

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE

LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE- ALGER

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الجزائر

MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION

DU DIPLOME DE MAGISTER EN SCIENCES VETERINAIRES

OPTION : MICRIBIOLOGIE MEDICALE VETERINAIRE

INCIDENCE DES *CAMPYLOBACTER*
THERMOTOLERANTS SUR LA SANTE
ANIMALE ET HUMAINE

D^r: BAALI MOHAMED

Le jury :

- Président : D^r HAMDI T.M Maitre de conférence classe A ENSV
- Promoteur : Pr KASSAH LAOUAR A Professeur A CHU de Batna
- Examinatrice 01: D^r AIT OUDIA K Maitre de conférence classe A ENSV
- Examineur 02: D^r KHELEF D Maitre de conférence classe A ENSV
- Examineur 03 : D^r AYACHI A MCA Université de Batna

Année universitaire : 2012 / 2013

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier ALLAH, le tout puissant qui a éclairé mon chemin.

Je remercie très sincèrement et du fond du cœur mon Directeur de Thèse Professeur KASSEH Laouar, Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de diriger ce travail. Pour vos précieux conseils, votre disponibilité malgré votre emploi du temps très chargé, Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect et de ma plus vive reconnaissance.

Je tiens à remercier le Docteur Ayachi de m'avoir accepté dans son laboratoire et de m'avoir donné l'occasion d'approfondir mes connaissances, mes remerciements pour votre disponibilité constante, Vos qualités humaines et scientifiques et surtout pour votre confiance. Trouvez ici l'expression de ma reconnaissance

Je tiens également à remercier Dr. HAMDI T.M pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse. Hommages respectueux,

Mes sincères remerciements sont aussi adressés A Dr. KHELLEF D. et Dr. AÏT OUDIA K, maîtres de conférences à l'école nationale supérieure vétérinaire, Qui m'ont fait l'honneur de juger avec gentillesse ce travail et de participer dans le jury de thèse, Sincères remerciements.

Je voudrais exprimer ma profonde gratitude à mes parents et mes frères qui m'ont continuellement apporté un support indispensable à la réalisation de mes buts, à Abdeallh, à Yacine et à Slimen pour leur soutien moral

Je tiens également à remercier mes collègues du laboratoire Manel, Asma et Layla pour leur soutien et leur aide au laboratoire.

Enfin, je remercie tous ceux et toutes celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail vraiment pénible.

Dédicace

A celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les grands hommes, mon cher père, qui est le plus bon père dans ce monde, grâce à son encouragement, sa confiance, son soutien moral et matériel et son amour infini en exprimant mes gratitude, mon profond amour et ma passion.

A celle qui a attendu les fruits de sa bonne éducation, ma chère mère, pour tous les sacrifices qu'elle me contente, toute la confiance qu'elle m'accorde et tout l'amour dont elle m'entoure.

A la mémoire de mes grands-parents.

A la mémoire de Takye-Eddine, tu auras toujours une place dans mes pensées.

A mes chers frères ; Yamine et sa femme Rachida, Khalil, Walid et sa femme Dalila, Reyad et surtout EL'HADJE.

A la princesse de la maison Ichrak Fatima Zahra, que dieu la protège

A ma chère sœur Nissou et son mari Mourad, pour leur soutien moral et leur sacrifice le long de ma formation.

A mes oncles et mes tantes, à mes cousins et cousines.

A mes collègues de l'option microbiologie médical vétérinaire

A mes meilleurs amis ; Faouzi, Ahmed, Djamel, SLIMEN, SALEH, SALAH, AZIZ, Achour, Acrom, A. Raouf, Kamel, Secresse, Chouaib, Abd El-Ghani, Hicham, Lakhdar, Ismail, Djaloul, Soufian, Abde-rahman, Sobhi, Zino.

Et finalement à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à accomplir ce travail

Je dédie ce modeste travail.

Liste des abréviations

<: Inférieur

≤: Inférieur ou égal

> : Supérieur

≥ : Supérieur ou égal

% : Pourcentage

- : Négatif

+ : Positif

± : Plus ou moins

°C: Degré celcius

β: Béta

ε: Epsilon

λ : Lambda

μl : Microlitre

μm: Micromètre

ADN : Acide desoxyribonucléique

AFNOR : Association Française de Normalisation

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

ATCC: American Type Culture Collection

Aw: Activity of water (activité de l'eau)

C : Cytosine

C. : *Campylobacter*

CA-SFM: comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CIP : Collection institut Pasteur

CNW : Catalase-Négative or Weak

CO₂ : Dioxyde de carbone

DSV: Direction des Services Vétérinaires

E.coli: Escherichia coli

EFSA: European Food Safety Authority

etc: et cetera

G: Guanine

H₂O: Molécule d'eau

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₂S: Sulfure d'hydrogène

HIV: Human immunodeficiency virus (virus de l'immunodéficience humaine)

HSP: heat shock proteins

IC 95% : Intervalle de confiance à 95%

i.e.: C'est-à-dire

INT 407: (Intestine 407) épithélium intestinal

IPA: Institute Pasteur d'Algérie

IS: inserted sequence (séquence d'insertion)

ISO: International Organization for Standardization (Organization International de Normalization)

kDa: Kilo-Dalton

kGy: KiloGray

L: Litre

LOS: Lipooligosaccharide

LPS : Lipopolysaccharide

MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural

mCCDA: modified Cefoperazone Charcoal Deoxycholate Agar

ml: Millilitre

mm: Millimètre

MOMP: Major outer membran protein

N₂: Diazote

NaCl : Chlorure de sodium

NCTC: National Collection of Type Cultures

OIE: Office International des Epizooties

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

OS: Oligosacharidique

PAβN: Phénylalanine-arginine-β-naphthylamide

Pb: Paire de bases

PBS: Phosphate Buffered Saline (tampon phosphate salin)

PH: Potentiel Hydrogène

RAPD: Randomly Amplified Polymorphic DNA

SGB: Syndromes de Guillain- Barré

SOD: Superoxyde dismutase

SoxRS: Superoxide response

sp.: Espèce

spp.: Espèces

TIAC: Toxi-infection alimentaire collectif

Tlp: transducer-like-protein

TSI: Triple Sugar Iron

UE: Union Européen

UFC: unités formant colonie

UPTC: uréase-positive thermophilic *Campylobacter*

VNC: Viable Non Cultivable

X: fois

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Principaux caractères de <i>Campylobacter jejuni</i> et des taxons apparents.....	- 7 -
Tableau II: Principaux caractères des espèces catalase négative (d'après Euzéby 2002.).....	- 7 -
Tableau III: Valeurs D (en kGy) d'une souche de <i>Campylobacter jejuni</i> en fonction de différentes températures.....	- 17 -
Tableau IV: Composition des principaux milieux solides et liquides pour les <i>Campylobacter</i> thermotolérants d'après Corry, Post et al. (1995).....	- 46 -
Tableau V : Tests de confirmation pour les <i>Campylobacter</i> thermotolérants.....	- 48 -
Tableau VI: Interprétation des résultats de la gélose TSI (AFNOR, 2004).....	- 48 -
Tableau VII: Caractéristiques phénotypiques de base des principaux <i>Campylobacter</i> thermotolérants.....	- 49 -
Tableau VIII: Méthodes de typage moléculaire de <i>C. jejuni</i> et <i>C. coli</i> (AFSSA, 2003).....	- 52 -
Tableau IX: Échantillonnage au niveau des élevages visités.....	- 54 -
Tableau X : Répartition des prélèvements en fonction de l'espèce.....	- 55 -
Tableau XI: Description des modalités du prélèvement aviaire par élevage.....	- 56 -
Tableau XII: Interprétation des résultats de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine..... (AFNOR, 2004).....	- 63 -
Tableau XIII: Concentrations, et diamètres critiques pour <i>Campylobacter</i> spp. (CA-SFM).....	- 143 -
Annexe.....	- 143 -
Tableau XIV: La prévalence globale des <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans les fientes.....	- 65 -
Tableau XV: Les prévalences des <i>Campylobacter</i> thermotolérants stratifiées par saison.....	- 66 -
Tableau XVI: La prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants stratifiées en fonction de l'âge des troupeaux.....	- 67 -
Tableau XVII: Les prévalences des <i>Campylobacter</i> thermotolérants stratifiées en fonction de la taille des troupeaux.....	- 68 -
Tableau XVIII: la prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants à partir des échantillons prélevés par un écouvillonnage cloacal.....	- 69 -
Tableau XIX: la prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans les fientes prélevées directement à partir du cloaque.....	- 70 -
Tableau XX: La prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans les fientes prélevées à partir du sol.....	- 70 -
Tableau XXI: Différents taux d'isolement en fonction de modalité de prélèvement.....	- 71 -
Tableau XXII: Comparaison entre les taux d'isolement de <i>Campylobacter</i> thermo tolérants constatés à partir des fientes et des écouvillons.....	- 72 -

Tableau XXIII: La prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants à partir des fientes en utilisant la technique de la filtration passive et le milieu sélectif de Karmali.....-73-

Tableau XXIV: La prévalence des *Campylobacter* thermotolérants chez l’homme.....-74-

Tableau XXV: Taux d’isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine en ensemencant les écouvillons rectaux sur le milieu de Karmali.....-74-

Tableau XXVI: Le taux d’isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine en utilisant la technique de la filtration passive.....-75-

Tableau XXVII: La méthode de caractérisation phénotypique des souches de *Campylobacter* thermotolérants adoptée après le test de la sensibilité à la céfalotine et à l’acide nalidixique.....-76-

Tableau XXVIII: Taux de sensibilité aux antibiotiques des 30 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez les volailles.....-80-

Tableau XXIX : profils de résistance des souches de *Campylobacter* thermotolérant isolées chez les volailles.....-81-

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Représentation schématique de l'ordre de Campylobacterale (d'après Larpent).....	5 -
Figure 2: <i>Campylobacter jejuni</i> en coloration de Gram (photographie É. Dromigny)	8-
Figure 3: Morphologie de <i>C. jejuni</i> souche CIP 70.8 en microscopie électronique à balayage. Gx 20 000 (24 h de culture) (photographie É. Dromigny, 1992).....	8-
Figure 4: Formes longues de <i>C. jejuni</i> variant aflagellé en microscopie électronique à balayage. G x 20 000 (24 h de culture) (photographie É. Dromigny, 1992).....	9 -
Figure 5: <i>C. jejuni</i> CIP 70.2T en microscopie électronique à balayage, formes vibrioïdes et formes coccoïdes. Gx 10 000 (photographie L E Dromigny, 1990).....	9 -
Figure 6: Schéma d'un flagelle de <i>Campylobacter</i> (d'après Karlyshev, Ketley et al. 2005).....	12 -
Figure 7: Diagramme simplifié des procédures l'abattage des volailles.....	23 -
Figure 8: La relation enter <i>C. jejuni</i> , anticorps anti gangliosides et SGB.....	30 -
Figure 9: Incidence des infections à <i>Campylobacter</i> dans sept pays industrialisés de 1980 à 1998 (AFSSA, 2003).....	31 -
Figure 10: Mode de transmission des <i>Campylobacter</i> à l'homme d'après Dromigny (2007).....	32 -
Figure 11: Aspect des colonies de <i>Campylobacter</i> sur gélose Karmali.....	47 -
Figure 12: Représentation schématique de <i>Campylobacter</i> en coloration de Gram.....	47 -
Figure 13: Représentation schématique du mode opératoire de la méthode de référence de recherche des <i>Campylobacter</i> dans les aliments (selon la norme NF-ISO 10272:1995).....	51 -
Figure 14 : Différentes modalités des prélèvements aviaires (Photos personnelles) (annexe (ii)-132-	
Figure 15: Répartition des échantillons aviaires en fonction du mode de prélèvement.....	56-
Figure 16: Répartition des échantillons humains en fonction du mode de prélèvement... ..	57
Figure 17: Représentation schématique du mode opératoire au sein du laboratoire.....	58
Figure 18: Aspect des Colonies de <i>Campylobacter</i> sur la gélose de Karmali. (Photo personnelle).....	60 -
Figure 19: <i>Campylobacter</i> en coloration de Gram (Gr X100) (Photo personnelle).....	61 -
Figure 20: Réaction de l'oxydase positive (Photo personnelle)	62 -
Figure 21: Réaction de la catalase positive (Photo personnelle).	62 -
Figure 22: Exemple des résultats de l'antibiogramme d'une souche de <i>Campylobacter</i> Thermotolérant (Photo personnelle).	64 -
Figure 23: La prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants par élevage.....	65 -
Figure 24 : La prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants stratifiée en fonction de l'âge des Troupeaux.....	67-

Figure 25 : Les taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants (aviaires) obtenus par l'isolement sélectif du milieu de Karmali et par la technique de filtration passive.....-73-

Figure 26 : Les taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants (humains) obtenus par l'isolement sélectif du milieu de Karmali et par la technique de filtration passive.....-75-

Figure 27 :Repartitions des souches de *Campylobacter* thermotolérants aviaires identifiées et non identifiées au niveau de l'espèce.....-77-

Figure 28 : Comparaison entre les deux taux d'isolement des *Campylobacter upsaliensis* en utilisant la technique de filtration passive et le milieu sélectifs de Karmali.....-78-

Figure 29 : Pourcentage des souches de *Campylobacter* thermotolérants qui font l'objet de l'antibiogramme.....-79-

Figure 30 : profils de résistance des souches de *Campylobacter* thermotolérant isolées chez les volailles.....-81-

Table des matières

Introduction :	- 1 -
Historique :	- 2 -

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I: Éléments de la taxonomie

I. NOMENCLATURE DES RANG TAXONOMIQUE DE <i>CAMPYLOBACTER</i>	- 4 -
II. CLASSIFICATION	- 6 -
2.1. Phénotypes	- 6 -
2.2. Clusters et génotypes	- 7 -
2.3. Pathotypes et tropismes	- 7 -
2.4. Écotypes et sources	- 7 -

Chapitre II: Morphologie et structure cellulaire

I. FORME ET DIMENSIONS CELLULAIRES	- 8 -
I.1. Forme vibrioïde	- 8 -
I.2. Forme coccoïde	- 8 -
II. COMPOSANTS DE LA SURFACE CELLULAIRES	- 9 -
II.1. Les polysaccharides de surface	- 9 -
II.1.1. Structure générale des LPS	- 9 -
II.1.2. Lipooligosaccharide (LOS)	- 10 -
II.1.3. Capsule (Le polysaccharide capsulaire)	- 10 -
II.2. Les protéines de surface	- 11 -
II.3. La S-layer ou couche S	- 11 -
II.4. Les pili, éléments incertains	- 11 -
III. LE FLAGELLE DE <i>CAMPYLOBACTER</i>	- 11 -
III.1. Morphologie et structure du flagelle	- 11 -
III.2. Fonction antigénique du flagelle	- 12 -
IV. LE GENOME DE <i>CAMPYLOBACTER</i>	- 12 -

Chapitre III : Physiologie

I. MÉTABOLISME DE <i>CAMPYLOBACTER</i> ET RÉGULATION	- 14 -
I.1. Métabolisme central	- 14 -
I.2. Microaérobiose	- 14 -
I.3. Dépendance au CO ₂	- 15 -

I.4. Chimiotactisme	- 15 -
I.5. Transport des électrons	- 15 -
II. RÉSISTANCE À DIVERS AGENTS	- 15 -
II.1. Facteurs intrinsèques.....	- 15 -
II.2. Facteurs extrinsèques	- 17 -
III. ADAPTATION AUX STRESS SUBLÉTAUX	- 17 -
III.1. Réponses au froid (cold shock)	- 17 -
III.2. Réponses au stress thermique ou heat shock	- 18 -
III.3. Réponses au stress oxydant.....	- 18 -
III.4. Réponse au stress nutritionnel et en phase stationnaire	- 18 -
III.5. Les formes viables non cultivables (VNC)	- 18 -
III.6. La formation de biofilm	- 19 -

Chapitre IV: Campylobactériose aviaire

I. INFECTION DES VOLAILLES ET LA CONTAMINATION DES DENRÉES ALIMENTAIRES QU'EN DÉRIVENT PAR CAMPYLOBACTER.....	- 20 -
I.1 Dans les élevages	- 20 -
I.1.1. Infection des lots de volailles par <i>Campylobacter</i>	- 20 -
I.1.2. Prévalence de la contamination des élevages.....	- 21 -
I.1.3. Sources et voies de contamination des élevages	- 21 -
I.1.4. Mesures de contrôle des <i>Campylobacter</i> en élevages	- 22 -
I.2. Contamination des volailles pendant le transport	- 23 -
I.3. Contamination des carcasses pendant les procédés d'abattage.....	- 23 -
II. UTILISATION DES ANTIBIOTIQUES CHEZ LA VOLAILLE	- 24 -
II.1. Relation entre l'utilisation des antibiotiques et la résistance aux antibiotiques des <i>Campylobacter</i> isolés chez la volaille.....	- 24 -
II.2. Relations entre la résistance aux antibiotiques chez les souches d'origine aviaire et les souches isolées chez l'homme.	- 25 -
II.3. Conséquences de la résistance aux antibiotiques des <i>Campylobacter</i> sur les symptômes observés lors d'infection chez l'homme	- 25 -

Chapitre V: Campylobactériose humaine

I. PATHOGÉNIE.....	- 26 -
II. SYMPTOMES CLINIQUES	- 27 -
II.1. Entérite.....	- 27 -

II.2. Infections systémiques	- 28 -
II.3. Syndromes post-infectieux	- 28 -
III. EPIDÉMIOLOGIE DES INFECTION À <i>CAMPYLOBACTER</i> CHEZ L'HOMME....	- 30 -
III.1. Incidence de la maladie	- 30 -
III.2. Formes épidémiologiques et réservoirs de <i>Campylobacter</i>	- 31 -
III.3. Sources de contamination et facteurs de risque chez la population humaine	- 32 -
IV. FACTEURS ET MÉCANISMES DE VIRULENCE	- 33 -
IV.1. Fonction de virulence du flagelle (la motilité).....	- 34 -
IV.2 Facteurs d'adhésion.....	- 34 -
IV.3. Facteurs d'invasion.....	- 34 -
IV.4. Toxines de <i>Campylobacter</i>	- 35 -
V. TRAITEMENT	- 36 -
V.1. Utilisation des antibiotiques	- 36 -
V.2. Résistance des <i>Campylobacter</i> aux antibiotiques	- 37 -
V.2.1. Détection de la résistance aux antibiotiques	- 37 -
V.2.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques décrits chez <i>Campylobacter</i>	- 38 -
VI. VACCINATION.....	- 40 -
Chapitre VI : Méthodes de détection	
I. DÉTECTION ET ISOLEMENT DES <i>CAMPYLOBACTER</i>.....	- 41 -
I.1. Conditions générales de culture de <i>Campylobacter</i>	- 41 -
I.1.1. Microaérophilie	- 41 -
I.1.2. Température.....	- 41 -
I.1.3. Milieu nutritif et le Contrôle de la microflore associée.....	- 42 -
I.1.4. Le PH.....	- 42 -
I.2. Méthodes de détection	- 42 -
I.2.1.Choix de la méthode en fonction de l'origine des prélèvements.....	- 42 -
I.2.2.Prélèvement des échantillons.....	- 42 -
I.2.3.Transport des échantillons.....	- 43 -
I.2.4.Traitement des échantillons.....	- 43 -
I.2.5.Techniques de culture sélective des <i>Campylobacter</i>	- 44 -
I.3. Détection moléculaire de <i>Campylobacter</i>	- 49 -
I.4. Épreuves sérologiques	- 49 -
I.5. Méthode de détection dans les aliments	- 50 -
II. TYPAGE DE <i>CAMPYLOBACTER</i>.....	- 50 -

II.1. Méthodes phénotypiques utilisées pour le typage de <i>Campylobacter</i>	50 -
II.1.1. Biotypage	50 -
II.1.2. Sérotypage	50 -
II.1.3. Lysotypage : typage par les phages	51 -
II.2. Méthodes génotypiques utilisées pour le typage de <i>Campylobacter</i>	52 -

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Chapitre I: Matériels et Méthodes

OBJECTIFS	53 -
I. PRÉSENTATION DES ÉTABLISSEMENTS	53 -
II. MATÉRIELS	53 -
III. METHODES	55 -
III.1. Méthodes de prélèvement	55 -
III.2. Transport des prélèvements	57 -
III.3. Méthodes de laboratoire	57 -
III.3.1. Préparation des milieux de culture	57 -
III.3.2. La détection des <i>Campylobacter</i> thermotolérants	58 -
III.3.3. Test de sensibilité aux antibiotiques	63 -
III.3.4. Conservation des isolats des <i>Campylobacter</i>	63 -
III.4. Méthodes d'analyse statistique	64 -

Chapitre II: Résultats

I. PRÉVALENCE DES <i>CAMPYLOBACTER</i> THERMOTOLERANTS	65 -
I.1. Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants chez les volailles	65 -
I.2. Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants chez les êtres humains	74 -
II. CARACTÉRISATION PHÉNOTYPIQUE DES SOUCHES DE <i>CAMPYLOBACTER</i> THERMOTOLERANTS ISOLÉES	76 -
II.1. Caractérisation phénotypique des souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées chez les volailles	76 -
II.2. Caractérisation phénotypique des souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées chez les êtres humains	78 -
III. ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE <i>CAMPYLOBACTER</i> THERMOTOLERANTS ISOLÉES	79 -

III.1. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées chez les volailles.....	-79-
III.2. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées chez les êtres humains.....	-82-

Chapitre III : Discussion

I. CHOIX DE SUJET: (CAMPYLOBACTER, VOLAILLE, HOMME)	- 83 -
II. JUSTIFICATION DE L'ÉCHANTILLONNAGE.....	- 83 -
II.1. Échantillons de poulets vivants en fin de bande (fientes).....	- 83 -
II.2. Échantillons humains (selles diarrhéiques).....	- 84 -
III. CHOIX DE LA MÉTHODOLOGIE DE RECHERCHE : (PRÉLEVEMENT, TRANSPORT ET ANALYSE)	- 84 -
IV. PRÉVALENCE DES CAMPYLOBACTER THERMOTOLERANTS	- 86 -
IV.1 Chez les volailles	- 86 -
IV.1.1. Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants au niveau des fientes	- 86 -
IV.1.2. Sources de contamination et facteurs de risque	- 88 -
IV.2. Chez les êtres humains	- 92 -
IV.2.1. Incidence	- 92 -
IV.2.2. Facteurs de risque pour la population humaine	- 95 -
V. ÉVALUATION DE RENDEMENT DES DIFFÉRENTES TECHNIQUES DE PRÉLEVEMENT ET D'ISOLEMENT	- 97 -
V.1. Évaluation du rendement des différentes techniques du prélèvement.....	- 97 -
V.2. Évaluation du rendement des différentes techniques d'isolement	- 97 -
VI. SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE CAMPYLOBACTER THERMOTOLÉRANTS ISOLÉES.....	- 98 -
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	- 103 -
RECOMMANDATIONS.....	- 105 -
REFERENCES	-107-
Annexes.....	-130-

Introduction :

Campylobacter est la principale cause d'entérite résultant de toxi-infection alimentaire dans les pays industrialisés, de même que dans les pays en voie de développement (Laberge, 2003).

Plusieurs études ont montré, grâce au phénotypage et au génotypage, que la volaille est la principale source d'infection à *Campylobacter* chez l'homme (Moore et al., 2003).

Les *Campylobacter* sont fréquemment isolés et en grande quantité dans les fientes des poulets de chair avec un portage asymptomatique des ces bactéries (Simon, 2010). Alors que, chez l'homme pour confirmer les entérites à *Campylobacter*, les selles liquides et fraîches constituent une bonne matrice pour l'isolement des *Campylobacter* (Altmayer, 1994, cité par Dromigny, 2007).

Cependant le taux d'isolement aussi bien chez les volailles que chez les êtres humain s'avère influencer par plusieurs facteurs comme: l'âge des sujets, le type et la technique du prélèvement, le milieu de culture utilisé, la technique d'isolement et les conditions d'incubation.

Il est reconnu que les *Campylobacter* présents dans le tube digestif des poulets contaminent la surface des carcasses lors de l'abattage (Simon, 2010), mais étant donné que le contrôle de la contamination par *Campylobacter* au cours d'abattage est très difficile en raison des contaminations croisées (Newell et al., 2001), la prévention de la colonisation par *Campylobacter* des poulets de chair au niveau de la ferme s'avère la meilleure façon de prévenir la contamination des produits avicoles (Rivoal et al., 2005). Bien que la plupart des infections à *Campylobacter* sont spontanément résolutive et n'exigent pas une médication, l'intervention médicale est justifiée dans les infections graves ou durables et pour les patients immunodéprimés, dans ces circonstances l'érythromycine et les fluoroquinolones sont les agents antimicrobiens du choix (Aarestrup et Engberg, 2001), le niveau croissant de la résistance aux agents antimicrobiens chez les *Campylobacter* devient un souci pour la santé publique dans beaucoup de pays (Engberg, 2001).

Le fait que ces bactéries posent un sérieux problème de la santé publique ainsi que la rareté de travaux sur les campylobactérioses aviaires et humaines en Algérie, nous incitent à entreprendre la présente étude qui est scindée en deux parties : une revue bibliographique décrivant nos connaissances sur les *Campylobacter* (taxonomie, morphologie, physiologie et méthodes de détection) et leur cycle épidémiologique chez la volaille et chez l'homme. La seconde partie présentera notre étude expérimentale avec ses matériels et méthodes, ses résultats et sa discussion avant d'exposer la conclusion de nos travaux. Cette étude vise, d'une part, à évaluer la prévalence de *Campylobacter* thermotolérant aussi bien chez la volaille (Batna) que chez l'homme (M'sila) ainsi que l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques, et d'autre part, à comparer entre deux méthodes d'isolement de *Campylobacter* thermotolérants (la technique de la filtration passive et la technique d'isolement sélectif en utilisant le milieu de Karmali).

Historique :

Les *Campylobacter* ont pendant longtemps été des bactéries connues dans le domaine vétérinaire principalement dans les diarrhées et les avortements chez les ovins, en médecine humaine, il a fallu attendre le développement des milieux sélectifs notamment pour l'isolement des *Campylobacter* dans les selles, c'est seulement dans ces 30 dernières années que ces bactéries ont été reconnues comme étant une cause majeure des maladies humaines (Moore et al., 2005).

Toutefois, en 1886, Escherich édite une série d'articles dans le (*Münchener Medizinische Wochenschrift*) et décrit des bactéries en spirale présentes dans les colons de 35 enfants (sur 72) morts de ce qu'il a appelé «*cholera infantum*» (Escherich, 1886 cité par Butzler, 2004).

Manfred Kist en 1985 rapportera les résultats d'Escherich et supposa qu'il s'agissait bien de *Campylobacter* en raison de la morphologie des bactéries à la coloration de Gram, de l'atteinte entéritique infantile et de l'absence de culture sur milieux normaux. (Kist, 1986).

Campylobacter a notamment été connu pendant plus de quarante années comme cause de maladies vétérinaires en particulier chez les bovins et les ovins :

- 🌐 **En 1909** : en Grande-Bretagne deux vétérinaires étudient un avortement épizootique chez une brebis et isolent à partir des avortons un «vibrion microaérophile » (Butzler, 2004).
- 🌐 **En 1919** : Smith isole une bactérie similaire à partir d'avortons de bovins, qu'il décrit comme un « spirillum ». Finissant cette étude, Smith est devenu au courant du travail de McFadyean et de Stockman, et a supposé qu'ils avaient étudié les mêmes bactéries, Il a confirmé ceci et a proposé le nom de « *Vibrio fetus*» (Smith et Taylor, 1919 cité par Butzler, 2004).
- 🌐 **En 1931** : ces vibrions sont définitivement incriminés comme agents de la dysenterie hivernale par Jones, Orcutt et Little. Ils reproduisent la maladie sur des animaux sains avec des souches provenant de bovins malades, en raison de leur localisation dans le jéjunum et de leur ressemblance avec «*Vibrio fetus*», ils les nomment « *Vibrio jejuni* » (Jones et al., 1931).
- 🌐 **En 1957** : King décrit un vibrion ayant plusieurs caractéristiques en commun avec les agents décrits par Vinzent en 1947, mais ayant des caractéristiques biochimiques et antigéniques différentes, elle montre que les vibrions à catalase positive peuvent être différenciés par leur capacité de croissance en fonction de la température d'incubation, elle distingue deux groupes parmi tous les isolats qu'elle obtient: le premier correspond aux descriptions existants auparavant par Vinzent de *Vibrio fetus*, les souches croissant bien à 25°C et 37°C mais pas à 42°C, le second groupe, qualifié par King de *related vibrios*, est constitué par des espèces à tendance thermophiles croissant bien à 37°C et 42°C mais pas à 25°C, ils seraient identiques aux *Vibrio jejuni* et *Vibrio coli* décrits par Jones et Doyle (King, 1957 cité par Dromigny, 2007).

Mais, jusqu'en 1972, seulement 12 cas de *related vibrios* ont été rapportés dans la littérature, la raison de ce manque des rapports était que les techniques sélectives de culture nécessaires pour l'isolement de cette bactérie plus tard renommée par Sebald et Veron *Campylobacter* n'avaient pas été développées à ce moment-là. Cependant, King a cru que l'infection n'était pas aussi rare que ces quelques rapports suggérés, elle a souligné la nécessité de concevoir une méthode pour cultiver ces germes à partir des selles. Malheureusement, une telle méthode n'a pas été développée dans sa vie, mais sa vision et sa diligence ont préparé le terrain (Dromigny, 2007).

- 🌐 **En 1963** : vu que leur faible teneur en ADN, leurs conditions microaérophiles de croissance et leur métabolisme non-fermentatif, *V. fetus* et *V. bubulus* ont été regroupées par Sebald et Véron (1963) dans un nouveau genre, nommé *Campylobacter* (du grec *kampulos* : incurvé, et *bacter* : bâtonnet) dont l'espèce type est *Campylobacter fetus* (Vandamme et Deley, 1991)
- 🌐 **En 1968** : une étape cruciale de l'isolement de *Campylobacter* dans les selles a été accomplie en 1968 par Dekeyser à l'Institut national pour la recherche vétérinaire, à Bruxelles. Un *related vibrio* (en fait *C. jejuni*) a été isolé à la fois dans le sang et après utilisation d'une technique spéciale de filtration sur les selles d'une femme de 20 ans admise au centre hospitalier universitaire avec une diarrhée aiguë et de l'hyperthermie (40 °C sans autres symptômes) (Dromigny, 2007).
- 🌐 **En 1977** : Skirrow a décrit pour les coprocultures de routine une gélose au sang contenant des antibiotiques (vancomycine, triméthoprime, polymyxine B) inhibant la microflore fécale compétitrice (Skirrow, 1977).
- 🌐 **En 1982** : isolement de *Campylobacter pyloridis* au niveau des muqueuses gastriques humaines par Marshall et al, qui deviendra *Helicobacter pylori*, ouvrant la voie à une nouvelle ère en matière de gastro-entérologie (Marshall, 1986, cité par Dromigny, 2007).
- 🌐 **En 1984** : quand le «*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*» a été publié, le genre *Campylobacter* comprend les cinq espèces suivantes : *C. fetus*, *C. jejuni*, *C. coli*, *C. sputorum*, et *Campylobacter concisus* (Smibert R M., 1984, cité par Vandamme, 1991).
- 🌐 **En 1988**, Thompson et al ont prouvé que les microorganismes appartenant au genre *Campylobacter* composent trois groupes séparés en fonction de l'homologie de l'ARNr :
 - Le 1^{er} groupe d'homologie ARNr comprend : *C. fetus*, *C. hyointestinalis*, *C. concisus*, *C. mucosalis*, *C. sputorum*, *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari* et *C. upsaliensis*.
 - Le seconde groupe d'homologie ARNr comprend : *C. cinaedi*, *C. fennelliae*, *C. pylori* et *Wolinella succinogenes* alors que *C. cryaerophila* et *C. nitrofigilis* forme le 3^{ème} groupe d'homologie ARNr (Thompson et al, 1988).

Chapitre 1 :

ELÉMENTS DE
TAXONOMIE

I. NOMENCLATURE DES RANGS TAXONOMIQUES DE *CAMPYLOBACTER*

Le nom de *Campylobacter* vient de la morphologie de cette bactérie telle qu'on peut l'observer à la coloration de Gram et est d'origine grecque, c'est en effet un bacille (bakteria, bâton, latinisé en bacter) incurvé (kampulos, adjectif signifiant courbé devenu campylo) (Sebald et Véron, 1963, cité par Dromigny, 2007).

Sur la base de certains critères comme : la teneur en bases d'ADN, les besoins microaérophiliques et le métabolisme non fermentatif, Sebald et Veron en 1963 ont créé un nouveau genre appelé *Campylobacter*, ce genre comprenait au départ deux espèces seulement *Campylobacter fetus* et *Campylobacter bubulus*.

I.1. Le Phylum des *Proteobacteria*

Les bactéries du genre *Campylobacter* font partie du domaine Eubactéries (ou Eubacteria) et du Phylum des *Proteobacteria*.

I.2. La classe ϵ des *Proteobacteria*

Les *Proteobacteria* comprennent 5 classes α à ϵ . *Campylobacter* appartient à la classe ϵ des *Proteobacteria*, cette dernière est aussi appelée superfamille VI (Trust et al., 1994).

I.3. L'ordre de *Campylobacterale*

L'ordre de *Campylobacterale* appartient à la classe des Epsilon-*Proteobacteria*. Il est figuré dans le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology et il est défini sur la base des séquences des ARNr 16S (Dromigny, 2007). Il comprend trois familles, les *Campylobacteraceae*, les *Helicobacteraceae* et les *Hydrogenimonadaceae*, comme on peut le voir dans la figure 1.

I.4. La famille des *Campylobacteraceae*

La famille des *Campylobacteraceae* comprend des bacilles à Gram-négatif de 0,2 à 0,8 μm de large et 0,5 à 5 μm de long, incurvés, en forme de S ou en spirale, non sporulés, avec des formes coccoïdes dans les cultures anciennes, mobiles grâce à un flagelle polaire, avec une mobilité très caractéristique, microaérophiles, avec un métabolisme respiratoire, certaines souches peuvent se multiplier en atmosphère aérobie ou anaérobie strict, les colonies sont généralement non pigmentées, toutes les espèces sont oxydase positives, ne fermentent ni oxydent les hydrates de carbone, dont le genre type est : *Campylobacter*. (Euzéby, 2002).

I.5. Le genre *Campylobacter*

I.5.1. Les *Campylobacter* dits thermotolérants

On entend par *Campylobacter* thermotolérants des souches pouvant pousser à 42°C mais pas à 25°C, cette nomenclature empirique est apparue dans les années 1980 avec Sandstedt en

particulier (Sandstedt et al., 1983). Même si elle est consacrée par l'usage de nombreux bactériologistes, et malgré son aspect pratique, cette nomenclature ne fait pas l'unanimité : certains auteurs parlent de « *Campylobacter thermophiles* » comme (Bauwens et al., 1981).

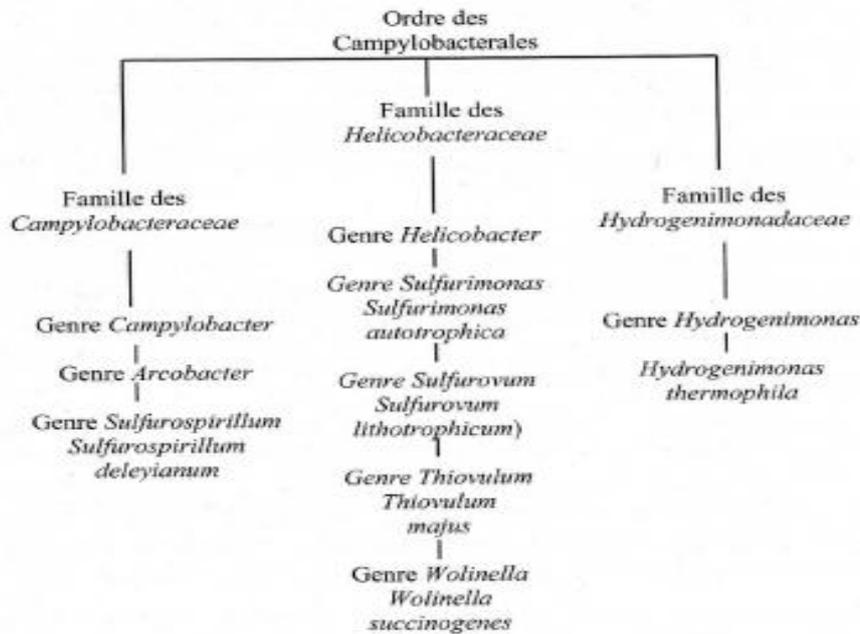


Figure 1: Représentation schématique de l'ordre de *Campylobacterale* (d'après Larpent)

La plupart des auteurs incluent dans ce groupe *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* et *Campylobacter upsaliensis*, qui à côté du caractère thermotolérant, répondent à un critère de pathogénicité commun, car ils sont responsables d'infections gastro-entériques chez l'homme (Snelling et al., 2005).

a) *Campylobacter jejuni/coli*

Le représentant majeur de ce groupe est bel et bien *Campylobacter jejuni*, le deuxième représentant de ce groupe est *Campylobacter coli* (pour le côlon) qui se différencie du premier par l'hydrolyse de l'hippurate (négative chez *Campylobacter coli*) (Dromigny, 2007).

Les *C. coli* sont moins cités que les *C. jejuni*, mais il y a là peut-être une sorte d'injustice : beaucoup de travaux publient des résultats où la souche est présentée comme *C. jejuni* mais sans que le test de l'hydrolyse de l'hippurate n'ait été réalisé, certains auteurs sont même allés jusqu'à parler de *Campylobacter jejuni/coli* (Dromigny, 2007).

b) *Campylobacter lari*

La nomenclature originale, *Campylobacter laridis*, proposée par Benjamin et al, (1984) a été corrigée par Von Graevenitz en 1990 en *Campylobacter lari* (du latin larus, mouette) (Euzéby, 2002). Par la suite, cette espèce a été divisée en 2 sous-espèces :

- *Campylobacter lari* subsp. *concheus* (*concheus* : mollusques) (Debruyne et al., 2009).
- *Campylobacter lari* subsp. *lari*

c) ***Campylobacter upsaliensis***

Campylobacter upsaliensis (se rapportant à Uppsala, une ville suédoise), décrit par Sandstedt et Ursing en 1983, a été précédemment connu comme appartenant au groupe CNW (groupe catalase-négative) (Euzéby, 2002).

Toutefois, *C. helveticus* et *C. hyoilei* sont aussi « thermotolérant », mais n'sont pas considéré comme *Campylobacter* thermotolérant en raison de l'absence de description de cas humains (Euzéby, 2002).

I.5.2. *Campylobacter fetus* et taxons apparentés

Ce groupe comporte les espèces suivantes : *C. fetus*, *C. hyointestinalis* et *C. lanienae*.

I.5.3. *C. sputorum* et voisins phylogéniques

Ce groupe comporte les espèces qui sont hydrogène-exigeantes : *C. sputorum*, *C. concisus*, *C. curvus*, *C. gracilis*, *C. hominis*, *C. rectus*, *C. showae* et *C. mucosalis*. (Dromigny, 2007).

I.5.4. Taxons atypiques et émergents

Plusieurs espèces sont rassemblées dans ce groupe :

C. insulaenigrae (Foster et al., 2004), *C. avium* (Rossi et al., 2009), *C. canadensis* (Inglis et al., 2007), *C. cinaedi*, *C. fennelliae*, *C. cryaerophilus* (Neill et al., 1985), *C. volucris* (Debruyne et al., 2010), *C. mustelae* (Fox et al., 1989), *C. peloridis* (Debruyne et al., 2009), *C. subantarcticus* (Debruyne et al., 2010) et *C. cuniculorum* (Zanoni et al., 2009).

II. CLASSIFICATION

On peut classifier *Campylobacter* selon leurs profils: génotypiques, phénotypiques, pathologiques et écologiques.

II.1. Phénotypes

La classification phénotypique de *Campylobacter* fait apparaître des groupes taxonomiques importants, et cela en se basant sur certains critères comme le test de la catalase et l'aptitude de la croissance à 25°C (voir tableau; I) (Dromigny, 2007).

Les *Campylobacter* à catalase-négative possèdent les caractéristiques générales du genre *Campylobacter*, mais elles se distinguent des espèces à catalase positive par sa sensibilité accrue à l'oxygène, avec une tendance à l'anaérobiose. (Voir tableau II) (Dromigny, 2007).

II.2. Clusters et géotypes

En réalité, il est très difficile d'établir une véritable classification géotypique pour les *Campylobacter*, mais on peut les regrouper par un « voisinage génomique ». Par exemple, Selon (Dromigny, 2007), on peut affirmer que *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* et *C. helveticus* forment un groupe d'espèces de parenté génétique étroite, et qui sont le plus généralement isolées lors de diarrhée humaine et animale. En plus, par l'étude des ARNr 16S, on démontre que les isolats de *C. insulaenigrae* sont bien des *Campylobacter* génétiquement apparentés et proches de *C. jejuni* subsp. *jejuni*, *C. jejuni* subsp. *doylei*, et *C. coli* (Moore et al., 2005).

Tableau I: Principaux caractères de *Campylobacter jejuni* et des taxons apparentés (D'après Euzéby 2002.)

Catalase	(+)							
Culture à 25C°	(-)						(+)	
Culture à 42C°	(+)				(-)		(-)	
acide nalidixique	Sensible			Résistant				
Culture en anaérobiose	(-)		(+)		(-)			
Espèce	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. showae</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. hyointestinalis</i>	<i>C. lanienae</i>	<i>C. insulaenigrae</i>	<i>C. fetus</i>

Tableau II : Principaux caractères des espèces catalase négative (d'après Euzéby 2002.)

Catalase	(-)									
Culture à 25C°	(-)									
Culture en anaérobiose	(-)								(+)	
Culture à 42C°	(+)						(-)		(+)	
Espèces	<i>C. concisus</i>	<i>C. curvus</i>	<i>C. gracilis</i>	<i>C. helveticus</i>	<i>C. mucasilis</i>	<i>C. sputorum</i> subsp. <i>Bubulus</i>	<i>C. sputomm</i> subsp. <i>Sputorum</i>	<i>C. hominis</i>	<i>C. rectus</i>	<i>C. upsaliensis</i>

II.3. Pathotypes et tropismes

À l'intérieur d'une espèce, il n'existe pas des souches clairement adaptées à un hôte, donnant une pathologie particulière, toutefois, on peut regrouper les espèces de *Campylobacter* par tropisme, le plus important étant bien entendu le tropisme intestinal (Dromigny, 2007).

II.4. Écotypes et sources

On peut regrouper les *Campylobacter* par source, malgré une diversité apparente, la source la plus importante reste bien entendu le tube digestif des volailles (Dromigny, 2007).

Chapitre 2 :

MORPHOLOGIE ET
STRUCTURE
CELLULAIRE

I. FORME ET DEMENTION CELLULAIRES

Le genre *Campylobacter* est constitué de bacilles à Gram négatif, incurvés ou en S ou de forme spiralée, non sporulés, de 0,2 à 0,5 µm de diamètre sur 0,5 à 5µm de longueur, pouvant donner des formes coccoïdes dans les vieilles cultures (Euzeby, 1992).

I.1. Forme vibrioïde

La forme vibrioïde de *Campylobacter* est la forme classiquement observée à la coloration de Gram dans les cultures jeunes, les cellules sont en forme de virgule, voire de S, parfois avec plusieurs ondulations dans les cultures plus âgées (Dromigny, 2007) (figure 2).

En microscopie électronique à balayage, les cellules de *Campylobacter* présentent une ou deux ondulations sur des cultures récentes (figure 3).

Les cellules de *Campylobacter jejuni* ont une longueur de moins de 2 µm, parfois peut dépasser 6 à 7 µm dans certains variants aflagellés (figure 4) et un diamètre de 0,5 (Dromigny, 1994, cité par Dromigny, 2007).

I.2. Forme coccoïde

La forme coccoïde est décrite traditionnellement chez *Campylobacter jejuni /coli*, il s'agit d'une forme de dégénérescence. (McFadyean et al., 1913, cité par Buck et al., 1983).

Ces formes prédominent dans des cultures anciennes, généralement après 48 heures d'incubation sur un milieu solide. En plus, au moins pour le *C.jejuni*, ces formes ont une viabilité réduite et représentent probablement un état dégénéré (Buck et al., 1983).

Les principales caractéristiques des formes coccoïdes (forme arrondie, taille de l'ordre de 1µm.) sont bien visualisées au microscope électronique à balayage (Dromigny, 2007). (Figure 5).

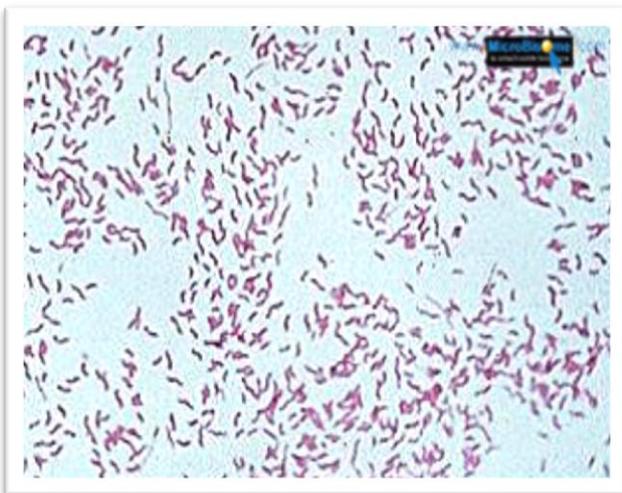


Figure 2: *Campylobacter jejuni* en coloration de Gram (photographie É. Dromigny)

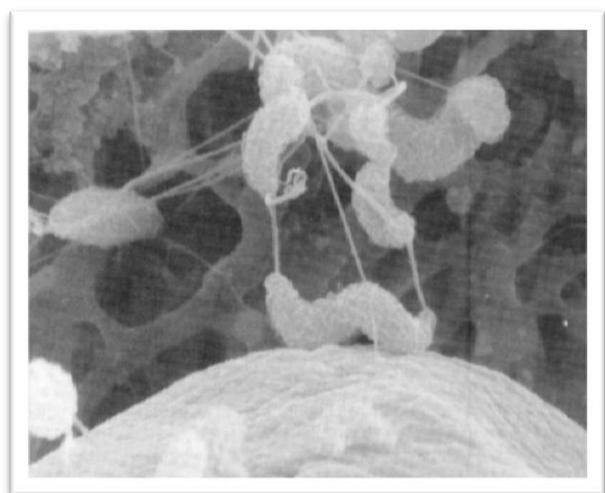


Figure 3: Morphologie de *C. jejuni* souche CIP 70.8 70.8 en microscopie électronique à balayage. Gx 20 000 (24 h de culture) (photographie É. Dromigny, 1992).

