l'identification est donc longue et nécessite beaucoup de temps.

VI.5. Tests sérologiques

Deux schémas de sérotypage pour *Campylobacter* ont été décrit, le système de Lior (LIOR et al., 1982), qui est un stéréotypage basé sur un système antigénique thermolabile des polysaccharides capsulaires des *Campylobacter spp.* a pu détecter 108 stéréotypes de *C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari* (SCOTT et al., 1977).

Face au système de Lior se dresse le système de sérotypage de Penner qui repose sur 24 des antigènes thermostables de la capsule polysaccharidique des *Campylobacter spp.* (PENNER et al., 1983) et peut détecter 66 sérotypes de *C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari*.

Plusieurs autres tests de diagnostic fondés sur les propriétés antigéniques des souches de *Campylobacter* sont décrits dans la littérature. Leur objectif n'est pas en général une identification précise de l'espèce bactérienne mais ils présentent un intérêt en contexte clinique, pour un diagnostic rapide de Campylobactériose (POURREVUE, ON, 1996).

Tableau 04 : Épreuves biochimiques pour l'identification de *Campylobacter*

Tiré de (FDA, 2011)

Caractéristiques	<i>jejuni</i>	<i>jejuni</i> subsp. <i>Doylei</i>	<i>Coli</i>	<i>Lari</i>	<i>fetus</i> subsp. <i>Fetus</i>	<i>Hypo</i> intestinalis	<i>upsaliensis</i>
Croissance à 25°C	-	+/-	-	-	+	D	-
Croissance à 35-37°C	+	+	+	+	+	+	+
Croissance à 42°C	+	+/-	+	+	D	+	+
Réduction du Nitrate	+	-	+	+	+	+	+
3.5% NaCl	-	-	-	-	-	-	-
H₂S, lead acetate strip	+	+	+	+	+	+	+

H2S, TSI	-	-	D	-	-	+	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	-
Oxydase	+	+	+	+	+	+	+
Mac Conkey's Agar	+	+	+	+	+	+	-
Mobilité	++	+	+	+	+	+	+
Croissance à 1% glycine	-	+	+	+	+	+	+
Dégradation du Glucose	+	-	-	-	-	-	-
Hydrolyse d'hippurate	+	+	-	-	-	-	-
Résistance à l'Acide nalidixique	S	S	S	R	R	R	S
Résistance à la céphalotine	R	R	R	R	S	S	S

Symboles: +, 90% ou plus des souches sont positives; -, 90% ou plus des souches sont négatives;D, 11-89% des souches sont positives; R, résistant; VS, sensible.

V. SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

V.1. Types de résistance aux antibiotiques

V.1.1. Résistance intrinsèque

On parle de résistance intrinsèque lorsque la totalité des bactéries appartenant à un même genre ou à une même espèce sont naturellement résistantes à un antibiotique donné (NAUCIEL et VILDE, 2005).

Selon Mégraud (2007), les *Campylobacter* thermotolérants expriment une résistance intrinsèque envers les antibiotiques subséquents : - Vancomycine ; - Bacitracine ; - Novobiocine ; - Glycopeptides ; - Triméthoprim.

Par ailleurs, *C. jejuni* ainsi que *C. coli* sont en plus naturellement résistants à la céphalotine et à la rifampicine (PEYRAT, 2008).

V.1.2. Résistance acquise

La résistance acquise à l'égard de certains antibiotiques, se manifeste chez les bactéries qui acquièrent de nouveaux mécanismes de résistance soit par mutation chromosomique soit par acquisition d'un matériel génétique extra-chromosomique (PEYRAT, 2008).

V.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Selon Peyrat (2008), il est établi que les mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les *Campylobacter* sont principalement représentés par :

- La synthèse d'enzymes engendrant l'inactivation des antibiotiques (β -Lactamines) ;
 - La modification de la cible des antibiotiques (quinolones, macrolides, tétracyclines) ;
 - La diminution de la perméabilité membranaire aux antibiotiques (β -Lactamines, quinolones).
- Cependant, aucune résistance n'a été décrite pour les nitrofuranes et les sels de bismuth (MEGRAUD, 2007).

Les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques sont notés dans la figure 04

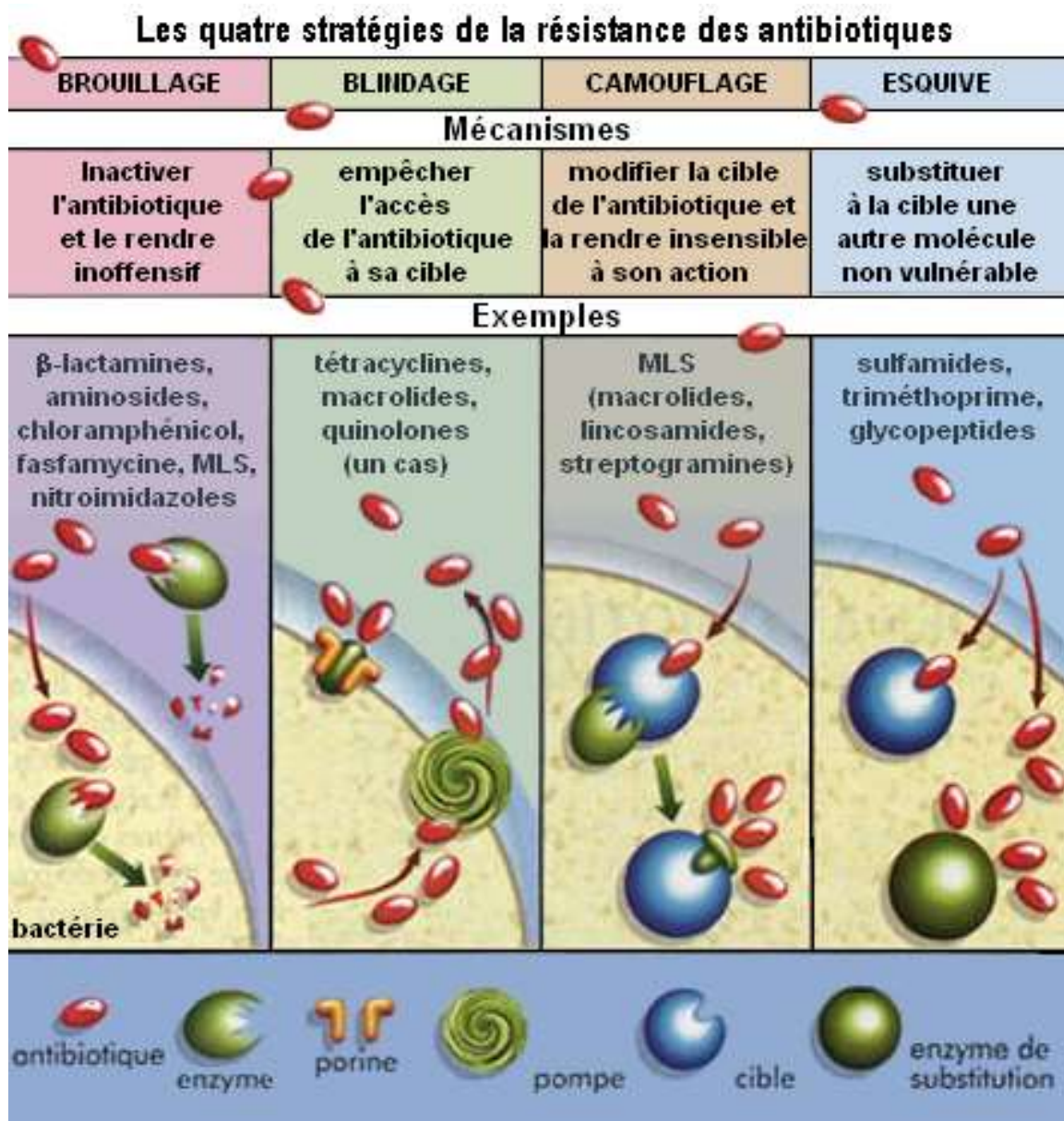


Figure 04 :Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques

Partie expérimentale

Objectifs

En raison de l'importance portée aux *Campylobacter* thermotolérants dans le monde aussi bien en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine, nous avons voulu, par cette présente étude, contribuer à enrichir les informations concernant la situation en Algérie.

Ainsi, nous nous sommes intéressés à l'un des principaux réservoirs de ces bactéries qui n'est autre que le poulet de chair dans le but :

- D'apprécier le niveau de contamination de quelques établissements d'abattage avicole par les *Campylobacter* thermotolérants dans la wilaya de Batna
- De caractériser les souches de *Campylobacter* isolées sur le plan phénotypique
- D'étudier la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* isolées avec détermination de leurs profils de résistance.

I. MATERIEL ET METHODES

I.1. Présentation des abattoirs

Avant d'entamer la partie matériel et méthodes proprement-dite, nous avons jugé nécessaire de faire une brève description des lieux où nous avons effectué nos prélèvements. Les établissements d'abattage visités se situent dans des zones urbaines ou industrielles et sont dotés d'une capacité de production variable.

