

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

**Étude de la contamination des carcasses de poulet de chair par les
Campylobacter thermotolérants et antibio-résistance des souches
isolées dans quelques abattoirs de la Wilaya de Bordj Bou Arreridj**

Présenté par : DJENDEL Younes

GRIR Abderrahim

TALI MAAMAR Oussama

Soutenu le : 27/06/2018

Devant le jury composé de :

- | | |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| - Présidente : Dr BAAZIZI Ratiba | (Maitre de conférence classe B) |
| - Promotrice : Dr GUESSOUM Meryem | (Maitre assistante classe A) |
| - Examinatrice : Dr MIMOUNE Nora | (Maitre de conférence classe A) |
| - Examinatrice : Dr HACHEMI Amina | (Maitre assistante classe A) |

Remerciements

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

Ce travail n'aurait certainement pas pu voir le jour sans l'assistance de plusieurs personnes.

Je citerai à leur tête notre promotrice **Dr. GUESSOUM Meryem**, maitre assistante à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire. Nous lui sommes reconnaissants de nous avoir appuyés à maintes reprises, pour toute la confiance qu'elle nous a accordée, en acceptant de nous diriger dans ce travail. Ses compétences en dynamique des populations ont été d'un précieux apport pour ce travail.

Merci aussi d'être une très chère sœur pour nous.

Cette soutenance n'aurait pas sa valeur sans le jury ; **Dr. BAAZIZI** ; **Dr. MIMOUNE** et **Dr. HACHEMI** ; nous tenons à remercier vivement ses membres, d'avoir eu l'amabilité d'accepter de faire partie du jury et de donner de leur temps précieux pour juger ce travail.

Une grande part de nos remerciements s'adresse aux membres de notre famille pour leur soutien moral, particulièrement nos très chères mères, lumières de nos vies.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

C'est à cœur ouvert que je dédie ce travail :

A **Mes parents** ; ce travail est le fruit de vos prières et des efforts que vous avez déployés pour ma réussite. Les mots me manquent pour vous exprimer ma gratitude infinie

Qu'ALLAH vous donne santé et longue vie pour que je puisse vous combler à mon tour.

A mes sœurs, leurs maris, et leurs enfants

A **Feriel**, ta présence et ton soutien sont indispensables pour moi, que Dieu t'offre beaucoup de réussite et de bonheur

A toute ma grande famille

A mes très chers amis **Housseem, Oussama, Omar, Lakhder, Yacine**

A mes chers collègues **Younes et Rahim**

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer

Ouss Tali ...

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A Mes chers parents *Layachi et Messaouda* pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse et leurs prières tout au long de mes études

A mon deuxième père *Lhadj Moussa* pour son encouragement permanent et son soutien moral

A tous mes frères et sœurs pour leur appui et leur encouragement

A tous mes oncles et mes tantes

A toute ma famille

A ma fiancée Ratiba : tu as toujours été présente à mes cotés

A mes collègues *Abderahim et Oussama*

A tous mes amis *Abdellaush, Boualem, Amri, Abdmoula*

A tous mes amis d'étude *Oussama, rayane et salah*

Younes djendel ...

Dédicaces

A *Mes Parents* : Sources inépuisables de tendresse, de patience et de sacrifice. Vos prières et vos Bénédictiones m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie.

Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrais exprimer ma grande affection. J'espère ne jamais te décevoir, ni trahir ta confiance et tes sacrifices

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse « **Allah** » vous préserver et vous procurer santé et bonheur

A Mes chers et adorables frères et sœurs, leur épouses et leur maries, particulièrement mon frère « **ADEL** » et ma sœur « **NOUARA** ». Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous, Votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur

A Mes chers petits neveux et nièces :

Islam, Ayoub, Abderzak, Abdallah, Imran, Bader Eddine, Amine, Khawla, Oumaima, Aicha, Anfel et « Malak »

A Sonia ta présence à mes côtés et ton soutien sont indispensables pour moi que « **Allah** » t'offre pleins de réussite et de bonheur

A mes oncles, mes tantes, cousins et cousines merci pour vos encouragements.

A mes très chers amis : *Okba ; Ayoub ; Hamza ; Khaled ; Djalal*

A mes chers amis : *Ouss, Younes, Rayane, Karim, Bokbok, Younes*, et mon binôme *Oussama*, avec qui j'ai partagé de belles années de complicité et d'études

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer

Rahim GRJR...