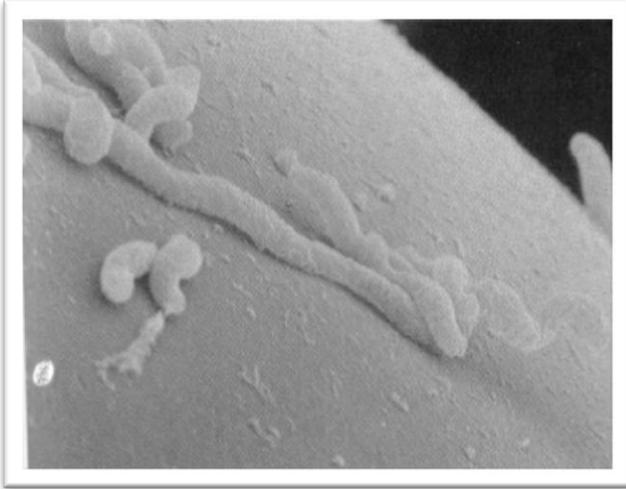


Figure 4: Formes longues de *C. jejuni* variant aflagellé en microscopie électronique à balayage. G x 20 000 (24 h de culture) (photographie É. Dromigny, 1992).

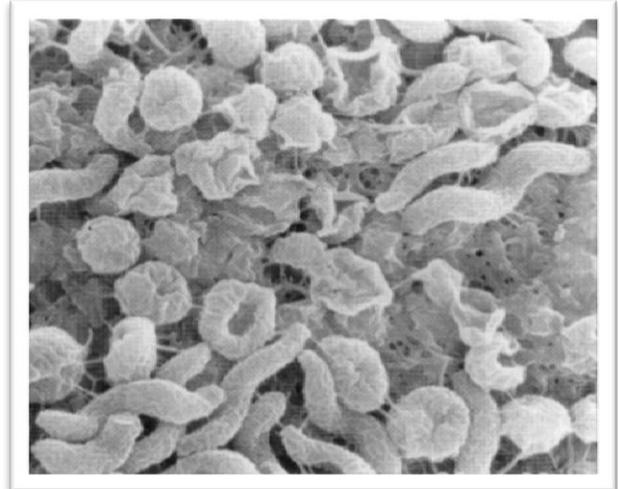


Figure 5: *C. jejuni* CIP 70.2T en microscopie électronique à balayage, formes vibrioides et formes coccoides. Gx 10 000 (photographie L E Dromigny, 1990).

II.COMPOSANTS DE LA SURFACE CELLULAIRE

Campylobacter possède les mêmes composants de surface que la plupart des bactéries à Gram-négatif.

II.1. Les polysaccharides de surface

Les lipopolysaccharides (LPS) sont des constituants de la membrane externe de la plupart des bacilles à Gram négatif, y compris les *Campylobacter*, c'est une endotoxine appartenant à la famille des toxines glycolipidiques phosphorylées, qui est le principal antigène de surface (antigène O) des bactéries à Gram négatif, il est essentiel dans l'intégrité physique et fonctionnelle de la membrane externe (Diagana et al., 2003).

II.1.1. Structure générale des LPS

Le LPS comporte un lipide A, une chaîne O spécifique et un noyau oligosaccharidique (OS) (Aspinall et al., 1992,cité par Diagana et al., 2003).

II.1.1.1. Structure générale du Lipide A

Le lipide A a une structure assez identique entre les bactéries gram négatifs (Moran, 1997), la variation réside principalement dans la nature, la longueur, le nombre et la localisation des chaînes des acides gras (Morran et al., 1995, cité par Diagana et al., 2003).

II.1.1.2. Structure générale du noyau oligosaccharidique

Le noyau oligosaccharidique comprend une partie externe composé d'hexoses et d'hexosamines et une partie interne avec des sucres non usuels, des heptoses en particulier l'acide 3 désoxy-D-manno- 2-octulosonique (Moran, 1997).

Les analyses détaillées montrent que l'acide D-glucuronique, et l'acide N-acetyl-neuraminique ou acide sialique sont prépondérants dans la composition de cette région (noyau) des LPS du *Campylobacter jejuni* (Moran et al., 1991, cité par Moran, 1997).

II.1.1.3. La chaîne latérale (O)

Elle s'agit d'une répétition de 10 à 30 sous-unités de glucides généralement composées d'un à cinq glucides, elle protège la bactérie contre le complément et les autres composants du sérum et elle est impliquée dans la résistance aux leucocytes polymorphonucléaires (Dromigny, 2007).

Cependant, *Campylobacter jejuni* synthétise des molécules de « LPS » sans polysaccharide chaîne-O-like (LOS) (Dromigny, 2007).

II.1.2. Lipooligosaccharide (LOS)

La majorité des souches de *Campylobacter jejuni* expriment des antigènes externes chaîne latérale-déficients de faible poids moléculaire du type lipooligosaccharide (LOS) (Penn, 2001).

Les LOS présentent une structure bipolaire, chez *C. jejuni*, ces structures ont pour longtemps été considérées comme étant des LPS, mais l'absence d'une répétition d'une structure de type antigène-O a permis de les caractériser en tant que LOS (Linton et al., 2000).

Ces structures sont connues comme étant impliquées dans les mécanismes de résistance au sérum et dans l'évasion du système immunitaire de l'hôte (Guerry et al., 2000).

Chez *C. jejuni*, les LOS sont postulés comme étant à l'origine du développement du syndrome de Guillain- Barré par mimétisme avec des structures gangliosidiques humaines (Moran et al., 1996,cité par poly, 2005).

La présence de résidus d'acide sialique à la fois sur les gangliosides et le LOS a été montrée comme étant responsable dans le mime des gangliosides (Godschalk et al., 2004).

II.1.3. Capsule (Le polysaccharide capsulaire)

La première démonstration de la présence d'une capsule chez *C. jejuni* a été faite en 2000 par Karlyshev et al, l'année suivante, le même groupe publia la première visualisation d'une capsule d'une souche de *C. jejuni* par la coloration au bleu d'alcian dont l'épaisseur varie de 70 à 100 nanomètres (Karlyshev et al., 2001).

Les polysaccharides capsulaires sont maintenant reconnus comme étant le principal antigène thermostable impliqué dans la méthode de sérotypage de « Penner » (Bacon et al., 2001).

Un mutant kpsM de *C. jejuni*, présente une virulence réduite chez le modèle in vivo du furet (Bacon et al., 2001). Récemment, il a été également montré que ce mutant perd la capacité de coloniser les intestins de poulet (Jones et al., 2004).

II.2. Les protéines de surface

II.2.1. La MOMP (Major outer membran protein)

La protéine principale de membrane externe MOMP de *C. jejuni* est de loin la protéine la plus fortement exprimée, elle montre un polymorphisme stable parmi les souches, avec un poids moléculaire relatif de 43 à 46 kDa (Newell et al., 1984), sa présence constante suggère qu'elle est essentielle pour le micro-organisme (Penn, 2001). Sa fonction de porine est évidente (Penn, 2001), cette porine forme des canaux hydrophiles dans la membrane externe (Goulhen et al., 2004).

D'autres fonctions ont été attribuées à cette protéine, y compris un rôle structural, elle pourrait aussi être impliquée dans l'adhérence de *C. jejuni* aux cellules hôtes ainsi que dans la résistance aux antibiotiques hydrophiles (Zhang et al., 2000).

II.3. La S-layer ou couche S

Elle s'agit d'une matrice de surface formant une couche distincte externe de la membrane chez les bactéries à Gram négatifs et comportant une protéine simple et de poids moléculaire élevé, sa présence a été prouvée chez *C. fetus* et *C. rectus* mais pas chez *C. jejuni* (Penn, 2001).

II. 4. Les pili, éléments incertains

L'expression de pili par *Campylobacter* n'a pas été véritablement prouvée, en réalité, un seul rapport a été publié signalant la présence des structures pilus-like chez des souches de *C. jejuni*, *C. coli* et *C. fetus* une fois exposées aux sels de bile (Doig et al., 1996).

III. Le FLAGELLE DE CAMPYLOBACTER

III.1. Morphologie et structure du flagelle

Structurellement, le flagelle peut être décomposé en plusieurs structures basiques, le moteur et le commutateur qui sont inclus dans la membrane cytoplasmique, la tige qui traverse la paroi, le crochet, et le filament, qui est la structure externe hélicoïdale (Dromigny, 2007) (figure 6).

Le poids moléculaire moyen des sous-unités de la protéine de crochet des *Campylobacter* est de 92 500 kDa, la structure de crochet ainsi que les grandes tailles de ses sous-unités peuvent refléter le besoin des *Campylobacter* d'être motiles dans la couverture muqueuse épaisse de l'intestin (Penn, 2001, cité par Dromigny, 2007)

III.2. Fonction antigénique du flagelle

Il est bien établi que la possession d'un flagelle ainsi que une motilité chimiotactique sont des préalables de la virulence dans les deux modèles in vivo et in vitro disponible. D'autre part, l'antigène flagellaire contribue de manière significative à la diversité antigénique parmi des souches de *C. jejuni* (Penn, 2001). En effet, les antigènes flagellaires sont maintenant reconnus comme étant le principal antigène thermolabile impliqué dans la méthode de sérotypage de «Lior » (Lior et al., 1982).

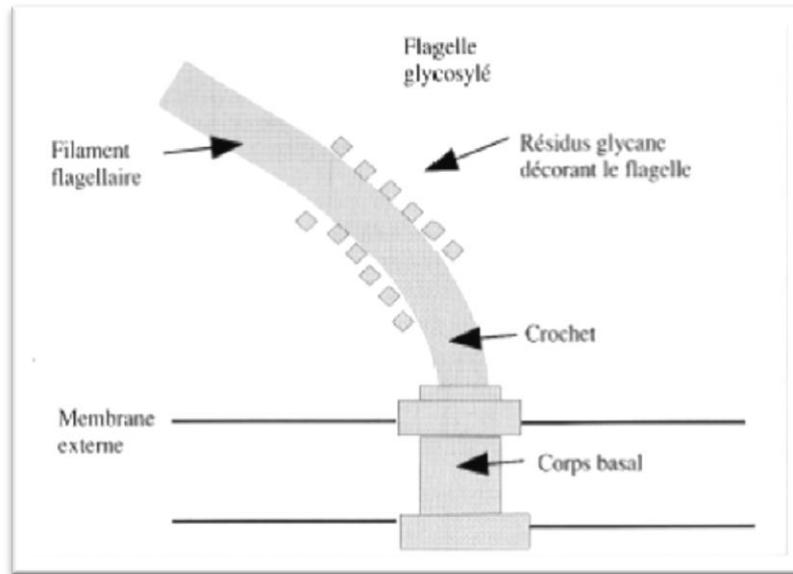


Figure 6: Schéma d'un flagelle de *Campylobacter* (d'après Karlyshev, Ketley et al. 2005).

IV. Le génome de *Campylobacter*

1.1. Caractères généraux du génome

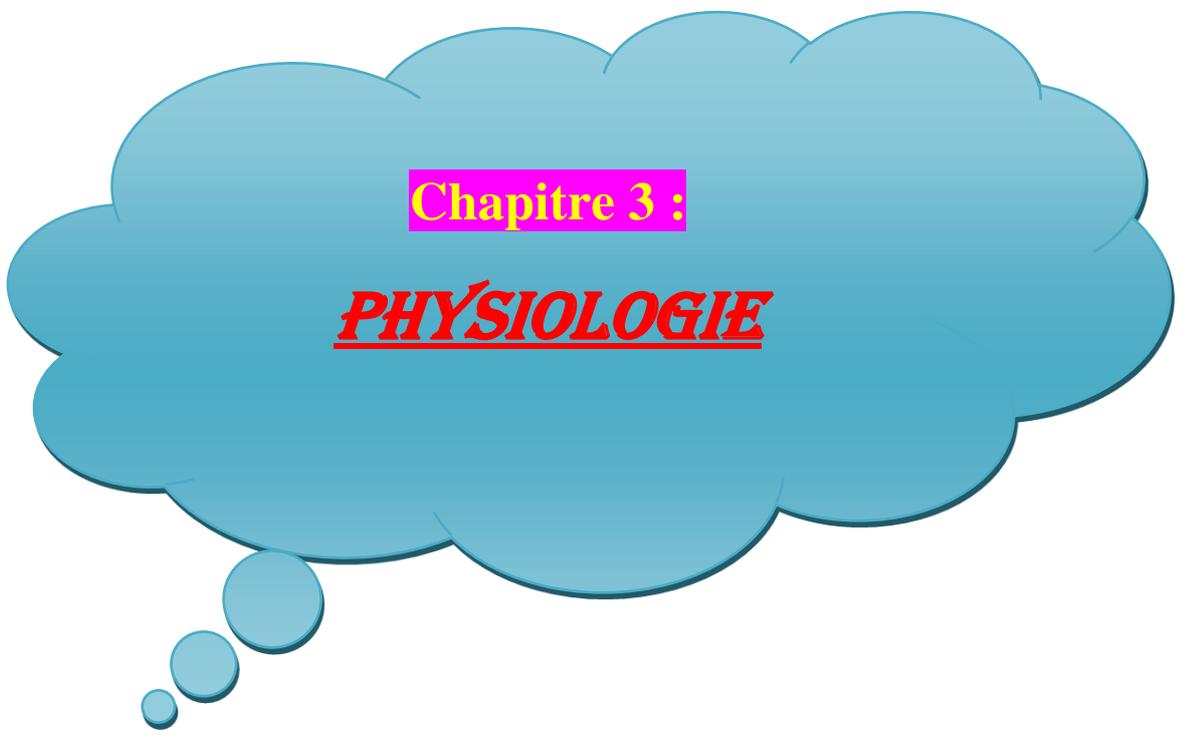
Pour la plupart des espèces de *Campylobacter*, y compris les *Campylobacter* thermophiles, le contenu de l'ADN en GC est de 30 à 36 %, bien que, pour le genre dans son ensemble, il varie de 28 % à 46 % (Vandamme et al., 1991), c'est donc un ADN riche en adénine et en thymine.

Le caractère fastidieux lors de la culture de *Campylobacter*, l'absence d'oxydation ou de fermentation des hydrates de carbone peuvent être une conséquence de cette petitesse de taille (Dromigny, 2007), ce handicap est compensé par les très grandes capacités de réarrangements génomiques (Federighi, 1999, cité par Peyrat, 2008). En plus, l'analyse du génome de *Campylobacter* a révélé que ce micro-organisme est démuné de la plupart des mécanismes de réparation de l'ADN présent chez les autres genres bactériens (Parkhill et al., 2000), ces observations pourraient expliquer les taux de mutation élevés observés chez cette bactérie.

Le génome de la souche NCTC11168 affiche un total de 1 641 481 paires de bases et est constitué d'une unique molécule d'ADN circulaire de 1,64 méga-bases au pourcentage en G+C de 30,6%, contenant 1654 séquences codantes, parmi lesquelles 20 représentent probablement des pseudogènes et 54 des ARN stables (Parkhill et al., 2000).

La longueur moyenne d'un gène est estimée à 948 pb et 94,3% du génome code des protéines, faisant de lui l'un des génomes bactériens les plus denses. (Parkhill et al., 2000).

Le génome a la particularité de ne présenter aucune séquence d'insertion (IS), aucune séquence d'origine phagique, et de présenter un certain nombre de séquences répétées, mais le plus frappant est la présence des séquences hypervariables (Parkhill et al., 2000).



Chapitre 3 :

PHYSIOLOGIE

I. MÉTABOLISME DE *CAMPYLOBACTER* ET REGULATION

I.1. Métabolisme central

I.1.1. Catabolisme du carbone

Le nombre limité de gènes codant pour la dégradation des hydrates de carbone ou des acides aminés explique l'incapacité de *C. jejuni* d'employer des hydrates de carbone comme sources d'énergie (Parkhill et al., 2000). En plus, la voie glycolytique est inachevée parce que, les orthologues des gènes de glucokinase et de 6 phosphofructokinase n'ont pas été trouvés. En dépit de ceci, le *C.jejuni* semble avoir tous les gènes nécessaires pour la gluconéogenèse et à la différence de *Helicobacter pylori*, il semble coder un cycle d'acide tricarboxylique intact (Parkhill et al., 2000).

Les *Campylobacter* peuvent utiliser les acides aminés tels que l'alanine pour la production de l'énergie en utilisant des voies liées au cycle de Krebs. Donc, le milieu de culture des *Campylobacter* doit contenir une variété d'acides aminés. En plus, l'addition du bisulfite et du pyruvate favorise la croissance, ces métabolites peuvent être produits par plusieurs bactéries composant la microflore intestinale. Par conséquent, les *Campylobacter* ont coévolué avec les microflores intestinales des vertébrés et notamment celles des volailles (Lee et Newell, 2006, cité par Dromigny, 2007).

I.1.2. Cycle de l'acide citrique

C. jejuni a la capacité d'accomplir un cycle Krebs complet, avec toutes les enzymes principales présentes, y compris les homologues des sous-unités α et β de la succinyl-CoA synthétase. En plus, *C. jejuni* possède d'une part, une fumarate réductase qui assure le transport anaérobie d'électrons, et a d'autre part, des gènes codant pour une succinate déshydrogénase putative qui joue le rôle du dernière enzyme dans le cycle de Krebs (Kelly, 2001a).

I.2. Microaérobiose

Bien que le *C. jejuni* possède des mécanismes de défense contre le stress oxydant, telles que le superoxyde dismutase et la catalase, il reste encore sensible à l'oxygène. En effet, l'oxygène peut présenter des problèmes plus généralisés attribuables aux effets toxiques des produits de sa réduction qui endommagent les cellules à la suite de la formation du radical hydroxyle fortement réactif, qui peut attaquer et détruit tous les biomolécules connus (Kelly, 2001a).

L'analyse d'un mutant *ahpC* a montré qu'il est plus sensible à l'oxygène et aux hydroperoxydes que son parent isogène. Ce qui élucide l'importance de l'alkylhydroperoxyde réductase (*AhpC*) dans l'aérotolérance et la résistance au stress oxydant chez *C. jejuni* (Baïllon et al., 1998).

I.3. Dépendance au CO₂

C. jejuni exige en plus d'une concentration en oxygène faible, des niveaux élevés en CO₂ pour sa croissance (5 à 10 % v/v) (Dromigny, 2007).

I.4. Chimiotactisme

Selon Marchant et al (2002), les chimiorécepteurs de *C. jejuni* peuvent être classés en trois groupes fondés sur leurs similitudes structurales :

- ❶ Groupe A : comprend les chimiorécepteurs suivants: Tlp1 (pour transducer-like-protein1), Tlp2, Tlp3, Tlp4 et Tlp10), ces récepteurs se caractérisent par la présence des domaines transmembranaire et un domaine ligand-binding périplasmique.
- ❷ Groupe (B) contient un homologue du récepteur Tlp9. C'est une protéine cytoplasmique ancrée à la membrane par une région amino-terminale transmembranaire.
- ❸ Groupe (C) : comprend les chimiorécepteurs suivants (Tlp 5, Tlp 6 et Tlp 8), ce groupe contient probablement les récepteurs protéiques qui détectent les signaux cytoplasmiques et susceptible ainsi de sentir les signaux physiologiques internes importants chez *C. jejuni*.

Ce chimiotactisme serait perdu à 42°C, ce qui expliquerait pour une part l'absence de pathogénicité de *C. jejuni* chez les volailles (Khann et al., 2006, cité par Dromigny, 2007).

I.5. Transport des électrons

C. jejuni est considéré comme une bactérie microaérophile avec un métabolisme respiratoire aérobie, mais il semble exister quelques voies anaérobies de transport d'électrons.

Selon Parkhill et al (2000), un cytochrome oxydase du type cb est présent chez *C. jejuni*, ce qui signifie que le transport des électrons est dépendant de l'oxygène (Kelly, 2001a).

II. RÉSISTANCE À DIVERSES AGENTS

1.1. Facteurs intrinsèques

II.1. L'acidité

L'acidité est nocive pour la survie des *Campylobacter* (Altmayer, 1994, cité par Dromigny, 2007). En effet, la fourchette optimale de pH pour la croissance de *c. jejuni* est 6,5 - 7,5 et les bornes de pH d'inhibition de la croissance les plus couramment admises sont 4,7 et 8,2. Les *Campylobacter* sont plus sensibles aux acides organiques qu'aux acides minéraux (AFSSA, 2003).

II.1.2. L'humidité du substrat

La majorité des produits frais (viande) ont des Aw de 0,98 à 0,99, par conséquent, ils sont favorables à la survie des microorganismes, la valeur seuil de survie des *Campylobacter* est de 0,93.

En plus, pour le *C. jejuni*, tous les auteurs s'accordent à penser que ce germe survit difficilement sur les substrats peu hydratés et qu'il est sensible à la dessiccation (Dromigny, 2007).

II.1.3. Les antimicrobiens naturels

Campylobacter est un médiocre compétiteur biologique et sa survie sera donc difficile dans les aliments contenant une microflore abondante (Altmayer, 1994, cité par Dromigny, 2007) ou contenant des substances antimicrobiennes actives sur les *Campylobacter* telles que le lysozyme dans l'œuf et le système lactopéroxydase du lait, en effet, l'inactivation de ce dernier permet la survie du germe alors que sa stimulation intensifie la diminution des cellules viables (Beumer, 1985).

II.2. Facteurs extrinsèques

II.2.1. La chaleur

Les *Campylobacter* sont sensibles à la chaleur et sont inactivés par la pasteurisation et la cuisson des aliments (Dromigny, 2007). En plus, les traitements thermiques à cœur supérieurs à 60°C sont létaux quel que soit l'environnement solide ou liquide (Waterman, 1982).

Nguyen et al (2006), relie la destruction de *Campylobacter* au déploiement de la sous-unité du ribosome 30S, la région la plus labile du ribosome.

II.2.2. Le froid

II.2.2.1. Le froid négatif

Les températures communément utilisées pour la congélation des aliments arrêtent la croissance de *C. jejuni* et détruisent une partie de la population bactérienne, différents facteurs influent sur cette évolution, qui dépend :

- ❶ **Des conditions de l'environnement** : *C. jejuni* semble plus sensible à la congélation dans les milieux liquides que dans les denrées solides (Christopher et al., 1982, cité par AFSSA, 2003).
- ❷ **Du type de souche** : ainsi les souches isolées chez l'homme survivent mieux lors de la congélation que les souches d'origine animale (Doyle, 1984, cité par AFSSA, 2003) sans qu'une explication rationnelle ait été apportée.

II.2.2.2. Le froid positif

Le froid positif ou négatif, entraîne presque toujours une diminution de la population de *C. jejuni*, mais cette réduction est beaucoup plus faible que ce l'on peut observer lors des traitements thermiques (Altmayer, 1994, cité par Dromigny, 2007). D'une manière générale, et quels que soient l'aliments considéré, les températures de réfrigération (0 à +10°C) sont plus favorables à la survie des *Campylobacter* que les températures plus élevées (Colin et al., 1993, cité par AFSSA, 2003).

II.2.3. Rayonnements

II.2.3.1. Rayonnements ionisants

La sensibilité de *C. jejuni* aux rayons ionisants a été étudiée dans un milieu de culture et dans la viande de poulet. *C. jejuni* n'a pas survécu à un traitement de 1 k Gray et ceci quel que soit

Le milieu. Par conséquent, les traitements habituels de 3 à 5 kGy sont donc suffisants pour détruire les *Campylobacter* (Tarjaan, 1985). Divers facteurs influent sur le résultat, surtout : la température ; la valeur D représente l'exposition nécessaire, à la température indiquée, pour réduire la population d'une puissance de dix dans un échantillon de viande de bœuf.

Comme l'indiquent les résultats, la résistance augmente quand la température baisse (Lambert et Maxcy, 1984, cité par AFSSA, 2003,) (tableau III).

Tableau III: Valeurs D (en kGy) d'une souche de *Campylobacter jejuni* en fonction de différentes températures

Température (°C)	-30	0	30
Valeur D (kGy)	0,293	0,186	0,162

II.2.3.2. Ravonnements UV

Les *Campylobacter* sont sensibles aux ultra-violets (Obiri-Danso et al., 2001), mais cette méthode est difficilement utilisable sur les carcasses car il est difficile de faire pénétrer les rayons UV dans la peau des volailles (Corry et Atabay, 2001).

II.2.4. Le sel

Les *Campylobacter* ne sont pas halophiles et ne présentent pas de caractère de résistance particulier (Hanninen, 1988, cité, par AFSSA2003). Les résultats des travaux de Doyle montrent que lorsque la température du milieu descend de 42°C à 4°C, la tolérance du germe aux concentrations bactéricides en NaCl s'accroît (Altmayer, 1994, cité par Dromigny, 2007).

II.2.5. Dessiccation

Les *Campylobacter* sont très sensibles à la dessiccation et la récupération de *Campylobacter* est plus facile sur les surfaces humides que sur les surfaces sèches (Corry et Atabay 2001).

II.2.6. Stress oxydatif

Les *Campylobacter* possèdent quelques enzymes qui jouent un rôle dans le système de défense oxydatif (superoxyde dismutase, catalase), mais les mécanismes clé de la défense contre le stress oxydatif, comme les enzymes SoxRS présentes chez *E. coli* sont absents chez *Campylobacter* (Parkhill et al., 2000, cité par Park, 2002).

III. ADAPTATION AUX STRESS SUBLÉTAUX

III.1. Réponses au froid (cold shock)

Les *Campylobacter* thermotolérants ne peuvent pas se développer sous des températures au-dessous de 30°C (Park, 2002). En plus, ils ne possèdent pas d'homologue de la protéine majeure de réponse au choc froid d'*E. coli* CspA (Cold shock protein A). Néanmoins, il a été montré qu'à 4°C,

C. jejuni était mobile, maintenait l'activité catalase, consommait du dioxygène, synthétisait des protéines et était capable de survivre (Hazeleger et al., 1998). Cependant si aucun régulateur de la réponse du choc au froid n'est à ce jour connu, il semblerait que la bactérie ressent le choc au froid comme un choc oxydatif car plusieurs gènes dont les protéines sont impliquées dans la réponse au stress oxydatif voient leurs transcriptions augmentées à basses températures (Dromigny, 2007).

III.2. Réponses au stress thermique ou heat shock

La réponse heat shock est caractérisée par la production transitoirement accrue de heat shock proteins ou HSP, ces protéines jouent un rôle de chaperon ou de protéases ATP-dépendantes, qui dégradent ou stabilisent les protéines anormales. Au moins 24 protéines sont préférentiellement synthétisées par *C. jejuni* immédiatement après le choc thermique (Konkel et al., 1998).

III.3. Réponses au stress oxydant

il y a un certain nombre d'enzymes comme ; le superoxyde dismutase (SOD) (Purdy et Park, 1994), l'alkyl-hydroperoxyde reductase (Ahp) (Baillon et al., 1999) et la catalase (KatA) (Grant et al., 1995) jouent des rôles importants dans la défense contre le stress oxydatif (Park, 2002)

III.4. Réponse au stress nutritionnel et en phase stationnaire

L'entrée en phase stationnaire a été suivie d'un déclin rapide des cellules viables de *Campylobacter* jusqu'à une population résiduelle de 1% du nombre maximum (Kelly et al., 2001b).

Pour beaucoup de bactéries le régulateur central pendant la phase stationnaire est le facteur sigma RpoS, qui est absent chez *C.jejuni*, mais malgré cela *C. jejuni* survit dans des environnements oligotrophiques et possède donc un mécanisme original de régulation (Dromigny, 2007). En effet, quand les niveaux nutritifs ont diminué et que les métabolites toxiques se sont accumulés, *Campylobacter* n'a pas la capacité de former une réponse globale devant ces circonstances stressantes. Cependant, *Campylobacter* pour se protéger, il développe d'autres mécanismes comme l'augmentation d'expression du matériel capsulaire ou le changement de la composition des acides gras composant la membrane bactérienne (Lee et Newell, 2006, cité par Dromigny, 2007).

III.5. Les formes viables non cultivables (VNC)

III.5.1. Introduction au concept

Après la mise en évidence, d'une part des bactéries que l'on n'a pas encore réussi à cultiver comme par exemple *Helicobacter heilmannii* et d'autre part des bactéries à multiplication

intracellulaire obligatoire, l'expression bactérie" Viable Non Cultivable" (VNC) devient plus favorablement acceptée par les microbiologistes (Cantet et al., 1999).

Au début, il était accepté que la disproportion importante constatée entre le nombre de bactéries observées au microscope (élevé) et le nombre d'unités formant colonie (faible voire nul) était consécutive aux bactéries entériques mortes, mais cette conception a anéanti après la mise en évidence d'une "activité métabolique" chez certaine proportion de ces bactéries considérées "mortes" (Kogure et al., 1979, cité par AFSSA, 2003). À cela se rajouta le fait que ces bactéries non cultivables (i.e. non détectables par les méthodes traditionnelles de recherche) pouvaient redevenir cultivables (i.e. potentiellement pathogènes) lorsqu'elles se retrouvaient dans un "incubateur" complexe comme le tube digestif d'un animal à sang chaud, faisant apparaître le concept VNC comme un problème de santé publique (Bloomfield et al., 1998).

III.5.2. Implication du concept

La première description de forme VNC pour *Campylobacter* a été rapportée en 1986 (Rollins et Colwell 1986, cité par Park, 2002).

Selon Murphy et al, (2006), les *Campylobacter* spp. peuvent entrer dans un état viable mais non cultivable (VNC) une fois retrouvés devant des conditions défavorables telles que la basse disponibilité des nutriments ou l'entrée dans la phase stationnaire (Murphy et al., 2006). En plus, selon Rollins et al, (1986), les cellules de *Campylobacter* se transforment d'une forme spiralée motile à une forme coccoïde moins mobile voire immobile quand elles entrent dans un état viable mais non cultivable (Rollins et Colwell 1986, cité par Park, 2002).

III.5.3. Rôle des formes VNC dans la survie des *Campylobacter*

Le rôle des formes VNC reste controversé, les formes VNC seraient capables de coloniser des poulets par le biais de l'eau de boisson (Pearson et al., 1993), mais ces résultats ne sont pas toujours reproductibles. Ainsi, le rôle des formes VNC de *C. jejuni* au regard de la colonisation des animaux est incertaine et il est probablement variable en fonction des souches et des espèces animales (Park, 2002). Cependant, et malgré la controverse, l'état VNC joue probablement un rôle important dans la survie de *Campylobacter* dans l'environnement (Murphy et al., 2006).

III.6. La formation de biofilm

Les *Campylobacter* sont capables de former des biofilms dans les environnements aquatiques (Buswell et al., 1998). Le micro-environnement créé au sein du biofilm peut protéger *Campylobacter* de l'oxygène de l'air et jouent probablement un rôle important dans la survie des *Campylobacter* dans les environnements agroalimentaires (Murphy et al., 2006). Dans les biofilms, *Campylobacter* peut passer sous forme VNC (Trachoo et al., 2002, cité Murphy et al., 2006).

Chapitre 4 :

CAMPYLOBACTÉRIOS

E AVIÁIRE

I. INFECTION DES VOLAILLES ET LA CONTAMINATION DES DENRÉES ALIMENTAIRES QU'EN DÉRIVENT PAR *CAMPYLOBACTER*

I.1 Dans les élevages

I.1.1 Infection des lots de volailles par *Campylobacter*

I.1.1.1 Dose infectante chez le poulet

La dose la plus faible, rapportée dans la littérature, nécessaire pour contaminer un poulet est très faible (40 unités formant colonie UFC) (Cawthraw et al., 1996). Cependant, cette dose et la vitesse de la colonisation peuvent dépendre à la fois de la souche bactérienne (Ringoir et Korolik, 2002) et de la race du poulet (Newell et Fearnley, 2003).

I.1.1.2. Colonisation du tube digestif des volailles par les *Campylobacter*

Les *Campylobacter* n'entraînent pas des symptômes chez les volailles, mais une fois le tube digestif colonisé, la population de *Campylobacter* dans le contenu cæcal peut rapidement atteindre 10^9 bactéries par gramme chez les poulets contaminés expérimentalement. Alors que, dans les conditions naturelles, la colonisation est un peu plus faible, mais les poulets excrètent de grandes quantités de *Campylobacter* (plus de 10^6 bactéries par gramme de fiente) (Wagenaar, et al., 2006 ; Newell et Fearnley, 2003).

Les poulets étant coprophages, l'excrétion fécale est probablement un facteur important de la dissémination des microorganismes dans les troupeaux de volailles (Newell et Fearnley, 2003).

I.1.1.3. Influence de l'âge

La colonisation naturelle par *Campylobacter* dépend de l'âge des volailles, les poussins ne sont pas porteurs, les poulets restent négatifs pour *Campylobacter* jusqu'à l'âge de 10 jours (Newell et Fearnley, 2003) et la plupart des lots ne deviennent positifs qu'à l'âge de 3 à 4 semaines. (Jacobs-Reitsma et al., 1995). La raison pour laquelle les poulets ne sont pas contaminés avant l'âge de 10 jours n'est pas connue, les raisons invoquées sont l'immaturation du tube digestif, la composition de l'alimentation ou encore la présence d'anticorps maternels (Newell et Fearnley, 2003).

I.1.1.4. Saisonnalité

La plupart des études montre une prévalence maximale durant les mois chauds, et une prévalence un peu moins importante pendant les mois froids (Heuer et al., 2001 ; Barrios et al., 2006).

Cette saisonnalité de la prévalence des lots de poulets contaminés par *C. spp.* peut expliquer en partie la saisonnalité de la prévalence des campylobactérioses humaines (Simon, 2010).

I.1.1.5. Paramètres zootechniques

Il a également été démontré que la prévalence des lots positifs dépendait de la taille des lots (Berndtson et al., 1996a) et du type de production (Vandeplas et al., 2010 ; Heuer et al., 2001).

I.1.2. Prévalence de la contamination des élevages

La proportion de lots de poulets contaminés par *Campylobacter* varie entre les pays, ce qui peut vraisemblablement être liée à certain nombre de facteurs tels que : la localisation géographique et la saison (Heuer et al., 2001 ; Kapperud et al., 1993), la taille de l'échantillon (Jeffrey et al., 2001), l'âge des sujets (Berndtson et al., 1996a), le type d'échantillon, le milieu de culture utilisé, la technique d'isolement et les conditions d'incubation (Jorgensen et al., 2002). En Europe, la prévalence varie de 18 à plus de 90%. Les pays du Nord de l'Europe ont des prévalences plus faibles que les pays du sud. Cependant, les raisons de ces écarts ne sont pas connues, mais les conditions climatiques peuvent être, au moins en partie, responsable de ces écarts (Peyrat, 2008).

I.1.3. Sources et voies de contamination des élevages

Malgré les diverses études épidémiologiques effectuées sur la contamination des élevages par *Campylobacter*, les sources et les voies de contamination des poulets par cette bactérie restent mal connues. Mais la contamination des poulets par transmission horizontale de *Campylobacter* présents dans l'environnement de l'élevage semble être la voie principale.

a) la transmission horizontale

Le risque de contamination des lots de poulets par les *Campylobacter* est augmenté quand la trémie d'aliment est plus exposée aux animaux sauvages (rongeurs, oiseaux), c'est-à-dire, située à l'extérieur du bâtiment, plutôt que dans le bâtiment proprement dit (Berndtson et al., 1996a).

Les autres animaux de rente ou domestiques peuvent être porteurs de *Campylobacter*. Donc, leur présence augmente la charge environnementale en *Campylobacter* de l'élevage et par conséquent le risque d'entrée des *Campylobacter* par un vecteur non animé (Peyrat, 2008).

Les insectes peuvent également être vecteurs de *Campylobacter* (Hald et al., 2004).

Les *Campylobacter* peuvent être amenés par l'eau de boisson. (Pearson et al., 1993).

La présence de plus de deux bâtiments dans une même ferme est un facteur d'augmentation des risques de contamination des volailles (Refregier-Petton et al., 2001).

D'autres voies de contamination des élevages ont été rapportées : la transmission de la bactérie d'un lot de poulet à l'autre dans un bâtiment d'élevage pourrait se faire par l'intermédiaire de la litière. En effet, Neil et al, (1984) rapportent que la litière mouillée est associée à un risque de contamination des poulets, mais la litière ne devient un problème que si elle est contaminée et conservée pour la croissance de plus d'une cohorte de poulets.

Les *Campylobacter* peuvent être mis en évidence dans les flux d'air entrant dans les élevages. La transmission aérienne peut donc avoir un rôle dans la dissémination des *Campylobacter* (Bull et al., 2006).

b) Transmission verticale

Plusieurs auteurs ont démontré que la transmission horizontale de *Campylobacter*, via plusieurs sources environnementales était la principale voie de transmission et que la transmission verticale était peu probable (Saleha, 2004). Mais malgré tous les arguments contre la théorie de la transmission verticale, la transmission horizontale comme seule voie de transmission de *C. jejuni* aux poulets de chair est loin d'être une théorie convaincante. En effet, des règles de biosécurité très strictes comme celles rencontrées dans les fermes à l'étude dans l'article de Bernston et al, (1996) ont eu un succès limité dans la prévention de la contamination des poulets par *C. jejuni*. Cela a été renforcé par Pearson et al., (1996) qui ont arrivé à isoler des souches de *C. jejuni* dont les sérotypes ou les génotypes sont les mêmes chez les poulets de chair et leurs parents. Donc malgré le contrôle des voies de transmission horizontales, les poulets peuvent être contaminés par *C.jejuni*, laissant croire que la transmission verticale puisse survenir (Laberge, 2003).

I.1.4. Mesures de contrôle des *Campylobacter* en élevages**a) Mesures de biosécurité**

Les mesures d'hygiène classiques (nettoyage et désinfection des bâtiments d'élevage entre 2 lots, mise en place de pédiluves) peuvent empêcher ou au moins limiter l'entrée des *Campylobacter*,

Il est possible de conserver les lots négatifs pour *Campylobacter* en appliquant des mesures de biosécurité drastiques. Dans les pays scandinaves (Norvège et Suède) où ces mesures sont appliquées, la prévalence de *Campylobacter* est de 7% par an (Humphrey et al., 2007).

b) Mesures de contrôle additionnelles**❶ Utilisation des flores de barrière**

L'administration d'un cocktail de flore bactérienne digestive non pathogène aux poussins s'est avérée efficace pour lutter contre la contamination par les salmonelles, mais cette approche n'a pas jusqu'ici été réussie dans la maîtrise des *Campylobacter* (Humphrey et al., 2007).

Une technique récente a été développée, c'est l'utilisation d'une bactériocine supplémentaire dans l'alimentation pour contrôler *C. jejuni* (Stern et al., 2005, cité par Wagenaar et al., 2006).

❷ Vaccination des poulets contre *Campylobacter*

Pour l'instant, il n'y a aucun vaccin disponible dans le commerce contre les *Campylobacter* chez la volaille. En effet, le développement de ces vaccins est entravé par trois problèmes principaux (Wagenaar et al., 2006) ;

- ❧ La variabilité antigénique des souches de *Campylobacter*.
- ❧ La méconnaissance des antigènes induisant une réponse protectrice.
- ❧ Le fait que ce vaccin doit protéger les animaux très jeunes.

I.2. Contamination des volailles pendant le transport

Les volailles sont transportées de l'élevage à l'abattoir dans des caisses de transport. C'est bien que, le sol de ces caisses peut être plein mais le plus souvent il est grillagé, plusieurs études ont montré que les caisses de transport utilisées pour les volailles entre l'élevage et l'abattoir étaient très souvent contaminées par des souches de *Campylobacter* (Berndtson et al., 1996b).

I.3. Contamination des carcasses pendant les procédés d'abattage

Les volailles arrivant à l'abattoir sont généralement colonisées par les *Campylobacter* qui sont excrétés dans l'environnement. Selon Oosterom et al., (1993), la contamination des carcasses, des équipements de la ligne de production, des mains des travailleurs et des produits finaux est probablement d'origine intestinale (Oosterom et al., 1993, cité par AFSSA, 2003).

Cependant, cette hypothèse mérite d'être confirmée en caractérisant des isolats collectés sur les animaux vivants, ainsi que sur la chaîne d'abattage. Récemment, une étude japonaise menée par Ono et Yamamoto (1999) a mis en évidence, par analyse RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), que la contamination à l'abattoir pouvait effectivement être attribuée au contenu intestinal des poulets. Deux types de contamination (auto-contamination et inter-contamination) prédominent à l'abattoir au cours des différents procédés d'abattage (voir Figure 7).

La contamination de la viande de volaille est surtout superficielle et les *Campylobacter* sont retrouvés sur ou dans la peau. En outre, la nature des procédés d'abattage des volailles rend très difficile la prévention d'une contamination croisée entre les lots négatifs et positifs (Peyrat, 2008).

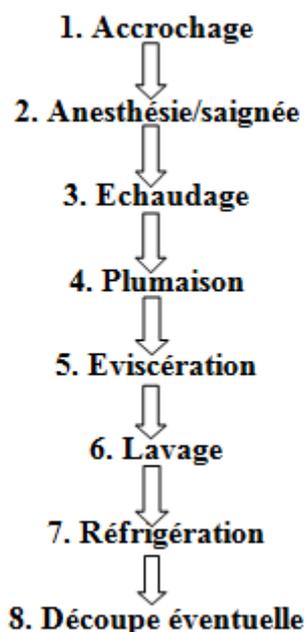


Figure 7: Diagramme simplifié des procédures l'abattage des volailles

I.3.1. Principaux sites de contamination croisée des volailles pendant les procédés d'abattage (étapes et taux de contamination)

Globalement, il est mis en évidence dans la plupart des études que la prévalence et le niveau de contamination des carcasses tant à diminuer avec les processus d'abattage décrit dans la figure (7). Cependant, lorsqu'on examine la contamination des carcasses à chaque étape du processus d'abattage, on constate que certaines étapes entraînent une augmentation de la contamination, tandis que d'autres tendent à la diminuer.

① Dans le bac d'échaudage

Une diminution de la contamination des carcasses est observée après cette étape (Berrang 2000).

② Dans les plumeuses

La contamination des carcasses par *Campylobacter* spp. augmente significativement durant cette étape (Berrang, 2000 ; Reich et al., 2008).

③ Pendant l'éviscération

La plupart des études montrent une stagnation, voire une augmentation de la contamination des carcasses durant cette étape, notamment à la suite de la rupture des organes du tractus digestif et à la fuite de leurs contenus (Berrang et al., 2000 ; Rosenquist et al., 2006).

④ Pendant le rinçage interne et externe et ressuage

Les carcasses sont refroidies par air lorsque les produits finaux sont vendus frais, ou par immersion lorsque les produits finaux sont vendus congelés, dans toutes les études, cette étape entraine une diminution significative du degré de contamination des carcasses (Berrang et al., 2000).

⑤ Pendant le conditionnement

La plupart des études mettent en évidence une diminution du niveau de contamination des carcasses par *Campylobacter* spp. après le conditionnement (Rosenquist et al., 2006).

Parmi les autres facteurs qui peuvent influencer sur le taux de contamination des carcasses, c'est l'effet de saison. La plupart des études rapportent une saisonnalité de prévalence et du niveau de contamination des carcasses de poulets par *Campylobacter* spp. à l'abattoir, avec un pic durant les mois d'été et un déclin en hiver (Meldrum2004, cité par Simon, 2010).

II. UTILISATION DES ANTIBIOTIQUES CHEZ LA VOLAILLE

II.1. Relation entre l'utilisation des antibiotiques et la résistance aux antibiotiques des *Campylobacter* isolés chez la volaille

Certaines études ont montré que l'utilisation des antibiotiques chez la volaille sélectionne les souches de *Campylobacter* résistantes à ces antibiotiques (McDermott et al., 2002 ; Gupta et al., 2004). Cependant, la relation entre l'utilisation des antibiotiques et la résistance n'est pas toujours

aussi simple à établir, de nombreux facteurs influencent la sélection et la diffusion de l'antibiorésistance, et en particulier (Sanders 1999, cité par Peyrat, 2008) :

- La population bactérienne concernée
- Les effets liés aux traitements de la volaille : les doses utilisées et la durée du traitement, le nombre d'animaux traités, les pratiques d'élevage.

II.2. Relations entre la résistance aux antibiotiques chez les souches d'origine aviaire et les souches isolées chez l'homme.

Les antibiotiques sont utilisés chez l'animal pour des buts prophylactiques ou curatifs, chez la volaille, la résistance aux antibiotiques des entéropathogènes zoonotiques (*Campylobacter*) est d'autant plus dangereuse en terme de santé humaine que ces bactéries peuvent être transmises à l'homme par le biais de la chaîne alimentaire (Swartz et al., 2002).

En ce qui concerne *Campylobacter* et les fluoroquinolones, une étude néerlandaise (Endtz et al., 1991, cité par Peyrat, 2008) a démontré en 1991 que l'émergence de la résistance aux fluoroquinolones des souches cliniques humains était reliée à l'utilisation de ces antibiotiques chez la volaille. Entre 1982 et 1985, aucune résistance aux fluoroquinolones n'a été mise en évidence chez des *Campylobacter* d'origine humaine ou aviaire. Alors que, dans les années qui ont suivi l'introduction de ces molécules en élevage des volailles en 1987, les taux de résistance à la ciprofloxacine ont augmenté jusqu'à 11 et 14% respectivement chez l'homme et la volaille.