Tous les jours, en général, des poulets de chair destinées à l'abattage sont ramenées de plusieurs wilayas et communes et une fois abattues, elles sont livrées, dans des camions frigorifiques, à des boucheries situées dans différentes communes de la wilaya de Batna.

I.2. Matériel

I.2.1. Matériel biologique

I.2.1.1. Fiche d'enquête

Avant chaque échantillonnage, une fiche d'enquête était remplie moyennant les renseignements fournis par le propriétaire et dans certains cas le vétérinaire de l'établissement. La fiche comporte des questions relatives au suivi des prélèvements, à l'établissement, à l'hygiène (personnel, bâtiment d'élevage et établissement d'abattage) et aux autres observations relevées. Questionnaire (**Annexe 1**).

I.2.1.2. Échantillonnage

Un total de **50** prélèvements a été réalisé de façon aléatoire au niveau des **4** établissements d'abattage avicole. Cela nous a permis de prélever des sujets issus de régions et d'endroits divers.



Figure 5 : La réalisation des prélèvements (photo personnelle)

Il est à noter que seuls ces établissements ont accepté de participer à notre étude tandis que d'autres ont, entre autres, décliné l'offre.

La période de cette étude expérimentale s'est étendue entre le mois de novembre 2021 et le mois de juin 2022.

Cinquante prélèvements de peau de cou au sein des abattoirs situés respectivement dans les communes Arris (A), Tazoult(B), Ayounassafer (C) ,et l'abattoir de Ain Touta (D) entre 07h30 et 12h30 du matin.

Une seule visite par établissement d'abattage a été menée.

I.2.2. Matériel de laboratoire

Pour notre étude, nous avons utilisé les réactifs et le matériel suivant :

A. Réactifs chimiques

- Sachets générateurs d'atmosphère (GENboxmicroaer).
- GalerieApi Campy
- Solution physiologique de NaCl
- Eau physiologique et eau distillé stériles
- BHIB et glycérol
- Réactifs pour coloration de Gram (BioMerieux)
- Milieu Uréeindol (IPA)

- Réactifs individuels
 - ✓ TDA
 - ✓ VP1+ VP2
 - ✓ Disqued'oxydase
 - ✓ Huile de paraffine
 - ✓ Huile à émersion
 - ✓ H₂O₂
 - ✓ Hippurate de sodium
 - ✓ Dihydrogénophosphatemonosodique monohydraté
 - ✓ Ninhudrine
 - ✓ Butanol
 - ✓ Acétone
- Suppléments d'antibiotiques :
 - ✓ Skirrow (OxoidFrance : SR0069E)
- Disques d'antibiotiques (Cité ci- dessous dans la partie Méthodologie de travail)

B. Milieux de culture

- Milieu Columbia
- Gélose Muller Hinton (Réf :Institut Pasteur, Alger)
- Sang de cheval défibriné et sang de cheval lysé.

C. Équipements de laboratoire

- Les jarresd'incubation :*AnaeroJarTm* (Oxoid, AGOO25A)
- Pipettes à usage unique
- Gants stériles
- Équipements général de laboratoire de bactériologie

I.3. Méthodes

I.3.1. Méthodes de prélèvement

En se munissant de gants en latex jetables, les prélèvements ont été effectués en moins de deux heures dans les différents établissements visités. Par ailleurs, les techniques de prélèvement employées sont tirées des recommandations mentionnées dans le manuel terrestre de l'OIE de 2005.

Juste après l'éviscération des carcasses de poulet, chaque peau de cou a été stérilement collectée au moyen d'une pince et d'un scalpel stériles.

I.3.2. Transport des prélèvements

Après avoir transféré chaque échantillon de peau de cou dans un sac stomacher stérile immédiatement scellé, tous les prélèvements ont été placés à l'intérieur d'une enceinte réfrigérée et rapidement acheminés au laboratoire afin de les analyser le jour même.

Le délai entre la fin des prélèvements et l'arrivée au laboratoire n'excédait pas les 4 heures pour les peaux de cou.

I.3.3. Méthodes de laboratoire

L'isolement, l'identification ainsi que la détermination de la sensibilité aux antibiotiques des *Campylobacter* thermotolérants se sont déroulés au niveau du laboratoire de microbiologie clinique de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'El-Harrach (ENSV).

Avant d'entamer les méthodes de laboratoire, il est important de savoir que toutes les cultures de *Campylobacter* ont été obtenues grâce aux générateurs de microaérophilie GENbagmicroaer (5% O₂, 10% CO₂ et 85% N₂).

Par ailleurs, la composition ainsi que la préparation des différents milieux de culture ayant servi à l'élaboration de notre étude sont décrites en annexe 2.

I.3.4. Détection des *Campylobacters* thermotolérants

Les modes opératoires employés pour la détection des *Campylobacter* thermotolérants sont tirés des procédures citées ci-dessous :

- La norme ISO 7218 (1996) : pour les pratiques courantes de laboratoire ;
- Les techniques de laboratoire du manuel de l'OMS (2003) : pour la préparation de l'échantillon à tester et l'isolement des *Campylobacter* ;
- Le manuel terrestre de l'OIE (2005) (suivant les recommandations de la norme internationale ISO/CD 10272-1 et 10272-2) : pour la confirmation des colonies caractéristiques.

Toutefois, pour des raisons de faisabilité, la procédure d'isolement des *Campylobacter* a subi les modifications suivantes :

- Utilisation du bouillon d'enrichissement de Preston
- Incubation du bouillon d'enrichissement en aérobiose au lieu d'une incubation en microaérobiose (OIE, 2005) ;

- Emploi des géloses Skirrow au lieu de la gélose CCDA (CharcoalCefoperazoneDesoxycholate Agar) ;

Les étapes subséquentes ont duré 12 jours en moyenne par échantillon.

I.3.4.1 Préparation de l'échantillon à tester

À l'aide d'une balance de précision, 10 g de chaque peau de cou renfermée dans un sac stomacher sont prélevés puis rajoutés aseptiquement dans un pot en plastique stérile contenant, préalablement, le bouillon d'enrichissement sélectif de Preston modifié, et ce en vue de réaliser une dilution au 1/10ème. Dès lors, chaque pot stérile est hermétiquement fermé.

II. Isolement des *Campylobacter*

1. Enrichissement en milieu sélectif liquide

Pour ce faire, tous les pots stériles hermétiquement fermés sont incubés à 42°C pendant 24 heures en aérobiose.

Ensemencement et identification sur milieu sélectif solide

Chaque suspension bactérienne est ensemencée, par épuisement, sur la surface d'une gélose Skirrow pour les prélèvements de peau de cou. Les milieux sélectifs sont ensuite incubés à 42°C pendant 48 heures en microaérophilie.

Les colonies caractéristiques de *Campylobacter* sont :

Grises à brunes et de différentes tailles sur gélose Skirrow (Figure 06).

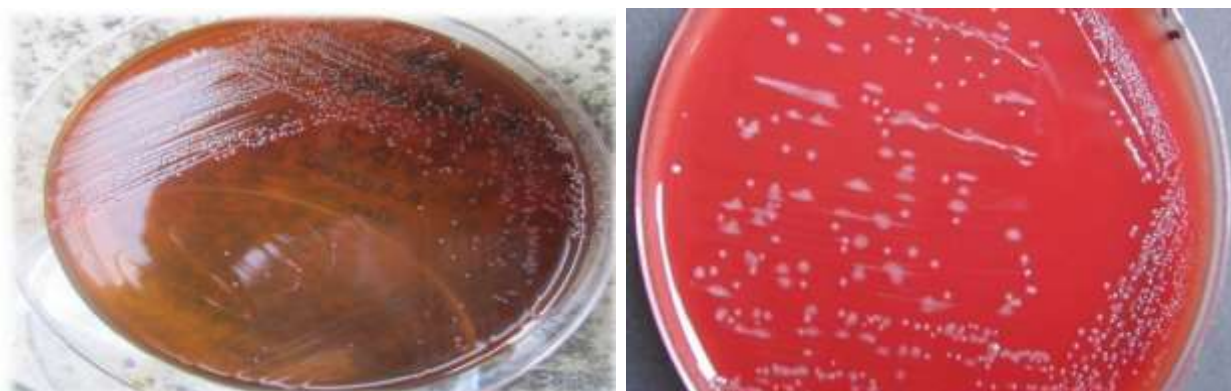


Figure 06: Aspect de colonies de *Campylobacter jejuni* sur le milieu Skirrow
(Photos personnelles)

Confirmation des colonies caractéristiques

III.2.1.3.1. Confirmation préliminaire

Une fraction de chaque colonie caractéristique par boîte est soumise à une identification microscopique afin d'examiner la morphologie et la mobilité des *Campylobacter* présumés. Ne sont retenues que les colonies dont l'examen microscopique révèle la présence de bacilles spiralés, incurvés, ou en virgule Gram négatif à mobilité caractéristique.

III.2.1.3.2. Purification des isolats

Afin de procéder à l'identification du genre et de l'espèce, toutes les colonies ayant répondues positivement au test d'identification présomptive sont purifiées sur de la gélose Skirrow ou Columbia au sang.

Une fois le repiquage effectué, les boîtes de milieux gélosés sont étuvées à 42°C pendant 24 heures en atmosphère microaérophile.