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
-01	Classification des campylobacter thermotolérants.....	3
-02	Historique de la découverte des campylobacter et de leur importance dans les maladies diarrhéiques.....	4
-03	Caractères d'identification des principales espèces de campylobacter.....	7
-04	Infections humaines dues aux Campylobacter non jejuni chez l'homme.....	13
-05	Mécanismes de résistance aux antibiotiques de Campylobacter.....	16
-06	Épreuves biochimiques pour l'identification de Campylobacter.....	21
-07	Les différents antibiotiques utilisés et les charges correspondantes.....	34
-08	Taux de contamination des prélèvements par campylobacter.....	36
-09	Taux de contamination par les campylobacter thermotolérants au niveau des différents abattoirs.....	37
-10	Distribution des espèces de Campylobacter thermotolérants isolées.....	40
-11	Taux de résistance et de sensibilité des 22 souches de Campylobacter thermotolérants aux différents antibiotiques testés.....	42
-12	Profils d'antibio-résistance des 22 souches testées.....	45

Liste des figures

Figure	Titre	Page
- Figure 01	Caractères morphologiques des <i>Campylobacter</i> (Observation au microscope électronique).....	5
- Figure 02	Aspect de colonies de <i>Campylobacter jejuni</i> sur le milieu Skirrow (Photo personnelle).....	26
- Figure 03	<i>Campylobacter jejuni</i> : Coloration de Gram (Photo personnelle).....	28
- Figure 04	<i>Campylobacter jejuni</i> : Test d'oxydase (Photo personnelle).....	29
- Figure 05	Aspect de <i>C. jejuni</i> sur galerie API Campy	33
- Figure 06	Taux de contamination des prélèvements par <i>Campylobacter</i>	36
- Figure 07	Taux de contamination par les <i>Campylobacter</i> thermotolérants au niveau des différents abattoirs.....	37
- Figure 08	Distribution des espèces de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées.....	40
- Figure 09	Taux de résistance et de sensibilité des 22 souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants aux différents antibiotiques testés.....	41

Liste des annexes

- **Annexe 01** Fiche d'enquête
- **Annexe 02** Préparation des milieux de culture
- **Annexe 03** Lecture et interprétation des résultats de la galerie api campy
- **Annexe 04** Coloration de gram (description)

Liste des abréviations

- **OIE** : Organisation mondiale de la santé animale
- **ISO** : Organisation internationale de normalisation
- **OMS** : Organisation mondiale de la Santé
- **CA-SFM** : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
- **MADR** : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural et de la pêche
- **DSV** : direction des services vétérinaires
- **BHIB** : Brain Heart Infusion broth
- **NaCl** : Le chlorure de sodium
- **TDA** : Tryptophane désaminase
- **VP** : Voges-Proskauer
- **H₂O₂** : peroxyde d'hydrogène
- **CCDA** : Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar
- **TSI** : Triple Sugar Iron
- **H₂S** : sulfure d'hydrogène
- **URE** : urée
- **NIT** : nitrate
- **NIN** : ninhydrine
- **HIP** : Haemophilus influenzae type B
- **PAL**: β-naphtyl ac phosphate
- **GLU**: D-Glucose
- **E**: Erythromycine
- **TE**: Tetra-cycline
- **CIP** : Ciprofloxacine
- **C** : Céfalotine
- **NA** : Nalidixique

Sommaire

Introduction.....	2
-------------------	---

La partie bibliographique

I. Historique et taxonomie	3
II. Caractères généraux	4
II.1. Caractères Morphologiques	4
II.2. Caractères métaboliques	5
II.3. Caractères culturels.....	5
II.4. Caractères biochimiques	6
III. Epidémiologie	6
III.1. Prévalence et incidence de l'infection.....	6
III.2. Voies de transmission.....	8
III.3. Viabilité (développement et survie de <i>Campylobacter</i>) dans l'eau et les aliments.....	9
III.4. Survie des <i>Campylobacter</i> dans l'eau	9
III.5. Survie des <i>Campylobacters</i> dans les aliments.....	10
IV. Pouvoir pathogène des <i>Campylobacter</i>	10
IV. 1. Facteurs de virulence.....	10
IV.2. Pathologies humaines et animales liées à <i>Campylobacter</i>	11
IV.2.1.A. Infections humaines causées par <i>C. jejuni</i>	11
IV.2.1.B. Infections humaines causées par les <i>Campylobacter non jejuni</i>	12
IV.2.2. Infection à <i>Campylobacter</i> chez l'animal	13
V. Sensibilité aux antibiotiques	14
V.1.1. Résistances intrinsèques	14
V.1.2. Résistances acquises	14
VI. Diagnostic	17
VI.1. La culture.....	17
VI.2. Biotypage.....	20
VI.3. Tests biochimiques	20
VI.4. Tests sérologiques	20