Une étude aux Etats-Unis publiée en 2004 indique que les infections chez l'homme dues à des *Campylobacter* résistants aux fluoroquinolones sont liées à la consommation de volailles colonisées par des souches résistantes plutôt qu'à la sélection de ces souches par le traitement antibiotique reçu par le patient (Iovine et Blaser, 2004).

L'hypothèse du passage de la résistance aux antibiotiques des animaux à l'homme provient de l'observation de l'épidémiologie des zoonoses d'origine alimentaire (*Campylobacter* et *Salmonella*), l'épidémiologie de ces maladies est loin d'être simple car il y a de nombreuses voies de contamination de l'homme autres que les denrées d'origine animale (Phillips, et al., 2004).

II.3. Conséquences de la résistance aux antibiotiques des *Campylobacter* sur les symptômes observés lors d'infection chez l'homme

Plusieurs études ont rapporté que les malades humains infectés par des souches de *Campylobacter* résistantes aux fluoroquinolones présentaient un risque plus élevé de maladie systémique avec une diarrhée prolongée avec une possibilité d'hospitalisation que les patients infectés par une souche sensible aux fluoroquinolones. (Engberg et al., 2004). Cependant, on ne sait pas si la sévérité des symptômes observés est liée à une augmentation de la virulence des souches résistantes aux fluoroquinolones ou à l'échec du traitement (Zhang et al., 2006).

Chapitre 5 :

CAMPYLOBACTÉRIOSE

HUMAINE

Campylobactériose humaine

Chez l'homme, la campylobactériose est principalement due aux *Campylobacter* thermo tolérants (Simon, 2010).

La sévérité de l'infection varie en fonction de différents facteurs (AFSSA, 2003) :

- facteurs liés à la souche infectante.
- facteurs liés à l'hôte: sujets chez les quelles la réponse immune est physiologiquement diminuée (nourrissons. personnes âgées ...)
- facteurs liés à l'environnement : exposition plus importante aux *Campylobacter* (maladie professionnelle : éleveurs. personnels d'abattoirs. vétérinaires).

I. PATHOGÉNIE

a) Absorption d'une dose infectieuse

Une étude d'infection expérimentale par *Campylobacter* spp. a été portée par Black et al, en (1988) sur 111 volontaires qui ont ingéré de 800 à 2×10^9 cellules, les taux d'infection augmentent avec la dose, mais l'apparition des symptômes n'a pas montré d'association nette. En plus, il ressort de certaines études que la dose infectieuse peut-être très faible (500 cellules) (Peyrat, 2008).

b) Colonisation du tube digestif et le rôle du flagelle

La forme de la cellule et le flagelle polaire confèrent à la bactérie une grande mobilité dans les milieux visqueux, la motilité est non seulement exigée pour que les bactéries atteignent les sites d'attachement mais elle est également exigée pour pénétrer et coloniser le mucus visqueux et épais qui recouvre les cellules intestinale (Wasseaar, 1997).

c) Adhésion aux cellules hôtes

L'adhésion aux cellules épithéliales apparaît nécessaire pour permettre leur invasion par les bactéries, bien que l'adhésion et l'invasion ne semblent pas être indispensables pour la colonisation intestinale (Lee et al., 1986).

d) Invasion des cellules hôtes et production de toxines

L'invasion bactérienne des cellules épithéliales in vivo a comme conséquence finale des dommages et une perte de la fonction cellulaire ainsi que de la diarrhée, l'invasion a été considérée comme un mécanisme important de la pathogénicité des *Campylobacter*, (Wassenaar et Blaser, 1999), et les inflammations observées au niveau du tractus intestinal ainsi que les bactériémies mises en évidence lors d'infections par des *Campylobacter* prouvées cette hypothèse.

C. jejuni, après internalisation dans la cellule, peut survivre dans des vacuoles et provoquer l'apoptose, mais également induire la production d'interleukine 8 (Simon, 2010).

La production de toxines par les bactéries peut également contribuer aux différents symptômes de la maladie (Rivoal., 2000, cité par Simon, 2010), beaucoup de publications ont décrit des effets toxiques des produits de *Campylobacter* sur les cellules, attribuant ces derniers à l'action d'un ou plusieurs cytotoxins, Dans une revue récente (Wassenaar, 1997) au moins six toxines différentes ont été proposées ;

- a) **Toxine de 70-kDa**: active sur les cellules HeLa et CHO (Chinese hamster ovary) mais pas sur les cellules Vero, cette toxine est thermolabile et peut contribuer dans l'invasion de la muqueuse du côlon qui caractérise l'entérite de *C. jejuni* (Guerrant et al., 1987).
- b) **Une cytotoxine** : active sur les cellules HeLa et les cellules Vero (Florin et Antillon, 1992).
- c) **La cytolethal distending toxin (CDT)** : a été mise en évidence pour la première fois en 1988 par Johnson et Lior, cette toxine présente la particularité d'induire une augmentation du volume de cellules de hamster chinois in vitro, puis leur mort cinq jours après la mise en contact, active sur les cellules HeLa, les cellules Vero et CHO (Wassenaar, 1997).
- d) **Entérotoxine de type choléra-like (CLT)** : Sa production par *C. jejuni* a été décrite pour la première fois en 1983 par Ruiz-Palacios (Poly, 2005), mais cette publication est la seule qui a mis en évidence la production de cette toxine par les *Campylobacter*, cette toxine peut être identique à la toxine de 70-kDa décrit au-dessus (Wassenaar, 1997).
- e) **Une hémolysine** : il est connu maintenant que quelques souches de *Campylobacter* sont hémolytiques, la hémolyse a été décrite sur des géloses au sang cultivées à 42°C pendant 4 jours chez *C. jejuni* (92% des souches testées) et les souches de *C. coli* (22%) (Wassenaar, 1997).
- f) **Un hépatotoxine** : ce facteur à haute concentration provoque la cytolysse des cellules hépatiques de souris (Kita et al., 1990).

II. SYMPTOMES CLINIQUES

Les *Campylobacter* sont des bactéries entériques, acquises par voie orale et adaptées à la vie dans le mucus du tractus digestif. Pour ces raisons, la maladie humaine la plus fréquemment associée aux *C.* est une entérite aiguë causée par une infection intestinale, qui peut se compliquer d'une bactériémie, de localisations secondaires, et d'un syndrome post-infectieux (AFSSA, 2003).

II.1. Entérite

Les entérites sont provoquées dans plus de 90% des cas par *C. jejuni* et pour le reste par *C. coli*, on pourra néanmoins rencontrer des formes de campylobactériose entérique à *C. fetus* mais avec proportions très minimales (Thomas, 2009). L'incubation dure 3 - 4 jours en moyenne (AFSSA,

2003) voire plus (7 jours), cette durée d'incubation relativement longue ne facilite plus la recherche des aliments à incriminer lorsqu'il s'agit d'un épisode de toxi-infection alimentaire (Thomas, 2009).

Typiquement les premiers signes apparaissent sont constitués de la fièvre en général modérée (rarement supérieure à 39°C), associée à des diarrhées profuses, parfois sanguinolentes

accompagnées à des vomissements et à des crampes abdominales, c'est bien que la diarrhée fait presque toujours partie du tableau clinique. Elle est d'abondance variable, elle est surtout de type inflammatoire et parfois profuse, tout l'intestin peut être concerné mais en particulier le colon. Les vomissements sont peu fréquents signifiant l'absence d'atteinte gastrique (AFSSA, 2003), ils sont associés à des douleurs abdominales surtout localisées à la région péri ombilicale.

Les douleurs abdominales seront très largement soulagées après défécation (Thomas, 2009) et peuvent être le symptôme unique au début de la maladie (AFSSA, 2003).

Dans la majorité des cas (80%), la maladie est spontanément résolutive en une semaine et sans séquelle, alors que la bactérie persistera pendant plusieurs semaines. La maladie peut se prolonger en particulier chez les personnes immunodéprimées entraînant parfois chez ces mêmes personnes des complications locales (appendicite, péritonite) (Thomas, 2009).

L'entérite à *Campylobacter* peut survenir à tous les âges de la vie mais le tableau peut présenter des variantes en fonction de l'âge du patient. Chez le nourrisson, un risque de déshydratation et de convulsions existe. L'allaitement maternel protège en partie de l'expression clinique de l'infection (Nachamkin et al., 1994). Dans les pays en développement où l'exposition est très fréquente, l'enfant souffre d'infections successives, une immunité s'installe qui aboutit à un portage asymptomatique (Diarra., 1993, cité par AFSSA, 2003).

Pour *C. jejuni*, le traitement antibiotique réduit la durée de la diarrhée et la durée d'excrétion des *C.* dans les selles, l'antibiotique de choix est l'érythromycine (Engberg et al., 2001).

II.2. Infections systémiques

Bien que les *Campylobacter* soient capables de transloquer dans le torrent circulatoire, les bactériémies sont rares (Pacanowski et al., 2008) en raison de la sensibilité des *Campylobacter* à l'effet bactéricide du plasma (Skirrow et al., 1993). Une étude rétrospective menée dans 23 hôpitaux parisiens entre janvier 2000 et décembre 2004 (183 épisodes de bactériémie) a montré que les patients ayant présenté une bactériémie à *Campylobacter* spp. étaient immunodéprimés ou atteints d'une maladie sous jacente (cirrhose, cancer), et que *C. fetus* avaient été isolé chez 53 % des patients concernés et que (15%) des patients sont morts dans les 30 jours (Pacanowski et al., 2008).

II.3. Syndromes post-infectieux

C. jejuni comme d'autres bactéries entéropathogènes peut être à l'origine d'un syndrome post-infectieux à type d'arthrite réactionnelle ou d'urticaire (Bolla et al., 2008) ou d'érythème noueux (Eastmond et al., 1982), ces complications sont rares (<1% des cas) (AFSSA, 2003).

Toutefois, la manifestation infectieuse la mieux décrite est le syndrome de Guillain Barré, les symptômes en sont une paralysie flasque avec aréflexie et dissociation albumino-cytologique au niveau du liquide céphalorachidien (AFSSA, 2003). On peut en distinguer 3 formes (Simon, 2010) :

- Une polyneuropathie démyélinisante aiguë inflammatoire avec dégénérescence axonale secondaire. majoritaire dans les pays occidentaux.
- Une neuropathie axonale et dendritique sévère, majoritaire en Asie.
- Le syndrome de Miller Fisher qui comporte ataxie et ophtalmoplégie, pouvant évoluer vers l'une des deux autres formes.

Le mécanisme pathologique est lié à la production par la bactérie de lipooligosaccharide portant des motifs analogues aux gangliosides GM1 du nerf périphérique (mimétisme), le séro-groupe 19 de Penner (O:19) a initialement été décrit comme cause principale (Allos, 1997).

Les relations entre les SGB et l'infection par *C. jejuni* (Figure 8) ont fait l'objet de nombreux travaux, des recherches moléculaires ont mis en évidence l'existence sur certaines souches de *C. jejuni* des motifs sucrés identiques à ceux des gangliosides, il existe une grande diversité des souches de *C. jejuni* qui se différencient par la structure des résidus d'oligosaccharides. Le sérotype O ; 19 a des oligosaccharides communs avec les gangliosides GM1 et GD1b, un autre sérotype, le O:2 possède des résidus sucrés identiques à ceux des gangliosides GT1a. C'est donc le sérotype de *C. jejuni*, par lequel le malade a été infecté, qui peut déterminer le type d'anticorps anti-gangliosides et la nature de l'atteinte neurologique qui en résulte (Humbel, 2009).

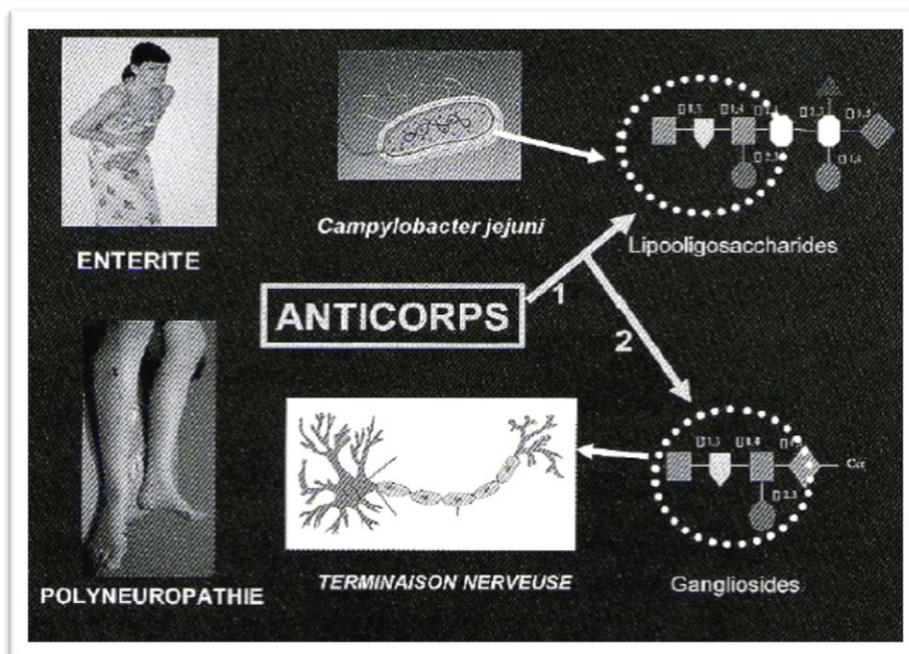


Figure 8: La relation entre *C. jejuni*, anticorps anti gangliosides et SGB.

Ce syndrome est la cause la plus commune de paralysie neuromusculaire aiguë dans le monde industrialisé. En effet, dans 50% à 75% des cas, le SGB est précédé d'une infection aiguë reconnue. En ce qui concerne *C. jejuni*, on sait qu'au moins 30% à 40% des patients souffrant du SGB ont d'abord été infectés par cette bactérie dans les 10 jours à 3 semaines précédant leurs symptômes neurologiques. En plus, Allos (1997) rapporte que lorsque le GBS survient suite à une infection au *Campylobacter*, la maladie est plus sévère et résulte plus souvent en des dommages neurologiques irréversibles (20% des cas) que lorsqu'un autre agent infectieux précède le syndrome (Allos, 1997), le traitement consiste en une plasmaphérèse.

III. EPIDÉMIOLOGIE DES INFECTION À *CAMPYLOBACTER* CHEZ L'HOMME

III.1. Incidence de la maladie

Les *Campylobacter* sont reconnus comme une des principales voire la première cause de gastro-entérites bactériennes d'origine alimentaire dans le monde (Murphy et al., 2006), c'est bien que l'incidence annuelle estimée des infections à *Campylobacter* dans les pays industrialisés varie selon les pays (figure 9) (AFSSA,2003). En Europe, durant l'année 2009, *Campylobacter* a continué d'être le pathogène bactérien incriminé dans les gastro-entérites le plus isolé dans l'union européen et cela depuis 2005, c'est bien que, *C. jejuni* était l'espèce la plus fréquemment isolée avec 36.4% des cas déclarés, suivi par *C. coli* (2,5%) et d'autres espèces (10,1%) dont *C. lari* (0,19%) et *C. upsaliensis* (0,01%). (EFSA, 2011).

La recherche de *Campylobacter* dans les coprocultures n'étant pas systématique en France, et cette recherche étant relativement difficile, le nombre de cas confirmés estimé à partir du nombre de cas confirmés observé est une sous-estimation du nombre de cas qui auraient pu être confirmés.

Les facteurs suivants peuvent expliquer la sous - estimation des infections à *Campylobacter*:

Il existe un défaut de diagnostic des *Campylobacter* :

- Le diagnostic bactériologique d'une infection à *Campylobacter* est techniquement plus difficile que celui des infections à *salmonella* tant chez l'homme que dans l'aliment incriminé.
- Il n'y a pas de recherche systématique de *Campylobacter* dans les coprocultures par les laboratoires contrairement aux salmonelles.
- Les praticiens ne pensent pas à demander la recherche de *Campylobacter* dans les coprocultures.

Les *Campylobacter* sont rarement en cause dans les TIAC de grande ampleur, parce que, contrairement aux salmonelles, ils ne peuvent se multiplier dans les aliments.

La durée d'incubation des *Campylobacter* est longue, ce qui contribue à majorer les difficultés diagnostiques, en raison de délais plus prolongés entre le moment de la contamination, l'événement aigu de la maladie et les démarches d'investigation. (Peyrat, 2008).

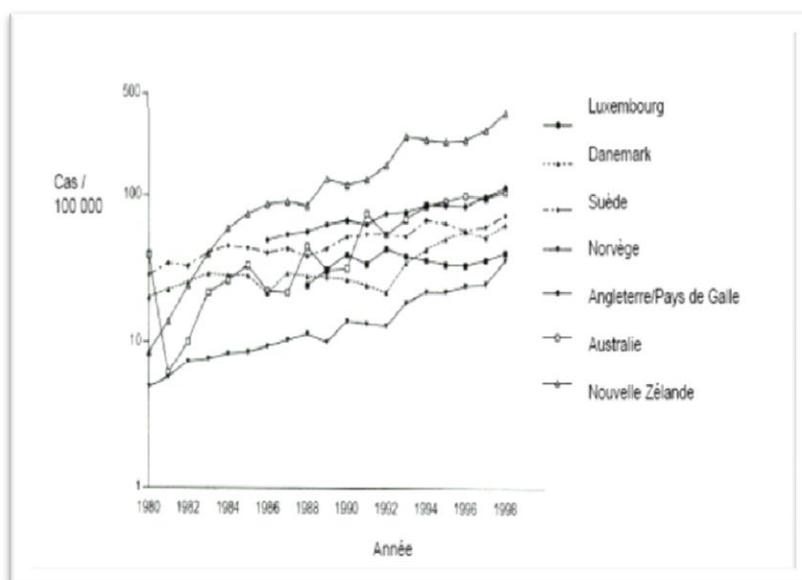


Figure 9: Incidence des infections à *Campylobacter* dans sept pays industrialisés de 1980 à 1998 (AFSSA, 2003)

III.2. Formes épidémiologiques et réservoirs de *Campylobacter*

Trois formes épidémiologiques de campylobactériose digestive peuvent être distinguées (Dromigny, 1989, cité par Simon, 2010)

- ❶ **la forme épidémique** : un seul aliment est à l'origine de la contamination de plusieurs personnes.
- ❷ **la forme sporadique** : un aliment particulier est identifié pour chaque personne atteinte.

③ **la forme professionnelle** : maladie professionnelle en raison du fort risque d'exposition (agriculteurs, vétérinaires et les ouvriers d'abattoir ...).

La contamination par les *Campylobacter* est le plus souvent sporadique, les cas épidémiques représentant moins de 10% (Friedman et al., 2000, cité par Simon, 2010).

Le principal réservoir de *Campylobacter* est de loin l'espèce animale, que ce soit des animaux domestiques, d'élevage ou sauvages. Ces animaux vont pour la plupart héberger ce *Campylobacter* au sein de leur appareil digestif sans pour autant en exprimer des manifestations cliniques: on parlera alors de portage asymptomatique chez l'animal. Néanmoins, selon l'espèce animale concernée, on pourra remarquer de grandes disparités quant à la présence ou non de *Campylobacter*. (Thomas, 2009). Les oiseaux et oiseaux de basse-cour semblent être un hôte de choix pour les *Campylobacter*.

Il ya d'autres réservoirs comme le réservoir humain et hydrotellurique, mais ces réservoirs ne semblent pas jouer un rôle important dans la transmission. (Bolla, 2008).

La circulation des *Campylobacter* entre ces trois réservoirs et les modes de transmission des *Campylobacter* sont résumés dans la figure 10.

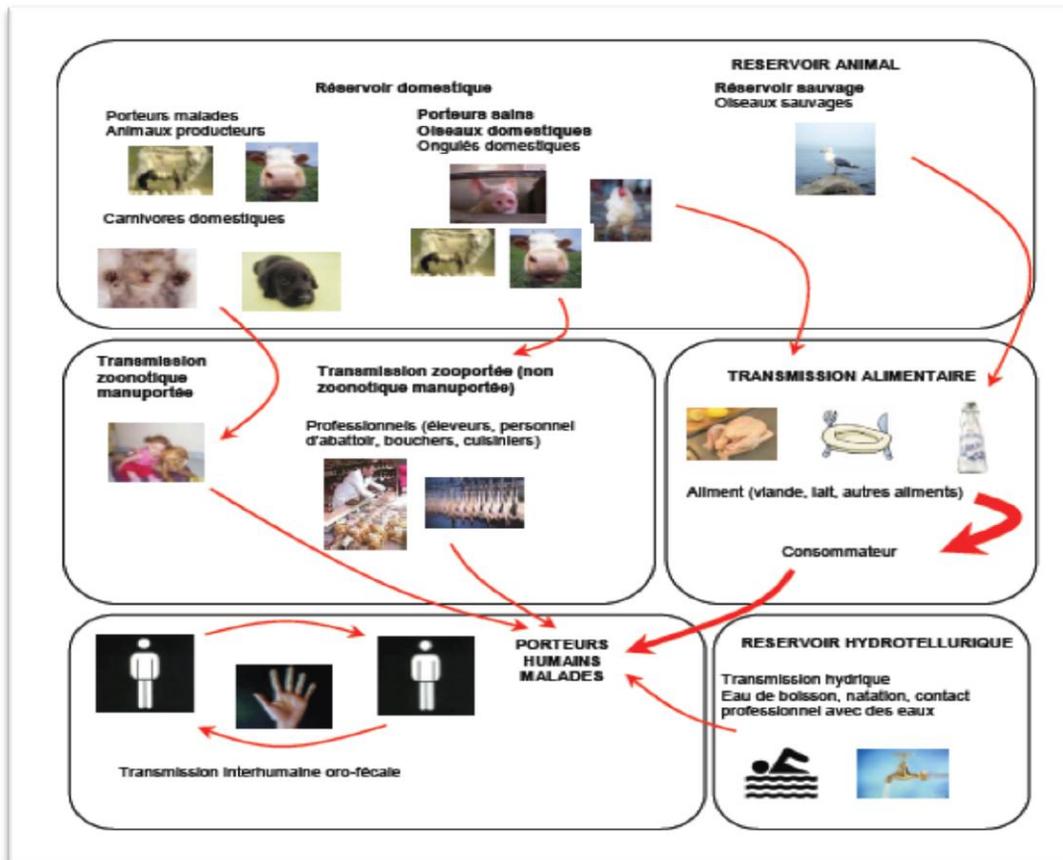


Figure 10: Mode de transmission des *Campylobacter* à l'homme d'après Dromigny (2007).

III.3. Sources de contamination et facteurs de risque chez la population humaine

On ne peut discuter de l'épidémiologie de *Campylobacter* sans mentionner son patron saisonnier. Ce phénomène semble non seulement être présent aussi bien chez la population humaine que chez la population aviaire mais aussi avec une concordance, cette concordance de saisonnalité a été rapportée par plusieurs auteurs comme Patrick et al, (2004).

➤ les personnes de tout âge peuvent être infectées par *C. jejuni* (Blaser, 1997) mais les enfants de moins d'un an sont plus à risque. (Tauxe, 1988, cité par Blaser, 1997).

Dans les pays développés, la campylobactériose affecte tous les âges, mais surtout les enfants qui ayant moins de 4 ans suivit par les jeunes adultes entre 15 et 44 ans (Tauxe, 2001). En revanche, dans les pays en voie de développement, la campylobactériose sévit surtout chez les enfants moins de 2 ans avec des diarrhées. Les infections chez les enfants semblent diminuer avec l'âge et la maladie ne semble pas être importante chez les adultes (Coker et al., 2002).

➤ Le voyage dans les pays en voie de développement est aussi considéré comme un facteur de risque, d'autant plus que la diarrhée contractée lors de tels voyages est souvent très sévère et associée à des souches de *Campylobacter* résistantes aux antibiotiques (Coker et al., 2002).

➤ Le sexe a aussi été démontré comme étant un facteur de risque, selon l'AFSSA (2003) le Sex-ratio des malades indique que l'infection est plus fréquente chez l'homme que chez la femme, sans qu'une raison précise n'ait pu être invoquée.

➤ Le contact avec des animaux de compagnie infectés ainsi que les activités aquatiques sont également des facteurs de risque d'acquisition des infections à *Campylobacter* (AFSSA, 2003)

➤ Kapperud et al, (1992) rapportent une association étroite entre la consommation de poulet et la campylobactériose.

➤ Les eaux de boissons ont permis à plusieurs reprises la contamination à grande échelle et constitue un vecteur de campylobactériose humaine quand elle n'est pas ou insuffisamment traitée (Thomas, 2009).

➤ La consommation de lait non pasteurisé constitue également un risque important pour la santé humaine, comme le rapporte (Altekruse et al., 1999). Le lait se retrouve majoritairement contaminé lors de la traite par la présence de matières fécales. Il représente un excellent milieu de conservation aux *Campylobacter*, lui assurant des survies pouvant atteindre 6 mois dans le cadre d'une conservation au réfrigérateur (Thomas, 2009).

IV. FACTEURS ET MÉCANISMES DE VIRULENCE

Quatre mécanismes majeurs de pathogénicité sont reconnus chez les *Campylobacter*

- ❶ Motilité ; mécanisme largement étudié, elle Permet l'accès de la bactérie à la cellule hôte (Morooka et al., 1985).
- ❷ Adhérence (probablement déterminant dans la colonisation) (Dromigny, 2007).
- ❸ Invasion (Black et al., 1988).
- ❹ Production de toxine (Wassenaar, 1997).

IV.1. Fonction de virulence du flagelle (la motilité)

Le rôle de la motilité dans la pathogénie de *C. jejuni* est maintenant bien établie, la motilité est non seulement exigée pour atteindre les emplacements d'attachement, mais elle est également exigée pour la pénétration dans les cellules intestinales, en revanche, malgré le nombre important d'études publiées, le rôle exact du flagelle dans ce processus n'ait pas été défini (Dromigny, 2007).

Pour *C. jejuni*, la possession du flagelle et la motilité chimiotactique sont des préalables bien établis de la virulence dans les modèles disponibles in vivo et in vitro. En effet, la motilité et le chimiotactisme sont nécessaires pour la pénétration du mucus de l'estomac et de l'intestin, de sorte que *Campylobacter* puisse se positionner correctement par rapport à l'épithélium gastro-intestinal

(Penn, 2001). Des mutants n'expriment plus la flagelline montrent des phénotypes d'adhérence atténués (Yao et al., 1994, cité par Bolla, 2008).

IV.2. Facteurs d'adhésion

L'adhérence des bactéries sur la surface épithéliale est probablement une cause déterminante pour la colonisation et peut augmenter la concentration locale des produits bactériens sécrétés (Dromigny, 2007), c'est un mécanisme largement étudié in vitro, mais des adhésines spécifiques sur le corps bactérien ou sur les flagelles n'ont pas été identifiées, mises à part certaines adhésines putatives identifiées par leur gène (Kelle et al., 1998) ou récemment la protéine PEB1a de *C. jejuni* négociant des interactions avec les cellules épithéliales (Leon-Kempis Mdel et al., 2006).

IV.3. Facteurs d'invasion

L'invasion, c'est-à-dire l'adhérence suivie de pénétration, a été montrée in vivo et in vitro chez *C. jejuni*, elle a été considérée comme un mécanisme important de la pathogénicité des *Campylobacter*, (Wassenaar et Blaser, 1999). Cependant, les niveaux d'invasion détectés in vitro sont normalement faibles, moins de 1 % des bactéries appliquées envahissent une monocouche de cellules en culture, et une destruction intracellulaire efficace des bactéries a lieu. (Dromigny, 2007).

C. jejuni possède un gène nommé (CiaB) qui code pour un ensemble de huit protéines nommées antigènes d'invasion de *Campylobacter* (protéines Cia) dont la taille allée de 12,8 à 108

kDa. Ces antigènes jouent un rôle crucial dans l'internalisation des *C. jejuni* avec les cellules animales (Konkel et al., 1999).

IV.4. Toxines de *Campylobacter*

L'un des mécanismes proposé pendant les premières recherches de mécanismes de pathogénicité des *Campylobacter* était la production des toxines, qui sont importantes dans les l'installation des maladies diarrhéiques (Wassenaar, 1999), plusieurs types de toxines ont été caractérisés chez les *Campylobacter*, mais la production de la plupart d'entre elles est controversée.

Comme on a mentionné précédemment, au moins six toxines différentes ont été proposé par (Wassenaar, 1997). L'enterotoxine est sécrétée par la bactérie et entre dans les cellules cibles de l'hôte via un récepteur spécifique, cette entrée entraîne l'élévation d'AMP cyclique cellulaire et généralement elle est associée à des diarrhées aqueuses. Alors que, les cytotoxines sont sécrétées par la bactérie, et une fois cette cytotoxine entre en contact avec la cellule hôte, elle peut la tuer, elle est associée généralement au développement de diarrhée inflammatoire (Walker et al., 1986).

La production d'une entérotoxine de type choléra-like (CLT) par *C. jejuni* a été décrite en 1983 par Ruiz-Palacios et al, (poly, 2005), mais les études suivant cette découverte restent cependant obscures, remettant en question la production d'une telle toxine (Ketley, 1997).

A l'heure actuelle, la seule toxine très bien caractérisée chez les *Campylobacter* c'est la «cytolethal distending toxin» (CDT), Cette toxine présente la particularité d'induire une augmentation du volume de cellules de hamster chinois (lignée CHO) in vitro, puis leur mort cinq jours après la mise en contact (Johnson et al., 1988, cité par Poly, 2005), les premières études génétiques relatives à la production de CDT ont été publiées en 1996 par Pickett et al, à partir de la souche *C. jejuni* 81-176, révélant l'existence de 3 gènes *cdtA*, *cdtB*, et *cdtC*, qui codent pour des protéines dont les tailles sont respectivement 30.116, 28.989, et 21.157 Da (Pickett et al., 1996).

La toxine CDT de *C. jejuni* induit une accumulation d'une forme inactive de la protéine CDC2, enzyme clé régulant l'entrée en mitose, ce qui entraîne un arrêt du cycle cellulaire en phase G2 de mitose des cellule HeLa, cette nouvelle mode d'action des toxines bactériennes fournit un modèle pour la génération de la maladie diarrhéique par *C. jejuni* (Whitehouse et al., 1998).

D'autres mécanismes peuvent contribuer dans la pathogénicité des *Campylobacter* comme la glycosylation de protéines

a. Glycosylation de protéines

Jusqu'à une période récente, il était admis que la glycosylation des protéines ne concernait que les eucaryotes. Cependant il a été démontré depuis que certaines protéines bactériennes pouvaient être N-ou O-glycosylées (Bolla, 2008).

La N-glycosylation correspond à l'attachement d'une chaîne de résidus carbohydrates sur l'azote de la fonction amide d'un résidu asparagyl (ASN), et la glycosylation de type O correspond à l'attachement d'une chaîne de carbohydrates sur la fonction hydroxyle d'un résidu serine (SER) ou thréonine (THR). Diverses fonctions ont été attribuées à la glycosylation de protéines chez les eucaryotes telles que ; la protection contre un clivage protéolytique et la reconnaissance pour une adhésion cellulaire, ces mêmes fonctions ont été postulées chez les procaryotes, mais dans la plupart des cas la preuve expérimentale reste à établir (poly, 2005).

i. Le système d'O- glycosylation

Le système d'O-glycosylation est associé à la modification post- traductionnelle de la flagelline (Szymanski et al., 2003), cette modification des protéines de flagelline chez *C. jejuni* a été montrée par Doig et al (Doig et al., 1996). Des analyses mutationnelles de gènes codant pour des enzymes impliquées dans la glycosylation des flagellines ont montré une implication de cette glycosylation dans la serospécificité des souches bactériennes (Szymanski et al., 2003), ce système permet l'obtention d'une variabilité phénotypique potentiellement impliquée dans les mécanismes d'évasion immunitaire de l'hôte (Hood et al., 1996, cité par Poly, 2005).

ii. Le système de N-glycosylation

La glycosylation de type N correspond au mécanisme de glycosylation de protéines le plus répandu chez *C. jejuni*, Les gènes impliqués dans ce processus ont été tout d'abord classés dans les mécanismes de biosynthèse de lipooligosaccharides (LOS) (Fry et al., 1998).

Des analyses mutationnelles menées chez la souche *C. jejuni* 81-176 ont permis d'identifier la fonction réelle de ces gènes (Szymanski et al., 2003). La rupture de ce système chez *C.* a comme conséquence une capacité réduite de s'attacher et d'envahir in vitro des cellules eucaryotiques en culture et une capacité réduite de coloniser les intestins de poulets (Karlyshev et al., 2004).

Il a été suggéré que certaines des protéines glycosylées par ce système étaient impliquées dans le mécanisme d'attachement bactérien aux cellules épithéliales de l'hôte (poly, 2005).

V.TRAITEMENT

V.1. Utilisation des antibiotiques

Le traitement de choix semble être à base de macrolides (l'érythromycine notamment), d'une part, grâce à leur résorption intestinale rapide ainsi qu'à leur spectre étroit qui perturbe peu la flore intestinale (Oosterom, 1985, cité par Dromigny, 2007) et d'autre part parce que la prévalence des souches de *Campylobacter* résistantes à l'érythromycine reste faible et stable (Butzler, 2001).

Cependant, en Australie, Les fluorquinolones sont largement utilisées pour traiter les infections à *C.* parce qu'elles gardent encor leurs efficacité contre ces germes, cela sans doute est la conséquence de la non utilisation des fluorquinolones en aviculture (Butzler, 2004).

L'entérite à *Campylobacter* a un très bon pronostic (Butzler, 2004), elle est spontanément résolutive. Cependant, la thérapie antibiotique est indiquée pour les campylobactérioses prolongées avec des symptômes sévères à savoir la fièvre élevée et persistante, diarrhée sanglante, ainsi en cas des rechutes ou dans la grossesse, et surtout pour les personnes immunodéprimées (Butzler, 2001).

Dans les pays industrialisés, la déshydratation causée par *C. jejuni* est peu fréquente, mais la réhydratation par voie parentérale est parfois nécessaire pour les enfants en bas âge (Butzler, 2004).

V.2. Résistance des *Campylobacter* aux antibiotiques

Un nombre important et croissant des souches de *Campylobacter* résistantes aux antibiotiques sont actuellement isolées dans plusieurs pays aussi bien dans les échantillons humains qu'alimentaires. A titre d'exemple, depuis les années 1990, la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones augmente, et est reconnue comme étant un problème émergent de santé publique dans plusieurs pays européens (Engberg et al., 2001).

V.2.1. Détection de la résistance aux antibiotiques

Généralement il existe 2 méthodes

❶ Méthodes traditionnelles

Ces méthodes visent à déterminer une concentration minimale inhibitrice (CMI). En 1975, le comité américain NCCLS (*National committee for clinical laboratory standards*) édite des lignes directrices pour la réalisation des essais de mesure des CMI. En Europe, il existe au moins 6 systèmes nationaux de standardisation : en Suède, en Allemagne, aux Pays-Bas, au Royaume-Uni, en France, et le système NCCLS (dans plusieurs pays) (Wheat, 2001).

Les méthodes traditionnelles d'étude de la résistance chez *Campylobacter* sont les suivantes :

- ❖ les méthodes de diffusion des antibiotiques à partir de disques de papier buvard.
- ❖ les méthodes de dilution en milieu liquide ou gélosé.

Il a y d'autres méthodes utilisées comme le E-test qui permet de déterminer la CMI grâce à l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel continu de l'antibiotique à tester.

❷ Méthodes génétiques

L'étude des mécanismes génétiques de la résistance aux antibiotiques a permis l'identification des déterminants génétiques responsables des phénomènes de résistance, dans tous les cas, l'acquisition d'un mécanisme de résistance aux antibiotiques repose soit sur ;

- ❖ Un transfert horizontal de gènes (intégrons, transposons, plasmides)
- ❖ Une mutation d'un gène chromosomique ou plasmidique.

Chez *Campylobacter*, de nombreux mécanismes de résistance ont été identifiés ainsi que les gènes responsables. La détection de ces gènes permet l'étude de l'épidémiologie de la résistance

chez *Campylobacter* en apportant des connaissances soit sur l'accumulation soit sur la dissémination de ces gènes au sein des populations de *Campylobacter* étudiées.

Parmi les déterminants génétiques de résistance aux antibiotiques décrits et utilisés pour l'étude de la résistance chez *Campylobacter* on cite :

- ☞ Des plasmides porteurs de déterminants génétiques de résistance aux tétracyclines (Taylor et al., 1988 ; Connell, Trieber et al., 2003).
- ☞ Des gènes codant pour synthèse de pompes à efflux qui contribuent à la résistance aux antibiotiques à l'instar des macrolides (Mamelli et al., 2005).
- ☞ Des mutations du gène de l'ADN gyrase associées aux résistances aux fluoroquinolones (Coper et al., 2002) et des intégrons porteurs de déterminants de résistance aux aminoglycosides.

V.2.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques décrits chez *Campylobacter*

a) Résistances intrinsèques

Lors de résistance intrinsèque, toutes les souches d'une même espèce sont résistantes. Les *Campylobacter* sont naturellement résistants aux antibiotiques suivants : vancomycine, bacitracine, novobiocine, colimycine, streptogramine B.

C. jejuni et *C. coli* sont également résistants à la céphalotine et à la rifampicine, ces antibiotiques sont utilisés dans divers milieux sélectifs d'isolement de ces bactéries.

Ces résistances naturelles sont probablement imputables à l'incapacité de ces antibiotiques à traverser la membrane externe (Federighi, 1999, cité par Peyrat, 2008).

b) Résistances acquises

Les résistances acquises résultent de l'acquisition de nouveaux mécanismes par la bactérie qui la rendent résistante à l'antibiotique considéré, l'acquisition de ces mécanismes repose soit sur des mutations ponctuelles soit sur l'acquisition de matériel génétique exogène (plasmides de conjugaison, transposons, intégrons). Selon Peyrat (2008), la résistance acquise aux antibiotiques chez *Campylobacter* repose sur 3 mécanismes :

- ☞ la synthèse d'enzymes dégradant les types de molécules d'antibiotiques.
- ☞ des modifications structurales des sites de liaisons de l'antibiotique dans la cellule bactérienne,
- ☞ une diminution de la perméabilité cellulaire, soit par une diminution de l'entrée des autres molécules d'antibiotiques, soit par une augmentation de leur efflux.

b1) Résistance aux bêta-lactamines

La résistance est fréquente et quasi naturelle chez *Campylobacter* (pénicillines et céphalosporines) mais le nombre de souches résistantes varient en fonction de l'antibiotique, plusieurs souches de *C. jejuni* sont résistantes à la pénicilline G et à la céphalothine.

C. coli est plus sensible aux bêta-lactamines que *C. jejuni* en particulier à l'ampicilline et à l'amoxicilline. La résistance aux bêta-lactamines est due à une interdiction de pénétrer dans la cellule et secondairement à la production des bêta-lactamase (Trieber et Taylor, 2000, cité par Dromigny, 2007). La résistance semble être chromosomique et environ 92% de *C. jejuni* et *C. coli* produisent des bêta-lactamases (Federighi., 1999, cité par Peyrat, 2008).

b2) Résistance aux fluoroquinolones

Chez les *Campylobacter* spp. la résistance aux quinolones est liée à la présence des mutations dans une région de la protéine GyrA appelée {Quinolone Resistance Determining Region : QRDR} (Bolla, 2008). Plus précisément elle est liée à la présence de la mutation thréonine isoleucine à la position 86 du QRDR de la protéine GyrA (Kinana, 2006).

Chez *C. jejuni*, l'efflux de la ciprofloxacine joue un rôle dans la résistance. L'opéron *cmeABC* code pour une pompe à efflux à large spectre qui contribue à la résistance intrinsèque de *C. jejuni* à de nombreux antibiotiques. En présence de ciprofloxacine, le blocage de la pompe *CmeABC* par un inhibiteur entraîne une accumulation intracellulaire de ciprofloxacine et augmente la sensibilité à différents agents antimicrobiens (Lin et al., 2002). Généralement cette pompe agit en synergie avec les mécanismes de mutations (Payot et al., 2002).

b3) Résistance aux macrolides : l'érythromycine

Les mécanismes de résistance aux macrolides chez les *Campylobacter* décrits à ce jour sont de deux types : des mutations ponctuelles de la cible (l'ARN 23S) et des systèmes d'efflux. Aucune résistance par modification enzymatique de ces antibiotiques n'a été rapportée (Bolla, 2008).

Les mutations conduisent à une mutation de haut niveau et concernent les positions 2074 et 2075 de l'ARNr 23S. Plus rarement, des mutations affectant les protéines structurales L4 et L22 du ribosome ont aussi été décrites mais dans ce cas le niveau de résistance est plus faible (Corcoran et al, 2006). Un second type de résistance a été rapporté et concerne les mécanismes d'efflux dont la pompe *Cme ABC*, le rôle de cette type de résistance a été mis en évidence par l'utilisation d'un inhibiteur d'efflux : phénylalanine-arginine β - naphthylamide (PA β N), qui peut augmenter de manière significative la susceptibilité de *Campylobacter* à l'érythromycine (Mamelli et al., 2003).

b4) Résistance au chloramphénicol

La résistance au chloramphénicol est rare chez *Campylobacter*, et est due à une modification du chloramphénicol par une acétyl-transférase, codée par un plasmide (Dromigny, 2007).

B5) Résistance aux tétracyclines

La résistance à la tétracycline est en générale plasmidique, elle due à la présence d'un gène nommé *tet* (O) (Taylor et al., 1988), les plasmides portant ce gène sont transférables, notamment par

conjugaison, ce qui conduit à une diffusion importante de la résistance, le gène tet (O) conduit au déplacement de la tétracycline de son site de fixation sur le ribosome, libérant ainsi celui-ci de l'activité inhibitrice de la drogue. (Connell et al., 2003).

VI. VACCINATION

L'élaboration de vaccins anti-*Campylobacter* n'est pas chose facile. En réalité, l'association de la neuropathie auto-immune du syndrome de GB avec les infections dues à *C. jejuni* chez l'homme rend le développement des vaccins à cellules entières très problématique, en particulier à cause du lipooligosaccharide qui contient des structures ganglioside-like qui induisent des anticorps anti-gangliosides chez l'hôte, qui cause une neuropathie expérimentale chez le lapin (Prokhorova., 2006). Deux antigènes de *Campylobacter*, la flagelline et PEB1, ont été suggérées pour un vaccin, la flagelline est un antigène immunodominant identifié pendant l'infection (Prokhorova., 2006). Cependant, la diversité antigénique et la glycosylation des flagellines de *Campylobacter* rendent difficile le développement d'un vaccin anti-flagelline (Scott, 1997).

PEB1 est un facteur putatif d'adhérence et de colonisation, c'est une protéine fortement immunogène et conservée parmi les souches de *Campylobacter jejuni*. Cependant, une étude

démontre que des niveaux pourtant significatifs d'IgG anti-PEB sériques ne se sont pas révélés protecteurs contre *C. jejuni* par voie orale (Sizemore et al., 2006).

Chapitre 6 :

MÉTHODES DE
DÉTECTION



I. DÉTECTION ET ISOLEMENT DES *CAMPYLOBACTER*

Avant de voir les méthodes de détection des *Campylobacter* au sein des différentes matrices et appliquées dans le cadre vétérinaire ou médical, nous allons faire un rapide rappel concernant les diverses conditions que devront avoir les milieux de culture pour satisfaire à la détection des *Campylobacter*.

I.1. Conditions générales de culture de *Campylobacter*

I.1.1. Microaérophilie

Campylobacter fait partie des bactéries microaérophile à métabolisme respiratoire, en exceptant quelques souches, cela signifie que sa croissance à l'air est impossible (Thomas, 2009).

Cette sensibilité accrue à l'oxygène se heurt avec le besoin de *Campylobacter* à la même molécule comme un accepteur terminal d'électrons dans leur chaîne de transport d'électrons, ainsi que la dépendance de *C.jejuni* à l'oxygène dans certaines voies de synthèse d'ADN.

Par conséquent, la simultanéité de la sensibilité accrue à l'oxygène ainsi que le besoin à la même molécule explique le fait que les *Campylobacter* colonisent préférentiellement la muqueuse des cryptes profondes des caeca et du gros intestin, près de la surface des cellules épithéliales où l'oxygène est présent pour le métabolisme des cellules hôte à des niveaux assez faibles compatibles avec la microaérophilie (Lee et Newell, 2006, cité par Dromigny, 2007). C'est pourquoi si l'on cherche à cultiver *Campylobacter*, il faudra bien prendre soin soit d'utiliser une atmosphère appauvrie en oxygène soit d'utiliser un milieu nutritif enrichi d'ingrédients visant à prévenir la formation de peroxyde tel que le sulfate ferreux par exemple (Thomas, 2009).

En réalité, selon Véron et Fauchère (1989), l'idéal semble être un mélange de 10 % de gaz carbonique, 5 % d'oxygène et 85 % d'azote. Actuellement, ces conditions atmosphériques sont facilement obtenues soit dans des jarres avec des sachets générateurs de gaz carbonique et d'hydrogène « Gaspak » sans catalyseur, qui sont dangereux par des risques d'explosion, soit avec des sachets générateurs d'atmosphère micro-aérophile «Campy Pak » (ND) avec catalyseur, plus onéreux mais plus sûr d'utilisation (Altmayer, 1994, cité par Dromigny, 2007).