III.2.1.3.3. Tests de confirmation

La confirmation des colonies caractéristiques nécessite le passage par les étapes ci-après :

- Identification microscopique ;
- Recherche de l'oxydase ;
- Recherche de la fermentation des sucres sur milieu TSI (Triple SugarIron) ;
- Détection de la croissance à 25 °C.

1. Identification microscopique

➤ Principe

L'examen microscopique permet la mise en évidence de la morphologie et de la mobilité typique des *Campylobacter* (OIE, 2005).

• Etat frais

➤ Mode opératoire

Une colonie par culture suspecte est prise à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile, mélangée dans une goutte de solution saline, préalablement déposée sur une lame porte-objet, puis recouverte d'une lamelle couvre-objet.

Par la suite, une goutte d'huile à immersion est ajoutée afin de visualiser les mouvements caractéristiques à l'objectif à immersion x 100.

La lecture se fait immédiatement :

- Forte mobilité en vrille Autre type de mobilité *Campylobacter sp.*
- Bactéries autres que *Campylobacter sp.* **(OMS, 2003)**

- **Coloration de Gram**

La coloration de Gram est réalisée conformément au mode opératoire du kit Gram-Nicolle décrit en annexe 5.1.

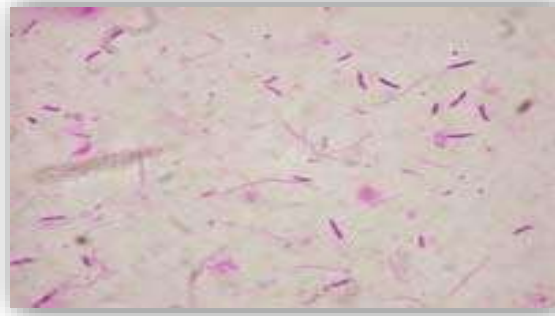


Figure 07 : *Campylobacter jejuni* : Coloration de Gram
(Photo personnelle)

2. Recherche de l'oxydase

➤ Principe

La présence de l'oxydase est mise en évidence par le biais de la détection de l'indophénol issu de l'oxydation de certains dérivés phényle-diamine par cette enzyme (OMS, 2003).

➤ Mode opératoire

Après avoir humidifié le papier filtre avec le réactif pour la recherche de l'oxydase, une fraction de colonie suspecte est prélevée de la culture pure puis déposée sur le papier filtre à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile.

Le résultat doit se manifester dans les 10 secondes qui suivent l'application de la colonie :

Couleur violette ou bleue intense Oxydase +
Couleur inchangée Oxydase – **(OIE, 2005)**



Figure 08 : *Campylobacter jejuni* : Test d'oxydase
(Photo personnelle)

3. Recherche de la fermentation des sucres

➤ Principe

La recherche de la fermentation des sucres s'effectue sur de la gélose au citrate de fer et aux trois sucres communément appelée gélose TSI. Cette dernière nous renseigne sur l'aptitude de production du sulfure d'hydrogène (H_2S) et d'utilisation des sucres comme source de carbone avec ou sans production de gaz par la bactérie (OIE, 2005).

➤ Mode opératoire

Chaque colonie présumée est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée puis ensemencée en réalisant des stries longitudinales sur la pente, suivies d'une piqûre centrale et profonde dans le culot du milieu.

Après incubation du milieu TSI à 42°C durant 48 heures en atmosphère microaérophile, la lecture est établie comme suit:

Culot : Couleur jaune Couleur rouge ou inchangé Présence de bulles ou de fissures Absence de bulles ou de fissures

Pente : Couleur jaune Couleur rouge ou inchangée

Glucose + Glucose - Gaz + Gaz -

Lactose et / ou saccharose + Lactose et / ou saccharose -

4. Détection de la croissance à 25°C

➤ Principe

Ce test permet de confirmer le caractère thermotolérant des *Campylobacter*(OIE, 2005).

➤ Mode opératoire

Une colonie présumée par culture pure est repiquée sur de la gélose Columbia au sang puis incubée à 25°C pendant 48 heures en microaérophilie. Après incubation, les boîtes sont examinées dans le but de voir s'il y a prolifération ou pas de la souche à tester (OIE, 2005).

III.2.2. Tests additionnels de confirmation (caractérisation phénotypique des souches isolées)

III.2.2.1. Identification des *Campylobacter spp.* à l'aide de galeries classiques

Afin d'identifier les différentes espèces de *Campylobacter* thermotolérants, conformément à la norme ISO 10272 (1995), il convient de recourir aux essais biochimiques suivants :

- Recherche de la production d'H₂S sur milieu TSI ;
- Recherche de la catalase ;
- Recherche de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine ;
- Recherche de l'hydrolyse de l'hippurate.

Il est important de souligner que pour des raisons d'ordre matériel, seule une partie de peaux de cou a fait l'objet de la recherche de l'hydrolyse de l'hippurate lors de leur identification biochimique au moyen des 20 galeries API Campy qui étaient à notre disposition.

En outre, pour les mêmes raisons, la recherche de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine n'a pas pu être effectuée pour les prélèvements de fientes et elle s'est déroulée en même temps que l'étude de la sensibilité aux autres antibiotiques.

1. Recherche de la production d'H₂S

➤ Mode opératoire

La recherche de la production d'H₂S se fait en même temps que la recherche de la fermentation des sucres précédemment décrite.

La lecture concerne uniquement le culot:

Couleur noire H₂S +

Couleur inchangée H₂S –

2. Recherche de la catalase

➤ Principe

La catalase est produite par la plupart des *Campylobacter*. C'est une enzyme qui engendre le clivage du H₂O₂ (peroxyde d'hydrogène) en H₂O (eau) avec libération d'O₂ (OMS, 2003).



➤ Mode opératoire

La mise en évidence de la catalase est établie en mettant une colonie suspecte à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile sur une lame porte-objet propre contenant une goutte de peroxyde d'hydrogène à 3%.

Le résultat apparaît dans les 30 secondes comme suit :

Effervescence (Catalase +)

Non effervescence (Catalase -) (ISO 10272, 1995)

3. Recherche de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine

➤ Principe

La recherche de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine permet l'identification d'une espèce de *Campylobacter* donnée (VERON et FAUCHERE, 1989).

➤ Mode opératoire

La technique de recherche est identique à celle employée pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques qui sera décrite subséquentement.

L'observation ou non d'une zone d'inhibition autour des disques d'acide nalidixique et de céfalotine, d'une charge de 30 µg chacun, est interprétée comme suit:

- Présence de croissance bactérienne → Bactéries résistantes
- Absence de croissance bactérienne → Bactéries sensibles

III.2.2.2. Identification des *Campylobacter* spp. à l'aide de galeries API Campy

➤ Principe

La galerie API Campy permettant l'identification des espèces de *Campylobacter spp.* est composée de deux entités comprenant chacune 10 tests miniaturisés munis de substrats déshydratés; les 10 premiers tests (URE à PAL) sont des tests enzymatiques et conventionnels alors que les 10 derniers tests (H2S à ERO) représentent des tests d'assimilation ou d'inhibition. Il ne faut pas oublier le test de la catalase qui constitue le 21ème test d'identification.

➤ Mode opératoire

Après avoir séparé la galerie API Campy en deux parties et préparer les boîtes d'incubation, les étapes suivantes sont réalisées conformément à la notice du fabricant :

- *Préparation de l'inoculum*

À partir d'une subculture, des colonies sont prélevées à l'aide d'un écouvillon stérile puis transférées dans une ampoule d'API NaCl 0,85% jusqu'à l'obtention d'une suspension bactérienne homogène d'opacité égale à 6 McFarland, et ce par comparaison au témoin d'opacité présent dans le coffret.

- *Inoculation de la galerie*

La première partie de la galerie ainsi que le test H2S de la deuxième partie de la galerie sont inoculés à l'aide d'une pipette pasteur stérile à partir de l'inoculum préparé.

Le reste de la suspension est transférée dans une ampoule API AUX Medium afin de compléter la deuxième partie de la galerie (GLU à ERO).

- *Incubation de la galerie*

Après avoir recouvert la cupule URE d'huile de paraffine, la galerie API Campy est incubée à 36°C + 2°C pendant 24 heures ; la première partie en atmosphère aérobie et la deuxième partie en atmosphère microaérophile.

Avant d'entamer la lecture de la galerie API Campy, il est nécessaire de rajouter les réactifs suivants : nitrate 1 et nitrate 2 (NIT 1 et NIT 2) au test NIT, ninhydrine (NIN) au test HIP et Fast Blue (FB) nécessaire aux tests GGT, PyrA, ArgA, AspA et PAL. Toutefois, le réactif Fast Blue n'a pu être utilisé en raison de son indisponibilité.

L'aspect de *C. jejuni* sur galerie API Campy est représenté par la figure.9



Figure 09 :Aspect de *C. jejuni* sur galerie API Campy

III.2.3. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées

➤ Principe

Afin de tester la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées à partir des prélèvements de peaux de cou, nous avons employé la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode des disques).