La partie Expérimentale

Objectifs	23
I. MATERIELS ET METHODES	23
I.1. Présentation des abattoirs	23
I.2. Matériels	24
I.2.1. Matériel biologique	24
I.2.1.1. Fiche d'enquête (Annexe 01).....	24
I.2.1.2. Échantillonnage.....	24
I.2.2. Matériel de laboratoire	24
A. Réactifs chimiques	24
B. Milieux de culture	25
C. Équipements de laboratoire.....	25
I.3. Méthodes	25
I.3.1. Méthodes de prélèvement	25
I.3.2. Transport des prélèvements	26
I.3.3. Méthodes de laboratoire.....	26
I.3.4. Détection des <i>Campylobacter</i> thermotolérants	26
I.3.5. Préparation de l'échantillon à tester.....	27
I.3.6. Isolement des <i>Campylobacter</i>	27
I.3.6.1. Enrichissement en milieu sélectif liquide.....	27
I.3.6.2. Ensemencement et identification sur milieu sélectif solide	27
II. Confirmation des colonies caractéristiques	28
II.1. Confirmation préliminaire	28
II.2. Purification des isolats	28
II.3. Tests de confirmation	28
1. Identification microscopique	28
2. Recherche de l'oxydase	29
3. Recherche de la fermentation des sucres	30
4. Détection de la croissance à 25°C.....	31

III. Tests additionnels de confirmation (caractérisation phénotypique des souches isolées)	31
III.1. Identification des Campylobacter spp. À l'aide de galeries classiques	31
1. Recherche de la production d'H ₂ S	32
2. Recherche de la catalase.....	32
3. Recherche de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine	32
III.2. Identification des Campylobacter spp. À l'aide de galeries API Campy	33
III. 3. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées	34
IV. RESULTATS ET DISCUSSION	35
IV.1. Fiches d'enquêtes	35
IV.1.1. Opérations de pré-abattage	35
IV.1.2. Opérations d'abattage.....	35
IV.1.3. Hygiène du personnel et de l'abattoir.....	35
V. Détection des Campylobacter thermotolérants	35
V.1. Identification des souches isolées à l'aide de la galerie classique	39
V.2. Confirmation des souches à l'aide de la galerie Api Campy	39
V.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques	41
Conclusion	46
Références bibliographiques	47
Annexes	50
Résumé	

INTRODUCTION

Introduction

Une toxi-infection alimentaire est une maladie, fréquemment infectieuse et accidentelle, contractée suite à l'ingestion de nourriture ou de boisson contaminées par des agents pathogènes qu'il s'agisse de bactéries, virus ou de parasites (**ADAK et al, 2005**).

Les toxi-infections alimentaires causées par *Campylobacter* sont considérées comme l'une des principales causes bactériennes de gastro-entérites. La source principale des infections humaines est l'ingestion d'aliments contaminés, en particulier les viandes crues ou insuffisamment cuites, principalement la viande de volaille (**NEIMANN et al, 2006**).

Selon certains auteurs, les *Campylobacter* thermotolérants sont considérés comme étant la principale cause bactérienne de gastroentérites dans le monde avec une incidence croissante dans les pays développés et en en voie de développement (**BURUCOA, 2007**).

Les infections à *Campylobacter* sont maintenant bien connues depuis une trentaine d'année, mais ce n'est que récemment qu'un intérêt leur est porté. Les raisons sont liées au fait que leurs incidence est en augmentation, les infections sévères et les complications qui leurs sont dues sont mieux prises en compte et la propension de ces bactéries à devenir résistantes aux fluoro-quinolones pose un problème de santé publique (**AFSSA, 2004**).

Le développement de la résistance aux antibiotiques est affiché au niveau international comme une préoccupation majeure en termes de santé humaine et animale, car il remet en question l'efficacité des médicaments. La résistance des bactéries aux antibiotiques est une problématique sérieuse en croissance constante tant en médecine humaine que vétérinaire (**PEYRAT, 2008**).

Chez la volaille, la résistance aux antibiotiques des entéropathogènes zoonotiques, principalement *Campylobacter* est d'autant plus dangereuse en termes de santé humaine que ces bactéries peuvent être transmises à l'homme par le biais de la chaîne alimentaire.