I.1.2. Température

Une température d'incubation de 37°C permet le développement de toutes les espèces de *Campylobacter* connues, mais la capacité de croissance à d'autres températures constitue un caractère différentiel d'espèces important, notamment à 25° et à 42°C, on observe des espèces se développant à 25°C et non à 42°C parmi lesquelles *Campylobacter fetus*, et des espèces se développant à 42°C et non à 25°C, appelés *Campylobacter* thermotolérants, dont les espèces d'intérêt en notre sujet (Dromigny, 2007). En plus, il semble que la température d'incubation de

42°C soit un avantage pour le faible compétiteur biologique qu'est *Campylobacter*, car dans les prélèvements polymicrobiens, les germes de la flore compétitive ont souvent une croissance moins importante à 42°C. Par conséquent, cette température d'incubation va ainsi renforcer la sélectivité du milieu (Federighi 1999, cité par Peyrat, 2008).

I.1.3. Milieu nutritif et le Contrôle de la microflore associée

Il est possible de se combattre contre la toxicité de l'oxygène en utilisant des milieux particuliers où tous les ingrédients visent à prévenir la formation de peroxydes (Dromigny, 2007).

Le sang, utilisé dans certains milieux, n'est pas un facteur de croissance, mais agit en neutralisant des éléments toxiques du milieu. En plus, Selon Bonnefoy et al, dans certains milieux comme celui de Karmali, le charbon remplace le sang ce qui permet la neutralisation des substances toxiques des bases nutritives et les dérivés toxiques de l'oxygène (Bonnefoy et al., 2002).

Selon Thomas (2009), afin d'isoler *Campylobacter* on fait recours donc soit :

- ➔ A utiliser un système de filtration en prenant en compte sa grande mobilité et sa petite taille, ce qui lui permettant de passer à travers des pores.
- ➔ A utiliser des antibiotiques et des antifongiques tels que les céphalosporines, la polymyxine, la colistine et l'amphotéricine B qui permettent le contrôle des flores compétitrices.

I.1.4. Le PH

Plusieurs expériences ont permis à Doyle de montrer que la zone optimale de croissance pour les *Campylobacter* se situait entre 6 et 8 (Doyle, 1984, cité par Thomas, 2009).

I.2. Méthodes de détection

I.2.1. Choix de la méthode en fonction de l'origine des prélèvements

L'origine des prélèvements influe sur :

- ↪ Le niveau de contamination par *Campylobacter* : par exemple, les prélèvements de fientes de volailles contiennent environ 10^6 à 10^8 UFC/g, les prélèvements d'aliments ou d'eau en contiennent beaucoup moins (Peyrat, 2008).
- ↪ L'état des *Campylobacter* : dans les prélèvements environnementaux, les *Campylobacter* sont souvent dit « stressés ». dans ce cas, les *Campylobacter* vont nécessiter une phase d'enrichissement dans un milieu non sélectif (Humphrey 1989, cité par Peyrat, 2008).

I.2.2. Prélèvement des échantillons

↪ Volailles

Les volailles sont trouvées porteuses majoritairement de *C. jejuni* (65 à 95 %), moins souvent de *C. coli* et rarement d'autres espèces (OIE, 2005). Les échantillons d'oiseaux vivants, destinés à la chaîne alimentaire, doivent donc être collectés aussi près que possible de l'abattage.

La plupart des oiseaux excrètent un grand nombre de micro-organismes ($>10^6$ unités formant colonie par g de fèces). Les *Campylobacter* peuvent être isolés de fientes caecales ou intestinales fraîches ou d'écouvillons cloacaux (OIE, 2005).

↳ **L'homme**

Selon Mégraud, on recherche les *Campylobacter* chaque fois qu'il existe un ou plusieurs symptômes digestifs tels que la diarrhée et la présence de sang dans les selles (Mégraud, 1989, cité par Dromigny, 2007). Et pour la culture, on peut recourir à des selles fraîchement émises ou recueillies par un écouvillonnage rectal (Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé, 1980).

I.2.3. Transport des échantillons

Les *Campylobacter* sont particulièrement sensibles aux conditions environnementales, en particulier l'oxygène atmosphérique, la déshydratation, les températures élevées et la lumière. Le transport au laboratoire et les étapes suivantes doivent donc être aussi rapides que possible (de préférence le jour même, sinon dans les 2 jours). Les prélèvements ne doivent pas être transportés sur des écouvillons secs, sinon les *Campylobacter* risquent de sécher et de mourir rapidement. Un milieu de transport approprié augmente la probabilité de maintenir les *Campylobacter* présents sur l'écouvillon dans un état cultivable. En fin, quand le délai entre le prélèvement et son traitement est long, un stockage à 4°C est conseillé (OIE, 2005).

I.2.4. Traitement des échantillons

À l'arrivée au laboratoire, les échantillons doivent être traités le plus rapidement possible, de préférence le jour d'arrivée.

Pour les prélèvements fécaux/cæcaux ou intestinaux, un prétraitement n'est pas nécessaire et ils peuvent êtreensemencés directement sur milieux sélectifs. Quand la méthode de filtration est utilisée, une suspension (généralement au 1/10) des fèces est faite en solution physiologique tamponnée au phosphate (PBS) et diluée de façon à ce que des gouttes de la suspension puissent être déposées sur la membrane filtrante (OIE, 2005).

Si la culture des *Campylobacter* est réalisée directement à partir du prélèvement, on parlera d'isolement direct. Si elle est réalisée après une phase d'enrichissement, on parlera d'isolement indirect.

① Isolement direct

Selon la norme ISO 10272, pour les produits suspectés de contenir une quantité importante de *Campylobacter*, procéder à un isolement direct en ensemencant la suspension mère non incubé sur la surface de la gélose Karmali et d'un autre milieu. Puis incubé à 42 °C en atmosphère

microaérophile, et examiner après 48 heures, 72 heures voire 5 jours, pour contrôler s'il y a présence de colonies présumées être des *Campylobacter* (AFNOR, 1995).

② **Enrichissement**

Cette phase d'enrichissement permet d'augmenter le nombre de *Campylobacter* dans le milieu. Elle favorise la détection des *Campylobacter* dans les prélèvements où ces bactéries sont en faible nombre, ou stressées et/ou en présence d'une flore compétitive abondante.

L'enrichissement est donc recommandé pour les prélèvements d'environnements (Newell, Shreeve et al., 2001). En plus, selon la norme ISO 10272, il consiste à ensemencer la prise d'essai dans l'un des deux milieux d'enrichissement liquides suivants ; bouillon de Preston ou bouillon de Park et Sanders, puis incubé en atmosphère microaérophile à 42°C pendant 18 h pour le bouillon de Preston, et à 32°C pendant 4h ,puis à 37°C pendant 2 heures et en fin à 42°C pendant 40 à 42 heures pour le bouillon de Park et Sanders (AFNOR, 1995).

I.2.5. Techniques de culture sélective des *Campylobacter*

Deux possibilités existent pour cultiver sélectivement les *Campylobacter* : soit en utilisant des milieux sélectifs soit on fait recours à la technique de la filtration passive.

I.2.5.1. La Filtration passive

La filtration passive évite l'utilisation de milieux sélectifs et est de ce fait très utile pour l'isolement des espèces de *Campylobacter* plus sensibles aux antibiotiques. Cette méthode a été développée par Steele et McDermott (Steele et McDermott, 1984, cité par OIE, 2005).

Pour la filtration passive, les fèces sont mélangées avec le PBS (dilution au 1/10e environ) pour préparer une suspension. Environ 100 µl 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. 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 (OIE, 2005).

I.2.5.2. Milieux sélectifs pour isolement

De nombreux milieux sont d'usage courant pour la culture de *Campylobacter* spp. les milieux sélectifs peuvent être divisés en 2 grandes catégories : les milieux contenant du sang et les milieux contenant du charbon. Les composants du sang et le charbon permettent d'éliminer les dérivés oxygénés, la sélectivité des milieux dépend des antibiotiques utilisés.

Les céphalosporines sont utilisées parfois en combinaison avec d'autres antibiotiques (par exemple vancomycine, triméthoprim).

La cycloheximide et récemment, plus souvent l'amphotéricine B, sont utilisées pour inhiber les levures et les moisissures (Martin et al., 2002.).

La différence entre les différents milieux d'isolement réside dans leur capacité à inhiber la flore compétitrice. En effet, tous les agents sélectifs permettent la croissance de *C. jejuni* et *C. coli*, mais il n'existe pas de milieu disponible qui permette de cultiver *C. jejuni* et inhibe *C. coli* ou inversement. En règle générale, les autres espèces de *Campylobacter* (par exemple *C. lari*, *C. upsaliensis*, *C. helveticus*, *C. fetus* et *C. hyointestinalis*) sont aussi capables de croître sur la plupart des milieux, en particulier à la température moins sélective de 37°C (OIE, 1995)

- Parmi les milieux solides sélectifs contenant du sang on cite :
- ➔ Gélose de Preston, Gélose de Skirrow, Gélose de Butzler, Campy-cefex.
- Parmi les milieux solides sélectifs contenant du charbon on cite:
- ➔ mCCDA (milieu gélosé modifié au charbon, à la céfoperazone et au désoxycholate).
- ➔ Gélose Karmali ou CSM (Karmali et al., 1986).
- ➔ Gélose CAT agar, favorisant la croissance de *C. upsaliensis*. (Aspinall et al., 1993)

La composition du milieu d'enrichissement de Preston et de 3 milieux sélectifs (Skirrow, Karmali et Butzler) est indiquée dans le tableau (IV).

Les différentes procédures entreprises pour l'isolement des *Campylobacter* sur milieu sélectif sont les suivantes ;

a) **Inoculation du milieu sélectif**

Pour les échantillons qui ne nécessitent pas d'enrichissement, soit une petite quantité est étalée directement (à l'aide d'une anse) sur un milieu sélectif solide pour faciliter l'obtention de colonies isolées, soit on prépare une suspension mère par dilution de 1g de fiente dans 10 ml de l'eau physiologique stérile à 0,9% (dilution 1/10), puis à l'aide d'un écouvillon à embout en coton ou d'une anse de platine, onensemence la surface de la gélose sélective. Alors que pour les écouvillons, on lesensemence directement sur la surface de la gélose sélective

b) **Incubation**

b.1) **Atmosphère**

Des conditions adéquates d'atmosphère microaérophile peuvent être produites par diverses méthodes. Dans certains laboratoires, des évacuations répétées du gaz présent dans la jarre suivies d'un remplacement de l'atmosphère par des gaz en bouteille sont utilisées. Des trousse de production de gaz sont disponibles dans le commerce. Des incubateurs à atmosphère variable sont plus adaptés si de grands nombres de cultures doivent être réalisés (OIE, 2005).

b.2) Température d'incubation

Les milieux peuvent être incubés à 37°C ou à 42°C, mais il est courant d'incuber à 42°C pour minimiser la croissance des contaminants et favoriser la croissance de *C. jejuni* et *C. coli*.

b.3 Durée d'incubation

La croissance de *C. jejuni* et *C. coli* est d'ordinaire visible sur milieu solide en 24 à 48 h à 42°C. Le nombre d'échantillons supplémentaires positifs après incubation prolongée étant très bas, une durée d'incubation de 48 h est recommandée pour le diagnostic de routine.

c) Identification des *Campylobacter***c.1) Aspect des cultures**

Sur la gélose Karmali, les colonies caractéristiques sont grises, humides et plates, avec une tendance à l'étalement (AFNOR, 1995) (figure 11).

Sur les géloses Butzler et Skirrow les colonies caractéristiques apparaissent grises à brunes, et peuvent être de tailles différentes sur les deux milieux (AFNOR, 1995)

c.2) Identification au microscope

À l'état frais, *Campylobacter jejuni* présente une mobilité en vol de moucheron, avec des mouvements saccadés, et des frétillements.

À la coloration de Gram, on observe des formes vibrioïdes et coccoïdes (Véron et Fauchère, 1989, cité par Dromigny, 2007).

La figure 12 montre schématiquement l'aspect de *Campylobacter jejuni* ainsi que les bactéries voisines (*Campylobacter fetus* subsp. *fetus*) à la coloration de Gram.

Tableau IV: Composition des principaux milieux solides et liquides pour les *Campylobacter* thermotolérants d'après Corry, Post et al. (1995)

	Milieu de Base	Système Antioxydant	CFZ (mg/l)	Polymyxine B ou Colistine (C) (UI)	Rifampicine (UI)	Antifongique (mg/l)	TMP mg/l
Preston	Bouillon nutritif	5% sang de CV Lysé	-	5000	10	Cycloheximide 50	-
Skirrow	Gélose au sang	7% sang de CV Lysé	-	2500	-	-	5
Karmali	Gélose Colombia	4 g de charbon, 0.32g hématine 0.1g pyruvate de sodium	32	-	-	-	-
Butzler	Bouillon nutritif	5-7% de sang de mouton	15	10000	10	Amphotéricine B	-

CFZ =Céfépérazone ; TMP = triméthoprime



Figure 11: Aspect des colonies de *Campylobacter* sur gélose Karmali

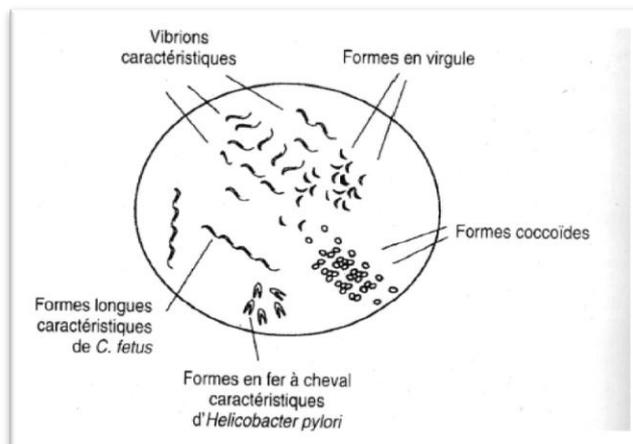


Figure 12: Représentation schématique de *Campylobacter* en coloration de Gram

c.3) L'identification phénotypique (confirmation)

Une culture pure est nécessaire pour les tests de confirmation, les tests de confirmation de la présence de *Campylobacter* et leur interprétation sont donnés dans le tableau (V), des témoins positifs et négatifs doivent valider les résultats des tests de confirmation.

➤ Détection de l'oxydase

Prendre une fraction de colonie suspectée et la déposer sur un papier filtre humecté de réactif pour la recherche de l'oxydase. L'apparition d'une couleur violette ou bleu intense dans les dix secondes indique une réaction positive.

➤ Fermentation des sucres et production de sulfure d'hydrogène

Une gélose TSI = Gélose au citrate de fer et aux 3 sucres est inoculée par des stries longitudinales sur la pente et par piqûre profonde jusqu'au fond de la gélose. Incuber en atmosphère microaéroophile à 42°C pendant 24 à 48 h. L'interprétation des résultats se fait selon le tableau (VI).

➤ Croissance à 25°C

Inoculer la culture pure sur un milieu non sélectif au sang et incuber à 25°C en atmosphère microaéroophile pendant 48 h, puis on examine s'il y a une croissance ou non, les *Campylobacter* thermotolérants ne poussent pas à 25°C (OIE, 2005).

Tableau V : Tests de confirmation pour les *Campylobacter* thermotolérants

Test de confirmation	Résultat pour les <i>Campylobacter</i> thermo tolérants
Morphologie	Petits bacilles incurvés
Mobilité	Caractéristique (forte mobilité en vrille)
Oxydase	+
Glucose (TSI)	–
Lactose (TSI)	–
Saccharose (TSI)	–
Gaz (TSI)	–
Production d'H ₂ S (TSI)	– (traces de noircissement possibles en présence de <i>C. coli</i>)
Culture à 25°C	–

Tableau VI: Interprétation des résultats de la gélose TSI (AFNOR, 2004)

	Apparence	Interprétation
Culot	Jaune	Glucose positif (fermentation de glucose)
	Rouge ou inchangé	Glucose négatif (pas de fermentation de glucose)
	Noir	Formation de sulfure d'hydrogène (H ₂ S)
	Bulles ou fissures	Production de gaz à partir de Glucose
Pente	Jaune	Lactose et ou saccharose positifs
	Rouge ou inchangé	Lactose et saccharose négatifs (aucun sucre utilisé)

c.4) Identification de *Campylobacter* au niveau de l'espèce

On trouve plusieurs espèces de *Campylobacter* capables de se multiplier à une température de 42°C, il a donc fallu trouver des tests permettant d'identifier ces espèces. D'ordinaire on est capable de différencier *C. jejuni* des autres espèces par sa particularité à pouvoir hydrolyser l'hippurate. L'existence de souches de *C. jejuni* négatives pour le test de l'hippurate a été décrite.

D'autant plus, certaines souches de *C. lari* sembleraient être en mesure également d'hydrolyser l'hippurate (Moor, 2002, cité par Thomas, 2009). C'est pourquoi il a été nécessaire de développer d'autres tests comme le test de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la cefalotine.

Le tableau (VII) montre quelques caractéristiques phénotypiques des espèces les plus importantes de *Campylobacter* thermotolérants. La sensibilité à l'acide nalidixique était une des caractéristiques les plus utilisées, mais elle risque de poser des difficultés d'interprétation du fait de l'augmentation des souches de *C. jejuni* et *C. coli* résistantes à l'acide nalidixique et de l'isolement

de génogroupes de *C. lari* sensibles à l'acide nalidixique, les résultats du diagnostic d'espèce devraient être confirmés à l'aide de témoins positifs et négatifs définis (OIE, 2005).

c.4.1.) Détection de l'hydrolyse de l'hippurate

Suspendre le matériel prélevé à l'aide d'une anse à partir d'une colonie suspectée dans 400 µl d'une solution d'hippurate de sodium à 1 %.

Incuber à 37°C pendant 2 h, puis ajouter lentement 200 µl d'une solution de ninhydrine à 3,5 % sur le côté du tube de manière à former une couche supérieure. Incuber de nouveau à 37°C pendant 10 min et lire la réaction. Réaction positive : violet sombre/bleu. Réaction négative : absence de changement de couleur ou gris (OIE, 2005).

c.4.2.) Détection de l'activité catalase

A l'aide d'une anse de platine, Une colonie bien isolée est déposée sur une lame porte-objet propre avec une goutte d'eau oxygénée à 3%, la présence de catalase est révélée par un dégagement gazeux sous forme de bulles dans les 30 secondes (AFNOR, 1995),

Le genre de *Campylobacter* est composé de deux groupes : l'un catalase positive contenant notamment *C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari*, l'autre catalase négative contenant à titre d'exemple *C. upsaliensis* (E. Dromigny, 2007).

I.3. Détection moléculaire de *Campylobacter*

En raison des difficultés décrites précédemment lors de l'utilisation des caractères biochimiques pour l'identification, il a été nécessaire de développer une autre méthode, cette fois ci basée sur l'amplification du génome bactérien : la PCR (Polymerase Chain Reaction). En effet, il a été défini de nombreuses amorces spécifiques du genre *Campylobacter* et des espèces *C. jejuni* et *C. coli* (Gonzalez et al., 1997; Lawson et al., 1997).

Tableau VII: Caractéristiques phénotypiques de base des principaux *Campylobacter* thermotolérants

Caractéristique	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>
Hydrolyse de l'hippurate	+	-	-	-
Catalase	+	+	+	- ou faible
Acétate d'indoxyl	+	+	-	+
Céphalothine	R	R	R	S

I.4. Épreuves sérologiques

Bien que la colonisation intestinale, symptomatique ou non, soit associée à une réponse en anticorps circulants et au niveau des muqueuses, il n'existe pas d'épreuve sérologique validée

développée pour le dépistage des mammifères ou des oiseaux infectés. Cependant, dans le cadre des manifestations post infectieuse, il y a un recours à certaines épreuves sérologiques tels que la fixation de complément et les essais immuno-enzymatiques (ELISA) (Bolla, 2008). C'est bien que les antigènes les plus communément utilisés comprennent la flagelline et une série de protéines périphériques de surface appelées protéines PEB (OIE, 2005)

I.5. Méthode de détection dans les aliments

En raison du grand nombre de milieux d'enrichissement et d'isolement existants pour *Campylobacter*, de nombreuses combinaisons sont possibles. Il existe cependant une méthode de référence normalisée pour la détection des *Campylobacter* dans les aliments : la norme NF-ISO 10272 :1995. (Voir figure 13).

II. TYPAGE DE CAMPYLOBACTER

II.1. Méthodes phénotypiques utilisées pour le typage de *Campylobacter*

II.1.1. Biotypage

Cette technique de typage consiste à déterminer les caractères biochimiques des isolats étudiés. La première grande distinction entre les différentes espèces de *Campylobacter* est fondée sur la présence ou non d'une catalase. La grande majorité des *Campylobacter* sont catalases positives, cependant, *C. upsaliensis*, qui fait partie des *Campylobacter* thermotolérants peut apparaître catalase négative pour certaines souches. Ces tests peuvent être complétés par l'étude de la croissance à différentes températures ou la résistance à certains antibiotiques. Skirrow et Benjamin en 1980 ainsi que Lior en 1984 proposent des schémas de biotypages basés sur des tests biochimiques simples (Peyrat, 2008).

Il existe également une galerie API CAMPY® commercialisée par Biomerieux permettant l'identification en 24 heures des *Campylobacter* à l'origine d'entérite chez l'homme.

II.1.2. Sérotypage

Le sérotypage est une technique de typage qui permet de distinguer les différents individus d'une population en groupes présentant un jeu commun d'antigènes. Pour *Campylobacter* il existe trois techniques principales de sérotypage, à savoir l'hémagglutination passive, l'agglutination sur lame et l'immunofluorescence directe. Mais généralement deux schémas de typage sont plus reconnus : le schéma de Penner (Penner et al., 1983, cité par Dromigny, 2007), qui utilise des antigènes thermostables mettent en évidence par des réactions d'hémagglutination passive sur globules rouges de mouton, et le schéma de Lior (Lior, et al., 1982) qui se base sur les antigènes protéiques thermolabiles

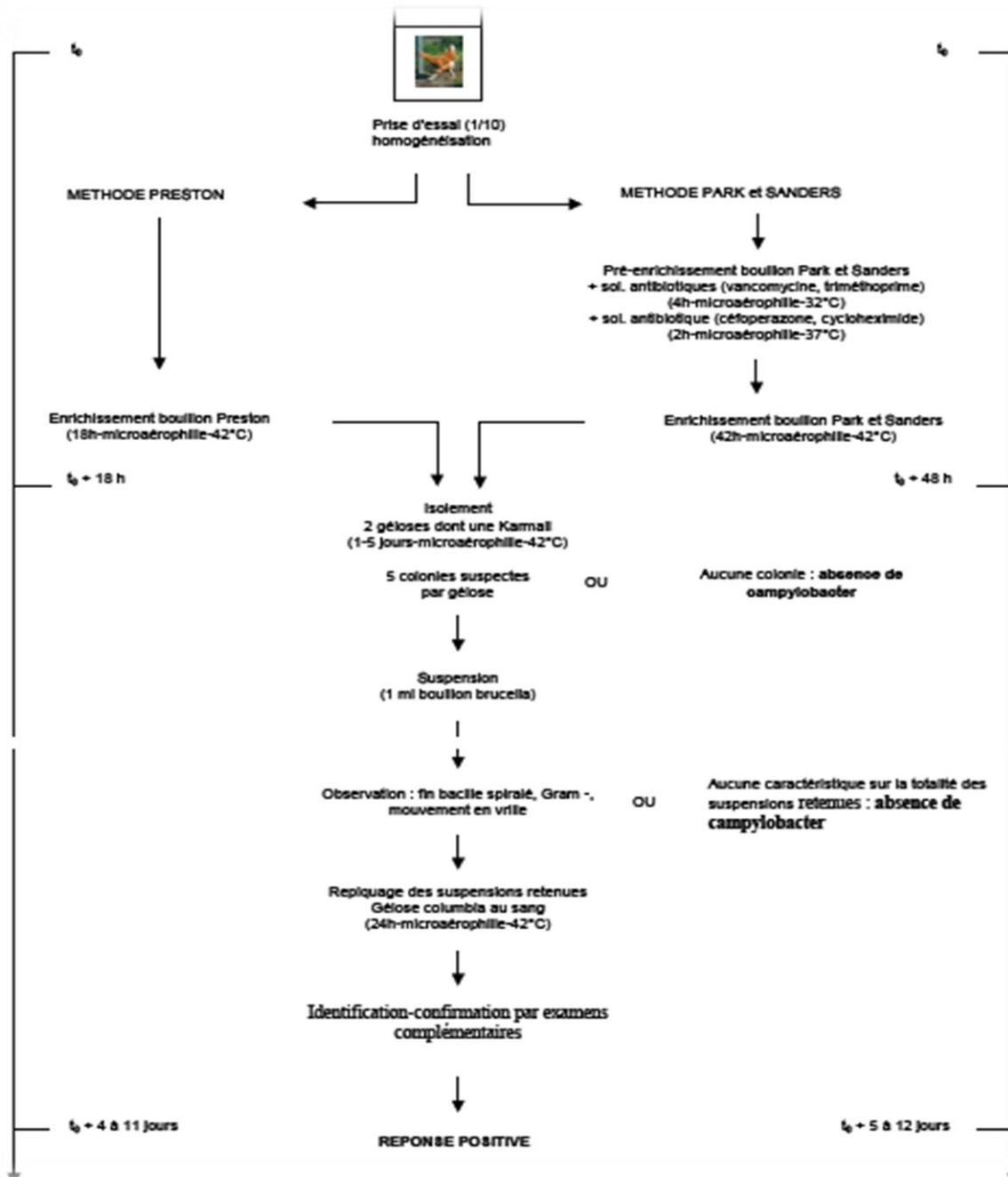


Figure 13: Représentation schématique du mode opératoire de la méthode de référence de recherche des *Campylobacter* dans les aliments (selon la norme NF-ISO 10272:1995)

II.1.3. Lysotypage : typage par les phages

La détermination du lysotype est une technique d'identification fondée sur la lyse sélective par des bactériophages. Différents schémas de lysotypage sont décrits pour *C. jejuni* et *C. fetus* (Federighi 1999, cité par Peyrat, 2008).

II.2. Méthodes génotypiques utilisées pour le typage de *Campylobacter*

Toutefois les méthodes génotypiques (typage moléculaire) ont actuellement la faveur des spécialistes. Trois méthodes ont été récemment évaluées et standardisées dans un réseau européen appelé Campynet. Il s'agit : du typage des gènes *flaA* et *flaB* par PCR-RFLP, de la macrorestriction du génome par électrophorèse en champs pulsés, et de l'« *amplified fragment length polymorphism* » (AFLP). D'autres méthodes sont également utilisables : « *randomly amplified polymorphic DNA* » (RAPD), ribotypage (Stanley et al., 1995), et séquençage « *Multi Locus Sequence Typing* » (MLST).

Les différentes méthodes de génotypage sont présentées dans le tableau (VIII)

Tableau VIII : Méthodes de typage moléculaire de *C. jejuni* et *C. coli* (AFSSA, 2003).

	Pouvoir discriminant	Facilité	Coût	Application globale
PCR-RFLP des gènes <i>flaA</i> et <i>flaB</i>	++	+++	++	+
Macro restriction par électrophorèse en champs pulsés (<i>SmaI</i> , <i>KpnI</i>)	+++	+	+	+++
Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) (Duim et al. 1999)	+++	+	+	+++
Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)	+++	+++	++	+
Ribotypage automatisé	+	++	+	++
Multi Locus Sequence Typing (MLST)	+++	+	+	+++

+++ : Très bien, ++ : moyen, + : peu attractif



MATÉRIEL ET
MÉTHODES

OBJECTIFS

En raison de l'importance portée aux *Campylobacter* thermotolérants dans le monde aussi bien en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine, et vu que la méconnaissance de la situation de la campylobactériose en Algérie, nous avons voulu par la présente étude apporter quelques données qui pourraient éclairer la situation de cette zoonose en Algérie, tout en essayant :

1. D'apprécier le niveau de contamination de quelques élevages avicoles par les *Campylobacter* thermotolérants dans la wilaya de Batna.
2. De caractériser les souches isolées sur le plan phénotypique et d'étudier leur sensibilité aux antibiotiques.
3. D'étudier la prévalence de cette zoonose chez les malades présentant des problèmes digestifs au niveau de l'hôpital de M'sila, ainsi que la caractérisation des souches isolées sur le plan phénotypique et d'étudier leur sensibilité aux antibiotiques.
4. De comparer entre deux méthodes d'isolement de *Campylobacter* thermotolérants (la technique de la filtration passive et la technique d'isolement sélectif en utilisant le milieu de Karmali).

I. PRÉSENTATION DES ÉTABLISSEMENTS

Avant d'entamer la partie matérielle et méthodes proprement dite, nous avons jugé nécessaire de faire une brève description des lieux où nous avons réalisé nos prélèvements.

I.1. Présentation des élevages

I.1.1. Fonctionnement

Tous les élevages visités se trouvent dans des zones rurales abritant des sujets provenant des éclosiers différents et élevés en bande unique jusqu'à leur abattage. La capacité de production varie d'un élevage à un autre (tableau : IX).

I.1.2. Conception

Tous les bâtiments d'élevages sont en béton, la ventilation est naturelle, les mangeoires et les abreuvoirs sont installés dans tous les bâtiments. Par ailleurs, les litières sont sous forme de sciures de bois, généralement les conditions d'élevage sont respectées sauf dans les élevages 2 et 12.

II. MATÉRIELS

II.1. Matériel de laboratoire

Tout le matériel utilisé pour les prélèvements et pour l'analyse est mentionné en annexe (i).

II.2. Échantillonnage

Notre étude a été réalisée dans la région de Batna pour les prélèvements aviaires, et dans la région de M'sila pour les prélèvements humains, elle s'est déroulée durant la période allant du mois

de Juin 2011 jusqu'au mois de Mars 2012. L'analyse des échantillons a été faite dans le laboratoire de microbiologie de la faculté agrovétérinaire de l'université de Batna, et du laboratoire de microbiologie de l'annexe de l'institut Pasteur de M'sila, ainsi que le laboratoire de microbiologie du CHU de Batna, Elle a porté sur 260 prélèvements aviaires et 50 prélèvements humains.

Tableau IX: Échantillonnage au niveau des élevages visités

Elevage	Localisation du bâtiment	Nombre de sujets par bâtiment	Nombre d'échantillons testé par bâtiment	Age des sujets au moment du prélèvement (jours)	Provenance de sujets (éclosoire)
Élevage 1	Chaaba	6000	20	60	Barika
Élevage 2	Hamla	6000	20	45	Barika
Élevage 3	Tazoult1	5000	20	55	El Eulma
Élevage 4	Tazoult 2	8000	20	35	El Eulma
Élevage 5	Ain Touta1	8000	20	40	Ain Touta
Élevage 6	Ain Touta 2	8000	20	42	Ain Touta
Élevage 7	Ain Touta3	6000	20	45	Ain Touta
Élevage 8	Soufiane	6000	20	40	Bir Ghbalou
Élevage 9	Soufiane	5000	20	35	Barika
Élevage 10	Timgade	6000	20	55	Barika
Élevage11	Ngaous	5000	20	40	Eulma
Élevage 12	Ain Touta	8000	20	35	Bir Ghbalou
Élevage 13	Barika	4000	20	50	Barika

II.2.1. Élevages

Deux cent soixante (260) prélèvements ont été récoltés à partir de treize bâtiments d'élevage de poulet de chair, situés dans les communes suivantes ; Chaaba, Hamla, Ain Touta, Tazoult, Barika et Soufiane. Une seule visite par lieu a été réalisée.

N.B : en réalité, au début de travail on a voulu étudier la traçabilité de cette zoonose au sein des élevages, c'est-à-dire, on fait pour chaque élevage au moins 7 visites (à j7, 14, 21, 28, 35, 42 et j49) pour étudier l'évolution de cette maladie au sein des élevages, mais malheureusement le manque des moyens ainsi que la non compréhension des éleveurs nous oblige à arrêter ce protocole.

1.1.1. Hôpital

Cinquante (50) échantillons humains ont été examinés pour la présence de *Campylobacter* au niveau de l'annexe de l'institut Pasteur de M'sila, provenant des malades souffrant des problèmes digestifs (diarrhée, douleurs abdominales ou des entérites)

La répartition des prélèvements en fonction de l'espèce est rapportée dans le tableau X.

Tableau X: Répartition des prélèvements en fonction de l'espèce

prélèvements	Nombre de prélèvements	Pourcentage (%)
Aviaires	260	84%
Humains	50	16%
Total	310	100%

III. METHODES

III.1. Méthodes de prélèvement

Les échantillons aviaires ont été récoltés aléatoirement à différents endroits du bâtiment, et cela dépend de la coopération des éleveurs. Alors que, pour les échantillons humains, les prélèvements sont issus des malades présentant des problèmes digestifs, et cela aussi dépend de la coopération des médecins.

III.1.1. En élevage (échantillons aviaires)

En se munissant des gants jetables, les techniques de prélèvement de la fiente ont été réalisées selon 3 modalités : (voir la figure 14 mentionné en annexe ii)

- 80 écouvillonnages cloacaux : des écouvillons stériles, dont l'extrémité est cotonnée, ont été utilisés pour la réalisation des prélèvements cloacaux. Le coton est humidifié par trempage dans l'eau physiologique stérile avant le prélèvement, ceci pour éviter la dessiccation trop importante pendant le transport. L'écouvillon stérile est bien inséré dans le cloaque en pratiquant des mouvements de rotation contre la muqueuse cloacale.
- 80 échantillons de fientes fraîchement émises au sol ont été aseptiquement prélevés à l'aide d'une spatule stérile et déposés dans des pots stériles et identifiés.
- 100 échantillons de fientes directement émises à partir du cloaque vers les sachets stériles, et cela par une simple pression au dessous du cloaque (directement du cloaque vers le sachet sans passage par le sol).

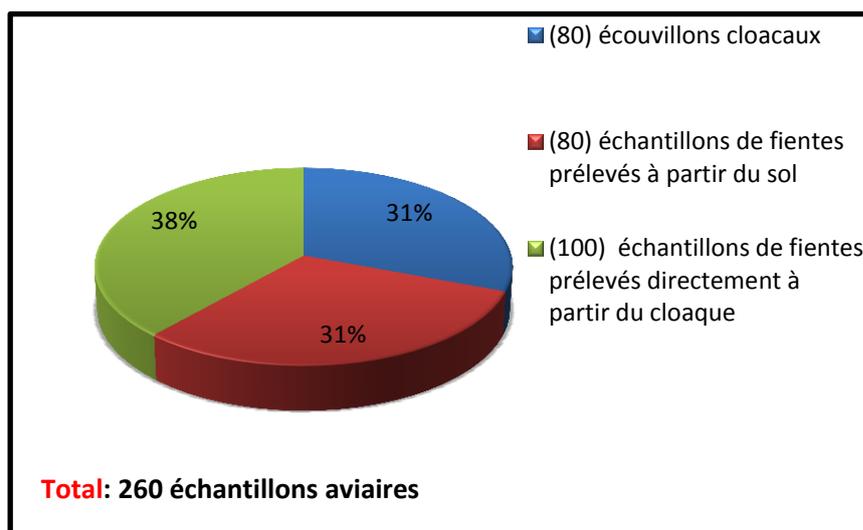
Les échantillons étaient prélevés le plus proche possible de l'abattage, c'est à dire en fin de la période d'élevage, un seul passage a été effectué en début de journée pour chaque élevage.

Le mois et la modalité du prélèvement par élevage sont mentionnés dans le tableau (XI).

Tableau(XI): Description des modalités du prélèvement aviaire par élevage

Élevages	Mois de prélèvement	Modalités de prélèvements		
		Écouvillonnage Cloacal	Fientes prélevés à partir du Sol	Fientes prélevés directement à partir de cloaque
Élevage 1	07/2011	00	00	20
Élevage 2	08/2011	10	00	10
Élevage 3	08/2011	10	10	00
Élevage 4	09/2011	10	10	00
Élevage 5	10/2011	10	05	05
Élevage 6	11/2011	10	10	00
Élevage 7	12/2011	05	15	00
Élevage 8	12/2011	00	10	10
Élevage 9	01/2012	00	10	10
Élevage 10	01/2012	10	00	10
Élevage 11	02/2012	00	10	10
Élevage 12	03/2012	05	00	15
Élevage 13	03/2012	10	00	10
Total		80	80	100

La répartition des échantillons aviaires en fonction du mode de prélèvement est schématisée par la figure 15.

**Figure 15: Répartition des échantillons aviaires en fonction du mode de prélèvement**

III.1.2. Hôpital (échantillons humains)

Les prélèvements humains ont été divisés comme suit : 25 prélèvements rectaux et 25 prélèvements sous forme des selles généralement diarrhéiques, ils proviennent des personnes présentant des symptômes digestifs, chaque écouvillon est associé à une fiche des renseignements cliniques, cette fiche collecte les informations suivantes (nom, âge, sexe et ville).

La répartition des prélèvements humains en fonction du mode de prélèvement est schématisée par la figure (16).

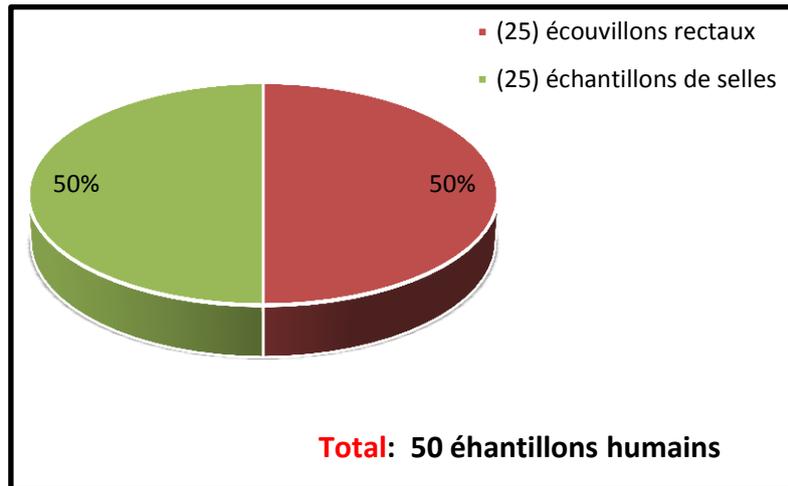


Figure16: Répartition des échantillons humains en fonction du mode de prélèvement

III.2. Transport des prélèvements

Les différents types d'échantillons ont été transportés dans une glacière à + 4°C le plus rapidement possible au laboratoire d'analyse pour éviter la dessiccation, de telle façon que le délai entre le prélèvement et l'arrivée au laboratoire n'excède pas les deux heures, le traitement des échantillons est réalisé le jour même.

III.3. Méthodes de laboratoire

L'isolement et l'identification des *Campylobacter* thermotolérants se sont déroulés au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté agrovétérinaire de l'université de Batna pour les prélèvements aviaires et au niveau du laboratoire de microbiologie de l'annexe de l'institut pasteur de M'sila. Cependant, l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie du CHU de Batna.

III.3.1. Préparation des milieux de culture

Les différents milieux de culture ont été préparés à partir des milieux de base déshydratés, de supplément d'antibiotiques et du sang de mouton.

Les milieux de culture utilisés au cours de la présente étude sont : Milieu Karmali, la gélose Columbia au sang et la gélose Muller Hinton au sang.

Les techniques de préparation des différents milieux de culture sont détaillées en annexe (iii).

1.1.2. La détection des *Campylobacter* thermotolérants

Pour toutes les étapes du protocole d'analyse des échantillons, l'incubation des milieux de culture a été réalisée dans des jarres étanches avec des sachets générateurs d'atmosphère microaérophile [(CampyGen 2.5 litre CN0025A, Oxoid) et (CampyGen Comp, CN0020C, Oxoid)], l'atmosphère microaérophile signifie un mélange gazeux de 5% O₂, 10% CO₂ et 85 % N₂.

Les différents échantillons ont été analysés selon :

- La norme internationale ISO 10272 : 1995 modifiée (AFNOR, 2004).
- Le Manuel terrestre de l'OIE 2005 et la recommandation de l'OMS (2003).

La figure 17 schématise le mode opératoire qui a été entrepris au sein du laboratoire.

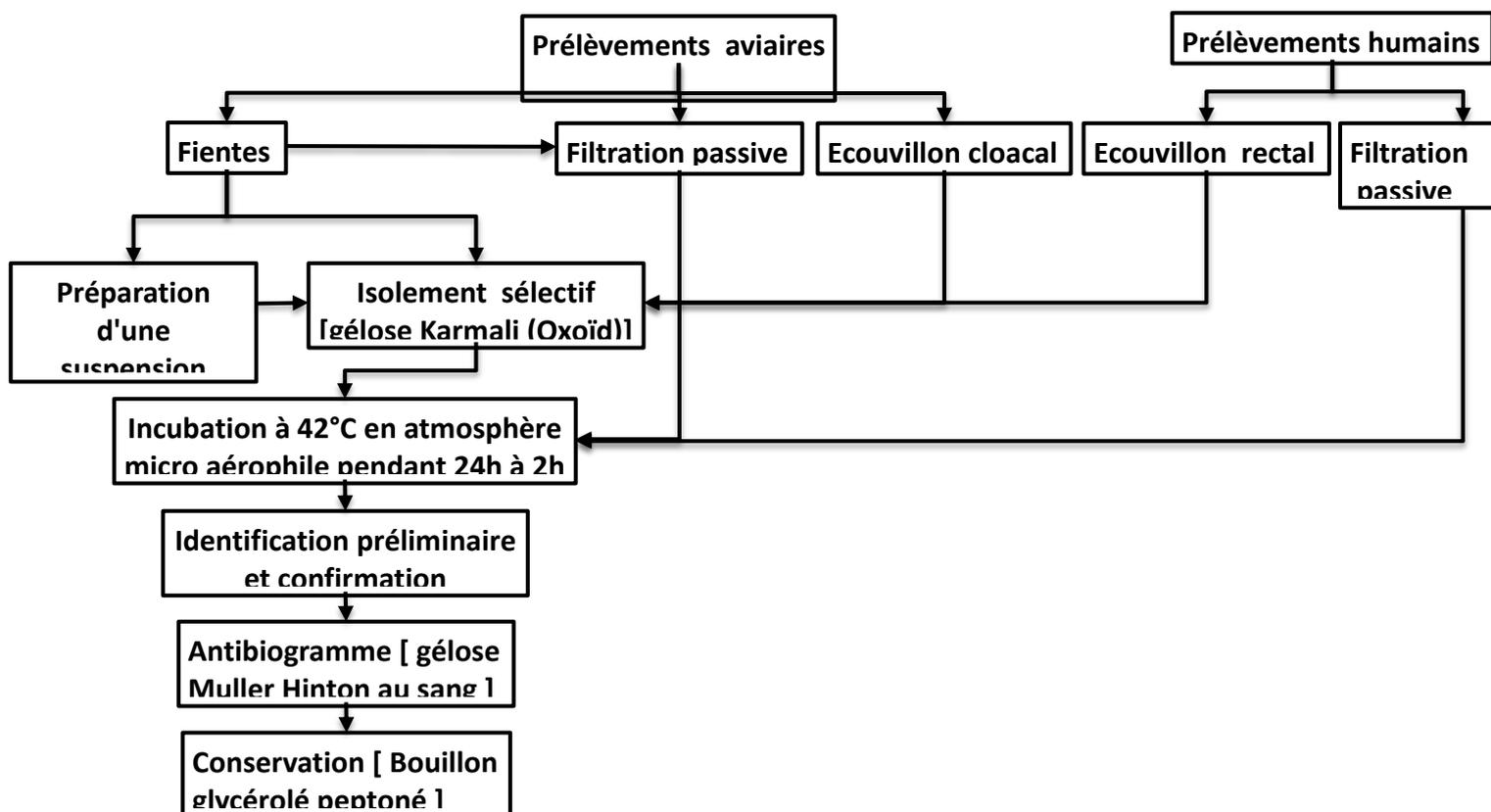


Figure 17: Représentation schématique du mode opératoire au sein du laboratoire.

III.3.2.1. Réalisation des primo cultures

❶ Ensemencement des prélèvements aviaires (fientes) :

Vu que les fientes soient considérées comme étant des produits contenant une grande quantité des *Campylobacter* thermotolérants, on a procédé à un ensemencement direct sans passer

par la phase d'enrichissement et pour déterminer la technique la plus performante pour la détection des *Campylobacter* thermotolérants, on a fait recours à 3 modalités d'ensemencements :

- ☞ Les écouvillons sont ensemencés directement sur la surface des géloses de Karmali préparées extemporanément, car la fraîcheur du milieu est un facteur clé pour la réussite d'isolement.
- ☞ Soit en utilisant une balance de précision, une petite quantité de fiente (approximativement 0,1 g) est étalée directement par épuisement sur la surface de gélose Karmali préparée extemporanément.
- ☞ Soit on prépare une suspension mère par dilution de 1g de fiente dans 10 ml de l'eau physiologique stérile à 0,9% (dilution 1/10), puis à l'aide d'un écouvillon à embout en coton ou d'une anse de platine, on ensemence la surface de gélose Karmali.

Dans les tous cas, les boîtes de gélose ensemencées sont incubées à 42°C en atmosphère microaérophile et sont examinées après 48 à 72 heures voire 5 jours pour contrôler s'il y a une présence des colonies présumées être des *Campylobacter* thermotolérants.

② Ensemencement des prélèvements humains :

Pour les prélèvements humains, selon le type de prélèvement (écouvillon ou selles diarrhéiques) on procède à une technique d'ensemencement :

S'il s'agit d'un écouvillon, on ensemence directement sur la surface de la gélose de Karmali extemporanément préparée, puis les boîtes de gélose ensemencées sont ensuite incubées à + 42°C en atmosphère microaérophile et examinées après 48 à 72 heures voire 5 jours.

S'il s'agit des selles, on procède à la technique de la filtration passive. Pour cela, les fèces sont mélangées avec le PBS (dilution au 1/10 environ) pour préparer une suspension. Environ 100 µl de cette suspension sont ensuite déposés délicatement sur une membrane avec des pores de 0,65 µm, qui a été préalablement placée à la surface d'une gélose au sang. Une incubation de à 45 minutes à 37°C. Puis, le filtre est ensuite retiré, le fluide qui a traversé le filtre est étalé à l'aide d'un étaleur et la boîte est incubée en atmosphère microaérophile à 42°C et examinée après 48 à 72 heures.