Cette dernière a été réalisée selon la fiche technique des *Campylobacter spp.* du fascicule du «Comité National de Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Humaine à l'Échelle Nationale» de la 8ème édition de 2018 (**ANONYME, 2018**), elle-même extraite des recommandations du « Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie » (CA-SFM) de l'édition de janvier 2018.

Les antibiotiques à tester préconisés par le présent fascicule sont l'ampicilline, la gentamicine, l'érythromycine, la ciprofloxacine, la tétracycline et le chloramphénicol.

➤ Mode opératoire

Tout d'abord, grâce à un densitomètre, une suspension d'opacité égale à 0,5 McFarland est préparée en prélevant à l'aide d'un écouvillon stérile quelques colonies bien distinctes d'une culture pure jeune, de 18 à 24 heures d'incubation, afin de les inoculer dans 4 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. Ensuite, après une dilution au 1/10ème, un ensemencement par écouvillonnage est réalisé sur la surface de la gélose Mueller Hinton additionnée de 5% de sang de cheval comme suit :

- L'écouvillon est plongé dans la suspension puis essoré à l'intérieur du tube, en le pressant contre la paroi ;
- L'ensemencement est ensuite établi en faisant des stries serrées sur la totalité de la surface de la gélose puis la même action est répétée deux fois de suite en imprimant, à chaque fois, des mouvements de rotation de 60°C à la boîte et en faisant tourner l'écouvillon sur lui-même ;

- L'écouvillon est finalement tourné sur le pourtour de la gélose puis la boîte est fermée et laissée sur la paillasse durant 5 minutes ; Enfin, grâce à un applicateur, les disques d'antibiotiques à tester sont appliqués sur la gélose en veillant à ce qu'ils soient espacés et bien en place. Les boîtes sont par la suite incubées à 37°C pendant 24 heures en microaérophilie.

Le diamètre des zones d'inhibition des disques d'antibiotiques est mesuré au moyen d'un pied à coulisse métallique placé sur les boîtes fermées.

Selon le diamètre critique noté, chaque souche de *Campylobacter* spp. est classée dans l'une des trois catégories suivantes : Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistante (R)

VI. RESULTATS ET DISCUSSION

I.1. Fiches d'enquêtes

Les points communs notés entre les différents établissements visités sont les suivants :

I.2. Opérations de pré-abattage

- Le transport s'est effectué dans des camions non ventilés avec entassement possible des sujets vivants ;

La diète hydrique et le repos des animaux n'étaient respectés.

I.3. Opérations d'abattage

- plusieurs lots de poulet de chair était abattu par jour ;

- L'absence d'autres animaux et d'insectes lors des opérations d'abattage a été constatée.

I.4. Hygiène du personnel et de l'abattoir

- L'accès était limité au personnel qui avait plus ou moins une tâche spécifique ;

- Le matériel d'abattage n'était pas stérilisé lors du passage d'un sujet à un autre ;

- Des systèmes d'évacuation des eaux usées étaient présents dans tous les lieux d'abattage mais il n'existait pas de contrôle de la qualité des eaux ;

- Le personnel travaillait sans calot et sans gants de protection ;

- Il n'existait aucun plan de nettoyage et / ou de désinfection ;

- Le lavage des mains du personnel se faisait à l'aide de produits ménagers usuels servant également au lavage du matériel d'abattage et de l'établissement ;

- Les établissements étaient lavés et les déchets étaient livrés à l'APC (Assemblée Populaire Communale) à la fin de chaque journée d'abattage ;

- Les raticides étaient utilisés afin de lutter contre les nuisibles.

II. Détection des *Campylobacters* thermotolérants

Sur l'ensemble des 50 prélèvements réalisés en établissements d'abattage, nous avons détecté 24 souches de *Campylobacter* thermotolérants (48,0%).

Les prévalences observées sont notées dans le tableau et représentées par la figure.

Tableau 05 : Taux de contamination des prélèvements par *Campylobacter*

Nombre de prélèvement Total	Nombre de prélèvement positifs	Taux de positivité %
50	24	48%

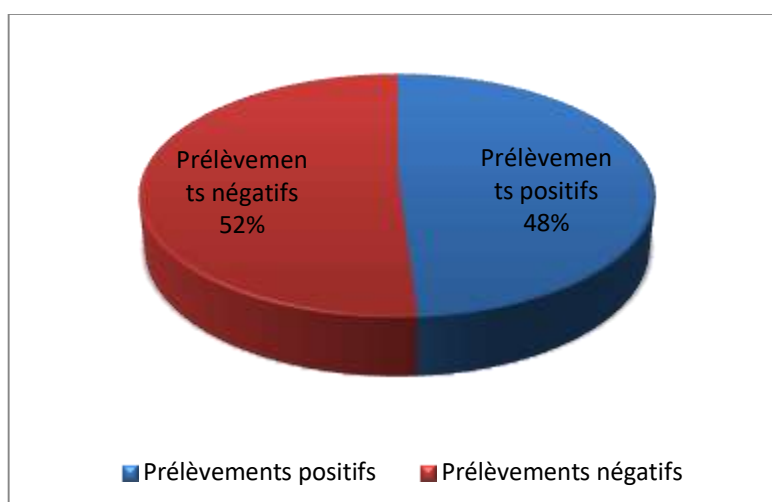


Figure 10 : Taux de contamination des prélèvements par *Campylobacter*

La distribution des 24 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des contenus caecaux était comme suit :

- Pour l'abattoir A : 09 souches étaient isolées; ce qui représente un taux de contamination de 36.7%.
- Pour l'abattoir B : 05 souches étaient isolées; ce qui représente un taux de contamination de 20.41%.
- Pour l'abattoir C : 6 souches étaient isolées; ce qui représente un taux de contamination de 24.49%.
- Pour l'abattoir D : 4 souches étaient isolées; ce qui représente un taux de contamination de 18.37%.

La distribution des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées par établissement d'abattage est représentée dans le tableau et la figure.

Tableau 06 : Taux de contamination par les *Campylobacter* thermotolérants au niveau des différents abattoirs

Etablissement d'abattage	Nombre de prélèvements positifs	Taux de positivité %
A	09	36.7
B	05	20.41
C	06	24.49
D	04	18.37
Total	24	100

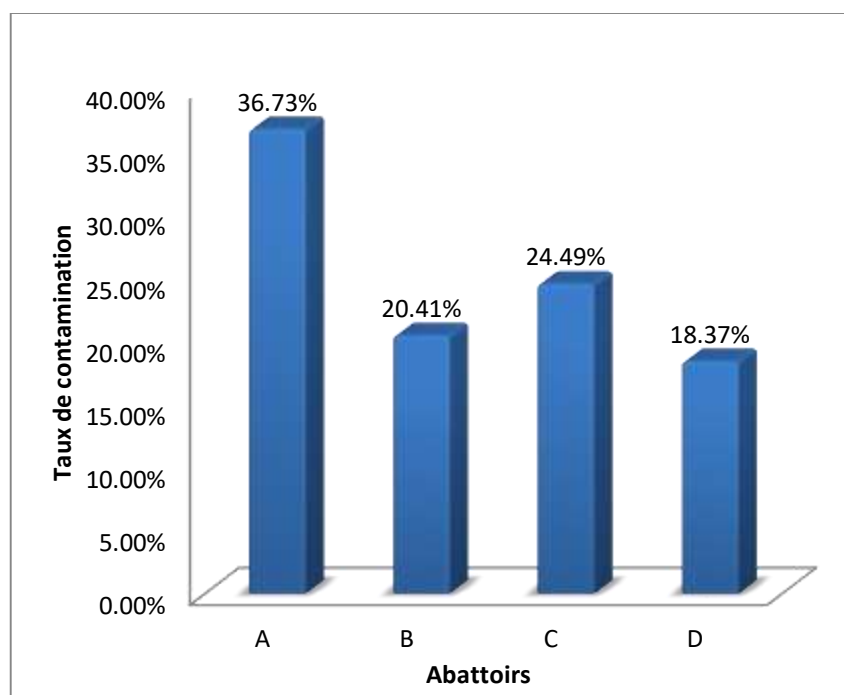


Figure 11 : Taux de contamination par les *Campylobacter* thermotolérants au niveau des différents abattoirs

Selon différents auteurs, chez la volaille, la variation de la prévalence des *Campylobacter* constatée entre les différentes études, serait vraisemblablement liée à un certain nombre de facteurs tels que :

- La saison (BERRANG et al., 2000).
- La localisation géographique (JEFFREY et al., 2001).
- La méthode de recherche (BERRANG et al., 2000).
- La taille et la catégorie de l'échantillon (JEFFREY et al., 2001).

Pour la totalité des lots analysés durant l'abattage des poulets de chair, 48,0% des peaux de cou étaient contaminées par les *Campylobacter* thermotolérants.

Des taux de contamination similaires ont été notés dans des études faites au par avant en Algérie, comme le cas de **(MESSAD et al.,2014)** et **(EL AMIR et al.,2013)** qui ont noté des taux de contamination de 51% et de 53% respectivement.

Des résultats semblables aux nôtres évalués à 63% ont été décrits suite à des prélèvements de peaux de cou au Danemark ainsi qu'en Finlande **(BORCK et al., 2002 ; PERKO-MAKELA et al., 2009)**.

Néanmoins, il semble qu'aucune prévalence inférieure à la nôtre n'ait été constatée. Des taux de contamination supérieurs ont par contre été signalés en Allemagne et en Iran où 77% des écouvillons de peaux étaient positifs pour *Campylobacter* lors de l'abattage des dindes **(ALTER et al., 2005 ; RAHIMI et al., 2010)**.

Il est admis que la peau des carcasses de volaille procure un microenvironnement favorable à la survie des *Campylobacter* d'où leur affinité pour cet organe **(DAVIS et CONNER, 2007)**.

Dès que les souches de *Campylobacter* adhèrent à la surface, elles formeront subséquent un biofilm dont l'éradication s'avère difficile. Bien qu'il semble établi que la contamination des carcasses durant les opérations d'abattage s'effectue soit directement via le contenu intestinal ou bien indirectement via l'équipement et l'eau **(CORY et ATABAY, 2001)**, le personnel de l'abattoir visités pourraient également représenter une source de contamination.

Dans les abattoirs, les sources de contamination de la peau pouvaient être de deux sortes : directe et indirecte :

La contamination directe, proviendrait évidemment du contenu intestinal, les carcasses étaient d'abord accrochées par les pattes, tête vers le bas, avant d'être éviscérées. Ainsi, lors de l'extraction du tractus digestif, les intestins étaient fortement susceptibles d'être en contact avec les carcasses des lots abattus.

Selon **FRANCHIN et al. (2007)**, la rupture intestinale avec expulsion de son contenu est toujours possible lors de l'éviscération. Ils considèrent que cette étape est le principal facteur

qui conduit à une sérieuse augmentation du taux de détection des *Campylobacter* au niveau des abattoirs.

Quant à la contamination indirecte, elle serait principalement représentée par l'équipement, notamment la plumeuse car comme l'indique **BERRANG et al. (2002)**, excepté le contact direct avec la peau, la plupart des *Campylobacter* portés par l'équipement après la plumaison, se retrouvent sur la peau. En outre, il convient de noter que les souches de *Campylobacter* éventuellement présentes dans les contenus de jabots (**WESLEY et al., 2005**) de même que dans les aérosols (**ALLEN et al., 2007**) auraient pu être véhiculées jusqu'aux carcasses par le biais d'un nettoyeur à haute pression vu que l'eau sous pression en provenance de ce conduit était dirigée vers la rigole qui se situait juste en dessous des carcasses lors du nettoyage du sol souillé par les intestins et les contenus de jabots pendant les étapes d'éviscération et de finition.

III. 1. Identification des souches isolées à l'aide de la galerie classique

Les souches issues des abattoirs ont fait l'objet d'une identification par le test de catalase. Cela nous a permis de déduire que sur les 22 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées sur les 50 prélèvements de peau du cou, pouvait appartenir aux trois espèces *C. jejuni*, soit à *C. coli* ou bien à *C. lari*.

Les 22 souches isolées ont fait objet du test de sensibilité à la Céfaloine et à l'acide nalidixique, cela s'est déroulée au même temps que l'application des tests de sensibilité aux autres antibiotiques.

III.2. Confirmation des souches à l'aide de la galerie Api Campy

Selon les résultats de la galerie Api Campy, parmi les 22 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées, 13 (59.09 %) font partie de l'espèce *C. jejuni*, 7 (31.81 %) de l'espèce *C. coli* et les deux souches restantes (9.09 %) font partie de l'espèce *C. lari*.

La distribution des espèces de *Campylobacter* thermotolérants isolées est notée sur le tableau et présenté dans la figure.

Tableau 07 : Distribution des espèces de *Campylobacter* thermotolérants isolées

Espèces isolées	Nombre de souches isolées	Taux de contamination %
<i>C. jejuni</i>	13	26,53%
<i>C. coli</i>	7	14,29%
<i>C. lari</i>	2	4,08%
Non confirmée	27	55,10%

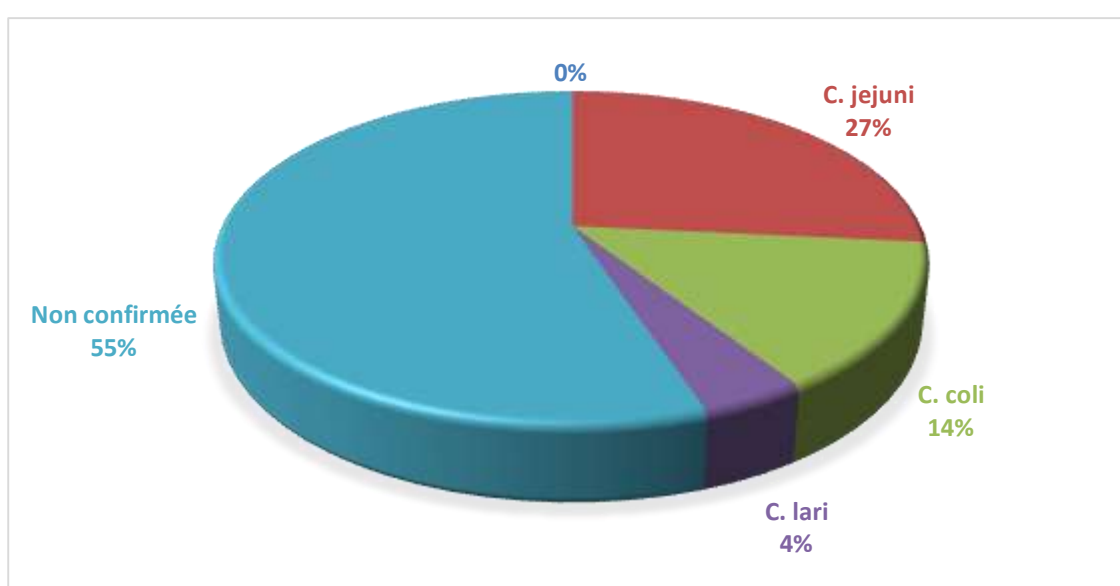


Figure12: Distribution des espèces de *Campylobacter* thermotolérants isolées

Nos résultats ont révélé que *C. jejuni* était la souche la plus prédominante au niveau des carcasses de poulet ce qui coherant avec la plupart des études faites au monde comme celle CHEN *et al.*,(2010)ont trouvé les fréquences suivantes : *C. jejuni*(75%), *C. coli* (19%) et *Campylobacter spp* (5%) non identifier, ainsi qu'aux résultats de **PARISlet al.,(2007)**qui ont lancé une prédominance de *C. jejuni* (45,7%) suivi par *C. coli* (19,3%) et les autres espèces avec une fréquence de 25%.

D'après **ALTER et al., (2005)**, *C. jejuni* serait plus résistante au stress environnemental d'où sa haute prévalence après l'abattage des sujets. Toutefois, il convient de préciser que peu de travaux sont parvenus jusqu'à l'identification de l'espèce de *Campylobacter* chez la dinde et

poulet de chair ; supposant sans doute que *C. jejuni* représente l'espèce la plus fréquemment isolée.

III.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

La lecture des diamètres d'inhibition pour les 22 souches nous a permis de constater l'existence aussi bien de souches sensibles que résistantes aux différents antibiotiques testés. Néanmoins, certaines souches étaient catégorisées comme intermédiaires.

Les taux de sensibilité aux antibiotiques des 22 souches isolées sont présentés dans le tableau et la figure.

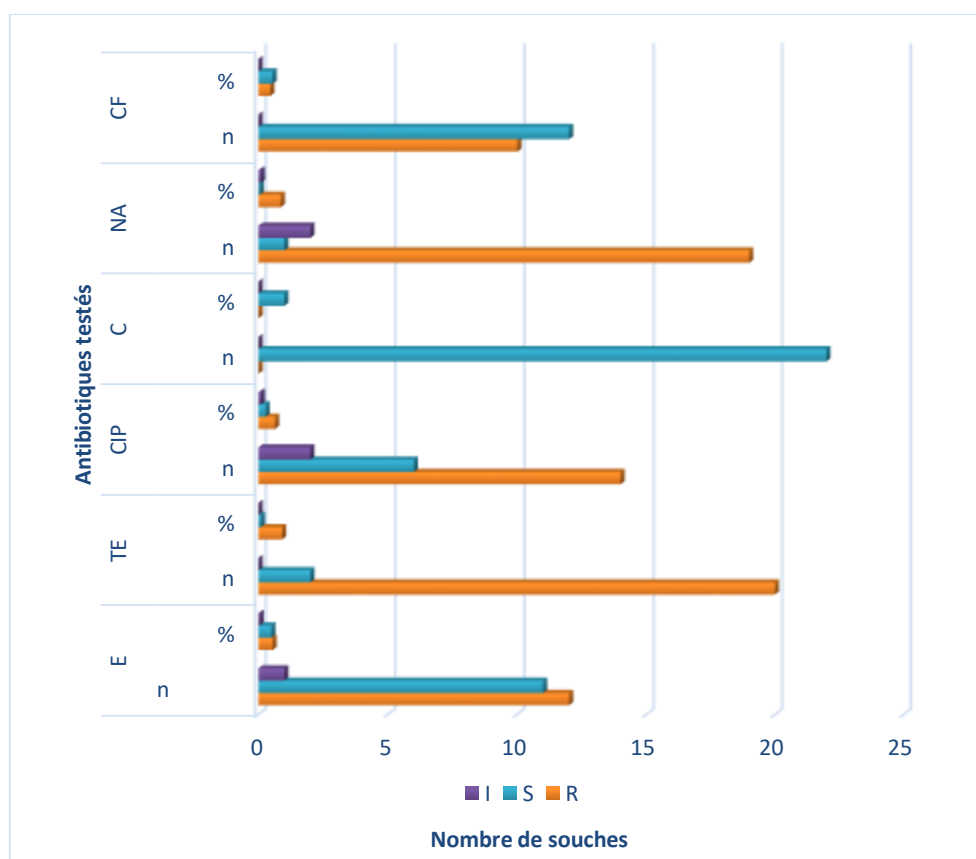


Figure 13 : Taux de résistance et de sensibilité des 22 souches de *Campylobacter* thermotolérants aux différents antibiotiques testés.