N.B : pour les élevages (E5, E6, E7 et E9), on a aussi utilisé la technique de la filtration passive sur des prélèvements de fiente fraîche. Vu que le nombre limité des membranes filtrantes, la technique a été portée sur 10 échantillons de fiente pour chacun des élevages cités.

③ Aspect des colonies de *Campylobacter* :

L'aspect des *Campylobacter* lors de la coloration de Gram est très caractéristique, ils paraissent sous forme des bacilles à Gram négatifs présentant différentes formes : incurvés en virgule, en spirale ou en S, ces formes dites vibroïdes prédominent lors des cultures jeunes, alors

que, les formes coccoïdes prédominent lors des cultures plus âgées (plus de 72 heures). L'aspect des *Campylobacter* lors de la coloration de Gram est représenté dans la figure 19.

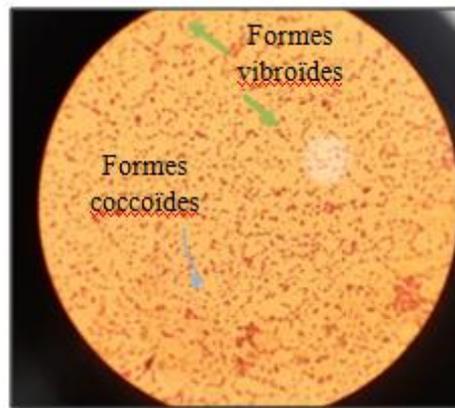


Figure 19: *Campylobacter* en coloration de Gram (Gr X100) (Photo personnelle)

N.B: on retient pour les observations ultérieures que les boîtes contenant des colonies dont les bactéries sont des bacilles incurvés à Gram négatif et dont le mouvement de déplacement en vrille est caractéristique.

III.3.2.2.2. Purification pour la confirmation

Pour obtenir des colonies de *Campylobacter* pures et bien isolées, on ensemence (repiquer) la surface de la gélose Columbia au sang par une suspension selon le protocole suivant :

On prépare une suspension à partir de la gélose de Karmali, pour cela, on met une ou deux colonies de *Campylobacter* dans un 5 ml d'eau physiologique stérile.

Extemporément, on prépare la gélose Columbia au sang, en utilisant le milieu de base, gélose Columbia (IPA) additionnée de sang de mouton défibriné, les boîtes ainsi préparées sont ensemencées par épuisement en utilisant les suspensions de *Campylobacter*, ensuite incubées à 42°C en atmosphère microaéroophile pendant 24 heures, les cultures pures obtenues sont utilisées pour les essais biochimiques.

N.B : dans le reste de l'étude, les colonies obtenues sur la gélose Columbia au sang sont appelées les colonies de confirmation.

➤ Examen de la croissance à 25°C

Le principe et le mode opératoire de cet examen sont fournis en annexe (iv).

On examine s'il y a une croissance ou non des *Campylobacter* à 25°C.

➤ Recherche de l'oxydase

Le principe du test de l'oxydase ainsi que le mode opératoire sont fournis en annexe (iv).

La réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration bleu/violette intense en 5 secondes au maximum. (Figure 20).



Figure 20: Réaction de l'oxydase positive (Photo personnelle).

➤ Ensemencement de la gélose TSI (Triple Sugar Iron)

Le principe de ce test ainsi que leur mode opératoire sont mentionnés en annexe (iv).

L'interprétation des résultats se fait selon le tableau (VI) (chapitre : méthodes de détection).

➤ Recherche de la catalase

Le principe du test de la catalase ainsi que le mode opératoire sont mentionnés en annexe (iv). La réaction positive se traduit par un dégagement gazeux sous forme de bulles dans les 30 secondes (Figure 21).

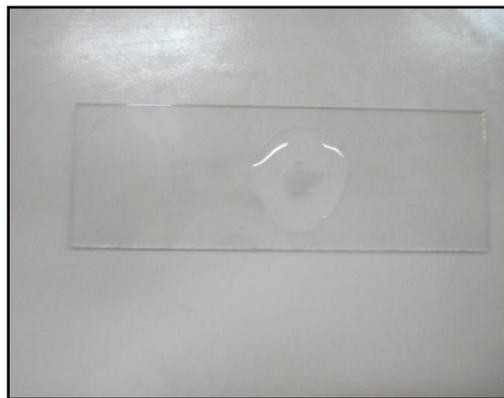
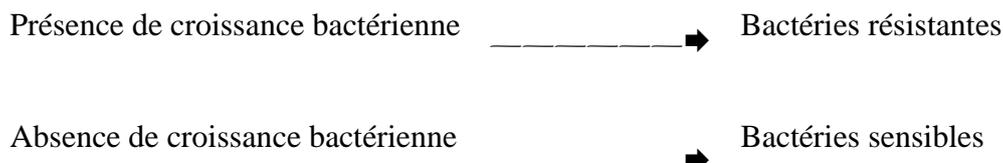


Figure 20: Réaction de la catalase positive (Photo personnelle)

➤ Recherche de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine

Le principe, le mode opératoire et la technique de ce test sont mentionnés en annexe (iv).

L'observation ou non d'une zone d'inhibition autour du disque d'acide nalidixique 30 µg et de la céfalotine 30 µg est interprétée comme suit (ISO10272, 1995) :



L'interprétation des résultats de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine se fait selon le tableau (XII).

Tableau(XII) : Interprétation des résultats de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine (AFNOR, 2004)

Antibiotiques	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>
Ac. Nalidixique	Sensible	Sensible	Résistant	Sensible
Céfalotine	Résistant	Résistant	Résistant	Sensible

III.3.3. Test de sensibilité aux antibiotiques

Pour étudier la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton avec des disques chargés d'antibiotique.

L'interprétation des résultats en catégorisation clinique, Sensible (S), Intermédiaire (I) et Résistant (R) a été faite selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM). (CA-SFM janvier 2010).

Les antibiotiques testés sont :

- liste standard : Ampicilline, Amoxicilline /ac. Clavulanique, Gentamicine, Erythromycine, Tétracycline et l'Enofloxacine
- liste complémentaire : Acide nalidixique, Chloramphénicol et la Céfalotine.

Les charges des disques, ainsi que les diamètres critiques sont mentionnées dans le tableau (XIII) mentionné en annexe (v).

Le mode opératoire de l'antibiogramme est fourni en annexe (iv).

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, chaque souche de *Campylobacter* thermotolérant est classée soit (R), (S) ou (I) (Figure 22).

III.3.4. Conservation des isolats des *Campylobacter*

La conservation donne la possibilité de repiquer les souches isolées pour réaliser des éventuelles études ultérieures, pour cela les cultures pures de *Campylobacter* sont conservées

pendant plusieurs années à -80°C en cryotubes de 1.8 ml dans un bouillon glycérolé peptoné. La composition du bouillon glycérolé peptoné est mentionnée dans l'annexe (iii).

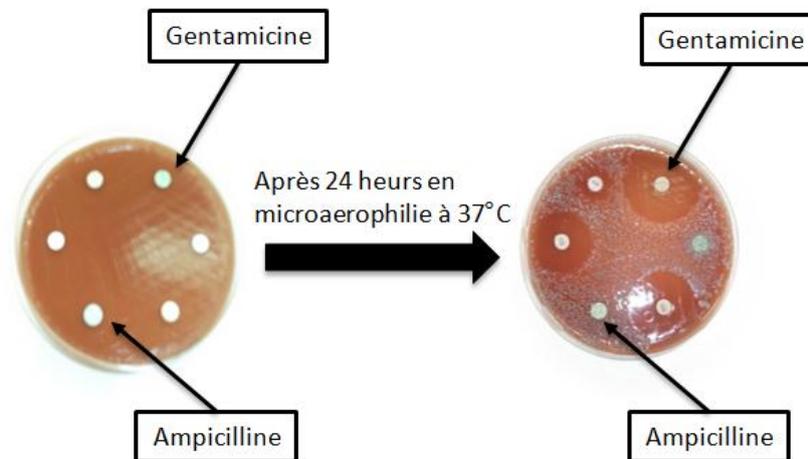


Figure 22: Exemple des résultats de l'antibiogramme d'une souche de *Campylobacter Thermotolérant* (Photo personnelle).

III.4. Méthodes d'analyse statistique

Les tests statistiques employés ont été réalisés à l'aide des logiciels suivants :

- Excel 2007 (Microsoft).
- STATISTICA version 6.0 (Statsoft).

Les résultats ont été analysés en utilisant les tests suivants :

- 🌐 Le calcul des intervalles de confiance (IC : 95%)
- 🌐 Le test de comparaison Khi-deux (χ^2) avec un risque α fixé à 5%.
- 🌐 Le test d'analyse des variances : ANOVA
- 🌐 Le calcul de coefficient de détermination (R^2)

La différence est considérée significative si la probabilité (p) est inférieure au risque α ($p < 0,05$).



RÉSULTATS

I. PRÉVALENCE DES *CAMPYLOBACTER* THERMOTOLÉRANTS

I.1. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants chez les volailles

I.1.1. Prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants dans l'ensemble des prélèvements aviaires

Sur l'ensemble de 260 prélèvements aviaires, nous avons isolés 172 souches de *Campylobacter* thermotolérants, soit un taux d'isolement de (66%), ce qui implique que 88 prélèvements (34%) sont rapportés négatifs. En plus, parmi les 13 élevages visités durant notre étude, aucun élevage n'a été qualifié indemne de *Campylobacter* thermotolérant, et l'éventail de contamination des élevages varie de 20 % à 100 %.

Toutes les espèces de *Campylobacter* thermotolérant ont été isolées : *C. jejuni*, *C. coli*, *C.lari* et *C. upsaliensis* avec une nette prédominance de *C.jejuni* et *C.coli*.

La prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des élevages est représentée dans le tableau (XIV).

Tableau (XIV) : La prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants dans les fientes

Type de prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre de Prélèvements positifs	Prévalence	Intervalle de Confiance
Fientes	260	172	66%	[60% ;72%]

I.1.2.Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants par élevage

La répartition des 172 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des échantillons aviaires dans les 13 élevages visités est représentée par la figure 23

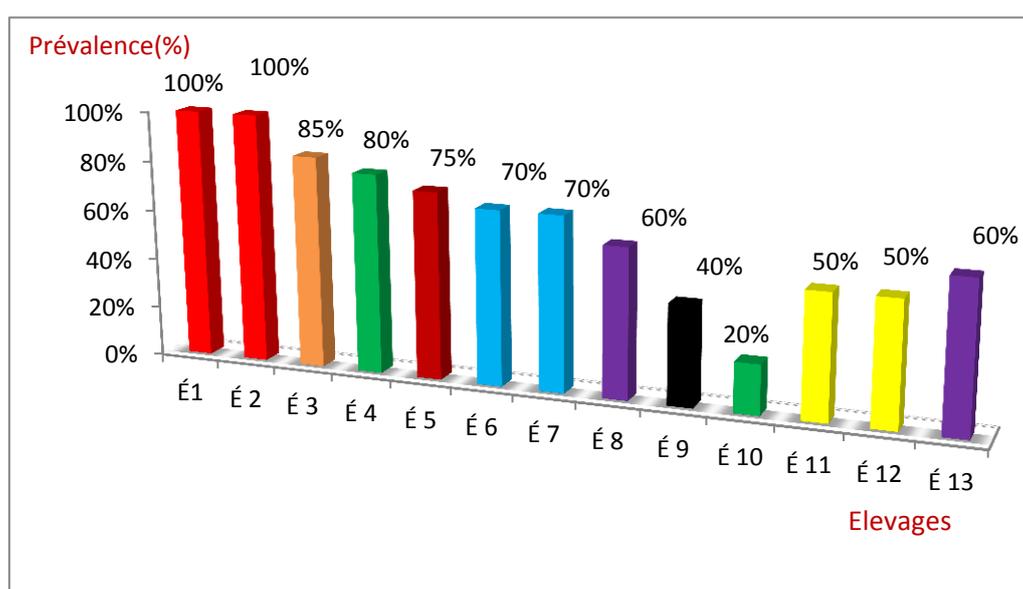


Figure 23 : La prévalence des *Campylobacter* thermotolérants par élevage.

La plus grande prévalence (100%) a été constatée au niveau des élevages E1 (Chaaba) et E2 (Hamla), alors que la plus faible (20%) prévalence a été constatée au niveau de l'élevage 10 (Timgad).

I.1.3. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants en fonction de temps

N.B. 1 : on n'est pas arrivé à faire des prélèvements pendant les mois suivants : Avril, Mai et Juin en raison de l'indisponibilité du matériel.

N.B. 2 : on a divisé les mois par saison comme suit :

- ☞ Été : juin, juillet. Août
- ☞ Automne : Septembre, Octobre, Novembre
- ☞ Hiver : Décembre, Janvier, Février.
- ☞ Printemps : Mars, Avril, Mai.

Les prévalences de *Campylobacter* thermotolérants stratifiées par saison sont rapportées dans le tableau (XV).

Tableau (XV) : Les prévalences des *Campylobacter* thermotolérants stratifiées par saison

	Été	Automne	Hiver	Printemps
Élevage concerné	E1+E2+E3	E4+E5+E6	E7+ E8+ E9+ E10	E11+E12+E13
Taux de contamination	95%	75%	47,5%	53,3%
Intervalle de confiance	[89,5% ; 100%]	[64% :86%]	[36,6% ; 58,4%]	[40,7% ; 65,9%]

Après la stratification des prévalences observées par saison, on a constatée qu'il y a des variations saisonnières, c'est bien que les prévalences les plus élevées sont constatés en été, avec un taux de contamination globale de (95%) [IC : 89,5% ; 100%] et cela concerne les élevages (E1+E2+E3). D'autre part, les prévalences les plus faibles sont constatées en hiver, avec un taux de contamination globale de (47,5%) [IC : 36,6% ; 58,4%], et cela concerne les élevages (E7+E8+E9 +E10). En plus, les prévalences constatées en automne sont relativement élevées avec un taux de contamination globale de (75%) [IC : 64% :86%].

La différence entre les taux de contamination des élevages après la stratification des résultats par saison est statistiquement significative ($p < 0,05$).

D'autre part, la différence entre les taux de contaminations intra-saisonnières n'était pas statistiquement significative en été (E1, E2 et E3), en automne (E4, E5 et E6), et en printemps (E11, E12 et E13) ($p > 0,05$), ce qui signifie qu'il n'y a pas des variations intra-saisonnières pendant ces

saisons. En revanche, en hiver on constate qu'il y a des variations intra-saisonniers parce que la différence entre les taux de contamination enregistrés est statistiquement significative ($p < 0,05$).

I.1.4. Les prévalences des *Campylobacter* thermotolérants stratifiées par l'âge des volailles

Les prévalences des *Campylobacter* thermotolérants stratifiées en fonction de l'âge des troupeaux sont représentées par la figure 24 et rapportées dans le tableau (XVI).

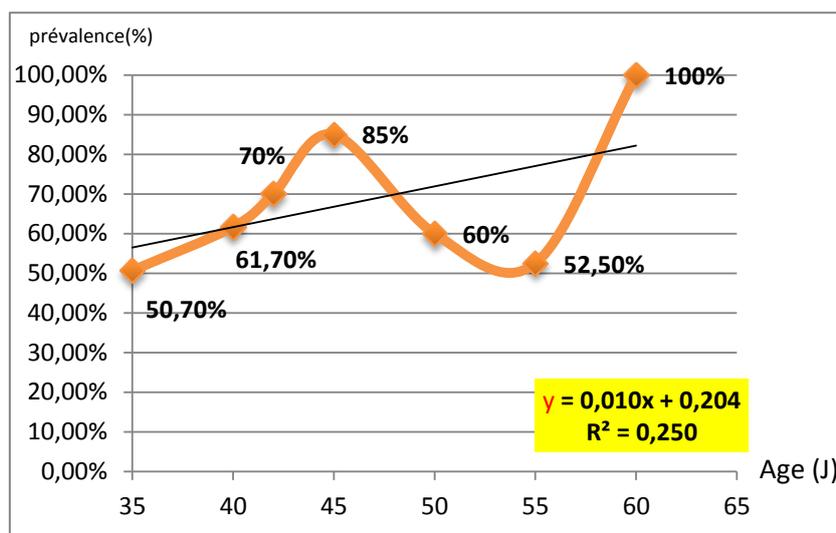


Figure 24 : La prévalence des *Campylobacter* thermotolérants stratifiée en fonction de l'âge des troupeaux.

Tableau (XVI) : La prévalence des *Campylobacter* thermotolérants stratifiées en fonction de l'âge des troupeaux.

Élevages	Age des sujets	Nombre de prélèvements	Nombre de prélèvements (+)	Prévalence	Intervalle de confiance
E4+ E9 + E12	35 Jours	60	34	56,7%	[44% ; 69%]
E5 + E8+ E11	40 Jours	60	37	61,7%	[49% ; 74%]
E6	42 Jours	20	14	70%	[50 % ; 90%]
E2 + E7	45 Jours	40	34	85%	[74% ; 96%]
E13	50 Jours	20	12	60%	[38% ; 81%]
E10 + E3	55 Jours	40	21	52.5%	[37% ; 68%]
E1	60 Jours	20	20	100%	[100% ; 100%]

Au cours de la présente étude, les expérimentations ne concernent que les troupeaux de poulet de chair âgés de 35 jours au minimum, le taux de contamination le plus élevé est observé chez les troupeaux E1 et E2 âgés respectivement 60 et 45 jours, et le plus faible taux de contamination est observé chez les troupeaux E10 âgé 55 jours.

Il y a une relation linéaire entre les taux de contamination et la progression de l'âge des poulets de 35 à 45 jours. (35j ➔ 40j ➔ 45j) et (56,7% ➔ 61,7% ➔ 85%). Puis on a observé des taux de contamination plus faible au niveau des troupeaux plus âgés :

(50j ➔ 55j) et (60% ➔ 52,5%). Enfin, on a constaté une recrudescence de la prévalence (100%) pour le troupeau E1 âgé 60 jours.

Globalement, en stratifiant les prévalences en fonction de l'âge et après la lecture de la courbe de tendance (figure 28), on a trouvé que le taux de contamination est moyennement corrélé avec l'âge des troupeaux. En plus, pour des troupeaux ayant le même âge (ex; E5, E8 et E11 : 40 jour), la différence entre les taux de contamination est statistiquement non significative ($p > 0,05$).

I.1.5. Les prévalences des *Campylobacter* thermotolérants stratifiées en fonction de la taille du troupeau.

Les prévalences des *Campylobacter* thermotolérants stratifiées en fonction de la taille des troupeaux sont représentées par le tableau (XVII).

Tableau (XVII) : Les prévalences des *Campylobacter* thermotolérants stratifiées en fonction de la taille des troupeaux.

Élevages	Taille de troupeau	Nombre de prélèvements	Nombre de prélèvements positifs	Prévalence	Intervalle de confiance
E13	4000	20	12	60 %	[38% ; 81%]
E3+E9 E11	5000	60	35	58,3 %	[46% ; 71%]
E1+E2+E7+E8+E10	6000	100	70	70%	[61% ; 79%]
E4+E5+E6+E12	8000	80	55	68,75 %	[58% ; 79%]

Au cours de la présente étude, nous avons remarqué une densité élevée des poulets de chair dans les élevages visités (4000 à 8000) pour des superficies relativement réduites.

Après la stratification des taux de contamination en fonction de la taille du troupeau, on a observé que le plus grand taux de contamination (100%) et le plus petit taux (20%) sont observés au niveau des troupeaux de la même taille (6000 sujets) (E1, E2 et E10).

La différence entre les différents taux de contamination rapportés en fonction de la taille des troupeaux est statistiquement non significative ($p > 0,05$)

I.1.6. Les Prévalences des *Campylobacter* thermotolérants stratifiées par la modalité de prélèvement

Comme on a mentionné précédemment dans la partie des méthodes, les prélèvements sont réalisés selon trois modalités : soit par un écouvillonnage cloacal, soit par un prélèvement des fientes fraîches à partir du sol ou encore par un prélèvement des fientes directement à partir du cloaque. En plus, pour 40 échantillons de fiente on a procédé à une technique de la filtration passive pour essayer de mettre en évidence la présence de quelques souches de *Campylobacter* thermotolérants sensibles aux antibiotiques inclus dans le milieu sélectif de Karmali.

a) Prélèvement par écouvillonnage cloacal

Le tableau (XVIII) montre les prévalences des *Campylobacter* thermotolérants constatées à partir des échantillons prélevés par un écouvillonnage cloacal.

Tableau (XVIII) : la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants à partir des échantillons prélevés par un écouvillonnage cloacal.

Elevages	Nombre d'écouvillons testés par élevage	Nombre d'écouvillons rapportés positifs	Prévalence (%)	Intervalle de confiance(IC)
E 2	10	10	100 %	[100% ; 100%]
E 3	10	10	100 %	[100% ; 100%]
E 4	10	08	80 %	[55% ; 100%]
E 5	10	07	70 %	[42% ; 98%]
E 6	10	08	80 %	[55% ; 100%]
E 7	05	04	80 %	[45% ; 100%]
E10	10	02	20 %	[- 4 % ; 44%]
E12	05	04	80 %	[45% ; 100%]
E13	10	07	70 %	[42% ; 98%]
Total	80	60	75 %	[65 % ; 85%]

On observe que la prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants est de 75% dans les élevages où on a utilisé la technique d'écouvillonnage cloacal, c'est bien que, le taux le plus élevé est de 100%, alors que le taux le plus faible est de 20%.

b) prélèvement des fientes directement à partir du cloaque

Le tableau (XIX) montre la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants constatée dans les fientes prélevées directement à partir du cloaque.

Tableau (XIX) : la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les fientes prélevées directement à partir du cloaque

Fientes prélevées à partir du cloaque	Nombre de prélèvements testés par élevage	Nombre de prélèvements rapportés positifs	Prévalence (%)	Intervalle de confiance(IC)
E1	20	20	100 %	[100%;100%]
E2	10	10	100 %	[100%;100%]
E5	05	05	100 %	[100%;100%]
E8	10	07	70 %	[42% ; 98%]
E9	10	04	40 %	[10% ; 70%]
E10	10	02	20 %	[- 4% ; 44%]
E11	10	06	60 %	[30% ; 90%]
E12	15	06	40 %	[15% ; 65%]
E13	10	05	50 %	[19% ; 81%]
Total	100	65	65 %	[56% ; 74%]

On observe que la prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants est de 65% dans les élevages où on a utilisé des fientes prélevées directement à partir du cloaque, c'est bien que, le taux le plus élevé est de 100%, alors que le taux le plus faible est de 20%.

c) prélèvement de fientes à partir du sol

Le tableau (XX) montre la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants constatée au niveau des fientes prélevées à partir du sol.

Tableau (XX): La prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les fientes prélevées à partir du sol.

Fientes prélevées à partir du sol	Nombre de prélèvements testés par élevage	Nombre de prélèvements rapportés positifs	Prévalence (%)	Intervalle de confiance(IC)
E3	10	07	70 %	[42% ; 98%]
E4	10	08	80 %	[55% ; 100%]
E5	05	03	60 %	[17% ; 100%]
E6	10	06	60 %	[30% ; 90%]
E7	15	10	66,7 %	[43% ; 90%]
E8	10	05	50 %	[19% ; 81%]
E9	10	04	40 %	[10% ; 70%]
E11	10	04	40 %	[10% ; 70%]
Total	80	47	58,75 %	[48% ; 69%]

On observe que la prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants est de 58,75 % dans les élevages où on a utilisé des fientes prélevées à partir du sol. C'est bien que, le taux le plus élevé est de 80%, alors que le taux le plus faible est de 40%.

I.1.7. La comparaison entre les modalités du prélèvement en point de vue de rendement d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants.

Le tableau (XXI) montre la prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants pour chacune des modalités de prélèvement employées au cours de notre étude.

Tableau (XXI): Différents taux d'isolement en fonction de modalité de prélèvement

Modalités	Nombre des prélèvements	Nombre des prélèvements positifs	Prévalence (%)	Intervalle de confiance (IC)
Écouvillonnage cloacal	80	60	75%	[66% ; 84%]
Fientes à partir du sol	80	47	58,75 %	[48% ; 69%]
Fientes directement à partir du cloaque	100	65	65%	[56% ; 74%]
Total	260	172	66,1%	[60% ; 72%]

Le plus grand taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants (75%) a été enregistré en utilisant la technique d'écouvillonnage cloacal, alors que le plus faible taux d'isolement (58,75%) a été enregistré en utilisant des fientes fraîches prélevées à partir du sol.

On a observé que la différence entre les taux d'isolement constatés à la suite de l'utilisation de trois modalités de prélèvement différentes est statistiquement non significative ($p > 0,05$).

Le tableau (XXII) montre la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants constatée dans les fientes en totalité (prélevées à partir du sol et/ou directement à partir du cloaque) et après un écouvillonnage cloacal.

La prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants est de 62,2% dans les élevages où on a utilisé des fientes (112/180). C'est bien que, le taux le plus élevé est de 80%, alors que le taux le plus faible est de 20%. Après l'analyse du tableau (XXII), on trouve que le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants à partir des échantillons prélevés par un écouvillonnage cloacal est supérieur à celui constaté à partir des fientes.

La différence entre les deux taux d'isolement constatés après un écouvillonnage cloacal (75%) et par prélèvement de fient (62,2%) est statistiquement significative ($p < 0,05$).

Tableau (XXII): Comparaison entre les taux d'isolement de *Campylobacter* thermotolérants constatés à partir des fientes et des écouvillons

	Fientes			Ecouvillonnage		
	nombre des échantillons testés	nombre des échantillons positifs	Prévalence	nombre des échantillons testés	nombre des échantillons positifs	Prévalence
E1	20	20	100%	00	00	0%
E2	10	10	100%	10	10	100%
E3	10	07	70%	10	10	100%
E4	10	08	80%	10	08	80%
E5	10	08	80%	10	07	70%
E6	10	06	60%	10	08	80%
E7	15	10	66,7%	05	04	80%
E8	20	12	60%	00	00	00%
E9	20	08	40%	00	00	0%
E10	10	02	20%	10	02	20%
E11	20	10	50%	00	00	0%
E12	15	06	40%	05	04	80%
E13	10	05	50%	10	07	70%
Total	180	112	62,2%	80	60	75%

4.1.8. La prévalence des *Campylobacter* thermotolérants constatée après l'utilisation de la technique d'isolement de la filtration passive.

En restreignant notre étude aux élevages (E5, E6, E7et E9), on a examiné la présence des *Campylobacter* thermotolérants à partir des fientes en utilisant simultanément : l'isolement par la technique de la filtration passive ainsi que par l'utilisation d'un milieu sélectif de Karmali.

Le tableau (XXIII) montre la prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants à partir des fientes en utilisant la technique de la filtration passive ainsi que le milieu sélectif de Karmali.

Tableau (XXIII) : La prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants à partir des fientes en utilisant la technique de la filtration passive et le milieu sélectif de Karmali

	Milieu sélectif de Karmali			La filtration passive		
	nombre des échantillons testés	nombre des échantillons positifs	Prévalence	nombre des échantillons testés	nombre des échantillons positifs	Prévalence
E5	10	08	80%	10	07	70%
E6	10	06	60%	10	06	60%
E7	15	10	66,7%	10	06	60%
E9	20	08	40%	10	07	70%
Total	55	32	58,1%	40	26	65%

La figure 25 compare entre les deux taux d'isolement de *Campylobacter* thermotolérants obtenus par l'isolement sélectif sur le milieu de Karmali et par la technique de la filtration passive.

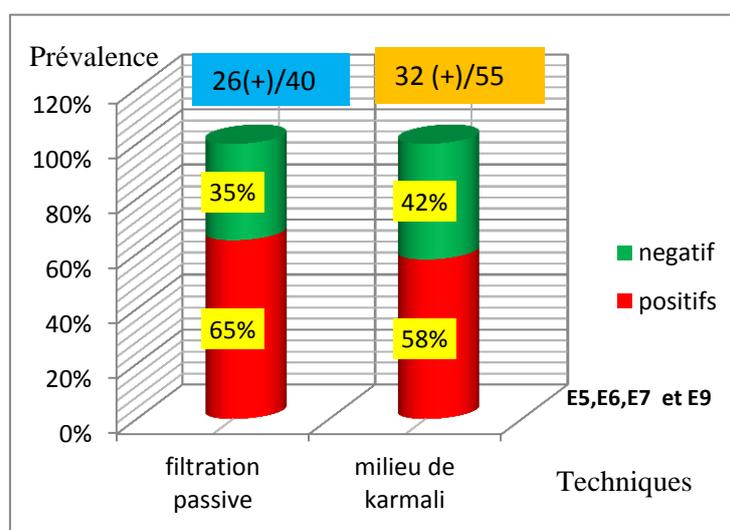


Figure 25 : Les taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants (aviaires) obtenus par l'isolement sélectif du milieu de Karmali et par la technique de filtration passive.

En utilisant la technique de la filtration passive, on est arrivée à isoler les *Campylobacter* thermotolérants dans 26 échantillons sur un total de 40 prélèvements, soit un taux d'isolement de (65%), un taux légèrement supérieur à celui obtenu en utilisant l'isolement au milieu sélectif de Karmali (58,1%) (32/55).

En plus, le taux d'isolement le plus élevé est de (70%), constaté au niveau des élevages : E5 et E9, alors que le taux le plus faible est de (60 %) obtenu au niveau des élevages : E6 et E7.

La différence obtenue entre les taux d'isolement par les deux techniques (la filtration passive et l'isolement sélectif par le milieu de Karmali) est statistiquement non significative ($p > 0,05$).

N.B : Pour les deux techniques, on a constaté la présence de plusieurs contaminants tels que : les *Pseudomonads*, les Enterobacteriaceae, les bactéries à Gram positif (*Bacillus*) ainsi que les levures.

I. 2. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants chez l'homme

Sur l'ensemble de 50 prélèvements humains, nous avons détecté 3 souches de *Campylobacter* thermotolérants, soit un taux d'isolement de (6%). Ce qui implique que 47 prélèvements ont été rapportés négatifs (94%). Ces 3 isolats ont été repartis comme suit : une souche a été isolée par un écouvillonnage rectal (1/25) et 2 souches par la technique de la filtration passive (2/25).

Les 3 isolats sont issus de deux enfants de sexe masculin moins de quatre ans et un sujet âgé de 70 ans, l'écouvillon rectal positif concerne un sujet de 70 ans qui a présenté un contexte épidémiologique assez évocateur d'une campylobactériose humaine (extrême d'âge, une diarrhée persistante, des douleurs articulaires et surtout la consommation de viande du poulet deux jours avant l'apparition des symptômes), alors que les autres isolats ont été obtenus par la technique de la filtration passive sur des selles diarrhéiques provenant de deux enfants de sexe masculin dont l'âge est inférieur à quatre ans.

Le tableau (XXIV) représente le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine examinée.

Tableau (XXIV) : La prévalence des *Campylobacter* thermotolérants chez l'homme

Type de prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre de Prélèvements positifs	Prévalence	Intervalle de Confiance
selles	50	3	6%	[-0,6% ; 12,6%]

Le tableau (XXV) représente le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine examinée en ensemençant les écouvillons rectaux sur le milieu sélectif de Karmali.

Tableau (XXV): Taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine en ensemençant les écouvillons rectaux sur le milieu de Karmali

Type de prélèvement	Nombre de	Nombre de	Nombre de	Prévalence

	prélèvements	Prélèvements positifs	Prélèvements négatifs	
écouvillons rectaux	25	1	24	4%

Sur un total de 25 écouvillons, on est arrivé à isoler les *Campylobacter* thermotolérants une seule fois, ce qui représente un taux d'isolement de (4%).

Le tableau (XXVI) représente le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine par la technique d'isolement de la filtration passive.

Tableau (XXVI) : Le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine en utilisant la technique de la filtration passive

Type de prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre de Prélèvements positifs	Nombre de Prélèvements négatifs	Prévalence
selles	25	2	23	8%

Sur un total de 25 échantillons, on a arrivé à isoler les *Campylobacter* thermotolérants deux fois, ce qui représente un taux d'isolement de (8%).

La figure 26 compare entre les deux taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants obtenus par l'isolement sélectif sur le milieu de Karmali et par la technique de la filtration passive.

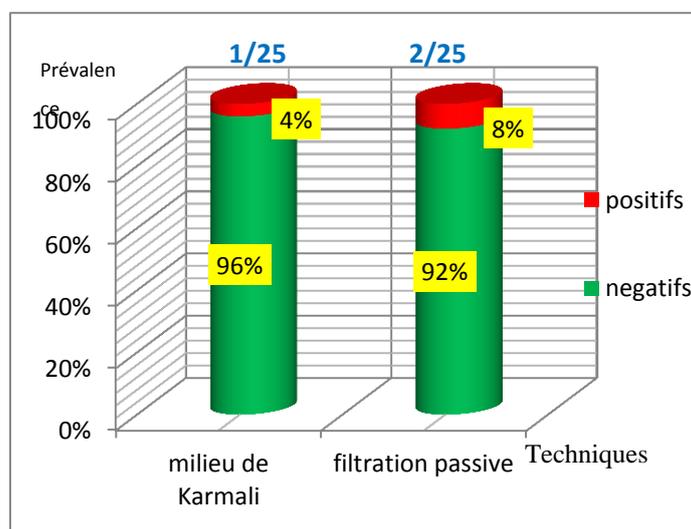


Figure 26 : Les taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants (humains) obtenus par l'isolement sélectif du milieu de Karmali et par la technique de filtration passive

Selon la figure 26, le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants en utilisant la technique de la filtration passive (8%) est supérieur à celui obtenu par l'utilisation du milieu sélectif de Karmali (4%).

II. CARACTÉRISATION PHÉNOTYPIQUE DES SOUCHES DE *CAMPYLOBACTER* THERMOTOLERANTS ISOLÉES

II.1. Caractérisation phénotypique des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez les volailles

II.1.1. Caractérisation phénotypique des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez les volailles en utilisant le milieu sélectif de Karmali.

L'étude de la sensibilité à la céfalotine et à l'acide nalidixique nous a permis de déduire que les 172 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées au cours de notre étude pouvaient appartenir aux espèces suivantes : *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* ou *C. upsaliensis*.

Le tableau (XXVII) montre la méthode de caractérisation phénotypique des souches de *Campylobacter* thermotolérants adoptée au cours de la présente étude après le test de la sensibilité à la céfalotine et à l'acide nalidixique.

Tableau (XXVII) : La méthode de caractérisation phénotypique des souches de *Campylobacter* thermotolérants adoptée après le test de la sensibilité à la céfalotine et à l'acide nalidixique.

	Acide nalidixique	Céfalotine
<i>Campylobacter jejuni / coli</i>	S	R
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	S	S
<i>Campylobacter jejuni / coli / lari.</i>	R	R

En raison de l'indisponibilité des produits (antibiotiques, milieu de conservation et l'hippurate de sodium) avant le mois d'Octobre 2011, les 73 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées au niveau des élevages E1, E2, E3, et E4 (42,5%) n'ont pu être biotypées.

Parmi les 99 (57,5%) souches restantes de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez les volailles au niveau des élevages (E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, et E13) on a identifié :

- 61 souches appartiennent au doublet : *C. jejuni / coli*, soit un pourcentage de 61,6%.
- 30 souches appartiennent au triplet : *C. jejuni / coli / lari*, soit un pourcentage de 30,4%

- ⇒ 8 souches identifiées comme étant *C. upsaliensis*, soit un pourcentage de 8%.

La figure 27 montre le pourcentage ainsi que la répartition des souches identifiées (biotypées) et non identifiées (non biotypées).

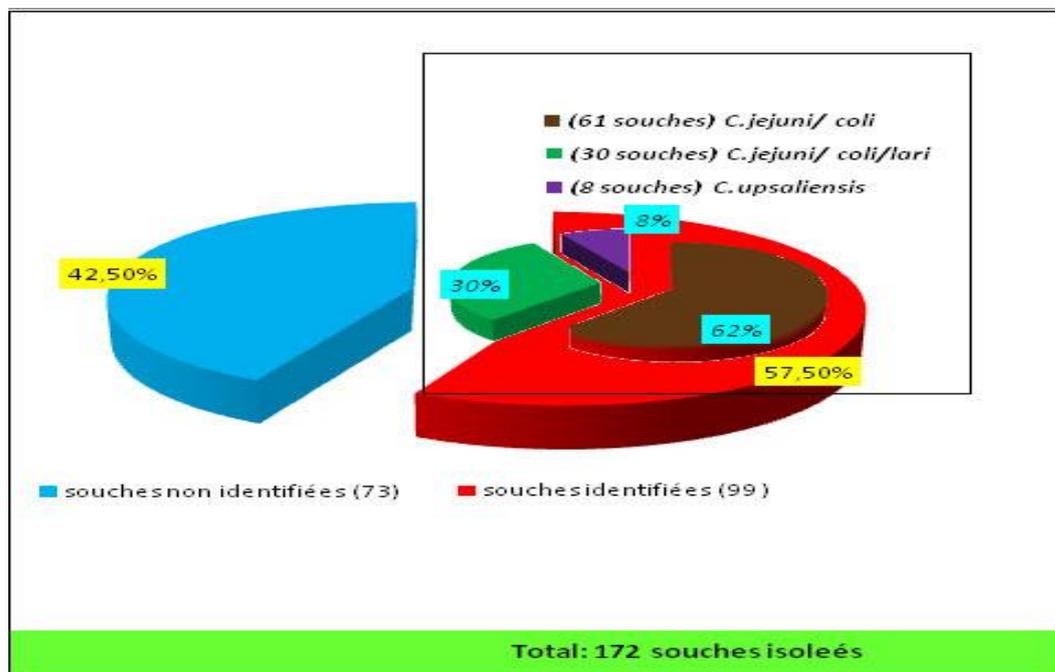


Figure 27 : Répartitions des souches de *Campylobacter* thermotolérants aviaires identifiées et non identifiées au niveau de l'espèce.

On observe que 62% des souches identifiées appartiennent au doublet *C. jejuni / coli*, mais ce pourcentage peut augmenter si on arrive à utiliser le test de l'hydrolyse de l'hippurate, parce que il a y une possibilité que certaines souches appartiennent au triplet : *C. jejuni / coli / lari*, ne sont en réalité que des souches de *C. jejuni* arrivaient à acquérir une résistance vis-à-vis l'acide nalidixique.

II.1.2. Caractérisation phénotypique des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez les volailles par la technique de filtration passive

Parmi les 26 (65%) souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez les volailles au niveau des élevages (E5, E6, E7 et E9) par la technique de la filtration passive on a identifié :

- ⇒ 12 souches appartiennent au doublet : *C. jejuni / coli* soit un pourcentage de 46,2%.
- ⇒ 8 souches appartiennent au triplet : *C. jejuni / coli / lari* soit un pourcentage de 30,8%.
- ⇒ 6 souches identifiées comme étant *C. upsaliensis* soit un pourcentage de 23%.

Les 6 souches de *Campylobacter upsaliensis* représentent pour la totalité des prélèvements testés par la technique de la filtration passive (40 prélèvements) un pourcentage de 15%.

A partir des fientes et en utilisant le milieu sélectif de Karmali, on a arrivé à isoler 32 souches de *Campylobacter* thermotolérants sur un total de 55 échantillons soit un taux d'isolement de 58,1%, parmi ces 32 souches, 5 souches ont été identifiées comme étant des *C. upsaliensis*, ce

qui représente un pourcentage de 15,6 % (5/32) par rapport à l'ensemble des échantillons positifs et un pourcentage de 9,1% (5/55) par rapport à la totalité des échantillons prélevés au niveau des élevages E5, E6, E7 et E9, des élevages où on a procédé simultanément à une technique de filtration passive.

Si on récapitule : pour les élevages E5, E6, E7 et E9: on a arrivé à isoler *Campylobacter upsaliensis* avec un taux de 15% (6/40) en utilisant la technique de filtration passive, et avec un taux de 9,1% (5/55) en utilisant le milieu sélectif de Karmali.

La figure 28 montre la comparaison entre les deux taux d'isolement de *Campylobacter upsaliensis* en utilisant la technique de filtration passive et le milieu sélectif de Karmali

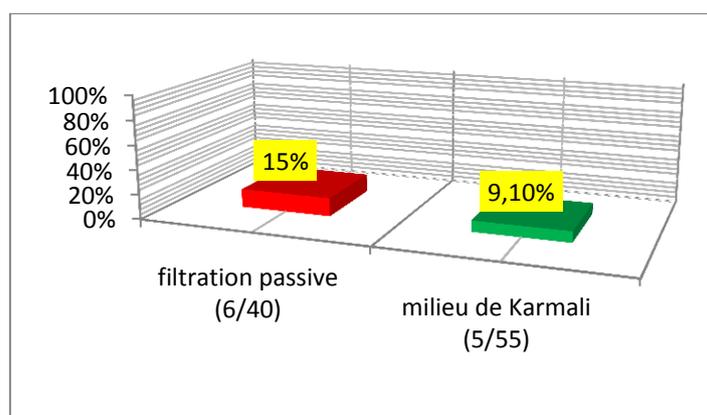


Figure 28 : Comparaison entre les deux taux d'isolement des *Campylobacter upsaliensis* en utilisant la technique de filtration passive et le milieu sélectifs de Karmali

II.2. Caractérisation phénotypique des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez les êtres humains

L'étude de la sensibilité à la céfalotine et à l'acide nalidixique nous a permis de déduire que les 3 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées au cours de notre étude pouvaient appartenir soit à l'espèce *C. jejuni*, *C. coli* ou *C. upsaliensis*.

Parmi les 3 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez les êtres humains (6 %) au niveau de l'annexe de l'institut pasteur de M'sila on a identifié :

- Deux souche appartiennent au doublet : *C. jejuni / coli* soit un pourcentage de 66,7%.
- Une souche identifiée comme étant *C. upsaliensis* soit un pourcentage de 33,3 %.

On observe que parmi les 3 souches isolées, aucune souche n'appartient au triplet *Campylobacter jejuni / coli / lari*, parce que aucune souche n'a donnée le profil : résistante à la céfalotine et à l'acide nalidixique à la fois. La souche isolée à partir de l'écouvillon rectal appartient au doublet *Campylobacter jejuni / coli*, alors que pour les deux autres souches isolées par la

technique de la filtration passive : une faite parti du doublet *Campylobacter jejuni / coli* et l'autre faite parti de *Campylobacter upsaliensis*.

En utilisant le milieu sélectif de Karmali, aucune souche de *Campylobacter upsaliensis* ou *Campylobacter lari* n'a été pas isolée. Cependant en utilisant la technique de filtration passive, on a arrivé à isoler une souche *Campylobacter upsaliensis* (1/25) soit un taux de 4%.

III. ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE *CAMPYLOBACTER* THERMOTOLERANTS ISOLÉES.

III.1. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez les volailles.

N.B: En raison de l'indisponibilité des produits, 73 (42,5%) souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées au niveau des élevages E1, E2, E3, et E4 n'ont pu être conservées. Les 99 souches de *Campylobacter* thermotolérants restantes isolées chez les volailles (57,5%) font l'objet d'une conservation. Etant donné que le repiquage (revivification) de 69 souches de *Campylobacter* thermotolérants s'est avéré impossible, seules 30 souches ont pu faire l'objet d'une étude de la sensibilité aux antibiotiques.

La figure 29 résume la remarque citée au-dessus.

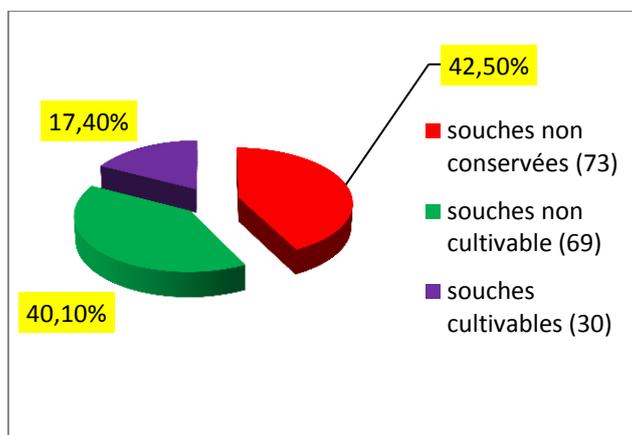


Figure 29 : Pourcentage des souches de *Campylobacter* thermotolérants qui font l'objet de l'antibiogramme

Les résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de l'ensemble des souches de *Campylobacter* thermotolérants qui on a réussi à les revivifiées (30 souches), montraient l'existence aussi bien des souches sensibles que résistantes aux différents antibiotiques testés. Néanmoins, certaines souches étaient catégorisées comme intermédiaires.

III.1.1. Résultats globaux de l'antibiogramme

Les résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de l'ensemble des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez les volailles sont rapportés dans le tableau (XXVIII).

Tableau (XXVIII) : Taux de sensibilité aux antibiotiques des 30 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez les volailles

ATB	AM		AMC		GM		TE		E		C		ENF	
	N	%	N	%	n	%	n	%	N	%	n	%	n	%
R	30	100	30	100	00	00	19	66,3	27	90	16	53,3	07/15	46,7
S	00	00	00	00	30	100	06	20	02	6,7	14	46,17	08/15	53,3
I	00	00	00	00	00	00	05	16,7	01	3,4	00	00	00	00

- R:** résistante
- AM:** Ampicilline
- AMC:** Amoxicilline/ac.Clavulanique
- C :** Chloramphénicol
- S:** Sensible
- TE:** Tétracycline
- E:** Erythromycine
- I:** Intermédiaire
- ENF :** Enrofloxacine
- GM :** Gentamicin

Après la lecture des résultats globaux de l'antibiogramme des souches isolées on a trouvé que:

- Toutes les souches étaient résistantes à l'ampicilline et à l'amoxicilline / ac. Clavulanique.
- 19 souches résistantes à la tétracycline (66,3%).
- 27 souches résistantes à l'érythromycine (90%).
- 16 souches résistantes au chloramphénicol (53,3%)
- 7/15 souches résistantes à l'enrofloxacine (46,7).

III.1.2. Profils de résistance des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* thermotolérants a révélé l'existence des souches bactériennes multirésistantes. En effet, toutes les souches isolées

étaient résistantes simultanément au minimum à deux antibiotiques testés (l'ampicilline et l'amoxicilline / ac. Clavulanique).

L'étude du profil de résistance des différentes souches a montré des résistances associées à 2, 3, 4, 5, et 6 antibiotiques, ce qui permet d'établir 11 Profils de résistance différents, le profil le plus commun a été constaté 8 fois et comprenait les antibiotiques suivants : l'ampicilline, l'amoxicilline/ac. Clavulanique, l'érythromycine et la tétracycline.

Le tableau (XXIX) et la figure 30 montrent les profils de résistance des souches de *Campylobacter* thermotolérants pouvant être établis.

Tableau (XXIX) : profils de résistance des souches de *Campylobacter* thermotolérant isolées chez les volailles

Resistance associées à	Profil de résistance	Nombre des souches		pourcentage
2 ATB	AM, AMC	1	1	3,33%
3ATB	AM,AMC,E	2	3	10%
	AM,AMC,C	1		
4ATB	AM, AMC, E, C	3	14	46,67%
	AM , AMC, C, TE	1		
	AM, AMC, E, TE	8		
5ATB	AM, AMC, E, ENF	2	10	33,33%
	AM,AMC,C,E,TE	7		
	AM,AMC,C,E,ENF	2		
6ATB	AM,AMC,C,TET,E,ENF	2	2	6,67%

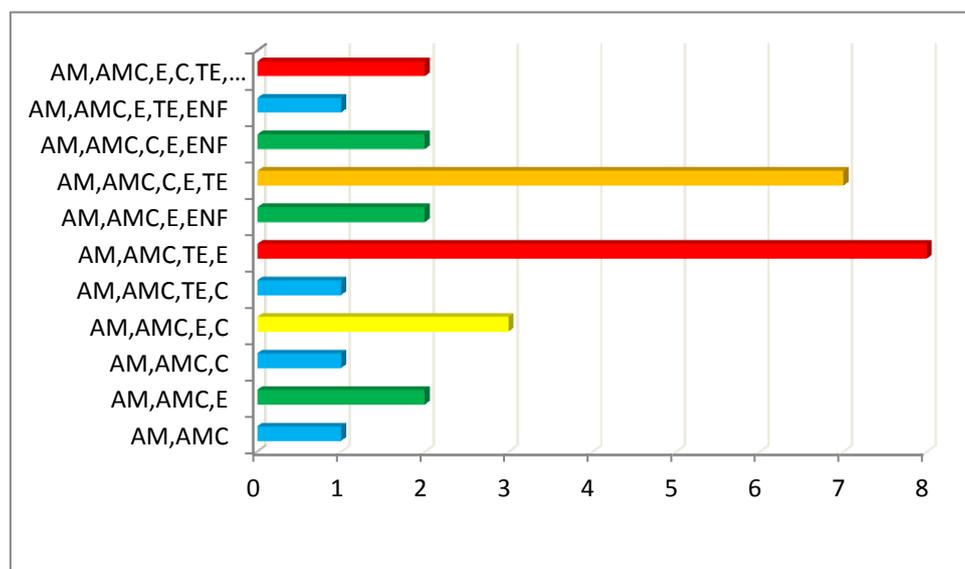


Figure 30 : profils de résistance des *Campylobacter* thermotolérant isolées chez les volailles

Après la lecture du tableau (XXIX), on a trouvé que les profils de résistance obtenus à partir des souches isolées étaient les suivants :

- Une seule souche était résistante à deux antibiotiques seulement (l'ampicilline et l'amoxicilline / ac. Clavulanique).
- Trois souches étaient résistantes à 3 antibiotiques avec établissement de 2 profils de résistance différents.
- La multirésistance la plus fréquemment observée est celle qui comprenait 4 antibiotiques, et qui concerne 14 souches permettant l'établissement de 4 profils de résistance différents, parmi eux, le profil de résistance le plus dominant qui est recensé pour 8 souches et qui incluant les antibiotiques suivants (AM, AMC, E, TE).
- 9 souches étaient résistantes à 5 antibiotiques avec établissement de 3 profils de résistance différents.
- Deux souches étaient résistantes à 6 antibiotiques avec établissement d'un seul profil de résistance comprenant les antibiotiques suivants : AM, AMC, C, TET, E, ENF.

III.2. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter thermotolerans* isolées chez les êtres humains

Les deux souches isolées par la technique de la filtration passive n'ont pas pu être l'objet d'une étude de la sensibilité aux antibiotiques étant donné que leur repiquage (revivification) s'est avéré impossible. Alors que, la souche isolée à partir l'écouvillon rectal a été faite l'objet de l'antibiogramme.

Après la lecture des résultats de l'antibiogramme, on a trouvé que cette souche a montré une sensibilité complète à la gentamycine et au chloramphénicol, une sensibilité intermédiaire à l'érythromycine, et une résistance à la tétracycline, à l'ampicilline et à l'amoxicilline / ac. Clavulanique.



DISCUSSION

Discussion

Au cours de notre étude nous avons tenté à donner une teinture microbiologique au sujet, ce qui justifie notre tendance à utiliser des échantillons issus des sujets vivants (fientes et des selles diarrhéiques), en utilisant des techniques de prélèvement différentes pour essayer de déterminer la ou les techniques les plus fiables pour l'isolement des germes cibles, et les plus convenables pour le manipulateur. Par conséquent, notre discussion sera portée tout d'abord sur le choix de l'échantillonnage et de la méthodologie de recherche, puis on va discuter la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants aussi bien chez les volailles que chez les êtres humains, et enfin on va étudier la sensibilité des différentes souches de *Campylobacter* isolées à la gamme d'antibiotiques utilisée.

I. CHOIX DE SUJET (*Campylobacter*, volaille, homme)

On sait maintenant que *Campylobacter* est la principale cause de gastro-entérite bactérienne dans le monde industrialisé (Hunter, 1997, cité par Laberge, 2003), et constitue un problème émergeant de la santé publique dans les pays en voie de développement (Prasad et al., 2001), et dont les symptômes sont très sévères pour les personnes immunodéprimées (Obi et Bessong, 2002).

La volaille a été reconnue comme le principal réservoir de *Campylobacter* et elle joue un rôle important dans l'apparition des campylobactérioses humaines (Humphrey et al., 2007). Et selon des estimations, la viande des volaille est responsable d'environ 40% des cas humains de la campylobactériose (Puterflam et al., 2005).

En réalité, la difficulté de contrôler la contamination par *Campylobacter* au cours de l'abattage en raison des contaminations croisées (Newell et al., 2001) rend la prévention de la colonisation par *Campylobacter* des poulets de chair au niveau de la ferme la meilleure façon de prévenir la contamination des produits avicoles (Rivoal et al., 2005).

En plus, la rareté des travaux sur les campylobactérioses humaines et animales en Algérie, et le sous-diagnostic des cas de gastro-entérites causés par les *Campylobacter* thermotolérants, nous poussent à essayer de mettre l'accent sur ce pathogène pour contribuer à mettre en route un plan de surveillance contre les *Campylobacter*.

II. JUSTIFICATION DE L'ÉCHANTILLONNAGE

II.1. Échantillons de poulets vivants en fin de bande (fientes)

Le poulet de chair constitue en effet un réservoir de *Campylobacter*, hôte régulier de son tube digestif et un gramme de fiente peut renfermer jusqu'à 10 millions de *Campylobacter* (Zrelli et al., 2003, cité par Puterflam et al., 2005).

Les *Campylobacter* peuvent être isolés de fientes caecales ou intestinales fraîches ou d'écouvillons cloacaux. En plus, les niveaux de colonisation des poulets de chair sont liés à leur âge. La plupart des lots sont négatifs jusqu'à l'âge de 2 à 3 semaines (Manuel terrestre de l'OIE, 2005). Pour ces raisons, on a choisi de prendre comme des échantillons, des fientes issues des poulets de chair en fin de période d'élevage.

II.2. Échantillons humains (selles diarrhéiques)

Selon Mégraud, on recherche les *Campylobacter* chaque fois qu'il existe un ou plusieurs symptômes digestifs tels que la diarrhée et la présence de sang dans les selles (Mégraud, 1989, cité par Dromigny, 2007). On notera que l'entérite à *Campylobacter* peut être suspectée aisément par l'examen direct des selles liquides fraîches. (Altmayer, 1994, cité par Dromigny, 2007) et pour la culture, on peut recourir à des selles fraîchement émises ou recueillies par un écouvillonnage rectal. (Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé, 1980). À partir de ces données, on a choisi comme sujets à tester, des malades souffrant des problèmes digestifs, en utilisant leurs selles diarrhéiques ou des écouvillons rectaux qui en proviennent.

III. CHOIX DE LA MÉTHODOLOGIE DE RECHERCHE : (PRÉLEVEMENT, TRANSPORT ET ANALYSE)

a) Prélèvement et transport

Pour les prélèvements de poulets de chair, selon le Manuel terrestre de l'OIE (2005), on a utilisé des fientes fraîchement émises ou d'écouvillons cloacaux. Toutefois les fientes ont été récoltées aléatoirement à différents endroits du bâtiment (pour balayer toute la surface). En outre, vu que la sensibilité accrue des *C.* aux conditions environnementales, et pour essayer de mettre en évidence l'effet de séjour des fientes dans la litière à la fois sur la survie et sur le taux d'isolement des *Campylobacter* d'une part, et pour assurer la fraîcheur des prélèvements en d'autre part on a prélevé 100 échantillons de fiente directement émises à partir du cloaque vers les sachets stériles. Généralement, pour chaque bâtiment, on a prélevé un total de 20 prélèvements.

Pour les échantillons humains, on peut recourir à des selles fraîchement émises ou recueillies par écouvillonnage rectal. (Bulletin de l'OMS, 1980).

Le transport doit être aussi rapide que possible car les *Campylobacter* sont particulièrement sensibles aux conditions environnementales. Le transport au laboratoire et les étapes suivantes doivent donc être aussi rapide que possible. La congélation et les fluctuations de la température doivent être évitées, cependant un stockage à 4°C (\pm 2°C) est conseillé (Manuel de l'OIE, 2005).

b) Techniques d'analyse (choix de milieu et la température d'incubation)

Au cours de notre étude les prélèvements sont ensemencés soit directement soit après préparation des suspensions sur le milieu sélectif de Karmali pour plusieurs raisons :

Selon la norme internationale ISO 10272 (méthode horizontale pour la recherche des *Campylobacter* thermotolérants), pour les produits suspectés de contenir une quantité importante de *Campylobacter* thermotolérant (comme les fientes), procéder à un isolement direct en ensemencant la suspension mère sur la surface de la gélose de Karmali et d'un autre milieu.

En plus, les milieux sélectifs à base de charbon ont des taux de récupération plus élevés que les autres milieux, ainsi que une grande capacité de distinguer la flore fécale (Gun-Munro et al., 1987). En outre, dans le milieu de Karmali, le charbon remplace le sang ce qui permet la neutralisation des substances toxiques des bases nutritives et les dérivés toxiques de l'oxygène (Bonney et al., 2002). Ce milieu ainsi que le milieu de mCCDA ont le rendement le plus élevé non seulement dans la récupération des *Campylobacter* thermotolérants mais aussi dans la suppression de la flore compétitive. Mais, plusieurs auteurs font recours au milieu de Karmali car les colonies de *Campylobacter* thermotolérants sont facilement reconnaissables sur ce milieu par rapport le milieu de mCCDA. (Corry et al., 1995).

Le milieu de Karmali est préparé à partir de la gélose de base de Karmali (CM0935) additionnée du supplément sélectif de Karmali (SR0167). Le milieu d'origine (*Campylobacter* blood free) de la gamme Oxoid contient du pyruvate de sodium dans la gélose de base, dans le cas de milieu de Karmali, cet ingrédient est incorporé dans le supplément sélectif, le milieu initial contient également du désoxycholate de sodium pour inhiber la croissance des germes Gram +, dans le milieu de Karmali l'inhibition des germes Gram + est réalisée par l'addition de la vancomycine.

En plus, la présence de l'hémine dans le supplément sélectif supprime la nécessité de sulfate ferreux inclus dans le milieu initial. La céfoperazone et l'amphotéricine B sont associées pour inhiber la pousse des microorganismes contaminants.

On a fait le recours à la technique de la filtration passive dans 25 échantillons humains et 40 échantillons aviaires pour plusieurs raisons, entres autre ;

Plusieurs auteurs préconisent la recombinaison d'un milieu sélectif et la méthode de la filtration passive pour améliorer le taux d'isolement des souches sensibles aux antibiotiques comme *Campylobacter upsaliensis* (Aspinall et al., 1993 ; Albert et al., 1992 ; Bolton et al 1984).

À défaut de sang de cheval, on a utilisé le sang de mouton pour préparer les milieux additionnés au sang (gélose Mueller Hinton), du fait de la facilité d'obtention de ce genre de sang.

Une température d'incubation de 37°C permet le développement de toutes les espèces de *Campylobacter* connues. Mais la capacité de croissance à d'autres températures constitue un caractère différentiel d'espèces important, notamment à 25° et à 42°C. Il y a des espèces qui se poussent à 25°C et non à 42°C parmi lesquelles *C. fetus*, et des espèces qui se croissent à 42°C et non à 25°C, appelés *Campylobacter* thermotolérants, dont les espèces d'intérêt dans notre étude ; *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* et *C. upsaliensis* (Dromigny, 2007).

Les incubations à 42°C se font pour minimiser la croissance des contaminants, et favoriser la croissance des *Campylobacter* thermotolérants en détriment de *C.fetus* qui ne peut pas pousser à cette température (Burocoa, 2007).

IV. PRÉVALENCE DES CAMPYLOBACTER THERMOTOLERANTS

IV.1 Chez les volailles

IV.1.1. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des fientes

Les 172 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées au cours de notre étude pouvaient appartenir aux espèces suivantes : *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* ou *C. upsaliensis*, mais en réalité, l'identification complète des différentes espèces de *Campylobacter* thermotolérants selon la norme ISO 10272 n'a pas été effectuée du fait de l'indisponibilité de l'hippurate de sodium ainsi que les galeries API (APICAMPY). En effet, on n'est pas arrivé à différencier entre *C. jejuni* et *C. coli* du fait de l'indisponibilité de l'hippurate de sodium, car l'hydrolyse l'hippurate est la seule réaction capable de discriminer entre ces deux espèces (OIE, 2005). En outre, l'augmentation du nombre des souches de *C. jejuni* et *C. coli* résistantes à l'acide nalidixique, nous pousse à considérer toute souche résistante à la céfalotine et à l'acide nalidixique à la fois comme appartenir au triplet suivant : *Campylobacter jejuni / coli / lari*.

En plus, pendant l'étape de la caractérisation phénotypique des souches isolées, l'augmentation du nombre des souches de *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli* résistantes à l'acide nalidixique, nous pousse à considérer toute souche résistante à la céfalotine et à l'acide nalidixique à la fois comme appartenir au triplet suivant : *Campylobacter jejuni / coli / lari*.

La présence de *Campylobacter* thermotolérants a été mise en évidence dans 172 échantillons de fientes sur 260 échantillons analysés, soit un taux d'isolement de 66% ; [IC à 95%: 60% ; 72%], ce qui confirme que les *Campylobacter* sont des hôtes réguliers de tube digestif des volailles.

En comparant nos résultats avec d'autres résultats rapportés en Algérie, on trouve que nos résultats étaient cohérents avec ceux enregistrés par Bouhamed (2011) qui a constaté un taux d'isolement de 68% à partir des fientes fraîches des dindes en fin de période d'élevage, d'autre part nos résultats sont nettement supérieurs à ceux rapportés par Mouffok et Labres (1992) qui ont noté

une prévalence de 12% dans les fientes des poulets de chair. Cependant des résultats supérieurs aux nôtres ont été notés toujours en Algérie par Messad (2011) qui a noté un taux d'isolement de 85% à partir des fientes fraîches des poulets de chair en fin de période d'élevage, et Guessoum (2011) qui a constaté un taux d'isolement de 96% à partir des écouvillons cloacaux issus des poulets de chair.

Cette divergence dans les taux de contamination entre notre étude et les autres études qui ont été réalisées en Algérie peut être expliquée par les variations climatiques et latitude des régions où se déroulèrent les expérimentations. En effet, le caractère froid et sec de la région de l'Oures peut expliquer en partie notre faible prévalence (66%) par rapport les autres études algériennes.

Bien que peu d'informations soient disponibles sur la prévalence de *Campylobacter* dans les pays en voie de développement, nos résultats sont cohérents avec ceux rapportés au Sénégal (63%) (Cardinale et al., 2004) et légèrement supérieurs a ceux rapportés au Nigeria (52,7%) (Adekeye et al., 1989, cité par Cardinale et al., 2004).

En comparant nos résultats avec ceux enregistrés dans les pays développés, on trouve que nos résultats sont en accord avec d'autres rapportés en littérature : en Belge (73%) (Rasschaert et al., 2007), en France 71,2% (Huneau- Salaun et al., 2007),et en Grande-Bretagne (68%) (Humphrey, 1994 cité par Hald et al., 2000). En plus, en Irlande du Nord, Oza et al, durant la période allant de février 2000 à octobre 2001 ont obtenu dans une étude épidémiologique de grande échelle sur 387 troupeaux de poulets de chair un taux d'isolement de 67,7% (Oza et al., 2003).

Des taux largement supérieurs aux nôtres ont toutefois étaient constatés dans de nombreux pays industrialisé tels que : la France (96%) (Reichardt et al., 1997, cité par Huneau- Salaun et al., 2007) et (80%) (Avrain et al., 2003),et les Etats Unis 87,5% (Hiatt et al., 2002).

Un taux d'isolement de (81,5%) a été constaté en Trinidad après un ensemencement direct des écouvillons cloacaux sur le milieu mCCDA (Rodrigo et al., 2005).

Nos résultats sont nettement supérieurs à ceux rapportés dans de nombreux pays industrialisés, a titre d'exemple, en Estonie, durant une année (2005 à 2006) et sur un total de 1254 échantillons de fientes fraîches, Meremae et al, (2010) n'arrivaient plus à isoler des *Campylobacter* thermotolérants, ce qui correspond à un taux de contamination de (0%), à savoir qu'aucun prélèvement n a été effectué pendant les mois de Juillet et d'Août (Meremae et al., 2010).

En Suède, au cours du programme de surveillance suédoise, tous les troupeaux de poulets de chair ont été échantillonnés à l'abattage, parmi les 3415 lots d'abattage inclus dans cette étude 724 ont été jugés positifs pour les *Campylobacter* thermotolérants soit un taux de contamination de (21,3%) (Hansson et al., 2010).

On note que ces taux de contamination très faibles de *Campylobacter* thermotolérants ne concernent que les pays Scandinavies, qui pratiquent des mesures drastiques pour contrôler les infections y compris les campylobactérioses. En plus, les conditions climatiques très froides de ces pays constituent un facteur hostile pour la survie des *Campylobacter* thermotolérants.

En fin, il faut savoir que les variations de la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants constatées entre les différentes études, seraient vraisemblablement liées à un certain nombre de facteurs tels que : la localisation géographique et la saison (Heuer et al., 2001 ; Kapperud et al., 1993), la taille de l'échantillon (Jeffrey et al., 2001), l'âge des sujets (Berndtson et al., 1996a), le type d'élevage (Heuer et al., 2001 ; Vandeplass et al., 2010), le type d'échantillon, le milieu de culture utilisé, la technique d'isolement et les conditions d'incubation (Jorgensen et al., 2002).

IV.1.2. Sources de contamination et facteurs de risque

Au cours de la présente étude, on a constaté que la colonisation par *Campylobacter* thermotolérant est augmentée en été, c'est bien que, la plus grande prévalence (100%) a été constaté durant les mois de Juillet et d'Aout, tandis que la plus faible prévalence (20%) a été notée pendant le mois de Février. Globalement, la différence entre les taux de contamination enregistrés pendant les saisons chaudes et froides est statistiquement significative ($p < 0,05$), ce qui signifie que la saison constitue un facteur de risque très important dans l'épidémiologie de la campylobactériose contrairement aux autres enteropathogènes tels que les *Salmonella* spp. où les variations climatiques ne semblent pas jouées un rôle dans la propagation de ce pathogène (Jacobs-Reitsma et al., 1994).

En effet, la nature saisonnière de la contamination des poulets de chair avec un pic estival a été rapportée par plusieurs auteurs: en Suède (Berndtson et al., 1996a), en Norvège (Kapperud et al., 1993), en Danemark (Bang et al., 2003) et aux Pays Bas (Jacobs-Reitsma et al., 1994).

En France, Huneau-Salaün et al. (2007) ont montré que durant la période allant de Mars 2003 à Mars 2004, 92,8% des lots élevés pendant les mois d'été et de printemps étaient contaminés par *Campylobacter* spp. contre 73,9% en automne et 52,3% en hiver.

Ces variation saisonnières peuvent être liées à une variété de raisons, y compris l'apparition des réservoirs supplémentaires à certains moments de l'année par exemple (les mouches, les insectes), ou le changement des pratiques et du comportement en raison des conditions climatiques, par exemple, l'ouverture des portes et des fenêtres et la réticence à porter des vêtements de protection par les agriculteurs en temps chaud. (Ellis-Iversen et al., 2009). En réalité, cette saisonnalité de la prévalence des lots de poulet contaminés par *Campylobacter* thermotolérants, peut expliquer

en partie la saisonnalité de la prévalence des campylobactérioses humaines observée par plusieurs auteurs ; (Pearson et al., 1993, cité par Skelly et al. 2003).

D'autre part, Humphrey et al.,(1993) ne constataient aucune variation saisonnière de la contamination de poulets de chair par *Campylobacter* pendant leurs étude qui s'étalait de Juin 1990 à Juillet 1991, la même observation a été constatée par (Evans et Sayers, 2000).

Les lots visités au cours de notre étude sont âgés entre 35 et 60 jours, après l'étude statistique des résultats des taux de contamination, on a trouvé que l'âge des poulets et les taux de contamination par *Campylobacter* sont moyennement corrélés, au départ on a observé qu'il y a une relation linéaire, puis vers le cinquantième jour on a constaté une chute de taux de contamination, cela peut être expliquée par le développement d'une immunité contre les *Campylobacter*. En réalité, la colonisation naturelle par *Campylobacter* dépend de l'âge des volailles, et les poulets restent négatifs pour *Campylobacter* jusqu'à l'âge de dix jours et la plupart des lots ne deviennent positifs qu'à l'âge de 2 à 4 semaines. (Jacobs-Reitsma et al., 1995 ; Bull et al., 2006). La raison pour laquelle les poulets ne sont pas contaminés avant l'âge de 10 jours n'est pas connue, mais les raisons invoquées sont l'immaturation du tube digestif, la composition de l'alimentation ou encore comme proposé Sahin et al., (2003) l'activité protectrice de l'immunité maternelle.

Selon Jacob-Reitsma et al, (1995), lorsque la bactérie est introduite dans un élevage, deux-tiers des animaux sont contaminés en trois jours, et la totalité en une semaine, ce qui confirme la rapidité de la colonisation. En effet, l'excrétion fécale est probablement un facteur important de la dissémination des microorganismes dans les troupeaux de volailles (Peyrat, 2008), mais au fil de temps, le niveau de cette excrétion diminue suggérant un rôle de l'immunité, cependant la durée de vie courte des poulets ne permet au mieux qu'une réduction de 1 facteur sur 10 de l'excrétion (Wagenaar et al. 2006). Généralement, l'âge de poulet constitue un facteur de risque puisque la prévalence de la contamination augmente avec l'âge du poulet, et cela a été rapportée par plusieurs auteurs : (McDowell et al., 2008 ; Bouwknecht et al., 2004).

Au cours de notre étude, nous avons remarqué une densité élevée de poulets de chair dans les élevages visités (4000 à 8000) pour des superficies relativement réduites. Même la différence entre les différents taux de contamination en fonction de la taille de troupeau n'est pas statistiquement significative, on a constaté qu'il y a une augmentation de taux de contamination avec l'augmentation de la taille de troupeau. En effet, la contamination est plus fréquente dans les élevages lorsque la densité de la mise en place est supérieure à 22,5 animaux/m² (Puterflam et al.,

2005). Plusieurs auteurs ont montré que le risque de contamination des lots de poulets augmentait avec la taille des lots (Berndtson et al. 1996a ; Guerrin et al., 2007).

Cependant, la plus part des études suggèrent qu'il n'y ait aucune association entre la taille de l'exploitation et le taux de contamination ; (Ellis-Iversen et al., 2009 ; Vandeplas et al., 2010).

Rien n'a été négligé dans l'étude de l'environnement immédiat du poulet de chair ; la nourriture, l'eau de boisson, la litière, les animaux sauvages et de ferme ainsi que les insectes ont été étudiés afin de déterminer s'ils constituaient une source potentielle d'infection à *Campylobacter*.

Pour ce qui est de la nourriture, bien que l'aliment peut être contaminé par les fientes pendant la période d'élevage et peut servir comme voie de transmission (Bull et al., 2006), *Campylobacter* spp. n'a pas été mis en évidence dans les échantillons d'aliment sec prélevés avant distribution aux poulets (Vandeplas et al., 2010), ceci n'est pas surprenant étant donné que l'aliment est un écosystème relativement sec et que les *Campylobacter* sont sensibles à la dessiccation. Cependant, le risque de contamination des lots de poulets par les *Campylobacter* est augmenté quand la trémie d'aliment est située à l'extérieur du bâtiment, c'est-à-dire plus exposée aux animaux sauvages (rongeurs.), plutôt que dans le bâtiment proprement dit : 40 % des lots de poulets étudiés sont contaminés dans le premier cas contre 21 % dans le second (Berndtson et al., 1996a).

En réalité, la trémie d'aliment est située à l'extérieur du bâtiment dans la plus part des élevages visités au cours de notre étude, ce qui nous pousse à penser que cet acte est incriminé comme étant un facteur favorisant la survenue de ce taux de contamination relativement élevé.

D'autre part, le rôle de la litière n'est pas sans taches, même si sa contribution est plutôt reliée au mode de transmission qu'à une source d'infection. Une étude spécifique du rôle de la litière dans la transmission de *C. jejuni* effectuée par Montrose et al., (1984) affirme que si *C. jejuni* est présent dans la litière et les poulets peuvent s'infecter en pratiquant la coprophagie (Laberge, 2003).

Neil et al, (1984) rapportent que la litière mouillée est associée à un risque de contamination des poulets et la litière devient un problème si elle est contaminée et conservée pour la croissance de plus d'une cohorte de poulets, la même constatation a été rapportée par (Genigeorgis et al., 1986) qui a suspecté la transmission de *Campylobacter* d'un troupeau à un autre par l'intermédiaire de la litière sans avoir arrivé à prouver ça microbiologiquement. Par contre, plusieurs auteurs n'arrivent pas à isoler *Campylobacter* à partir des échantillons provenant de la litière parmi eux on cite : (Berndtson et al 1996 ; Van de Giessen et al., 1992 ; Bull et al., 2006 ; Vandeplas et al., 2010).

Pour la totalité des élevages visités au cours de notre étude, les litières sont, secs et renouvelables, sauf l'élevage 2 où la litière est mouillée et sale jouant sans doute un rôle cruciale dans la dissémination de *Campylobacter* et expliquant ainsi le taux de contamination de 100%.

Une autre source de contamination des poulets par *Campylobacter*, souvent évoquée dans la littérature est l'eau de boisson (Shanker et al., 1990). En effet, l'eau contaminée par *Campylobacter* peut implanter l'infection à l'intérieur du bâtiment (Engvall, 1986 cité par Shane, 1992) et menée à la dissémination de l'infection dans les bandes suivantes (Smitherman et al, 1984, cité par Shane, 1992), cela a aussi été reporté par plusieurs auteurs ;(Kapperud et al., 1993; Zimmer et al., 2003).

En revanche, dans les études de Jacobs-Reitsma et al, (1995), Van de Giessen et al, (1992) *Campylobacter* sp. n'a pas été isolée dans les échantillons de l'eau utilisée pour l'abreuvement.

Les formes VNC "bactéries Viables Non Cultivables" peuvent jouer un rôle non négligeable dans la contamination des volailles par *Campylobacter*, c'est bien que l'inoculation par voie orale de cellules VNC de *Campylobacter* à des poussins âgés de 1 jour a montré un taux d'implantation de 27% contre 67% pour les témoins inoculés avec des cellules cultivables fraîches (Talibart et al., 1999 cité par AFSSA,2003).

Parmi les points qui attirent notre attention au cours de notre étude, c'est l'utilisation abusive des antibiotiques pour des buts curatifs ou prophylactiques, cependant, cette pratique n'a pas diminué le risque de contamination par *Campylobacter*, notre constatation corrobore celle avancé par Berndtson et al (1996). En revanche, plusieurs auteurs ont rapporté une diminution de risque de contamination par *Campylobacter* lors d'un traitement antibiotique (Refregier-Petton et al., 2001).

On croit également que les animaux de ferme aient la possibilité d'être une source d'infection du poulet de chair. Globalement, les animaux de ferme ont été considérés comme un facteur de risque pour les volailles (Ellis-Iversen et al., 2009 ; Kapperud et al., 1993 ; Mc Dowell et al., 2008), voire le principal facteur de risque souligné par plusieurs auteurs (Saleha, 2004).

En effet, au cours de notre étude, on a constaté la présence des animaux de ferme (domestique et de rente) aux alentours de tous les bâtiments avicoles visités, ce qui joue sans doute un rôle aussi bien dans l'introduction de *Campylobacter* que dans leur dissémination, expliquant ainsi le taux d'infection relativement élevé dans les élevages visités.

Parmi les autres animaux susceptibles d'être des sources d'infection par *C. jejuni*, on peut citer les petits rongeurs tels que les souris et les rats. Ces derniers peuvent aussi être des porteurs sains de *C. jejuni* (Hiett et al., 2002) et servir comme un vecteur de ce microorganisme à l'intérieur de bâtiment (Saleha, 2004). Par contre, considérant l'accès limité des rongeurs à l'intérieur des

bâtiments avicoles, de même que l'efficacité des traitements rodenticides, il est très peu probable qu'il s'agisse là d'une source significative d'infection, cela a été rapporté par Evans et al., (2000).

Selon les ouvriers avicoles des bâtiments visités au cours de notre étude, la présence des rongeurs aux alentours des bâtiments est quasi constante surtout au niveau des magasins d'aliments, ce qui contribue par conséquent dans l'élévation de taux de contamination par *Campylobacter*.

La majorité des auteurs s'entendent sur le fait que les mouches et les insectes peuvent servir comme vecteur mécanique de *C. jejuni* d'un animal ou d'un environnement réservoir aux troupeaux de poulets de chair (Shane et al., 1985 cité par Saleha ,2004). Cela est renforcé par Hald et al., (2004) qui ont mis en évidence la présence de *Campylobacter* spp. dans 8,2% des mouches capturées à l'extérieur des bâtiments d'élevages, et qu'en considérant que des centaines de mouches entraient dans les bâtiments à chaque jours, celles-ci pouvaient représenter une source importante de la contamination des poulets par *Campylobacter* spp.

Au cours de notre étude, la colonisation importante des bâtiments par les insectes et les mouches en été reflète la prévalence de 100% constatée dans les lots élevés pendant cette période.

D'autres facteurs de risque liés à la prévalence élevé de *Campylobacter* ont été rapportés dans la littérature comme; la présence de plus de 3 maisons de poulets de chair par ferme ou lorsque 2 personnes ou plus s'occupaient d'une même cohorte (Refregier-Petton et al., 2001), le détassage (Puterflam, 2005) ainsi que les courtes périodes de vide sanitaire (Huneau- Salaun et al., 2007).

La plus part des auteurs s'accordent pour le fait que la transmission horizontale de *Campylobacter* était la principale voie de transmission et que la transmission verticale était peu probable (Van de Giessen et al., 1998 ; Saleha, 2004). En revanche, même en pratiquant des mesures drastiques de contrôle des voies de transmission horizontales, les poulets de chair peuvent être contaminés par *C. jejuni*, laissant croire que la transmission verticale puisse survenir. Cela été renforcé par Pearson et al, (1996) qui ont arrivé à isoler des souches de *C. jejuni* dont les sérotypes ou les génotypes sont les mêmes chez les poulets de chair et leurs parents.

IV.2. Chez les êtres humains

IV.2.1. Incidence

La présence de *Campylobacter* thermotolérants a été mise en évidence dans 3 échantillons sur les 50 prélèvements analysés, soit un taux d'isolement de 6%, [IC 95%: -0,6% ; 12,6%], repartis comme suit ; une souche isolée à partir d'un écouvillon rectal (1/25) et 2 souches par la technique de la filtration passive (2/25). Malheureusement, vu que la non représentativité d'échantillonnage,

on n'a pas arrivé à établir une incidence réelle de la maladie, et par conséquent, la comparaison de nos résultats avec ceux rapportés dans la littérature reste extrêmement relative.

En Algérie, le nombre de travaux menés sur la campylobactériose humaine reste très faible, cela a été expliqué d'une part, par l'absence d'un réseau de surveillance des infections à *Campylobacter* à l'échelle nationale et d'autre part, contrairement au pays développés, chez nous la recherche des *Campylobacter* dans les coprocultures n'était pas systématique.

Nos résultats sont nettement supérieurs à ceux rapportés en Algérie par Al Amir (2008), qui a arrivé au niveau de l'institut pasteur d'Alger à isoler 15 souches de *C. jejuni* sur un total de 927 prélèvements de selles, ce qui représente un taux d'isolement de 1,6%. Le même auteur dans une vaste étude allant de 2006 à 2009 sur un total de 2950 coprocultures, a constaté un taux d'isolement de 1,9% (55/2950). Cependant, des résultats supérieurs aux nôtres ont été notés dans l'Ouest d'Algérie par Megraud et al, (1990), qui ont rapporté un taux d'isolement de 17,7% à partir de 411 échantillons prélevés par écouvillonnage rectal (73/411). Le taux élevé constaté par Megraud, peut être expliqué par le fait que la plus part des sujets inclus dans cette étude vivant à l'étranger, c'est-à-dire des gents avec des habitudes alimentaires occidentales, en plus, la plus grande partie des prélèvements a été effectuée durant les mois chauds (305 prélèvements).

Notre taux d'isolement est 3 fois supérieur à celui de Al Amir, on a rendu ça au fait que l'auteur a inclus dans leur étude un nombre important des malades asymptomatiques (demandes de visa ou de recrutement, personnes travaillant dans un hôtel, restaurant ou usine agro-alimentaire).

Généralement, les pays en voie de développement n'ont pas des programmes nationaux de surveillance pour la campylobactériose humaine et la plupart des évaluations d'incidence de la campylobactériose sont issus des laboratoires de surveillance des pathogènes responsables de la diarrhée.

Nos résultats sont cohérents avec ceux rapportés au Nigeria (8,2 %) (Samuel et al., 2006), et en Égypte (7,7%) (Coker, 2001). Cependant, Des taux largement supérieurs aux nôtres ont toutefois étaient constatés dans de nombreux pays ; en Pakistan (24,8%) (Ibrahim et al., 2004), en Tanzanie (18%) (Lindblom et al., 1995) et en Bangladesh (17,4%) (Albert, 1999).

D'autre part, nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés en Arabie Saoudite (4.5%) (R. Zaman et al., 1992) et en Jordanie (1.5%) (Youssef et al., 2000).

Les écarts de taux d'infection observés dans les pays en voie de développement peuvent être attribuables à la nature du milieu utilisé, à la provenance (toutes les tranches d'âge ou les enfants seulement) et la nature des prélèvements (selles diarrhéiques ou des écouvillons). En effet, dans la plupart des études où le taux d'infection est relativement faible (Jordanie (1.5%), on a constaté qu'il y a une utilisation de milieu de Skirrow qui se caractérise par sa faible sensibilité à la détection des

Campylobacter thermotolérants par rapport aux autres milieux comme celui de mCCDA et de Karmali.

Dans les pays développés, les taux d'infection par *Campylobacter* ont été sensiblement montés durant les 20 dernières années. Une partie de cette augmentation peut être due aux améliorations des techniques de détection des *Campylobacter*, mais d'autre part elle reflète une augmentation vraie de l'infection. Par exemple, l'incidence de l'infection rapportée en Nouvelle Zélande est augmentée de 14 à 120 par 100.000 entre 1981 et 1990 et extraordinairement à 363 par 100.000 en 1998 (Tauxe, 2001). Selon le rapport de l'AFSA (2011), *Campylobacter* a continué d'être le pathogène bactérien le plus rapporté dans les infections gastro-intestinales dans l'union européen depuis 2005 avec une incidence de 45.6 par 100,000 habitants en 2009. Selon le même rapport les quasis totalité des pays membres de l'union européenne ont constaté une augmentation de l'incidence annuelle de la campylobactériose. En revanche, quelques rares pays ont constaté une diminution de l'incidence comme l'Autriche qui a constaté une incidence de 18.1 par 100,000 en 2009 contre une incidence de 51.4 par 100,000 en 2008. Ce déclin pourrait être expliqué par les améliorations dans la maîtrise des facteurs de surtout la bonne désinfection des eaux de boisson. En plus d'autre pays ont été rapportés indemne de la campylobactériose humaine à l'instar de Lettonie.

Des taux largement inférieurs aux nôtres ont toutefois été constatés dans de nombreux pays industrialisé ; En Angleterre, entre 1993 et 1996, Wheeler et al, (1999) ont constaté une incidence de 8,7 par 1000 personnes. Aux Etats Unis, l'incidence des infections à *Campylobacter* confirmées a été estimée à partir des données de surveillance active du système Foodnet à 19,4 / 100 000 en 2000 (Friedman et al., 2004).

Karmali et al, (1986), lors de ses premiers essais d'un nouveau milieu à base de charbon pour l'isolement de *Campylobacter* ont arrivé à isoler *Campylobacter* thermotolérants à partir 35 échantillons de selles sur un total de 1227 ce qui correspond à un taux d'isolement de (2,9%).

D'autre part, nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés dans de nombreux pays industrialisé tel que : en Italie, dans une étude menée en sienne entre 1981 et 1990 ont constaté un taux de contamination de 10,8% (Figura et al., 1997, cité par Calistri, 2008), en plus (Caprioli et al., 1996, cité par Calistri, 2008) dans une autre étude en Italie ont rapporté un taux d'infection de 7,9%. De même Albert et al, (1992) en Australie, ont constaté un taux relativement élevé (33,3%) à partir 676 prélèvements de selles provenant des malades diarrhéiques, en combinant 2 méthodes d'isolement ; la technique de filtration passive et un milieu sélectif à base de charbon (presque comme notre protocole).

C.jejuni comme les autres bactéries entéropathogènes peut être incriminé dans des syndromes post-infectieux, toutefois le syndrome post-infectieux le plus important à considérer est le syndrome de Guillain Barré, chez nous en Algérie, il n'existe pas des statistiques officiels sur

l'impact réel de ce syndrome, en Holland le nombre des cas de SGB est approximativement 180 cas par an (Havelaar et al, 2001).

IV.2.2. Facteurs de risque pour la population humaine

On ne peut discuter de l'épidémiologie de *Campylobacter* sans mentionner son patron saisonnier. Ce phénomène semble non seulement être présent aussi bien chez la population humaine que chez la population aviaire mais aussi avec une concordance, cette concordance de saisonnalité a été rapportée par plusieurs auteurs comme Patrick et al, (2004).

En effet, la prévalence de *Campylobacter* variait selon la saison, avec un apogée en été et au début de l'automne surtout dans le monde industrialisé, avec un pic estival survenant entre les semaines 23 et 35 de l'année (Mølbak, 2001). Cependant des études en Nouvelle Zélande et en Australie ont montré que cette saisonnalité n'est pas évidente (Jore et al., 2009). En réalité le caractère saisonnier semble être prononcé davantage en augmentant la latitude (Tauxe, 2001).

Par contre, dans les pays en voie de développement la prévalence de *C. jejuni* ne semble pas avoir des variations saisonnières. Certains croient que l'absence des variations extrêmes de température serait une explication possible, mais d'autres croient plutôt que l'absence des systèmes adéquats de surveillance des épidémies à *Campylobacter* fait en sorte que le phénomène n'est pas observé (Coker, 2001). En Algérie Megraud et al, (1990) n'ont observé aucune différence concernant le taux d'isolement de *Campylobacter* après stratification des résultats par saison. Cependant, Al Amir (2008) a rapporté des résultats un peu contradictoires, parce que elle a constaté un pic hivernal, c'est bien que, le plus grand nombre des souches a été isolé durant les mois s'étalant de Novembre à Février.

Au cours de notre étude, contrairement à la saisonnalité chez la population aviaire, on n'a pas arrivé à mettre en évidence cette saisonnalité chez la population humaine, en raison de la courte durée d'expérimentation consacrée à l'étude de l'incidence de la campylobactériose humaine.

Dans les pays développés, la campylobactériose affecte tous les âges, mais surtout les enfants qui ayant moins de 4 ans suivit par les jeunes adultes entre 15 et 44 ans (Tauxe, 2001). En France, selon King et al, (2008), l'âge médian des personnes infectées par *Campylobacter* était de 23 ans (extrêmes : 4 jours-100 ans). Par ailleurs, 31,2% des souches de *Campylobacter* ont été isolées chez des enfants âgés de moins de 10 et 14,5% chez des personnes âgées de plus de 65 ans.

En revanche, dans les pays en voie de développement, la campylobactériose sévit surtout chez les enfants moins de 2 ans avec des diarrhées. Cependant, les infections chez les enfants semblent diminuer avec l'âge et la maladie ne semble pas être importante chez les adultes (Coker et al., 2002). Par contre, en Algérie (Megraud et al., 1990 ; Al Amir, 2008) n'ont observé aucune différence concernant le taux d'isolement de *C.* après stratification des résultats par âge.

Au cours de notre étude les 3 isolats sont issus de 2 enfants de sexe masculin moins de 4 ans et un malade âgé de 70 ans. Ce qui confirme d'autres études suggérant que la campylobactériose humaine sévisse surtout chez les personnes d'extrême âge.

Le sexe a aussi été démontré comme étant un facteur de risque, selon l'AFSSA (2003), le Sex- ratio des malades indique que l'infection est plus fréquente chez l'homme que chez la femme, sans qu'une raison précise n'ait pu être invoquée. En plus, selon (Tauxe, 2001), l'incidence de l'infection par *C. jejuni* est 2,1 à 2,5 fois plus élevée chez les mâles que chez les femelles.

Au cours de notre étude les 3 isolats sont issus des sujets de sexe masculin, ce qui confirme la constatation des autres études.

En Algérie, aucune épidémie à *Campylobacter* a été rapportée, et les cas de campylobactériose sont souvent sporadique, ou mal diagnostiqués, en effet les *Campylobacter* thermotolérants sont très prévalent chez la volaille au niveau des abattoirs. Messad (2011) a rapporté un taux de contamination de la peau du cou des poulets de chair de 80%. La prévalence élevée de *Campylobacter* thermotolérant chez la volaille aussi bien au niveau des bâtiments d'élevage qu'au niveau des abattoirs et l'absence des épidémies à *Campylobacter* peut être expliquée seulement par les habitudes de la population algérienne, qui fait bien cuire les aliments surtout les viandes.

L'eau contaminée par *Campylobacter*, et le lait cru non pasteurisé sont des facteurs de risque très importants pour la population humaine (AFSA, 2011), et leurs consommation est associée aux grandes épidémies d'entérite aux Etats-Unis (Sacks et al., 1986).Cependant, en Norvège (Kapperud et al., 1992) ont rapporté que l'association entre la consommation de l'eau non traitée et la campylobactériose n'était pas statistiquement significative.

D'autres facteurs de risqué ont été rapportés dans la littérature comme; le contacte direct avec les animaux de compagnie (Kapperud et al, 1992), la Séropositivité au HIV (Tauxe, 2001). En fin, il est important de noter que plusieurs auteurs ont rapporté que la transmission interhumaine de campylobactériose est rare (Adak et al., 1995, cité par AFSSA, 2003).

V. ÉVALUATION DE RENDEMENT DES DIFFÉRENTES TECHNIQUES DE PRÉLEVEMENT ET D'ISOLEMENT

V.1. Évaluation du rendement des différentes techniques du prélèvement

Que ce soit pour les échantillons aviaires ou humains, on a utilisé des techniques de prélèvement différentes pour essayer de déterminer les techniques les plus fiables pour l'isolement des *Campylobacter*. La différence entre les taux d'isolement obtenu à la suite des différentes techniques de prélèvement est statistiquement non significative ($p > 0,05$) suggérant ainsi que la technique de prélèvement n'a pas une influence sur le taux d'isolement. Pour nous la non significativité de différence entre les taux d'isolement est attribuable à la non représentativité du nombre des échantillons, et par conséquent on préconise l'utilisation de la technique d'écouvillonnage en raison de sa facilité d'emploi, étant donné qu'elle nécessite peu de temps. En plus, elle donne parfois des meilleurs résultats parce qu'elle permet le raclage de la muqueuse rectale ou cloacale (poules de chair) où se trouvent les *Campylobacter* (Kaplan et al. 1982).

V.2. Évaluation du rendement des différentes techniques d'isolement

Aussi bien pour les échantillons humains qu'aviaires, on a examiné la présence des *Campylobacter* thermotolérants en utilisant simultanément : l'isolement par la technique de la filtration passive ainsi que par l'utilisation d'un milieu sélectif de Karmali. Après la lecture des résultats, et pour les 2 populations humaines qu'aviaires, la différence entre les deux taux d'isolement est statistiquement non significative ($p > 0,05$). Pour nous, la non significativité de la différence entre les taux d'isolement est attribuable à la non représentativité du l'échantillonnage.