Tableau 08 :Taux de résistance et de sensibilité des 22 souches de *Campylobacter* thermotolérants aux différents antibiotiques testés.

Les antibiotiques testés étaient :l'érythromycine (E), la ciprofloxacine (CIP), la tétracycline (TE), le chloramphénicol (C) et l'acide nalidixique (NA) selon les recommandations de la CA-SFM (**Anonyme, 2018**).

ATB	E		TE		CIP		C		NA		CF	
	N	%	N	%	n	%	N	%	N	%	N	%
R	12	54,55%	20	90,91%	14	63,64%	0	0,00%	19	86,36%	10	45,45%
S	11	50,00%	2	9,09%	6	27,27%	22	100,00%	1	4,55%	12	54,55%
I	1	4,55%	0	0,00%	2	9,09%	0	0,00%	2	9,09%	0	0,00%

Nous avons noté chez le poulet chair, des taux de résistance très élevés vis à vis de l'Acide Nalidixique (86.36%) et la Ciprofloxacine (63,64%).

Il est à noter que plusieurs travaux ayant étudié la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir de prélèvements de poulets de chair ont rapporté des taux de résistance similaires aux notre, vis-à-vis de l'Acide nalidixique et de la Ciprofloxacine.

En Algérie, (**MESSAD et al.,2014**) ont notés des taux de résistance de 88.7% et de 100% à la ciprofloxacine et à l'acide nalidixique respectivement. (**EL AMIR et al.,2013**) ont constaté qu'une très forte proportion de souches de *Campylobacter* (plus de 90%) était résistantes aux quinolones, en particulier à la ciprofloxacine (95% des souches) ce qui est similaire à nos résultats.

Une augmentation rapide de la proportion de souches *de Campylobacter* résistants aux agents antimicrobiens, en particulier pour les fluoroquinolones, a été rapportée dans de nombreux pays dans le monde (**ENGBERG et al., 2001 ; ALFREDSON et al., 2007**).

Selon un rapport de l'OMS (**OMS, 2001**), l'apparition des résistances à ces antibiotiques chez les souches de *Campylobacter* animales et humaines daterait de l'introduction de l'Enrofloxacin dans l'alimentation animale en 1987. Depuis, la fréquence des souches résistantes aux quinolones serait en constante augmentation.

Dans cette étude une forte proportion de *Campylobacter* (54.5%) a résisté à l'érythromycine.

En Algérie, l'Érythromycine figure parmi les antibiotiques employés à titre curatif dans les élevages (MADR/DSV), cela peut expliquer le taux de résistance important que nous avons noté à cet antibiotique . Ce taux est proche par rapport à celui des études faites en Algérie par **MESSAD et al (21%)** et **EL AMIR et al (30%)**.

Selon l'OMS (2008), les macrolides sont largement employés dans les élevages, et cette pratique est connue pour favoriser la sélection des souches de *Campylobacter* résistantes chez les animaux.

Conclusion

Conclusion et Recommandations

L'objectif de cette étude était d'apporter notre contribution quant à l'estimation de la Contamination de nos abattoirs de poulets de chair par les *Campylobacter* thermotolérants, ceci par l'évaluation de la distribution par espèces ainsi que l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées.

La première partie de l'étude a permis d'évaluer un taux de contamination de 48% par les *Campylobacter* Thermotolérants chez le poulet de chair. Ce qui signifie que cette bactérie est bien présente dans nos élevages de poulet de chair, survivent dans les abattoirs et sur les carcasses, et arriveront certainement au consommateur.

A la différence des autres pathogènes alimentaires, les *Campylobacter* sont incapables de croître en présence d'air, de se multiplier en dehors de leurs hôtes et ils sont très sensibles à de nombreuses conditions environnementales. Malgré ces contraintes, les *Campylobacter* survivent de la volaille jusqu'à l'assiette du consommateur et sont aujourd'hui considérés comme la première cause bactérienne d'infection d'origine alimentaire chez l'homme.

La deuxième partie de l'étude a permis de tester la sensibilité des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées la majorité des souches testées présentaient des multi résistances.

Les résistances enregistrées au cours de notre étude, ainsi que celles rapportées en Algérie, reflètent une situation alarmante vis-à-vis du phénomène d'antibiorésistance, témoignant le plus souvent, d'une utilisation anarchique et incontrôlée des antibiotiques en élevage avicole à des doses sub-thérapeutiques généralement, les tétracyclines et les quinolones en particulier.

A l'issu de ce modeste travail, nous pouvons confirmer les études faites avant sur ce germe, qui représente un problème de sécurité alimentaire mondiale dans la mesure où la nourriture est échangée dans le monde entier et peut être un vecteur majeur de la propagation de la résistance aux antibiotiques entre les animaux et les humains.

Ces résultats doivent être affinés par l'élargissement du plan d'échantillonnage qui pourra être étendu à d'autres régions du pays, l'identification des espèces (bien que toutes les espèces de *Campylobacter* thermotolérants sont incriminées dans les toxi-infections alimentaires), une étude en fonction de la saison, mais surtout essayer d'identifier les modalités

de contamination des carcasses dans les abattoirs en effectuant des prélèvements de carcasses à différents points de la chaîne d'abattage, des prélèvements de l'eau des bacs d'échaudage et sur le matériel et les équipements.

Puisque l'éradication des *Campylobacter* thermotolérants s'avère illusoire, des mesures de protection visant à diminuer la prévalence de ces bactéries devraient être entreprises à tous les maillons de la chaîne alimentaire au moment de l'abattage en particulier, et ce dans le cadre de la protection de la santé publique en Algérie.

- Veiller au repos des sujets avant l'abattage, respecter la marche en avant et éviter toutes les
- sources de contamination croisée et de recontamination ;
- Effectuer des contrôles réguliers de la température de l'eau et de la chambre froide ;
- Eradiquer les tueries et instaurer des plans HACCP dans tous les abattoirs.
- Veiller à ce que le personnel soit vêtu d'uniformes propres et qu'il se lave systématiquement les mains à l'entrée de chaque établissement et après chaque manipulation
- Effectuer systématiquement la recherche des *Campylobacter* thermotolérants dans les coprocultures avec antibiogramme dans tous les hôpitaux ;
- Réaliser un plan d'évaluation des risques liés aux *Campylobacters* et mettre en place des réseaux de surveillance de cette zoonose alimentaire.

Référence bibliographique :

Allen VM., Bull SA., Corry JEL., Domingue G., Jørgensen F., Frost JA., Whyte R., Gonzalez A., Elviss N., Humphrey TJ., 2007: Campylobacter spp. contamination of chicken carcasses during processing in relation to flock colonisation. *International Journal of Food Microbiology* 113: 54-61.

Allos BM., Blaser MJ., 2006: Campylobacter Infections. In : Guerrant RL., Walker DH., Weller PF., 'Tropical Infectious Diseases : Principles, Pathogens, & Practice'. Elsevier Health Sciences. 2nd edition : 265-272.

Alter T., Gaull F., Froeb A., Fehlhaber K., 2005: Distribution of Campylobacter jejuni strains at different stages of a turkey slaughter line. *Food Microbiology* 22 (4): 345-351.

Berrang ME., Buhr RJ., Cason JA., 2000: Campylobacter Recovery from External and Internal Organs of Commercial Broiler Carcass Prior to Scalding. *Poultry Science* 79: 286-290.

Berrang ME., Buhr RJ., Cason JA., Dickens JA., 2002: Microbiological Consequences of Skin Removal Prior to Evisceration of Broiler Carcasses. *Poultry Science* 81: 134-138

Borck B., Stryhn H., Ersbøll AK., Pedersen K., 2002: Thermophilic Campylobacter spp. in turkey samples: evaluation of two automated enzyme immunoassays and conventional microbiological techniques. *Journal of Applied Microbiology* 92: 574-582.