Malgré la sensibilité relativement basse de la technique de la filtration passive (Goossens et al., 1986), la durée d'exécution relativement longue et la déficience de l'isolement des bactéries dans les prélèvements contenant moins de 105 UFC/g (Aspinall, 1993), on préconise l'utilisation de cette dernière, parce qu'elle ne nécessite pas des antibiotiques spécifiques, ce qui la rend sur le plan économique moins chère, et sur le plan bactériologique apte à isoler des espèces plus sensibles aux antibiotiques et qui semblent être associées à la diarrhée (Albert et al., 1992 ; Goossens et al., 1986).

En réalité, des travaux plus récents ont indiqué que d'autres espèces de *Campylobacter* d'importance dans les gastro-entérites comme *C. upsaliensis* ne seront pas isolées par les milieux sélectifs habituels en raison de leur susceptibilité aux antibiotiques utilisés dans la plupart des milieux (Warmley et Karmali, 1989). En plus, cette méthode est capable d'isoler des colonies pures

de *Campylobacter*, contrairement aux milieux sélectifs, avec lesquels un procédé de purification doit souvent être employé pour obtenir une culture pure. (Megraud, 1987). En outre, plusieurs auteurs (Goossens et al., 1990, cité par Albert et al., 1992) ont trouvé que l'utilisation d'un milieu sélectif simple ne soit pas satisfaisante pour l'isolement optimal des espèces de *Campylobacter*, et par conséquent une combinaison de 2 milieux en particulier d'un milieu sélectif et d'un milieu non sélectif utilisant une technique de filtration est nécessaire.

Au cours de notre étude on a utilisé le milieu de Karmali parce qu'il présente un minimum d'inconvénients, en réalité selon Karmali et al, (1984), le seul inconvénient apparent de ce milieu est que qu'on ne s'attendrait pas la croissance de deux groupes de *Campylobacter* thermophiles atypiques qui ont été récupérés par Steele en utilisant une technique non sélective de filtration à partir des selles des enfants diarrhéiques. Ces souches atypiques se composent (i) des variantes nitrate-négatives de *C. jejuni* et (ii) des souches catalase-négatives, nitrate-positives, hippurate négative qui sont mentionnées comme groupe de CNW (catalase-négative or weak).

VI. SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE *CAMPYLOBACTER* THERMOTOLÉRANTS ISOLÉES

Plusieurs méthodes parmi lesquelles la méthode de diffusion des disques, la méthode de dilution en milieu gélosé et le "Epsilometer-test" avaient été développées pour déterminer les profils de sensibilité in-vitro de *Campylobacter* à une gamme d'antibiotiques (Engberg et al., 1999).

Une étude récente menée par Luangtongkum et al., (2007) pour évaluer la sensibilité des souches de *Campylobacter* à l'acide nalidixique, à la clindamycine, à la ciprofloxacine, à l'érythromycine, à la tétracycline et à la gentamicine par la méthode récemment standardisée de dilution en milieu gélosé et par la méthode des disques a montré qu'il existait une corrélation élevée entre les deux méthodes. Cette étude suggère également que la méthode de diffusion de disque puisse être employée comme une méthode alternative fiable pour l'essai de la susceptibilité des *Campylobacter* thermotolérants à plusieurs classes d'antibiotiques, en particulier les aminosides et les quinolones.

Bien que la méthode de diffusion en milieu gélosé ne soit pas encore standardisée, et pour des raisons d'ordre matériel, l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* thermotolérants que nous avons les isolées a été réalisée par cette dernière (méthode des disques).

À la suite de la lecture des résultats de l'antibiogramme, on a trouvé que les 30 souches de *Campylobacter* thermotolérants testées présentaient des taux de résistance élevés vis-à-vis ;

L'ampicilline et l'augmentin (100%), l'érythromycine (90%), la tétracycline (66,3%), le chloramphénicol (53,3%), l'enrofloxacin (46,1%). D'autre part, aucune résistance à la gentamicine (0%) n'a été constatée. Certaines études ont montré que l'utilisation des antibiotiques chez la volaille sélectionne des souches de *Campylobacter* résistantes à ces antibiotiques (Mc Dermott et al., 2002). Cependant, la relation entre l'utilisation des antibiotiques et la résistance n'est pas toujours aussi simple à établir, selon (Sanders 1999 cité par Peyrat, 2008),

On a constaté que le taux de résistance à l'érythromycine était de 90%, un taux de résistance très élevé et surtout inquiétant pour la santé publique, car l'érythromycine est considéré comme l'antibiotique de choix dans le traitement des infections à *Campylobacter* (Engberg et al., 2001).

Plusieurs études ont rapportées des taux de résistance à l'érythromycine largement inférieurs au nôtre surtout dans les pays industrialisés; 0,8% (*C.jejuni*) (Andersen et al., 2006), 3,1% (Hariharan et al., 2009), 12,5% (Corcoran et al., 2006), 45% (Pezzotti et al., 2003), dans l'union européenne, le taux de résistance à l'érythromycine est varié de 0 à 8% : Lettonie (0%) et la Belgique (8%) (EFSA, 2010). En revanche des taux relativement élevés ont aussi été rapportés : en Turquie 56,9% (Bostan et al., 2009) et en Malaisie 98,7% (Tang et al., 2009).

En Algérie, parmi les antibiotiques employés à titre curatif dans les élevages nous citons : l'érythromycine (MADR/DSV, 2004), d'autres études menées en Algérie ont rapportées des taux de résistance à l'érythromycine variables, celui de Gassoum (2011) (89%) corrobore avec notre taux, alors que celui de Messad (2011) (28%) est largement inférieur au nôtre.

Les mécanismes de résistance aux macrolides chez les *Campylobacter* décrits à ce jour sont de deux types : des mutations ponctuelles de la cible (l'ARN 23S) et des systèmes d'efflux. Aucune résistance par modification enzymatique de ces antibiotiques n'a été rapportée (Boola, 2008), les mutations conduisent à une mutation de haut niveau et concernent les positions 2074 et 2075 de l'ARNr 23S. Plus rarement, des mutations affectant les protéines structurales L4 et L22 du ribosome ont aussi été décrites mais dans ce cas le niveau de résistance est plus faible (Corcoran et al., 2006). Un second type de résistance a été rapporté et concerne les mécanismes d'efflux dont la pompe Cme ABC, le rôle de ce type de résistance a été mis en évidence par l'utilisation d'un inhibiteur d'efflux : phénylalanine - arginine β - naphthylamide (PA β N), qui peut augmenter de manière significative la susceptibilité de la souche de référence NCTC 11168 à l'érythromycine (Mamelli et al., 2003). En plus, plusieurs auteurs ont attribué l'émergence des souches résistantes aux macrolides à l'utilisation massive de ces molécules en médecine vétérinaire (Gibrel et al., 2006).

L'augmentation de la résistance à l'érythromycine dans les pays développés est souvent basse et stable (1% à 2%), cela n'est pas vrai dans les pays en voie de développement (Steinbrückner et al., 2001). Par exemple : en 1984, 82% des souches de *C.* isolées à Nigeria étaient sensible à l'érythromycine, dix ans après, seulement 18,2% étaient sensible (Coker et al., 1994).

En réalité, la plus part des éleveurs et les vétérinaires gérant les bâtiments avicoles visités au cours de notre étude utilisent les macrolides surtout la tylosine de façon abusive pour contrôler les affections respiratoires, ce qui entraîne sans doute des résistances croisées à l'érythromycine.

À défaut de la ciprofloxacine, on a utilisé l'enrofloxacine, une molécule largement utilisée en médecine vétérinaire, après la lecture des résultats de l'antibiogramme on a constaté que la résistance à l'enrofloxacine était de 46,7%.

Des taux de résistance à l'enrofloxacine similaires au nôtre ont été rapportés; 48,8% (Bostan et al., 2009), 52,7% (Michela et al., 2010), d'autre part nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés au Japon ; 12,4% (Ishihara et al., 2004). En revanche, des taux de résistance plus élevés au nôtre ont été constaté par plusieurs auteurs ; 66,7% (Pezzotti et al., 2003) et 73,3% (Mati et al., 2007).

En Algérie des taux de résistance à la ciprofloxacine très élevé ont été rapportés : 92% (Gassoum, 2011) et 83% (Messad, 2011).

Le mécanisme de résistance aux quinolones est lié à la présence de la mutation thréonine isoleucine à la position 86 du QRDR {Quinolone Resistance Determining Region} de la protéine GyrA (Kinana, 2006). En réalité, les pays qui ont interdit l'emploi des ces antibiotiques chez les animaux d'élevage (Australie) ou qui les utilisent avec parcimonie (suède) présentent de très faibles niveau de résistance aux fluoroquinolones (Messad, 2011).

Au cours de notre étude, on a constaté que le taux de résistance à la tétracycline était de 66.3%, notre taux est cohérent avec celui annoncé par : Mackiw et al, (2012) 64.3%, Bostan et al, (2009) 69% et Avrain et al., (2003) 70%. Cependant, des taux supérieurs au nôtre ont été rapportés : 76,3% (Pezzotti et al., 2003), 92% (Tang et al., 2009). D'autre part, nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés au Grenade 50% (Hariharan et al., 2009),

En Algérie des taux de résistance à la tétracycline très élevé ont aussi été rapportés : 94% (Gassoum, 2011) et 84% (Messad, 2011).

La résistance à la tétracycline est en générale plasmidique, elle due à la présence d'un gène nommé tet(O) (Taylor et al., 1988), ce gène conduit au déplacement de la tétracycline de son site de fixation sur le ribosome (Connell et al., 2003).

(Desmonts et al., 2004, cité par Tambur et al., 2010) ont lié la résistance aux tétracyclines à leur utilisation abusive en pratique vétérinaire.

Au cours de notre étude nous avons noté que tous les élevages visités étaient constamment traités par la tétracycline.

Bien que la résistance au chloramphénicol soit très rare chez *Campylobacter* et malgré la prohibition de leur utilisation en Algérie depuis l'année 2006, on a constaté un taux de résistance de 55,3%, un taux largement supérieur à celui annoncé en Algérie par Messad (2011) 0%, et Gassoum (2011) 11,57%. Cela peut être imputable à l'utilisation de cet antibiotique de façon frauduleuse par les vétérinaires ainsi que par les éleveurs. D'autre part, à la Turquie Bostan et al. (2009) ont rapportés un taux de résistance au chloramphénicol de 36%, et en Malaisie (Tang et al., 2009) ont rapportés un taux de résistance au chloramphénicol de 84%.

La totalité des souches qui font objet de l'antibiogramme ont été trouvées résistantes à l'ampicilline, cette constatation a aussi été rapportée par plusieurs auteurs : (Bardon et al., 2011) 100%, (Fernández, 2001) 100%. En Algérie, des taux relativement élevés ont été rapportés par Messad(2011)75%. Gassoum (2011) 82,25%.

Treiber et Taylor (2000) supposent que la résistance soit fréquente et quasi naturelle chez *Campylobacter* aux pénicillines et aux céphalosporines et cela par la capacité des *Campylobacter* à produire des bêta lactamases (Li et al., 2007).

Au cours de notre étude, toutes les souches qui font objet de l'antibiogramme étaient sensibles à la gentamycine, cela renforce les résultats obtenus par Messad (2011) en Algérie, qui a aussi constaté un taux de résistance de 0%, cela peut être dû à l'interdiction de l'utilisation de cet antibiotique dans le traitement des élevages avicoles, car cet antibiotique a été suspendu de l'homologation en Algérie depuis l'année 2006 (OMS,2008), la nullité de taux de résistance à la gentamycine a aussi été rapportée par plusieurs auteurs : en France (Avrain et al., 2003), au Grenade (Hariharan et al., 2009), au Danemark (Andrsen et al., 2006). Cependant, Gassoum (2011) en Algérie a rapporté un taux de résistance à la gentamycine de 47,54%, cela peut être consécutif à l'utilisation de cet antibiotique de façon frauduleuse par les vétérinaires ainsi que par les éleveurs.

D'autre part des taux de résistance relativement faibles ont été enregistrés par plusieurs auteurs : 1,6% (Pezzotti et al., 2003), 5.4% (Rodrigo et al., (2007) , pour (Rodrigo et al., 2007) le faible taux de résistance a été expliqué par la l'impraticabilité de l'utilisation de la gentamycine dans les élevages avicoles vu que sa voie d'administration exclusivement intramusculaire.

Mouffok et Lebres (1992) en Algérie, en utilisant des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des fientes et des peaux du cou des poulets de chair dans la région d'Alger ont rapportés des taux de résistance de 0% vis-à-vis : l'ampicilline, la tétracycline, l'acide nalidixique et l'érythromycine. En comparant ces résultats avec nos résultats on

conclut qu'il y a une augmentation accrue de la résistance aux antibiotiques au fil des vingt dernières années.

Pour les êtres humains, le taux de résistance aux antibiotiques ne cesse d'augmenter aussi bien dans les pays développés que dans les pays en voie de développement, bien que l'incidence soit plus haute dans les pays en voie de développement. L'utilisation des antibiotiques pour traiter des infections autres que les gastroentérites et l'automédication sont souvent les causes de la résistance dans les pays en voie de développement, alors que dans les pays développés, la résistance est due à leur utilisation dans l'alimentation animale et le voyage vers les pays en voie de développement.



CONCLUSION
GÉNÉRALE ET
PERSPECTIVES

Conclusion générale et perspectives

Dans ce travail nous avons exploré le niveau de contamination de quelques élevages de poulets de chair par les *Campylobacter* thermotolérants, et au même temps on a essayé d'étudier l'influence de certains facteurs tels que (la saison, l'âge de sujets au moment du prélèvement, la taille de troupeau, la technique du prélèvement et la méthode d'isolement employée) sur le taux de contamination. En plus, on a vérifié la présence ou non des *C.* thermotolérants chez 50 malades présentant des problèmes digestifs pour prendre une idée globale sur l'impact de campylobactériose en Algérie, et en fin les souches isolées ont fait l'objets d'une antibiogramme.

Nos résultats ont montré que les lots prélevés étaient contaminés par les *C.* thermotolérants avec une prévalence de 66%, et que le taux de contamination présente des variations saisonnières avec un pic estival de 100%, en revanche, la taille du troupeau et la technique du prélèvement ne semblent pas avoir un effet dans les variations de taux de contamination. Alors que, en ce qui concerne la méthode d'isolement, la différence constatée dans le rendement d'isolement des *C.* thermotolérants entre les deux techniques utilisées (la technique de la filtration passive, et la technique d'isolement sélectif en utilisant le milieu de Karmali) est statistiquement non significative. Cependant, la technique de la filtration passive semble être la méthode de choix pour l'isolement des souches sensibles aux antibiotiques inclus dans les milieux sélectifs à l'instar de *C. upsaliensis*.

D'autre coté, parmi les 50 échantillons humains on a isolé 3 souches, soit un taux d'infection de 6%, mais tellement le nombre des échantillons est faible on n'a pas pu étudier l'effet des différents facteurs de risque. Après l'étude de la sensibilité aux antibiotiques, on a constaté que toutes les souches isolées étaient résistantes au moins à deux antibiotiques. Par ailleurs des taux de multirésistance alarmants notamment à quatre antibiotiques ont été enregistrés et la plus part des souches testées présentaient dans leur profil de résistance l'antibiotique de choix pour traiter la maladie humaine qui est l'érythromycine. Grosso modo, les taux de résistance constatés reflètent une situation critique du phénomène d'antibioresistance, cela sans doute est attribuable à l'utilisation anarchique et incontrôlée des antibiotique en élevage avicole.

A ce jour, très peu de données sont disponibles sur l'épidémiologie des *Campylobacter* en Algérie. Principalement, il n'y a pas de données sur les souches humaines du fait que beaucoup de laboratoires ne recherchent pas systématiquement les *Campylobacter* dans les prélèvements.

Dans le futur, l'élargissement du plan d'échantillonnage qui pourra toucher plusieurs wilayas, ainsi que d'autres études avec un plus grand nombre de souches incluant celles d'origine humaine, sur une large période de temps, pourront fournir plus de données sur l'épidémiologie des

Campylobacter en Algérie. Mais cela n'aurait pas vu le jour sans l'installation des réseaux de surveillance des infections à *Campylobacter* à l'échelle nationale.

L'évolution de la résistance aux antibiotiques chez *Campylobacter* devrait donc faire l'objet d'une grande surveillance. De même, l'utilisation des antibiotiques comme des promoteurs de croissances dans la filière aviaire devrait être limitée ou carrément supprimée afin d'éviter la sélection des souches résistantes.

Recommandations

Puisqu'il est très difficile voire impossible de contrôler la contamination par *Campylobacter* au cours d'abattage en raison des contaminations croisées, la prévention de la colonisation par *Campylobacter* des poulets de chair au niveau de la ferme semble la meilleure façon de prévenir la contamination des produits avicoles et, par conséquent, pour diminuer l'incidence de la campylobactériose humaine.

1. Prévenir l'introduction et la dissémination de Campylobacter au niveau des fermes avicoles :

L'application des mesures suivantes pourrait diminuer la prévalence des *Campylobacter* au niveau des fermes (stade d'élevage) :

- Choisir une bonne implantation des bâtiments d'élevage par rapport au voisinage (éviter les bruits) et les garnir de clôtures de protection.
- Éviter la présence d'autres animaux sur l'élevage.
- Équiper les bâtiments de sas sanitaires comprenant une partie extérieure et une partie intérieure, avec vestiaires, lavabo ou douche.
- Utiliser des locaux, équipements et circuits accessibles au nettoyage et à la désinfection.
- Mettre en place des programmes efficaces de lutte contre les nuisibles (mouches, poux, ténébrions, rongeurs, insectes, oiseaux sauvages, etc.).
- Vérifier et maîtriser la qualité de la litière et de l'ambiance.
- Obliger les opérateurs et les visiteurs professionnels à utiliser les sas sanitaires, où le lavage des mains et le changement de tenue sont systématiques.
- La qualité de l'eau de boisson doit être contrôlée par analyses de laboratoire. Si besoin, des systèmes de traitement de l'eau peuvent être mis en place.
- Entre deux bandes de poulets de chair, les mesures de nettoyage et de désinfection doivent être appliquées, et la durée du vide sanitaire doit être respectée.

2. Prévenir la campylobactériose humaine

- Dans le réfrigérateur, éviter le contact entre la volaille crue et les autres aliments en les séparant et en couvrant la volaille d'un film alimentaire.
- Se laver les mains systématiquement à l'eau chaude savonneuse avant la préparation des repas et après chaque manipulation de la volaille crue.
- Veiller à ce que les aliments soient suffisamment cuits et encore chauds au moment où ils sont servis.

3. Lutte contre le phénomène d'antibiorésistance et amélioration de la réglementation :

- Sensibiliser les éleveurs et les vétérinaires aux risques d'utilisation anarchique des antibiotiques tant pour la santé animale que publique.
- Rédaction de guides de bonnes pratiques d'antibiothérapie en élevage.
- Minimiser voire interdire l'utilisation des quinolones et les macrolides dans élevages avicoles.
- Application stricte de la décision ministérielle N°472 du 12/2006, interdisant toute utilisation des antibiotiques comme promoteurs de croissance.
- Effectuer systématiquement la recherche des *Campylobacter* thermo tolérants dans les coproculture avec l'antibiogramme dans tous les laboratoires et hôpitaux.
- Mettre en place des réseaux de surveillance des infections à *Campylobacter* répartis à l'échelle nationale.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aarestrup F M and Engberg J., 2001:** Antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter* Vet Res. (32):311-321.
- AFNOR, 2004; ISO 10272., 1995:** Microbiologie des aliments - Méthode horizontal pour la recherché des *Campylobacter* thermo tolérants; 15 pages.
- AFSSA., 2003 :** Appréciation des risques alimentaires liés aux *Campylobacter*. Application au couple poulet /*Campylobacter jejuni*. Agence française de sécurité sanitaire des aliments. 1-96. Disponible à <http://www.afssa.fr/Ftp/afssa/>
- Al Amir H., 2008 :** Rapport d'Activité 2008 de l'institut Pasteur d'Algérie. Page : 108.
- Al Amir H., Mouffok F et Hellal H., 2010 :** Recherche de *Campylobacter* dans les selles et étude de sa résistance aux antibiotiques. Société Algérienne de Biologie Clinique (2ème Congrès). Palais de la Culture Moufdi Zakaria, Pages: 45- 46.
- Albert MJ., Faruque ASG., Faruque SM., Sack RB and Mahalanabis D., 1999:** Case-Control Study of Enteropathogens Associated with Childhood Diarrhea in Dhaka, Bangladesh. Journal of Clinical Microbiology. 37(11): 3458–3464.
- Albert MJ., Tee W., Leach A., Asche V and Penner JL., 1992:** Comparison of a blood-free medium and a filtration technique for the isolation of *Campylobacter* spp. From diarrhoeal stools of hospitalised patients in central Australia. J. Med. Microbiol. (37): 176-179.
- Allos BM., 1997:** Association between *Campylobacter* infection and Guillain-Barré Syndrome. The Journal of Infectious Diseases 176 (2): 125-128.
- Altekruse SF., Stern NJ., Field PI and Swerdlow DL., 1999:** *Campylobacter jejuni*, an emerging foodborn pathogen. Emerging Infectious Diseases 5(1): 28-35.
- Andersen S R., Saadbye P., shukri N M., Rosenquist H., Nielsen N L and Boel J., 2006:** Antimicrobial resistance among *Campylobacter jejuni* isolated from raw poultry meat at retail level in Danmark. International Journal of Food Microbiology.(107):250-255.
- Aspinall ST., Wareing DRA., Hayward PG and Hutchinson DN., 1993:** Selective medium for thermophilic *Campylobacters* including *Campylobacter upsaliensis*. J. Clin. Pathol., 46, 829–831.

- Avrain I., Humbert F, L'Hospitalier R., Sanders P., Vernozy-Rozand C., Kempfa I., 2003:** Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers: association with production type and antimicrobial use. *Veterinary Microbiology*. (96) 267–276.
- Bacon D., Szymanski CM., Burr DH., Silver RP., Alm RA and Guerry p., 2001:** A phase-variable capsule is involved in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Molecular Microbiology* 40(3):769-777.
- Baillon ML., Van Vliet AHM., Ketley JM., Constantinidou C and Penn CW., 1999:** An iron-regulated alkyl hydroperoxide reductase (AhpC) confers aerotolerance and oxidative stress resistance to the microaerophilic pathogen *Campylobacter jejuni*. *Journal of Bacteriology*. 181(16): 4798- 4804.
- Bang DD., Nielsen EM., Knudsen K and Madsen M., 2003:** A one-year study of *Campylobacter* carriage by individual Danish broiler chickens as the basis for selection of *Campylobacter* spp. strains for a chicken infection model. *Epidemiology and Infection*. (130): 323-333.
- Bardon J., Kolár M ., Karpísková R and Hricová K., 2011:** Prevalence of thermotolerant *Campylobacter* spp. in broilers at retail in the Czech Republic and their antibiotic resistance. *Food Control*. (22): 328-332.
- Barrios PR., Reiersen J., Lowman R., Bisailon JR., Michel P., Fridriksdottir V., Gunnarsson E., Stern N., Berke O ., Mcewen S and Martin W., 2006:** Risk factors for *Campylobacter* spp colonization in broiler flocks in Iceland. *Preventive Veterinary Medicine*. (74):264-278.
- Bauwens L and De Meurichy W., 1981:** The occurrence of thermophilic *Campylobacter* in zoo animals. *Acta Zoologica et Pathologica Antverpiensia*(76): 181-189.
- Berndtson E., Danielsson-Tham ML and Engvallb A., 1996 b:** *Campylobacter* incidence on a chicken farm and the spread of *Campylobacter* during the slaughter process. *International Journal of Food Microbiology* (132): 35 - 47.
- Berndtson E., Emanuelson U., Engvall A and Danielsson-Tham., 1996 a:** A 1-year epidemiological study of *Campylobacters* in 18 Swedish chickens farms. *Preventive Veterinary Medicine* (26): 167-185.
- Berrang ME and Dickens JA., 2000:** Presence and level of *Campylobacter* spp on broilere carcasses throughout the processing plant, *Journal of applied Poultry Research*.(9): 43-47.

- Beumer R R, Noomen A., Marijs J A and Kampelmacher E H., (1985);** Antibacterial action of the lactoperoxidase on *Campylobacter jejuni* in cow's milk. Netherland Milk Dairy Journal. 39(2): 107-114.
- Black RE., Levin MM., Clements ML., Hugues TP and Blaser MJ., 1988:** Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans, Journal of infectious Diseases,157(3);164-167.
- Blaser M J., 1997:** Epidemiologic and Clinical Features of *Campylobacter jejuni* Infections. The Journal of Infectious Diseases .176 (2):103–105.
- Bloomfield SF., Stewart GSAB., Dodd CER., Booth IR and Power EG., 1998:** The viable but non culturable phenomenon explained. Microbiology; (144):1-3.
- Bolla JM and Garnotel E., 2008 :** les infections à *Campylobacter*. Revue francophone des laboratoires N 400 :27-35.
- Bolton FJ., 2001:** Methods for isolation of *Campylobacters* from humans, animals, food and water. WHO Consultation on the increasing incidence of human campylobacteriosis. 87-93.
- Bolton FJ., Hutchinson DN and Coates D., 1984:** Blood-free selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from faeces. Journal of Clinical Microbiology. 19(2), 169–171.
- Bonnefoy C., Guillet F., Leyral G and Bourdais., 2002:** microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Sciences des aliments, Edition Doin, page 182.
- Bostan K, Aydin A and Ang MK., 2009:** Prevalence and Antibiotic Susceptibility of Thermophilic *Campylobacter* Species on Beef, Mutton, and Chicken Carcasses in Istanbul, Turkey. Microbial Drug Resistance. 15(2): 143-149.
- Bouhemed R., 2011:** détection et étude de la sensibilité des souches de *Campylobacter* thermotolérant isolées chez la dinde dans quelques élevages et établissement d'abattage avicoles situées dans la région d'Alger : These de magister : Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, 118 pages.
- Bouwknegt M., van de Giessen AW., Dam-Deisz WDC., Havelaar AH., Nagelkerke NDJ and A.M. Henken AM., 2004:** Risk factors for the presence of *Campylobacter* spp. in Dutch broiler flocks. Preventive Veterinary Medicine (62) 35-49.
- Buck GE., Parshall KA and Davis CP., 1983:** Electron microscopy of the coccoid form of *Campylobacter jejuni*. Journal of Clinical Microbiology. 18 (2): 420-421.

- Bull SA., Allen VM., Domingue G., Jørgensen F., Frost JA., Ure R., Whyte V., Tinker D., Corry JEL., Gillard-King J and Humphrey T G., 2006:** Sources of *Campylobacter* spp. colonizing housed broiler flocks during rearing. *Applied and Environmental Microbiology*, 72 (1): 645-652.
- Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé., 1980:** Infections intestinales dues à *Campylobacter*, *Yersinia*, *Salmonella* et *Shigella*. 58 (5): 691-711.
- Burocoa C., 2007:** Bacilles à gram négative microaérophile: *Campylobacter* en bactériologie médicale, Ed Elsevier Masson France, pages: 387-391.
- Buswell CM., Herlihy YM., Lawrence LM., McGuiggan JTM., Marsh D., Keeveil CW and Leach SA., 1998:** Extended survival and persistence of *Campylobacter* spp. in water and aquatic biofilms and their detection by immunofluorescent-antibody and -rRNA staining. *Applied and Environmental Microbiology*. 64 (2): 733-741.
- Butler RC., Lund V and Carlson DA., 1987;** Susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *Yersinia enterocolitica* to UV Radiation. *Applied and Environmental Microbiology*. 53(2): 375-378.
- Butzler JP., 2004:** *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin Microbiol Infect* (10): 868-876.
- Butzler JP., 2001:** Campylobacteriosis in humans (A historical overview). WHO Consultation on the Increasing Incidence of Human Campylobacteriosis: 38-41.
- Calistri P and Giovannini A., 2008:** Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis related to the consumption of chicken meat in two Italian regions. *International Journal of Food Microbiology*. (128): 274 –287.
- Cantet F., Magras C., Marais A., Federighi M and Mégraud F., 1999:** Helicobacter species colonizing pig stomach: molecular characterization and determination of the prevalence. *Applied and Environmental Microbiology*. 65(10): 4672- 4676.
- Cardinale E., Tall F., Guèye EF., Cisse M and Salvat G., 2004:** Risk factors for *Campylobacter* spp. infection in Senegalese broiler-chicken flocks. *Preventive Veterinary Medicine*. (64): 15–25.
- Cawthraw SA., Wassenaar TM., Ayling R and Newell DG., 1996:** Increased colonization potential of *Campylobacter jejuni* strain 81116 after passage through chickens and its implication on the rate of transmission within flocks. *Epidemiol. Infect.* (117): 213-215.

- Coker AO., 2001:** Incidence, trends and sources of Campylobacteriosis in developing countries; an overview. WHO Consultation on the increasing incidence of human campylobacteriosis: 44-48.
- Coker AO and Adefeso AO, 1994:** The changing patterns of *Campylobacter jejuni/ coli* in Lagos, Nigeria after ten years. East Afr Med J; 71: 437-40
- Coker AO., Isokpehi RD., Thomas BN., Amisu KO and Obi CL., 2002:** Human Campylobacteriosis in Developing Countries. Emerging Infectious Diseases. 8 (3): 237-243.
- Connell SR., Trieber CA., Dinos GP., Einfeldt E., Taylor DE and Nierhaus KH., 2003:** Mechanism of Tet(O)-mediated tetracycline resistance. The European Molecular Biology Organization Journal 22(4): 945-953.
- Cooper R., Segal H., Lastovica AJ and Elisha BG., 2002:** Genetic basis of quinolone resistance and epidemiology of resistant and susceptible isolates of porcine *Campylobacter coli* strains. Journal of Applied Microbiology 93(2): 241-249.
- Corcoran D., Quinn T., Cotter L., Whyte P and Fanning S., 2006:** Antimicrobial resistance profiling and fla-typing of Irish thermophilic *Campylobacter* spp. of human and poultry origin. Letters in Applied Microbiology. (43): 560–565.
- Corry JE and Atabay HI., 2001:** Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. Journal of Applied Microbiology (90): 96-114.
- Corry JE., Post DE., Colin P and Laisney MJ., 1995:** Culture media for the isolation of *campylobacters*. International Journal of Food microbiology. (26): 43–76.
- Debruyne L., On SLW., De Brandt E and Vandamme P., 2009:** Novel *Campylobacter lari*-like bacteria from humans and molluscs: description of *Campylobacter peloridis* sp. nov., *Campylobacter lari* subsp. *concheus* subsp. nov. and *Campylobacter lari* subsp. *lari* subsp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (59): 1126–1132.
- Debruyne L., Broman T., Bergstrom S., Olsen B., On SLW and Vandamme P., 2010:** *Campylobacter subantarcticus* sp. nov., isolated from birds in the sub-Antarctic region. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. (60): 815–819.
- Diagana M., Khalil M., Preux PM., Dumas M and Jauberteau MO., 2003 :** Polyradiculonevrites et *Campylobacter jujuni*: Aspect cliniques et physio-pathologiques. Médecine Tropicale. 63(1) : 68-74.

- Doig P., Kinsella N., Guerry P and Trust TJ., 1996:** Characterization of a post-translational modification of *Campylobacter* flagellin: identification of a sero-specific glycosyl moiety. *Molecular Microbiology*.19 (2):379-387.
- Dromigny E., 2007:** *Campylobacter*. Lavoisier, pages : 2, 9, 12, 13, 15, 16, 20, 22, 25, 31,33, 35, 39, 58, 62, 63, 64, 66, 68, 74, 83, 108, 109, 111, 113, 114, 203, 204, 205.
- Eastmond CJ and Reid TMS., 1982:** *Campylobacter enteritis* and erythema nodosum, *Br Med J*; (285): 1421-1422.
- Ellis-Iversen J., Jorgensen F., Bull S., Powell L., Cook A J and Humphrey T J., 2009:** Risk factors for *Campylobacter* colonisation during rearing of broiler flocks in Great Britain. *Preventive Veterinary Medicine*. (89): 178–184.
- Engberg J., Aarestrup FM., Taylor DE., Gerner-Smidt P., and Nachamkin I., 2001:** Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerging Infectious Diseases*. 7(1): 24-34.
- Engberg J., Andersen S, Skov R, Aarestrup FM and Gerner-Smidt P., 1999:** Comparison of two agar dilution methods and three agar diffusion methods, including the Etest, for antibiotic susceptibility testing of thermophilic *Campylobacter* species. *Clinical Microbiology and Infection* 5(9): 580-584.
- Engberg J., Neimann J., Nielsen EM., Aarestrup FM and Fussing V., 2004:** Quinolone resistant *Campylobacter* infections in Denmark: risk factors and clinical consequences. *Emerging Infectious Diseases* 10(6): 1056-1063.
- European Food Safety Authority., 2011:** The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009, 9(3): 2090.
- Euzéby JP., 2002 :** Dictionnaire de bactériologie vétérinaire - en ligne. Disponible à <http://www.bacterio.cict.fr>.
- Evans SJ and Sayers A R., 2000:** A longitudinal study of *Campylobacter* infection of broiler flocks in Great Britain. *Preventive Veterinary Medicine*, (46): 209-223.
- Fernández H., 2001:** Emergence of antimicrobial resistance in *Campylobacter*: The consequences for incidence, clinical course, epidemiology and control. WHO Consultation on the Increasing Incidence of Human Campylobacteriosis; 67-72.

- Florin I and Antillon F., 1992:** Production of enterotoxin and cytotoxin in *Campylobacter jejuni* strains isolated in Costa Rica. *J. Med. Microbiol.*, (37): 22-29.
- Foster G., Holmes B., Steigerwalt AG., Lawson PA., Thorne P., Byrer DE., Ross HM., Xerry J., Thompson PM and Collins MD., 2004:** *Campylobacter insulaenigrae* sp. nov., isolated from marine mammals. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54 (6): 2369-2373.
- Fox JG., Chilvers T., Goodwin CS., Taylor NS., Edmonds P., Sly L and Brenner D J., 1989:** *Campylobacter mustelae*, a New Species Resulting from the Elevation of *Campylobacter pylori* subsp. *mustelae* to Species Status. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 39 (3): 301-303.
- Friedman CR., Hoekstra RM., Samuel M., Marcus R., Bender J., Shiferaw B., Reddy S Ahuja S D., Helfrick DL., Hardnett F., Carter M., BAnderson M and Tauxe RV., 2004:** Risk Factors for Sporadic *Campylobacter* Infection in the United States: A Case-Control Study in FoodNet Sites. *Clinical Infectious Diseases*, 38(3): 285–296.
- Fry BN., Korolik V., Brinke TJA., Pennings MTT., Zalm R., Teunis BJJ., Coloe PJ and van der Zeijst BAM., 1998:** The lipopolysaccharide biosynthesis locus of *Campylobacter jejuni* 81-116. *Microbiology*, (144): 2049-2061.
- Genigeorgis C., Hassuneh M and Collins P., 1986:** *Campylobacter jejuni* infection on poultry farms and its effect on poultry, *Journal of Food Protection*, 49(11): 895-903.
- Gibreel A and Taylor DE., 2006:** Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, (58): 243–255.
- Godschalk PCR., Heikema AP., Gilbert M., Komagamine T., Wim Ang C., Glerum J., Brochu D., Li J., Yuki N., Jacobs BC., Van Belkum A and Endtz H p., 2004:** The crucial role of *Campylobacter jejuni* genes in anti-ganglioside antibody induction in Guillain-Barré syndrome. *The Journal of Clinical Investigation*, 114(11): 1659–1665.
- Gonzalez I., Grant KA., Richardson PT., Park SF and Collins MD., 1997:** Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using a PCR test based on the *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant. *Journal of Clinical Microbiology*, 35 (3): 759-63.

- Goossens H., De Boeck M., Coignau H., Vlaes L., Van Den Borre C and Butzler J P., 1986:** Modified Selective Medium for Isolation of *Campylobacter* spp. from Feces: Comparison with Preston Medium, a Blood-Free Medium, and a Filtration System. *Journal of Clinical Microbiology*, 24(5):840-843.
- Goulhen F., De E., Pages JM and Bolla JM., 2004:** Functional refolding of the *Campylobacter jejuni* MOMP (major outer membrane protein) porin by GroEL from the same species. *Biochem J*, 378 (3): 851-856.
- Grant KA and Park SF., 1995:** Molecular characterization of katA from *Campylobacter jejuni* and generation of a catalase-deficient mutant of *Campylobacter coli* by interspecific allelic exchange. *Microbiology*, (141): 1369-1376.
- Guerin MT., Martin W., Reiersen., Berke O., McEwen SA., Bisailon JR and Lowman R., 2007:** A farm-level study of risk factors associated with the colonization of broiler flocks with *Campylobacter* spp. in Iceland, 2001 – 2004. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49 (18): 1-12.
- Guerrant R., Wanke CA., Pennie RA., Barrett LJ., Lima AA M and O'Brien A D., 1987:** Production of a Unique Cytotoxin by *Campylobacter jejuni*. *Infection and immunity*, 41(1): 88-103.
- Guerry P., Ewing CP., Hickey TE., Prendergast MM and Moran AP., 2000:** Sialylation of Lipooligosaccharide Cores Affects Immunogenicity and Serum Resistance of *Campylobacter jejuni*. *Infection and Immunity*, 68 (12); 6656–6662.
- Guessoum M., 2011:** Etude portage digestif de *Campylobacter* chez les principaux animaux de boucherie, caractères phénotypiques et sensibilité aux antibiotiques des souches isolées. Mémoire de magister en science vétérinaire : These de magister : Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, 101 pages.
- Gun-Munro J., Rennie RP., Thornley JH., Richarson HL., Hodge D and Lynch J., 1987:** Laboratory and Clinical Evaluation of Isolation Media for *Campylobacter jejuni*. *Journal of clinical microbiology*, 25 (12): 2274-2277.
- Gupta A., Nelson JM., Barrett TJ., Tauxe RV., Rossiter SP., Friedman CR., Joyce KW and al., 2004:** Antimicrobial resistance among *Campylobacter* strains, United States, 1997-2001. *Emerging Infectious Diseases*, 10 (6): 1102-1109.

- Goossens H., De Boeck M., Coignau H., Vlaes L., Van Den Borre C and Butzler J P., 1986:** Modified Selective Medium for Isolation of *Campylobacter* spp. from Feces: Comparison with Preston Medium, a Blood-Free Medium, and a Filtration System. *Journal of Clinical Microbiology*, 24 (5): 840-843.
- Hald B., Skovgård H., Bang DD., Pedersen K., Dybdahl J., Jespersen B and Madsen M., 2004:** Flies and *Campylobacter* infection of broiler flocks. *Emerging Infectious Diseases*, 10 (8): 1490- 1492.
- Hald B., Wedderkopp A and Madsen M., 2000:** Thermophilic *Campylobacter* spp. in Danish broiler production: a cross-sectional survey and a retrospective analysis of risk factors for occurrence in broiler flocks. *Avian Pathology*, (29):123– 131.
- Hansson I., Engvall EO., Vagsholm I., Nyman A., 2010:** Risk factors associated with the presence of *Campylobacter*-positive broiler flocks in Sweden. *Preventive Veterinary Medicine*, (96): 114–121.
- Hariharan H., Sharma S., Chikweto A., Matthew V and DeAllie C., 2009:** Antimicrobial drug resistance as determined by the E-test in *Campylobacter jejuni*, *C. coli* and *C. lari* isolates from the ceca of broiler and layer chickens in Grenada. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, (32): 21–28.
- Havelaar AH., de Wit MAS., Koningsveld RV., Kempen EV., 2001:** Health burden due to infection with thermophilic *Campylobacter* spp. WHO Consultation on the Increasing Incidence of Human Campylobacteriosis: 49- 51.
- Hazeleger WC., Wouters JA., Rombouts FM and Abee T., 1998:** Physiological activity of *Campylobacter jejuni* far below the minimal growth temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (10): 3917-3922.
- Heuer OE., Pedersen K., Andersen JS and Madsen M., 2001:** Prevalence and antimicrobial susceptibility of thermophilic *Campylobacter* in organic and conventional broiler flocks. *Letters in Applied Microbiology*, (33): 269-274.
- Hiett KL., Stern NJ, Fedorka-Cray P., Cox PN, Musgrove MT and Ladely S., 2002:** Molecular Subtype Analyses of *Campylobacter* spp from Arkansas and California Poultry Operations *Applied and Environmental Microbiology*, 68(12): 6220 - 6236.

- Humbel R L., 2009** : Mise au point; infection par *Campylobacter jejuni* et syndrome de Guillain Barré. Le conseil d'administration de la SSM a décerné à l'auteur, le prix de la meilleure communication pour l'année 2009: 283-287.
- Humphrey T., Henley A and Lanning DG., 1993**: The colonization of broiler chickens with *Campylobacter jejuni*: some epidemiological investigations. *Epidemiol. Infect.*, (110): 601-607.
- Humphrey T., O'Brien S and Madsen M., 2007**: *Campylobacters* as zoonotic pathogens: A food production perspective. *International Journal of Food Microbiology*, (117): 237-257.
- Huneau-Salaun A., Denis M, Balaine L and Salvat G., 2007**: Risk factors for *Campylobacter* spp. colonization in French free-range broiler-chicken flocks at the end of the indoor rearing period. *Preventive Veterinary Medicine*, (80): 34 - 48.
- Ibrahim NG., Zafar A and Hasan R., 2004**: Evaluation of Frequency of Isolation and trends in antibiotic resistance among *Campylobacter* isolates over 11 Year Period. *JPMA*, (54): 291-295.
- Inglis GD., Hoar BM., Whiteside DP and Moreck DW., 2007**: *Campylobacter canadensis* sp. nov., from captive whooping cranes in Canada. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. (57): 2636 - 2644.
- Iovine NM and Blaser MJ., 2004**: Antibiotics in animal feed and spread of resistant *Campylobacter* from poultry to humans. *Emerging Infectious Diseases*, 10(6): 1158-1159.
- Ishihara K., Kira T., Ogikubo K, Morioka A., Kojima A., Kijima-Tanaka M., Takahashi T and Tamura Y., 2004**: Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* isolated from food-producing animals on farms (1999–2001): results from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *International Journal of Antimicrobial Agents*, (24): 63–69.
- Jacobs-Reitsma WF., Bolder NM and Mulder RW., 1994**: Cecal carriage of *Campylobacter* and *Salmonella* in Dutch broiler flocks at slaughter: a one-year study. *Poult Sci*, 73 (8):1260 - 1266.
- Jacobs-Reitsma WF., Van de Giessen AW., Bolder NM and Mulder RW., 1995**: Epidemiology of *Campylobacter* spp. at two Dutch broiler farms. *Epidemiol Infect* 114 (3): 413- 421.

- Jeffrey JS., Tonooka KH and Lozano J., 2001:** Prevalence of *Campylobacter* spp. from Skin, Crop, and Intestine of Commercial Broiler Chicken Carcasses at Processing. *Poultry Science*, (80): 1390 - 1392.
- Jones DM., Robinson DA and Eldridge J., 1981:** Serological studies in two outbreaks of *Campylobacter jejuni* infection. *J Hyg. Cam (Lond)* 87, (2): 163-170.
- Jones FS., Orcutt M., Little RB., 1931:** Vibrios (*Vibrio jejuni* n. sp.) associated with intestinal disorders of cows and calves. *Journal of experimental Medicine*, (53): 853-864.
- Jones MA., Marston KL., Woodall CA., Maskell DJ., Linton L., Karlyshev AV., Dorrell N., Wren BW and Barrow PA., 2004:** Adaptation of *Campylobacter jejuni* NCTC11168 to High-Level Colonization of the Avian Gastrointestinal Tract. *Infection and Immunity*, 72 (7): 3769-3776.
- Jore S., Viljugrei H., Brun E., Heier BT., Borck B., Ethelberg S., Hakkinen M., Kuusi M., Reiersen J., Hansson I., Engvall O., Løfdahl M., Wagenaar J A., Pelt WV and Hofshagen M., 2010:** Trends in *Campylobacter* incidence in broilers and humans in six European countries, 1997–2007. *Preventive Veterinary Medicine*, (93): 33- 41.
- Jørgensen F., Bailey R., Williams S., Henderson P., Wareing DRA., Bolton FJ., Frost JA., Ward L and Humphrey TJ., 2002:** Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp on raw, whole chickens in relation to sampling methods. *International Journal of Food Microbiology*, (76):151-164.
- Kapperud G., Skjerve E., Bean NH., Ostroff SM and Lassen J., 1992:** Risk factors for sporadic *Campylobacter* infections: Results of a case-control study in Southeastern Norway. *Journal of clinical Microbiology*, 30 (12): 3117-3121.
- Kapperud G., Skjerve E., Vik L., Hauge K., Lysaker A., Aalmen I., Ostroff S M and Potter M., 1993:** Epidemiology investigation of risk factors for *Campylobacter* colonization in Norwegian broiler flocks. *Epidemiol Infect*; (111): 245-255.
- Kaplan RL., Goodman LJ., Barrett JE, Gordon M., Trenholme VGM and Landau W., 1982:** Comparison of Rectal Swabs and Stool Cultures in Detecting *Campylobacter fetus* subsp. *Jejuni*. *Journal of clinical microbiology*, 15(5): 959-960.

- Karlyshev AV., Everest P., Linton D., Cawthraw S., Newell DG and Wren BW., 2004:** The *Campylobacter jejuni* général glycosylation system is important for attachment to human epithelial cells and in the colonization of chicks. *Microbiology* 150(6): 1957-1964.
- Karlyshev AV., WREN BW., 2001:** Detection and Initial Characterization of Novel Capsular Polysaccharide among Diverse *Campylobacter jejuni* Strains Using Alcian Blue Dye. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(1): 279–284.
- Karmali MA and Skirrow MB., 1984:** Taxonomy of the genus *Campylobacter*. In: Butzler JP. *Campylobacter* infection in Man and Animals, CRC Press Inc. pp 1-20.
- Karmali MA., Simor AE., Roscoe M, Fleming PC., Smith SS and Lane J., 1986:** Evaluation of a Blood-Free, Charcoal-Based, Selective Medium for the isolation of *Campylobacter* Organisms from Feces. *Journal of clinical microbiology*, 23 (3): 456-459.
- Kelle K., Pages JM and Bolla JM., 1998:** A putative adhesingène cloned from *Campylobacter jejuni*. *Res Microbiol*, 149 (10): 723-333.
- Kelly AF., Park S F., Bovill R and Mackey B M., 2001:** Survival of *Campylobacter jejuni* during Stationary Phase: Evidence for the Absence of a Phenotypic Stationary-Phase Response. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(5): 2248–2254.
- Kelly DJ., 2001a:** The physiology and metabolism of *Campylobacter jejuni* and *Helicobacter pylori*. *Journal of Applied Microbiology*, (90): 16-24.
- Ketley JM., 1997:** Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. *Microbiology*, (143): 5-21.
- KINANA AD., 2006 :** Mécanismes de résistance aux quinolones et diversité des souches de *Campylobacter* isolées au Sénégal. Thèse de docteur de troisième cycle de chimie et biochimie des produits naturels de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar, page : 39.
- King L., Lehours P et Mégraud F., 2008:** Bilan de la surveillance des infections à *Campylobacter* chez l'homme en France en 2008. Centre National de Référence des Campylobacters et Hélicobacters. (Institut de Veille Sanitaire).1-7.
- Kist M., 1986:** Who discovered *Campylobacter jejuni/coli*? A review of hitherto disregarded literature *Zentralbl Bakteriologie Mikrobiologie Hygiene (A)*, 261 (2): 177-186.
- Kita E., Oku D., Hamuro A., Nishikawa F., Emoto M, Yagu Y., Katsuin and Kashiba S., 1990:** Hepatotoxic activity of *Campylobacter jejuni*. *J Med. Microbiol*, (33):171-182.

- Konkel ME., Kim BJ., Klena D., Young CR and Ziprin R., 1998:** Characterization of the thermal stress response of *Campylobacter jejuni*. *Infection and immunity*, 66 (8): 3666 -3672.
- Konkel ME., Kim BJ., Rivera-Amill V and Garvis SG., 1999:** Identification of proteins required for the internalization of *Campylobacter jejuni* into cultured mammalian cells. *Molecular Microbiology*, 32(4): 691-701.
- Laberge K., 2003 :** Épidémiologie des cas de l'infection par le *Campylobacter* en Islande, revue des voies de transmission et facteurs de risque. Rapport présenté à Pascal Michel, DMV, PhD. Université de Montréal. 1- 20.
- Lawson AJ., Linton D., Stanley J and Owen RJ., 1997:** Polymerase chain reaction detection and speciation of *Campylobacter upsaliensis* and *C. helveticus* in human faeces and comparison with culture techniques. *Journal of Applied Microbiology*, 83 (3): 375-380.
- Lee A., O'rourke J., Barrington P J and Trust TJ.1986:** Mucus Colonization as a Determinant of Pathogenicity in Intestinal Infection by *Campylobacter jejuni*: A Mouse Cecal Model. *Infection and immunity*, 51 (2): 536 -546.
- Leon-Kempis Mdel R., Guccione E., Mulholland F., Williamson MP and Kelly D J., 2006:** The *Campylobacter jejuni* PEB1a adhesin is an aspartate/glutamate-binding protein of an ABC transporter essential for microaerobic growth on dicarboxylic amino acids. *Molecular Microbiology*, 60 (5): 1262-1275.
- Lin J., Yan M., Sahin O., Pereira S., Chang YJ and Zhang Q., 2007:** Effect of macrolide usage on emergence of erythromycin-resistant *Campylobacter* isolates in chickens *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, 51(5): 1678-1686.
- Linton D., Karlyshev AV., Hitchen PG., Morris HR., Dell A., Gregson NA and Wren BW., (2000):** Multiple N-acetyl neuraminic acid synthetase (neuB) genes in *Campylobacter jejuni*: identification and characterization of the gene involved in sialylation of lipo-oligosaccharide. *Molecular Microbiology*, 35 (5): 1120 – 1134.
- Lior H., Woodward DL., Edgard JA., Laroche LJ and Gill P., 1982:** Serotyping of *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors. *Journal of Clinical Microbiology*, 15(5): 761-768.
- Lin J., Michel LO and Zhang Q., 2002:** CmeABC Functions as a Multidrug Efflux System in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46 (7): 2124–2131.

- Lindblom GB., Ahrén C., Chagalucha J., Gabone R., Kaijser B., Nilsson L A., Sjögren E., Svennerholm AM and Temu M., 1995:** *Campylobacter jejuni/coli* and enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in faeces from children and adults in Tanzania. *Scand J Infect Dis*, 27 (6): 589-593.
- Luangtongkum T., Morishita T Y ., El-Tayeb, A B., Ison A J and Zhang Q., 2007:** Comparison of antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter* spp. by the agar dilution and the agar disk diffusion methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 45 (2): 590–594.
- Mackiw E., Korsak D., Rzewuska K., Tomczuk K and Rozynek E., 2012:** Antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from food in Poland. *Food Control*, (23): 297- 301.
- Mamelli L., Amoros JP., Pages J M and Bolla JB., 2003:** A phenylalanine - arginine β - naphthylamide sensitive multidrug efflux pump involved in intrinsic and acquired resistance of *Campylobacter* to macrolides. *International Journal of Antimicrobial Agents*, (22): 237-241.
- Mamelli L., Prouzet-Mauleon V., Pages JM., Megraud F and Bolla JM., 2005:** Molecular basis of macrolide resistance in *Campylobacter*: role of efflux pumps and target mutations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, (56): 491- 497.
- Manuel terrestre de l'OIE: 2005,** *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*. Chapitre 2.10.8. : 1177-1187
- Marchant J., Wren B and Ketley J., 2002:** Exploiting génomeséquence: predictions for mechanisms of *Campylobacter* chemotaxis. *Trends in Microbiology*, 10 (4): 155-159.
- Martin KW., Mattick KL., Harrison M and Humphrey TJ., 2002:** Evaluation of selective media for *Campylobacter* isolation when cycloheximide is replaced with amphotericin B. *Letters in Applied Microbiology*, (34): 124 -129.
- Mati R., Kadrin J., Terje T., Ari H., Liidia H., Mari R., Avo K and Marja-Liisa H., 2007:** High Level of Antimicrobial Resistance in *Campylobacter jejuni* Isolated from Broiler Chickens in Estonia in 2005 and 2006. *Journal of Food Protection*, 70 (8): 1940 -1944.
- McDermott PF., Bodeis SM., English LL., White DG., Walker RD., Zhao S., Simjee S and Wagner DD., 2002:** Ciprofloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* evolves rapidly in chickens treated with fluoroquinolones. *The Journal of Infectious Diseases*, 185 (6): 837- 340.

- McDowell SWJ., Menzies FD., McBride SH., Oza AN., McKenna J P., Gordon A W and Neill SD., 2008:** *Campylobacter* spp. in conventional broiler flocks in Northern Ireland: Epidemiology and risk factors. Preventive Veterinary Medicine, (84): 261–276.
- Megraud F., 1987:** Isolation of *Campylobacter* spp. from pigeon Feces by a combined enrichment-filtration technique. Applied and Environmental Microbiology, 53 (6): 1394 -1395.
- Megraud F., Boudraa G., Bessaoud K., Bensid S., Dabis F., Soltana R and M. Touhami M., 1990:** Incidence of *Campylobacter* infection in infants in western Algeria and the possible protective role of breast feeding. Epidemiol. Infect, (105): 73-78.
- Meremäe K., Elias P., Tamme T., Kramarenko T., Lillenberg M., Karus A, Hänninen ML., Roasto M., 2010:** The occurrence of *Campylobacter* spp. in Estonian broiler chicken production in 2002–2007. Food Control, (21): 272 - 275.
- Messad S., 2011 :** Contribution à l'étude de la prévalence et de la sensibilité aux antibiotique des *Campylobacter* thermotolérant chez le poulet chair dans la région d'Alger : These de magister : Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire 106 pages
- Michela Lucia S., Giancarlo R., Incoronata F; Guido Maria G and Manuela T., 2010:** prevalence and biomolecular characterization of *Campylobacter* spp. isolated from retail meat. Journal of Food Protection, 73 (4): 720 -728.
- Mølbak K., 2001:** What can be learned from surveillance and register studies? WHO Consultation on the Increasing Incidence of Human Campylobacteriosis. 73- 80.
- Moore JE., Corcoran D., Dooley JS., Fanning S., Matsuda M., McDowell DA., Mégraud F., Millar BC., O'Mahony R., O'Riordan L., O'Rourke M., Rao JR., Rooney PJ., Sails A and Whyte P., 2005:** *Campylobacter*. Vet. Res, 36 (3): 351-382.
- Moran AP., 1997:** Structure and conserved characteristics of *Campylobacter jejuni* Lipopolysaccharides. The Journal of Infectious Diseases, 176 (2): 115 -121.
- Morooka T., Umeda A and Amako K., 1985:** Motility as an Intestinal Colonization Factor for *Campylobacter jejuni*. Journal of General Microbiology, (131): 1973-1980.
- Mouffok F and Labres E., 1992:** Result of refinement of a technique for the isolation and identification of *Campylobacter* from food commodities .Arch Ins Pasteur Alger. (58): 239-246.

- Murphy C., Carroll C and Jordan KN., 2006:** Environmental survival mechanisms of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni*. *Journal of Applied Microbiology*, (100): 623-632.
- Nachamkin I., Fischer SH., Yang XH., Benitez O and Cravioto A., 1994:** Immunoglobulin a antibodies directed against *Campylobacter jejuni* flagellin present in breast-milk. *Epidemiol Infect*, (112): 359-365.
- Neill SD., Campbell JN and Greene JA., 1984:** *Campylobacter* species in broiler chickens. *Avian Pathology*, (13): 777-785.
- Neill SD., Campbell JN., O'brein JJ., Weatherup STC and Ellis WA., 1985:** Taxonomic Position of *Campylobacter cryaerophila* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 35 (3): 342-356.
- Newell DG and Fearnley C., 2003:** Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(8): 4343- 4351.
- Newell DG., McBride H and Pearson AD., 1984:** The identification of outer membrane proteins and flagella of *Campylobacter jejuni*. *Journal of General Microbiology*, (130): 1201-1208.
- Newell D G., Shreeve JE., Toszeghy M., Domingue G., Bull S., Humphrey T and Mead G., 2001:** Changes in the carriage of *Campylobacter* strains by poultry carcasses during processing in abattoirs. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(6): 2636-2640.
- Nguyen HTT., Corry JEL and Miles CAM., 2006:** Heat Resistance and Mechanism of Heat Inactivation in Thermophilic *Campylobacters*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(1): 908 - 913.
- Obi CL and Bessong PO., 2002:** Diarrhoeagenic bacterial pathogens in HIV-positive patients with diarrhoea in rural communities of Limpopo Province, South Africa, *Centre for Health and Population Research*, 20 (3): 230 -234.
- Obiri-Danso K., Paul N., and Jones K., 2001:** The effects of UVB and temperature on the survival of natural populations and pure cultures of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C.lari* and urease-positive thermophilic *Campylobacter* (UPTC) in surface waters. *Journal of Applied Microbiology*, 90: 256-267.
- Ono K and Yamamoto K., 1999:** Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. *International Journal of Food Microbiology*, (47): 211-219.

- Oza AN., McKenna JP., McDowell SWJ., Menzies FD and Neill SD., 2003:** Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* spp. isolated from broiler chickens in Northern Ireland. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, (52): 220 -223.
- Pacanowski J., Lalande V., Lacombe K., Boudraa C., Lesprit P., Legrand P., Trystram.D., Kassis N., Arlet G., Mansarde JL., Doucet-Populaire F., Girard PM and Meynard JL., 2008:** *Campylobacter* bacteremia clinical features and factors associated with fatal outcome. *Clinical infectious diseases*, 47(6): 790-796.
- Park SF., 2002:** The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to as their role foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 74 (3): 177-188.
- Parkhill J., Wren BW., Mungall K., Ketley JM., Churcher C., Basham D., Chillingworth T., Davies RM., Feltwell T., Holroyd S., Jagels K., Karlyshev AV., Moule S., Pallen MJ., Penn CW., Quail MA., Rajandream MA., Rutherford KM., van Vliet AH., Whitehead S., Barrell BG., 2000:** The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences. *Letters to Nature*, (403): 665- 668.
- Patrick M E., Christiansen LE., Wainø M., Ethelberg S., Madsen H and Wegener HC., 2004:** Effects of climate on incidence of *Campylobacter* spp. in Humans and Prevalence in Broiler Flocks in Denmark. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (12): 7474 -7480.
- Payot S., Bolla JM., Corcoran D. Fanning S., Megraud F and Zhang Q., 2002:** Mechanisms of fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter* spp. *Microbes and Infection*, (8):1967-1971.
- Pearson A D.,Greenwood M, Healing T D.,Rollins D, Shahamat M., Donaldson J and Colwell R R., 1993:** Colonization of Broiler Chickens by Waterborne *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology*, 59 (4): 987- 996.
- Pearson AD., Greenwood MH., Kevin R., Feltham A, Healing T D, Donaldson J, Jons D M and Colwell R R.,(1996):** Microbial Ecology of *Campylobacter jejuni* in a United Kingdom Chicken Supply Chain: Intermittent Common Source, vertical transmission, and amplification by flock propagation. *Applied and Environmental Microbiology*, 62 (12): 4614- 4620.
- Penn CW., 2001:** Surface components of *Campylobacter* and *Helicobacter*. *Journal of Applied Microbiology*, (90): 25-35.

- Peyrat MB., 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, L'Université de Rennes1, pages : 20, 22, 31, 32, 39, 40, 44, 55, 60, 70, 72,76, 78.
- Pezzotti G., Serafin A., Luzzi I., Mioni R., Milan M and Perin R., 2003**: Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in northeastern Italy. International Journal of Food Microbiology, (82): 281-287.
- Phillips I., Casewell M., Cox T., De Groot B., Friis C., Jones R., Nightingale C., Preston R and Waddell J., 2004**: Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53(1): 28-52.
- Pickett C., Pesci EC., Cottle D., Russell G., Erdem A N and Zeytin H., 1996**: Prevalence of Cytolethal Distending Toxin Production in *Campylobacter jejuni* and Relatedness of *Campylobacter* sp. *cdtB* Genes. Infection and immunity, 64 (6): 2070 - 2078.
- Poly F., 2005** : Etude de la diversité génétique de l'espèce *Campylobacter jejuni* par l'utilisation de puces à ADN. Thèse de Doctorat en Sciences de l'Université Louis Pasteur, pages : 21, 22, 24, 26, 30.
- Prasad KN., Pradhan S and Nag VL., 2001**: Guillain-Barre Syndrome and *Campylobacter* infection. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 32 (3): 527-530.
- Prokhorova TA., Nielsen PN., Petersen J., Kofoed T., Crawford JS., Morscheck C., Boysen A and Schrotz-King P., 2006**: Novel surface polypeptides of *Campylobacter Jejuni* as traveller's diarrhoea vaccine candidates discovered by proteomics, Vaccine (24): 6446 - 6455.
- Purdy D and Park SF., 1994**: Cloning, nucleotide sequence and characterization of a gene encoding superoxide dismutase from *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. Microbiology, (140): 1203-1208.
- Puterflam J., Bouvarell., Ragot O and Drouet M., 2005**: Contamination des élevages de poulets de chair par *Campylobacter*: est-ce une fatalité ? Sciences et Techniques Avicoles, (53) : 12-19.
- Rasschaert G., Houf K., Van Hende J., De Zutter L., 2007**: Investigation of the concurrent colonization with *Campylobacter* and *Salmonella* in poultry flocks and assessment of the sampling site for status determination at slaughter. Veterinary Microbiology, (123): 104 -109.

- Refregier-Petton J., Rose N., Denis M and Salvat G., 2001:** Risk factors for *Campylobacter* spp. contamination in French Broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. Preventive Veterinary Medicine, (50): 89 -100.
- Reich F., Atanassova V., Haunhorst E and Klein G., 2008:** The effects of *Campylobacter* numbers in caeca on the contamination of broiler carcasses with *Campylobacter*. International Journal of Food microbiology, (127): 116-120.
- Ringoir DD and Korolik V., 2002:** Colonization phenotype and colonization potential differences in *Campylobacter jejuni* strains in chickens before and after passage in vivo. Veterinary microbiology, (92): 225- 235.
- Rivoal K., Ragimbeau C., Salvat G., Colon P and Ermel G., 2005 :** Genomic diversity of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* isolates recovered from free-range broilers farms and comparison with isolates of various origins. Applied and Environmental Microbiology, 71(10): 6216- 6227.
- Rodrigo S., Adesiyuna A., Asgaralia Z and Swanstonb W., 2005:** Prevalence of *Campylobacter* spp. on chickens from selected retail processors in Trinidad. Food Microbiology, (22): 125-131.
- Rodrigo S., Adesiyun A., Asgarali Z and Swanston W., 2007:** Antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated from broilers in small poultry processing operations in Trinidad. Food Control, (18): 321–325.
- Rosenquist H., Sommer H M., Nielsen NL and Christensen BB., 2006:** The effect of slaughter operation on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant *Campylobacter*. International Journal of Food microbiology, 108(2): 226-232.
- Rossi M., Debruyne L., Zanoni RG., Manfreda G., Revez J and Vandamme P., 2009:** *Campylobacter avium* sp. nov., a hippurate-positive species isolated from poultry. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, (59): 2364-2369.
- Sahin O., Luo N., Huang S and Zhang Q., 2003:** Effect of *Campylobacter*-Specific Maternal Antibodies on *Campylobacter jejuni* Colonization in Young Chickens. . Applied and Environmental Microbiology, 69 (9): 5372–5379.

- Saleha AA., 2004:** Epidemiological Study on the colonization of chickens with *Campylobacter* in Broiler Farms in Malaysia, possible risk and management factors. *International Journal of Poultry Science*, 3 (2): 129-134.
- Samuel SO., Aboderin AO., Akanbi AA., Adegboro B., Smith SI and Coker A O., 2006:** *Campylobacter enteritis* in Ilorin; Nigeria. *East African Medical Journal*, 83(9): 478- 484.
- Sandstedt K., Ursing J and Walder M., 1983:** Thermotolerant *Campylobacter* with no or weak catalase activity isolated from dogs. *Current Microbiology*, 8(4): 209-213.
- Scott D A., 1997:** Vaccines against *Campylobacter jejuni*. *The Journal of Infectious Diseases*, 176 (2):183 –188.
- Shane S M., 1992:** The significance of *Campylobacter jejuni* infection in poultry: a review. *Avian Pathology*, (21): 189-213.
- Shanker S., Lee A and Sorrell T C., 1986:** *Campylobacter jejuni* in broilers: the role of vertical transmission. *J. Hyg. Camb*, (96):153-159.
- Shanker S., Lee A and Sorrell T., 1990:** Horizontal transmission of *Campylobacter jejuni* amongst broiler chicks: experimental studies. *Epidemiol. Infect*, (104):101-110.
- Simon MA., 2010 :** Facteurs de variation de la contamination des carcasses de poulets de chair par *Campylobacter* spp. à l'abattoir en lien avec la santé des bandes en élevage. Thèse pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation Nantes atlantique- ONIRIS, pages : 16, 17, 18, 20, 23, 26, 35.
- Sizemore DR., Warner B., Lawrence J., Jones A and Killeen K P., 2006:** Live, attenuated *Salmonella typhimurium* vectoring *Campylobacter* antigens. *Vaccine*, (24): 3793-3803.
- Skelly C and Weinstein P., 2003:** Pathogen survival trajectories: an ecoenvironmental approach to the modelling of human campylobacteriosis ecology. *Environmental health perspectives*, (111): 19-28
- Skirrow MB., 1977:** *Campylobacter enteritis*: a "new" disease. *British Medical Journal*, (2):9-11.
- Skirrow MB and Benjamin J., (1982):** The classification of thermophilic *campylobacters* and their distribution in man and domestic animals. In *Campylobacter: Epidemiology, Pathogenesis and Biochemistry* (ed. Newell DG), pp. 40-44. Lancaster: MTP Press.

- Skirrow MB., Jones DM., Sutcliffe E and Benjamin J., 1993:** *Campylobacter* bacteraemia in England and Wales, 1981-1991. *Epidemiology and Infection* (110): 567-573.
- Snelling WJ., Matsuda M., Moore JE., Dooley JSG., 2005:** Under the microscope: *Campylobacter jejuni*. *Lett Appl Microbiol*, 41 (4): 297-302.
- Stanley J., Linton D., Sutherland K., Jones and , Owen RJ., 1995:** High-resolution genotyping of *Campylobacter coli* identifies clones of epidemiologic and evolutionary significance. *J Infect Dis* 172:1130 -1134.
- Swartz MN., 2002:** Human diseases caused by foodborne pathogens of animal origin. *Clinical Infectious Diseases*, 34 (3): 111-122.
- Szymanski CM., Logan SM., Linton D and Wren B W., 2003:** *Campylobacter* a tale of two protein glycosylation systems. *Trends in Microbiology*, 11 (5): 233-238.
- Tambur Z., Miljkovic-Selimovic B., Doder R and Kulisic Z., 2010:** Susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from animals and humans to tetracycline *African Journal of Microbiology Research*, 4 (12): 1246-1250.
- Tang J Y H., Mohamad Ghazali F., Saleha A A., Nishibuchi M and Son R., 2009:** Comparison of thermophilic *Campylobacter* spp. occurrence in two types of retail chicken samples *International Food Research Journal*, (16):277-288.
- Tarjan V., 1985:** Investigation into the radiosensitivity of *Campylobacter fetus* subspecies *jejuni* in ground chicken meat. *International Journal of Food Microbiology*, 1(6): 321-326.
- Tauxe R V., 2001:** Incidence, trends and sources of Campylobacteriosis in developed countries: An overview. *WHO Consultation on the Increasing Incidence of Human Campylobacteriosis*: 42-43.
- Taylor DE and Courvalin P., 1988:** Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter* species. *Antimicrobial agent and chemotherapy*, 32(8): 1107-1112.
- Thomas G., 2009 :** Les infections à *Campylobacter* s'agit-il d'une nouvelle zoonose ? Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie de l'Université de Henri Poincaré Nancy, pages : 30, 51, 52, 57, 58, 62.
- Thompson LM., Smibert RM., Jonson JL., Krieg N R., 1988:** Phylogenetic study of the genus *Campylobacter*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 38 (2): 190-200.

- Trieber ÇA and Taylor DE., (2000).** Mechanisms of antibiotic résistance in *Campylobacter*. in: Nachamkin I, Blaser MJ. *Campylobacter*, 2nd édition. Washington DC, ASM Press: 441-454.
- Trust T J., Logan SM., Gustafson CE., Romaniuk PJ., Kim NW., Chan VL., Ragan MA., Guerry P and Gutell RR., 1994:** Phylogenetic and molecular characterization of a 23S rRNA gène positions the genus *Campylobacter* in the Epsilon subdivision of the Proteobacteria and shows that the presence of transcribed spacers is common in *Campylobacter* spp. *Journal of Bacteriology*, 176 (15): 4597- 4609.
- Vandamme P and De Ley J., 1991:** Proposal for a new family, Campylobacteraceae. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 41: 451- 455.
- Vandeplas S., Dubois-Dauphin R., Palm R., Beckers Y., Thonart P and Théwis A., 2010:** Prevalence and sources of *Campylobacter* spp contamination in free-range broiler production in the southern part of Belgium. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 14 (2): 279-288.
- Van de Giessen AW., Mazurier SI., Jacobs-Reitsma W., Jansen W., Berkers P., Ritmeester W and Wernars K., 1992:** Study on the epidemiology and control of *Campylobacter jejuni* in poultry broiler flocks. *Applied and Environmental Microbiology*, 58 (6): 1913-1917.
- Van De Giessen AW., Tilburg JJHC., Ritmeester WS and Van Der Plas J., 1998;** Reduction of *campylobacter* infections in broiler flocks by application of hygiene measures. *Epidemiol. Infect.*, (121): 57- 66.
- Wagenaar JA., Mevius DJ and Havelaar AH., 2006:** *Campylobacter* in primary animal production and control strategies to reduce the burden of human campylobacteriosis. *Rev Sci Tech* 25 (2): 581-594.
- Walker RI., Caldwell MB., Lee EC., Guerry P., Trust TJ and Ruitz-Palacios G M., 1986:** Pathophysiology of *Campylobacter* Enteritis. *Microbiological Reviews*, 50 (1): 81-94.
- Walmsley SL and Karmali M A., 1989:** Direct Isolation of Atypical Thermophilic *Campylobacter* Species from Human Feces on Selective Agar Medium. *Journal of Clinical Microbiolgy*. 27(4): 668-670.
- Wassenaar TM 1997:** Toxin production by *Campylobacter* spp. *Clinical Microbiology Review*, 10(3): 466 - 476.

- Wassenaar TM and Blaser Mj., 1999:** Pathophysiology of *Campylobacter jejuni* infections of humans. *Microbes and Infection*, (1): 1023–1033.
- Waterman SC., 1982:** The heat-sensitivity of *Campylobacter jejuni* in milk. *J Hyg (Lond)*, 88 (3): 529 -533.
- Wheat P F., 2001:** History and development of antimicrobial susceptibility testing methodology. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, (48): 1- 4.
- Wheeler JG., Sethi D., Cowden JM., Wall PG and Rodrigues LC., 1999:** Study of infectious intestinal disease in England: rates in the community, presenting to general practice, and reported to national surveillance. *BMJ*, (318): 1046–1050.
- Whitehouse CA., Balbo PB., Pesci EC., Cottle DL., Mirabito PM and Pickett C., 1998:** *Campylobacter jejuni* Cytotoxic Distending Toxin Causes a G2-Phase Cell Cycle Block. *Infection and immunity*, 66(5): 1934–1940.
- Youssef M., Shurman A., Bougnoux ME., Rawashdeh M., Bretagne S and Strockbine N., 2000:** Bacterial, viral and parasitic enteric pathogens associated with acute diarrhea in hospitalized children from northern Jordan. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, (28): 257- 263.
- Zaman R., 1992:** *Campylobacter* enteritis in Saudi Arabia. *Epidemiol. Infect*, (108): 51-58.
- Zanoni RG., DebruyneL., Rossi M., Revez J and Vandamme P., 2009:** *Campylobacter cuniculorum* sp. nov., from rabbits. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, (59): 1666 -1671.
- Zhang Q., Meitzler JC., Huang S and Morishita T., 2000:** Séquence polymorphism predicted secondary structures, and surface-exposed conformational epitope of *Campylobacter* Major outer membrane protein. *Infection and Immunity*, 68 (10): 5679–5689.
- Zhang Q., Sahin O., McDermott PF and Payot S., 2006:** Fitness of antimicrobial-resistant *Campylobacter* and salmonella. *Microbes and Infection*, 8(7): 1972-1978.
- Zimmer M., Barnhart H., Idris U and Lee MD., 2003:** Detection of *Campylobacter jejuni* Strains in the Water Lines of a Commercial Broiler House and Their Relationship to the Strains That Colonized the Chickens. *Avian Diseases*, 47(1):101-10

Annexe : (i)**Matériel de prélèvement et d'analyse****Milieux de culture**

Milieux deshydrates

- Gélose Columbia(IPA)
- Gélose Mueller Hinton (Fluka analytical)
- Gélose Karmali(Oxoid)
- Gélose TSI (IPA)
- Bouillon glycérolé peptoné

Réactifs

- Supplément de Karmali (Oxoid)
- Bandelettes pour la recherche de l'oxydase (Oxoid)
- Disques antibiotiques

Solutions

- Eau physiologique à 0,9%
- Peroxyde d'hydrogène à 3%
- Eau distillée
- Ethanol à 95%
- Huile à immersion
- Les colorants de Gram

Matériel usuel**② Matériel jetable**

- Gant en latex
- Papier buvard
- Ecouvillon stériles
- Pipettes pasteur stériles
- Lames et lamelles couvre-objet
- Boîtes pétri stériles (90 mm)
- Boîtes pétri stériles (45 mm).
- Sachets de prélèvement stériles.
- Sachet générateurs d'atmosphère microaerophil Camy Gen(Oxoid).

② Matériel stérilisable

- Tubes à essai
- Flacon de 250 ml
- Fioles de 500 ml
- Ciseaux, scalpels et pince

Equipements

- Microscope optique
- Poire
- Anse de platine
- Bec bunsen
- Etuve réglable
- Pipteur
- Balance de précision
- Vortex
- Marqueurs
- Portoir
- Bain-marie
- Plaque chauffante
- Stérilisateur
- Autoclave
- Pied à coulisse
- Réfrigérateur
- Distributeur des disques antibiotiques

Annexe: (ii)



Fientes directement à partir du cloaque



Fientes à partir le sol



Écouvillonnage cloacal

Figure 14 : Différentes modalités des prélèvements aviaires (Photos personnelles)

Annexe: (iii)**Techniques de préparation des différents milieux de culture utilisés pendant l'étude****① Gélose Karmali (Oxoid)**

Gélose de base Karmali (CM0935, Oxoid), et le supplément sélectif karmali (SR0167, Oxoid).

➔ Préparation de la gélose

Gélose de base(Karmali)

Code : CM0935

Composition	(gramme/litre)
Gélose e base columbia	39
Charbon activé	4
Hémine	32 mg

pH=7,4 ± 0,2

500 grammes permettent de préparer 11,6 litre de milieux

➔ Ajout du supplément sélectif

Code : SR0205E

Composition	(par flacon)
Pyruvate de sodium	50mg
Cefoperazone	16 mg
Vancomycine	10 mg
amphotericine B	50 mg

Chaque flacon permet de supplémenter 500 ml de milieux

➔ Préparation de milieu

Verser 21,5 de poudre dans 500 ml d'eau distillée, porter à ébullition jusqu'à dissolution complète, stériliser 15 minutes à 121°C l'autoclave, refroidir a 50°C et ajouter stérilement un flacon de supplément (SR0205E) préalablement reconstitué avec 2 ml d'un mélange éthanol/eau a parties égale, bien mélanger .

Verser environ 15 ml du milieu complet dans des boites de pétri stériles, laisser se solidifier, juste avant l'emploi, sécher soigneusement les boites de milieu gélose, de préférence après avoir retiré les couvercles, retourner les boites dans une enceinte de séchage jusqu'à ce que la surface de la gélose soit exempte d'humidité visible.

Pour le contrôle positive de qualité, en raison de la l'indisponibilité des souches de référence (*Campylobacter jejuni* ATCC® 29428), on a fait recours à des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées et confirmées pendant l'étude préliminaires.

② Gélose columbia au sang (IPA)

Gélose Columbia (IPA) additionnée de sang de mouton défibriné.

➔ Milieu de base (IPA)

Composition	Gramme /litre
Peptone	23
Amidon	1
Chlorure de sodium	5
Agar-agar	8

Verser de poudre dans 500 ml d'eau distillée, porter à ébullition jusqu'à dissolution complète, stériliser 15 minutes à 121°C l'autoclave.

➔ Sang de mouton défibriné stérile

Le volume de sang à ajouter représente 5% de volume de milieu de base .c'est à dire le milieu complet est constitué de 500 de milieu de base et 25 ml de mouton défibriné stérile.

➔ Préparation de milieu complet

Ajouter le sang stérilement au milieu de base préalablement fondu puis refroidi à 47°C, et mélanger. Puis, verser environ 15 ml du milieu complet dans des boîtes de pétri stériles, laisser se solidifier, juste avant l'emploi, sécher soigneusement les boîtes de milieu gélose, de préférence après avoir retiré les couvercles, retourne les boîtes dans une enceinte de séchage jusqu'à ce que la surface de la gélose soit exempte d'humidité visible.

③ Gélose Mueller Hinton au sang (Fluka analytical)

Gélose Muller Hinton (Fluka analytical) additionnée de sang de mouton.

➔ Milieu de base (Fluka analytical)

Composition	Gramme /litre
Infusion de viande	2
Hydrolysate de caseine	17,5
Amidon soluble	1,5
Agar	17

PH =7, 3 ± 0, 2

Verser 21,5 de poudre dans 500 ml d'eau distillée, porter à ébullition jusqu'à dissolution complète, stériliser 15 minutes à 121°C l'autoclave.

➤ Sang de mouton stérile

Le volume de sang à ajouter représente 5% de volume de milieu de base .c'est à dire le milieu complet est constitué de 500 de milieu de base et 25 ml de mouton stérile.

➤ Préparation de milieu complet

Ajouter le sang stérilement au milieu de base préalablement fondu puis refroidi à 47°C, et mélanger.

Verser environ 15 ml du milieu complet dans des boites de pétri stériles, laisser se solidifier, juste avant l'emploi, sécher soigneusement les boites de milieu gélose, de préférence après avoir retiré les couvercles, retourne les boites dans une enceinte de séchage jusqu'à ce que la surface de la gélose soit exempte d'humidité visible.

➤ Composition de Bouillon glycérolé peptoné (milieu de conservation)

Composition	Quantité pour 75 ml de bouillon
Peptone (Oxoid réf. L37)	1 g
NaCl	0.5 g
Glycerol (Labosi)	31.5 g
Eau distillée ou ultra-pure	75 ml

Stockage et conservation : 3 mois à +3°C ± 2°C

Annexe : (iv)

Technique de la coloration de Gram :

➔ **Réalisation de frottis**

- ➔ Sur une lame, déposer une goutte d'eau physiologique stérile.
- ➔ Ajouter à l'aide d'anse de platine stérilisée une fraction de colonie bien isolée.
- ➔ Étaler et fixer à la chaleur (au-dessus de flamme de bec bunsen).
- ➔ Poser la lame séchée sur le portoir reposant sur un bac de coloration.

➔ **Réalisation de la coloration**

- ➔ Voici succinctement les différentes étapes de cette coloration :
- ➔ Coloration par le violet de gentiane.
- ➔ Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Rincer à l'eau de robinet.
- ➔ Mordançage au lugol (solution d'iode iodo-iodurée): étaler le lugol et laisser agir 30 secondes ; Rincer à l'eau de robinet.
- ➔ Décoloration (rapide) à l'alcool (+acétone): verser goutte à goutte un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Rincer sous un filet d'eau de robinet.
- ➔ Recoloration à la fuchsine. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau de robinet.
- ➔ Sécher la lame et Observer au microscope optique à objectif 100 à immersion (grossissement $\times 1000$).

➔ **Lecture**

Une coloration violette _____ ➔ des bactéries à gram positifs

Une coloration rose _____ ➔ des bactéries à gram négatifs

Les *Campylobacter* sont des bactéries à gram négatifs

Technique de l'examen à l'état frais :

- ➔ Sur une lame, déposer une goutte d'eau physiologique stérile.
- ➔ Ajouter à l'aide d'anse de platine stérilisée une fraction de colonie bien isolée.
- ➔ Étaler doucement (afin de ne pas casser les flagelles)
- ➔ Recouvrir la lame par une lamelle, et en utilisant une bougie on fait le luttage de lamelle sur la lame (pour éviter les mouvements de convection de l'air).
- ➔ Observer rapidement au microscope optique à objectif 100 à immersion.

- Les *Campylobacter* sont des bactéries qui se caractérisent par mouvement caractéristique en vol de moucheron.

Remarque: on doit prendre garde à ne pas détruire les flagelles bactériens lors de la préparation des lames.

Test de la catalase

➔ Principe

En présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation de l'eau oxygénée. La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et en oxygène.

➔ Mode opératoire

À l'aide d'une anse de platine, Une colonie bien isolée est déposée sur une lame porte-objet propre avec une goutte d'eau oxygénée à 3%.

➔ Lecture

La présence de la catalase est révélée par un dégagement gazeux sous forme de bulles dans les 30 secondes (AFNOR, 1995). Le genre de *Campylobacter* est composé de deux groupes :

L'un catalase positive contenant notamment *C.jejuni*, *C.coli* et *C.lari*, l'autre catalase négative contenant à titre d'exemple *C. upsaliensis* (E. Dromigny, 2007).

Examen de la croissance à 25°C

➔ Principe

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

➔ Mode opératoire

À partir de la gélose Columbia au sang, on prépare une suspension, en mettant une colonie dans un 5 ml d'eau physiologique, puis on ensemence la surface de la gélose Karmali par la suspension, ensuite les boîtes sont incubées à 25°C en atmosphère microaéroophile pendant 2 à 5 J j.

➔ Lecture

On examine s'il y a une croissance ou non, les *Campylobacter* thermotolérants ne poussent pas à 25°C (OIE, 2005).

Recherche de l'oxydase

➔ Principe

Ce test permet la mise en évidence d'une enzyme qui est la (phénylène diamine oxydase) de la bactérie à partir de leur culture en milieu gélosé.

Cette enzyme est capable d'oxyder le réactif : N dimethyl para phénylène diamine qui est incolore, et en présence de l'enzyme, il libère un composé bleu violacé.

➔ Mode opératoire

À l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur, prélever une fraction de colonie de confirmation et la déposer sur une bandelette imprégnée par un réactif pour la recherche de l'oxydase (NNNN tetramethyl-p-phénylène-diamine dichlorohydrate (oxoide).

➔ Lecture

La présence de cette enzyme se manifeste par l'apparition d'une coloration bleu/violette intense en 5 secondes aux maximums. (Figure 22). Toutes les espèces du genre *Campylobacter* sont oxydase positives. (Vandamme et al., 1991).

Ensemencement de la gélose TSI (Triple Sugar Iron)

➔ Principe

La recherche de la fermentation des sucres s'effectue sur la gélose au citrate de fer et aux trois sucres communément appelée la gélose TSI, ce test nous renseigne sur l'aptitude de production du sulfure de hydrogène (H₂S), et la capacité d'utiliser les sucres comme source de carbone avec ou sans production de gaz par les bactéries (OIE, 2005).

➔ Mode opératoire

En utilisant une ou deux colonies de confirmation, on ensemence en stries la pente de milieu puis le culot par une piqûre centrale jusque au fond de la gélose.

Incuber à 42°C en atmosphère microaérophile pendant 24 heures et prolonger jusque 5 jours si nécessaire.

➔ Lecture

La fermentation de l'un des sucres va engendrer des sous produits qui sont généralement acides, ce qui va entraîner un changement de couleur du milieu vers le jaune (virage au jaune de la rouge phénol), la production de gaz se traduit par l'apparition des bulles de gaz, et le milieu est complètement séparé ou soulevé, les *Campylobacter* thermotolérants ne fermentent pas les sucres et ne produisent pas de gaz à partir de glucose (Vandamme et al., 1991).

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 donnée de *Campylobacter* thermotolérant (Veron et Fauchère, 1989).

➔ Mode opératoire

❖ Inoculum

À partir d'une culture de 18-24 heures sur le milieu d'isolement (Karmali), on prépare une suspension en solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland 0,5.

❖ Milieu

Gélose de Mueller-Hinton additionnée de 5 % de sang de mouton stérile.

➔ **Technique**

La suspension (inoculum) préparée à partir des cultures de 18-24 heures sur le milieu d'isolement (Karmali) est diluée en 1/10, puisensemencée par écouvillonnage. Sécher la surface de la gélose à 37 °C pendant 10 minutes pour éliminer toute trace d'humidité qui favorise l'envahissement.

Placer à la surface de la gélose un disque de l'acide nalidixique 30 µg et un disque de la céfalotine 30 µg. Et incuber à 37 °C en atmosphère microaéroophile pendant 24 heures.

➔ **Lecture**

L'observation ou non d'une zone d'inhibition autour du disque d'acide nalidixique 30 µg et de la céfalotine 30 µg est interprétée comme suit (ISO10272, 1995) :

Présence de croissance bactérienne _____ ➔ Bactéries résistantes

Absence de croissance bactérienne _____ ➔ Bactéries sensibles

🌐 Réalisation de l'antibiogramme des souches isolées

➔ **Mode opératoire**

À partir d'une culture pure de 18-24 heures sur le milieu d'isolement (Karmali, Oxoide), on prépare une suspension en solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland (0,5), ensuite après une dilution 1/10 de la suspension inoculum, onensemence la surface de la gélose de Mueller-Hinton (Fluka analytical) additionnée de 5 % de sang de mouton par écouvillonnage comme suit :

- Plonger un écouvillon en coton stérile dans l'inoculum et presser doucement en tournant sur la paroi interne du tube afin d'éliminer le liquide en excès retenu dans l'écouvillon.
- Étaler l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Fermer les boîtes et laisser 5 minutes sur la paillasse, Sécher la surface des géloses pour éliminer toute trace d'humidité qui favorise l'envahissement.
- 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 microaerophilie.

Annexe (v)Tableau (XIII): Concentrations, et diamètres critiques pour *Campylobacter* spp. (CA-SFM).

Antibiotique	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)		
		S	I	R
Ampicilline	10 µg	≥ 19	15-18	≤ 14
Amoxicilline/ac. Clavulanique	20/10 µg	≥ 21	15-20	≤ 14
Céfalotine	30 µg	≥ 18	13-17	≤ 12
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≥ 18	17	≤ 16
Erythromycine	15 UI	≥ 22	16-21	≤ 17
Acide nalidixique	30 µg	≥ 20	16-19	≤ 15
Tétracycline	30 UI	≥ 19	18	≤ 17
Chloramphénicol	30 µg	≥ 23	20-22	≤ 19

Résumé

La présente étude a porté sur 310 prélèvements: 260 échantillons aviaires et 50 échantillons humains

La détection de *Campylobacter* a été réalisée selon la norme ISO 10272 .

Les résultats obtenus ont montré que sur le milieu de Karmali, 66% des échantillons aviaires sont contaminés par *C. thermotolerans* (172/260). L'étude de la sensibilité aux antibiotique a montré que toutes les souches étaient résistantes à l'ampicilline et à l'amoxicilline / ac. Clavulanique, (90%) à l'érythromycine, (66,3%) à la tétracycline, (53,3%) au chloramphénicol et (46,7%) à l'enrofloxacin. Cependant, aucune résistance n'a été notée vis-à-vis de la gentamycine.

Pour les prélèvements humains, nous avons détecté 3 souches de *C. thermotolerans* (6%) : une à partir d'un écouvillon rectal (1/25), et deux par la technique de la filtration passive (2/25).

La différence entre la technique de la filtration passive et la technique d'isolement sélectif en utilisant le milieu de Karmali en point de vue de rendement d'isolement des *C. thermotolerans* est statistiquement non significative. Cependant, la technique de la filtration passive semble être la méthode de choix pour l'isolement de *C. upsaliensis*.

Mots clés: *Campylobacter thermotolerans*, poulet de chair, filtration passive, Karmali, l'homme.

Abstract

The present study was carried out of 310 samples in total: 260 avian samples and 50 human samples.

The *Campylobacter* detection in all samples was performed according to ISO 10272 standard.

The results obtained are shown that 66% of avian samples examined by Karmali agar are contaminated with *C. thermotolerans* (172/260). The study of sensitivity to antibiotics showed that (100%) of strains were resistant to ampicillin and amoxicillin/ac. Clavulanic, (90%) to erythromycin, (53.3%) to chloramphenicol, (66.3%) to tetracycline and (46.7%) to enrofloxacin. However, no resistance was observed to gentamicin.

For human samples, we detected three strains of *C. thermotolerans*, which corresponds to a rate of isolation (6%): one from a rectal swab (1/25), and two by the technique of passive filtration (2/25).

The difference between the technique of the passive filtration and selective isolation technique using the medium of Karmali in terms of isolation yield of *C. thermotolerans* is statistically insignificant. However, the technique of passive filtration seems to be the preferred method for the isolation of *C. upsaliensis*.

Key words: thermotolerant *Campylobacter*, broiler, passive filtration, Karmali, man

المخلص

يهدف علمنا هذا إلى : (i) تقييم مدى إصابة بعض مزارع الدجاج اللحم بكتيريا الكامبيلوباكتر المقاومة للحرارة (باتنة) من ناحية ودراسة نسبة هذا المرض عند الأشخاص الذين يعانون من مشاكل في الجهاز الهضمي على مستوى مستشفى المسيلة من ناحية أخرى، (ب) دراسة حساسية الميكروبات المعزولة تجاه المضادات الحيوية، و(ج) المقارنة بين طريقتين لعزل الكامبيلوباكتر المقاومة للحرارة (تقنية الترشيح السلبي وتقنية العزل الانتقائي) وقد تضمنت الدراسة 310 عينة: 260 عينة من أصل حيواني (الطيور) و50 عينة بشرية تم إجراء الكشف عن الكامبيلوباكتر وفقا للمعيار الدولي ايزو 10272

النتائج التي تم التوصل إليها أنه باستعمال وسط كرمالي 66% من عينات ذرق الدجاج اللحم تحتوي على بكتيريا الكامبيلوباكتر (م.ج)، وأظهرت دراسة وأظهرت

الحساسية للمضادات الحيوية أن كل السلالات مقاومة للأمبيسلين وأموكسيسيلين / حمض كلافولانيك، (90%) مقاومة للإريثروميسين، (66.3%) مقاومة للنتراسيكلين ،

(53.3%) مقاومة للكلورامفينيكول و (46.7%) مقاومة للانروفلوكساسين، في حين لوحظ عدم وجود أي مقاومة للجنتاميسين.

بالنسبة للعينات البشرية تم عزل 3 سلالات من بكتيريا الكامبيلوباكتر (م.ج) ما يعادل نسبة (6%). سلالة تم عزلها من مسحة مستقيم و2 بواسطة تقنية الفرق المسجل بين الطريقتين المذكورتان غير دال من الناحية الإحصائية ، غير أن تقنية الترشيح السلبي تعتبر الطريقة الأمثل لعزل الترشيح السلبي الكامبيلوباكتر ايبسالينونسيس.

الكلمات المفتاحية: الكامبيلوباكتر المقاومة للحرارة، الدجاج اللحم، الترشيح السلبي، وسط كرمالي، إنسان