Bolton, F. J., S. B. Surman., K. Martin., D. R. A. Wareing., T. J. Humphrey., 1999 : Presence of Campylobacter and Salmonellae in sand from bathing beaches. *Epidemiol. Infect.*

Burucoa C, 2007 : Bacilles à gram négatif microaérophiles: Campylobacter. In : Denis F., Ploy MC., Martin C., Bingen E. Quentin R. 'Bactériologie médicale: techniques usuelles'. Paris, Masson : 387-393.

Butzler JP, 2004 : Campylobacter, from obscurity to celebrity. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 10 : 868–876.

Caner., Ozlem ., Nguyen., Douglas R., Call, d ., Beyenal., 2008 : Characterization of Mono- and Mixed-Culture Campylobacter jejuni Biofilms

Coker AO., Isokpehi RD., Thomas BN., Amisu KO., Obi CL., 2002 : Human Campylobacteriosis in Developing Countries. *Emerging Infectious Diseases* 8 (3) : 237-243.

Corry J. E. L., Post D. E., Colin P., Laisney M. J., 1995 : Culture media for the isolation of campylobacters. *Int. J. Food Microbiol.*

Corry JEL., Atabay HI., 2001: Poultry as a source of Campylobacter and related organisms. *Journal of Applied Microbiology* 90: 96-114.

Davis MA., Conner DE., 2007: Survival of Campylobacter jejuni on poultry skin and meat at varying temperatures. *Poultry Science* 86: 765–767.

D Messaouda, 2019 : Infections à Campylobacter et infections similaires.

Engberg, F M Aarestrup., D E Taylor., P Gerner-Smidt., I Nachamkin., 2001 : Quinolone and macrolide resistance in Campylobacter jejuni and C. coli: resistance mechanisms and trends in human isolates.

Euzeby, 2010 : Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. Lien internet

Fauchère et Avril, 2002 : Bactériologie générale et médicale

FDA, 2011 :Prevalence and Antibiotic Resistance of Campylobacter, Salmonella, and L. monocytogenes in Ducks.

Fitzgerald C., Whichard J., Fields PI., 2009 : The genus Campylobacter. In : Goldman E., Green LH. 'Practical Handbook of Microbiology'. Taylor & Francis Group. 2nd edition : 563-578.

Franchin PR., Ogliar PJ., Batista CRV., 2007: Frequency of thermophilic Campylobacter in broiler chickens during industrial processing in a Southern Brazil. Poultry Science 48:127-132.

Freney J., Renaud F., Hansen W., Bollet C., 2007 :Precis de bactériologie clinique.

Friedman C. R., Neimann J., Wegener H. C., Tauxe R. V., 2000 : "Epidemiology of Campylobacter jejuni infections in the United States and other industrialized nations," in Campylobacter

Gallay A., Prouzet-Mauléon V., Kempf I., Lehours P., Labadi L., Camou C., Denis M., de Valk H., Desenclos J. C., Mégraud F., 2007 : Campylobacter drug resistance among Humans, broiler chickens, and pigs, France. Emerging Infect. Dis.

Garrrity GM., Bell JA., Lilburn TG., 2004 :Bergey's Manual of Systematic Bacteriology : Taxonomic Outline of the Prokaryotes. Bergey's Manual Trust. 2nd edition : 137-138.

Gobet, 1990 : Contribution à l'étude de la contamination des carcasses de volailles par les bactéries du genre Campylobacter enquête dans deux abattoirs de la région Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat. École Nationale Vétérinaire de Toulouse. 1-128.

Goossens., J.-P. Butzler., D. Lloyd., S. Knutton., J. M. Ketley., 1992 :Differentiated Caco-2 cells as a model for enteric invasion by Campylobacter jejuni and C. coli.

Jeffrey JS., Tonooka KH., Lozano J., 2001:Prevalence of Campylobacter spp. from skin, crop, and intestine of commercial broiler chicken carcasses at processing. Poultry Science. 80: 1390–1392

Lior, H., D. L. Woodward., J. A. Edgar., L. J. Laroche., P. Gill., 1982 :Serotyping of Campylobacter jejuni by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors. J. Clin. Microbiol.

Médeiros et Hofmam, 2002 : isolation and thermophilic campylobacter from food.

Mégraud, F., D. Chevrier., N. Desplaces., A. Sedallian., J. L. Guesdon., 2003 :Urease-positive thermophilic Campylobacter.

Mégraud F., 2007 : Campylobacter. In : Freney J., Leclercq R., Renaud F., Riegel P. 'Précis de Bactériologie Clinique'. ESKA. 2ème édition : 1349-1357.

Nauciel et vilde, 2005: Bactériologie médicale. Paris.

Obiri-Danso., N. Paul, K., Jones., 2001: The effects of UVB and temperature on the survival of natural populations and pure cultures of Campylobacter jejuni, Camp. coli, Camp. lari and urease-positive thermophilic campylobacters (UPTC) in surface waters.

- ON, 1996 :** Zoonosiscontrol Salmonella and Campylobacter in the first 6 months of 1996.
- ON, 2005 :** Taxonomy, phylogeny and, methods for the identification of Campylobacter species. In: Ketley JM., Konkel ME. 'Campylobacter Molecular & Cellular biology'. Horizon Bioscience.
- OMS, 2001 :** Rapport d'une consultation mixte d'experts. Évaluation des risques pour Campylobacter spp. dans les poulets et pour Vibrio spp. dans les produits de la pêche.
- OMS, 2003:** Organisation Mondiale de la Santé. GLOBAL SALM-SURV: Isolement, identification et détermination de la sensibilité aux antibiotiques des Campylobacter. 1-30.
- OMS, 2009 :** Organisation Mondiale de la Santé. Évaluation des risques liés à Campylobacter Spp. Dans les poulets de chair. 1-33.
- Penner, J. L., J. N. Hennessy., R. V. Congi., 1983 :** Serotyping of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli on the basis of thermostable antigens.
- .Peyrat M.B., 2008:** Étude de l'influence du nettoyage et de la désinfection et des procédés d'abattage en abattoir de volailles sur le niveau de résistance aux antibiotiques des Campylobacters. Thèse de doctorat. Université de Rennes
- Poly, 2005 :** Etude de la diversité génétique de l'espèce Campylobacter jejuni par l'utilisation de puces à ADN
- Rahimi E., Momtaz H., Bonyadian M., 2010:** PCR detection of Campylobacter sp. From turkey carcasses during processing plant in Iran. Food Control 21: 692–694
- Rooney PJ., Sails A., Whyte P., 2005 :** Campylobacter. VetRes 36 : 351–382.
- Schaffer et Parriaux, 2002 :** Appréciation des risques alimentaires liés aux campylobacters: Application au couple poulet / Campylobacter jejuni.
- Scott., Bogema., Connolly., Falconer ., Djordjevic., Cordwell., 1977 :** Mass spectrometric characterization of the surface-associated 42 kDa lipoprotein JlpA as a glycosylated antigen in strains of Campylobacter jejuni.
- Smibert, 1978 :** The Genus Campylobacter.
- Talibart, R., M. Denis., A. Castillo., J. M. Cappelier., G. Ermel. 2000 :** Survival and recovery of viable but noncultivable forms of Campylobacter in aqueous microcosm. Int. J. Food Microbiol.
- Thibodeau., Trigui1., Kristen., Lévesque., Mendis., Fravallo., Letellier ., Faucher., 2013)** : Phenotypic and Transcriptomic Responses of Campylobacter jejuni Suspended in an Artificial Freshwater Medium.
- Vandamme P., Falsen E., Rossau R., Hoste B., Segers P., Tytgat R., De Ley J., 1991 :** Revision of Campylobacter, Helicobacter, and Wolinella taxonomy : emendation of generic Descriptions and proposal of Arcobacter gen. International Journal of Systematic Bacteriology 41

Vandamme.,Debruynea., Samyna., Vandenber., Heyndrick., 2008 : Comparative performance of different PCR assays for the identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*.

Vellingo et Van look, 2002 : The Dioxin Crisis as Experiment To Determine Poultry-Related *Campylobacter* Enteritis.

Véron M., Fauchère JL., 1989: *Campylobacter*. In: Le Minor L., Véron M., 'Bactériologie médicale'. Paris, Flammarion. 2ème édition: 694-730.

Wesley IV., Muraoka WT., Trampel DW., Hurd HS., 2005: Effect of preslaughter events on prevalence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in market-weight turkeys. *Applied and Environmental Microbiology* 71 (6): 2824–2831.

Zeinhom et Latef, 2014: Prevalence, Characterization, and Control of *Campylobacter jejuni* Isolated from Raw Milk, Cheese, and Human Stool Samples in Beni-Suef Governorate, Egypt.

Annexes

Annexe 1

EVALUATION DES FACTEURS DE RISQUE POUR *CAMPYLOBACTER* THERMOPHILE DANS LES ABATTOIRS AVICOLES DE BATNA

Il me ferait plaisir de vous voir répondre à ce questionnaire établi dans le but de collecter des données relatives à l'appréciation des risques alimentaires liés aux *Campylobacter* chez le poulet de chair.

FICHE D'AUDIT SANITAIRE ABATTOIR DE VOLAILLES (WILAYA DE BATNA)		DATE : / / N° D'ETABLISSEMENT D'ABATTAGE : LOT :	
Espèce abattus :		Capacité journalière :	
Localisation :			
EXIGENCES	P	A	OBSERVATIONS
1. L'emplacement de l'abattoir (impact de l'environnement) et l'origine des animaux abattus			
Lieux (ville/campagne)			
L'abattoir est situé loin des zones de pollution, des zones inondables et des zones d'habitation			
L'abattoir maîtrise la gestion des eaux usées et des déchets organiques (sang, intestins et saisies de viandes)			
Ferme d'origine du lot abattu (lieu et bande)			
Numéro du lot abattu (premier, second, dernier...)			
Sexe et âge des sujets concernés			
Fermes d'origine de tous les lots abattus dans l'abattoir			
Nombre d'abattage par semaine			
2. Approvisionnement en eau potable			
Disposition d'une source d'eau potable du réseau publique ou d'une source équipée d'un système de potabilisation validée en quantité suffisante			
3. Exigence structurelle			
Abattoir clôturé, permettant un contrôle facile des entrées et des sorties (empêchant l'accès des animaux errants)			
Locaux assurent le principe de la marche en avant			
Séparation nette entre le secteur propre et secteur souillé			
3.1. Section « volailles vivantes »			
Local ou emplacement couvert pour le débarquement des volailles			

Le local de débarquement suffisamment vaste pour l'inspection ante mortem			
Un local ou d'un emplacement couvert facile à nettoyer et à désinfecter réservé aux volailles malades et suspectes			
3.2. Section « abattage »			
Salle d'accrochage et d'un couloir de saignée totalement séparés			
Salle d'échaudage et de plumaison totalement séparée			
Salle d'éviscération et de lavage des carcasses			
Un local de traitement des abats			
3.3. Section « stockage et expédition »			
Locaux pour le stockage frigorifique des viandes			
Local pour le conditionnement et l'expédition			
3.4. Autres			
Local pour lavage et désinfection des caisses et des chariots			
Local réfrigéré pour stockage des déchets organique et saisie			
Locaux sanitaires réservés au personnel manipulateur			
Local aménagé et fermant à clé pour les services vétérinaires			
3.5. Caractéristiques de locaux d'abattage			
Sols résistants au choc physique, antidérapant, et facile à nettoyer			
Murs lisse apte à nettoyer et désinfecter, le raccordement entre murs et sols est en gorge arrondie			
Plafonds contre les infiltrations et l'accumulation des poussières			
4. Exigence en équipement			
4.1. Equipement d'abattage			
Chaîne d'abattage permet le déroulement continu du processus d'abattage			
Crochet, chariots, bacs et autres équipements résistants à la corrosion			
4.2. Equipement frigorifique			
Refroidissement des carcasses réfrigérées par des tunnels de ressuage frigorifique ou par des chambres froides			
Refroidissement des carcasses avant congélation (température de l'eau des bacs d'immersion entre 4°C et 16°C)			
4.3. Autres équipements			
Système de ventilation efficace et d'un éclairage suffisant			
Fenêtre munies de moustiquaires			
Nombres suffisants de points d'eau placés pour le nettoyage et la désinfection des mains et des couteaux			
Postes d'eau avec pression (douchage des carcasses et nettoyage du local)			
Installation pour nettoyage des équipements et des matériaux			
Locaux sanitaires équipées par un nombre approprié de vestiaires, douches, toilettes fonctionnels			
Porte en matériaux inaltérable			
5. Bonne pratique d'abattage			
La saignée complète après étourdissement			
Pratique d'un abattage rituel musulman			

Eau de bacs renouvelée à chaque cycle d'abattage			
Plumaison complète et immédiate			
Eviscération effectuée sans délais (partie impropre à la consommation doivent être évacuées hors les locaux d'abattage)			
Douchage des carcasses par eau potable sous pression			
Refroidissement immédiat (carcasses et abats) de sorte abaisser la T° à 4°C pour la réfrigération et -18° pour la congélation			
6. Bonne pratique d'hygiène			
6.1. Personnels			
Porte des vêtements de travail appropriés et propres			
Lavage des mains au moins à chaque reprise du travail			
Respects des interdictions (fumer, cracher, manger,...)			
Contrôle médical régulier			
6.2. Locaux, équipements et ustensiles			
Protocole de lavage des locaux			
Protocole de nettoyage et désinfection des équipements et des ustensiles			
Protocole de nettoyage et désinfection des véhicules de transport des viandes			
Entretien général de l'abattoir au moins une fois par an			
Déchets organiques évacuées après chaque cycle d'abattage			
Accès à l'enceinte de l'abattoir interdit aux animaux errants			
Destruction systématique des rongeurs, insectes et autres vermines			
7. Autocontrôle			
Enregistrement journalier de la mise en œuvre du plan de maîtrise sanitaire			
Enregistrements journalier de relevés de température			
Analyse de laboratoire régulier pour le contrôle de qualité des eaux			
Conclusion de l'audit :			
Favorable ☐ Défavorable ☐			

Annexe 2

Milieu skirrow :

Composition du Supplément sélectif de *Campylobacter* Skirrow :

Composition	Pour supplémenter 500 ml de milieu
Vancomycine	5mg
Triméthoprine	2.5 mg
Polymyxine B	1250 µl

• Préparation :

Faire fondre un flacon de gélose Columbia de 225m L au bain marie puis laisser refroidir jusqu'à 45°C approximativement, auquel on y ajoute 10 gouttes de supplément Growth de *Campylobacter*, 10 gouttes du réactif Skirrow et 18mL de sang de cheval stérile et défibriné.

Resumé

Les objectifs de notre travail étaient de déterminer le taux de contamination des carcasses de poulet de chair par les *Campylobacter* thermotolérants (CTT) dans quelques établissements d'abattage de la wilaya de Batna, de les caractériser phénotypiquement et d'étudier leurs sensibilités aux antibiotiques.

50 prélèvements ont été effectués au niveau de 4 abattoirs avicoles (peaux du cou). Après préparation de l'échantillon à tester, un isolement des CTT a été réalisé sur de la gélose skirrow et une identification biochimique complète des souches isolées a été effectuée suivie d'une étude de la sensibilité aux antibiotiques selon les recommandations CA SFM (2018).

Un taux de contamination globale de 48% (24 /50) a été noté et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques a révélé que 86,36%, 90,91% et 63,64% des souches testées ont présenté une résistance à l'acide nalidixique, à la tétracycline et à la ciprofloxacine respectivement.

D'après ces résultats nous constatons le taux de contamination reste important et les taux de résistance aux antibiotiques est inquiétant pour l'hygiène alimentaire.

Mots clés : *Campylobacter* thermotolérants, poulet de chair, peau de cou, Batna, antibioresistance

Abstract

The objectives of our work were to determine the contamination rate of broiler carcasses by thermotolerant *Campylobacter* (TTC) in some slaughterhouses of the wilaya of Batna, to characterize them phenotypically and to study their sensitivities to antibiotics.

50 samples were taken from 4 poultry slaughterhouses (neck skins). After preparation of the sample to be tested, isolation of CTTs was performed on skirrow agar and a complete biochemical identification of the isolated strains was performed followed by an antibiotic susceptibility study according to CA SFM recommendations (2018).

An overall contamination rate of 48% (24/50) was noted and the antibiotic susceptibility study revealed that 86.36%, 90.91% and 63.64% of the strains tested showed resistance to nalidixic acid, tetracycline and ciprofloxacin respectively.

From these results we can see that the contamination rate is still important and the antibiotic resistance rates are worrying for food hygiene.

Key words: thermotolerant *Campylobacter*, broiler chicken, neck skin, Batna, antibiotic resistance

ملخص

كانت أهداف عملنا هي تحديد مستوى تلوث جثث الدجاج بواسطة الكامبيلوبالكتار المقاوم للحرارة (TTC) في عدد قليل من مؤسسات الذبح في ولاية باتنة، لوصفها من النمط الظاهري للسلاسل المعزولة و دراسة مظاهر المقاومة للمضادات الحيوية للكيميبولباتير المقاوم للحرارة مع تحديد مقاومة المضادات الحيوية

تم أخذ 50 عينة في 4 مذابح دواجن (جلود العنق). بعد إعداد العينة التي سيتم اختبارها، تم إجراء عزل CTT وتم إجراء تحديد كيميائي حيوي كامل للسلاسل المعزولة متبوعاً بدراسة حول قابلية المضادات الحيوية وفقاً لتوصيات CA SFM (2018).

لوحظ معدل تلوث إجمالي بنسبة 48% (50/24) ووجدت دراسة قابلية المضادات الحيوية أن 86.36% و 90.91% و 63.64% من السلاسل التي تم اختبارها كانت مقاومة لحمض الناليديكسيك والتتراسيكلين والسيروفلوكساسين على التوالي.

بناءً على هذه النتائج، نرى أن معدل التلوث لا يزال مرتفعاً ومعدلات مقاومة المضادات الحيوية مقلقة بالنسبة لنظافة الطعام.

الكلمات الرئيسية: الكامبيلوبالكتار ، الدجاج ، جلد الرقبة، باتنة، المضادات الحيوية المقاومة.