Dans notre étude nous nous sommes intéressés uniquement à la recherche des *Campylobacter* thermotolérants, ayant un intérêt en hygiène des denrées alimentaires; responsables de nombreux foyers de toxi-infections à travers le monde.

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

d'estimer la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants chez le poulet de chair au sein de quelques établissements d'abattage avicoles de la wilaya de Bordj boriridj, et d'autre part, d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* isolées.

**LA PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE**

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Historique et taxonomie

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

Jusqu'à présent, 21 espèces de *Campylobacter*, 10 sous-espèces ainsi que de nombreux biovars ont été décrits (EUZEBY, 2010). Au sein du genre *Campylobacter*, ces espèces peuvent être classées en 3 groupes : le groupe thermotolérant, le groupe « fetus » et le groupe anaérobie (ON, 2005).

Toutefois, le groupe thermotolérant est incontestablement celui qui importe le plus en bactériologie alimentaire du fait de son incrimination considérable dans les toxi-infections alimentaires qui sont notamment causées par les espèces :

Campylobacter jejuni, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* et *Campylobacter upsaliensis* (EUZEBY, 2010). Par ailleurs, il est admis que *C. jejuni* est essentiellement retrouvé chez la volaille.

La classification des *Campylobacter* thermotolérants est représentée dans le tableau 01

Tableau 01 : Classification des *Campylobacter* thermotolérants (ON, 2005).

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

Les *Campylobacters* doivent beaucoup aux vétérinaires, tant pour les premières descriptions des infections chez les bovins ou les porcins que pour la mise au point de méthodes de culture toujours d'actualité (**Tableau 02**).

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

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

II. Caractères généraux

II.1. Caractères Morphologiques

Les *Campylobacters* sont des bactéries à coloration Gram négative, asporulées, parfois capsulées. (**MEGRAUD, 2003**)

Ce sont des bacilles fins (0,2 à 0,5 micron de diamètre sur 8 micron de long), de forme vibrioïde (incurvée en virgule, ou spiralée en « S », ou de forme hélicoïdale), sur cultures âgées apparaissent des formes coccoïdes (arrondies) non cultivables (**OIE, 2005**).

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

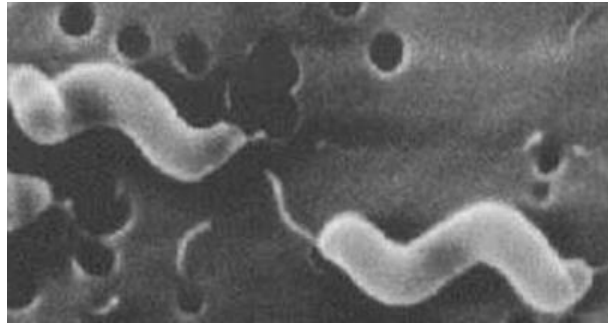


Figure 01 : Caractères morphologiques des *Campylobacter* (Observation au microscope électronique) (MEGRAUD, 2003).

II.2. Caractères métaboliques

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

II.3. Caractères culturaux

Campylobacter jejuni peut être cultivé sur un milieu sélectif particulier "CAMP" à 42°C, la température normale du corps des oiseaux plutôt qu'à 37 °C, la température utilisée pour la plupart des autres bactéries pathogènes (LEHOURS, 2005).

Campylobacter jejuni préfère les conditions microaérophiles (elle privilégie les atmosphères pauvres en dioxygène) et capnophile, nécessitant une atmosphère de croissance aux proportions suivantes : 5 % O₂ (dioxygène), 10 % CO₂ (dioxyde de carbone) et 85 % N₂ (diazote) (LEHOURS, 2005).

Elle se multiplie entre 30°C et 47°C avec une température optimale de croissance à 42°C (OIE, 2008).

Elle est dite thermotolérante (comme *C. lari*, *C. coli* et *C. upsaliensis* par exemple) par comparaison avec une autre espèce ne cultivant pas à 42°C mais capable de se développer à 25°C, *Campylobacter fetus* (OIE, 2008).

La zone optimale de pH pour obtenir une croissance convenable se situe entre 6,5 et 7,5. D'autres milieux de culture peuvent être utilisés : milieu sélectif de Karmali par exemple.

II.4. Caractères biochimiques

Les *Campylobacters* ne sont capables de fermenter ni les sucres ni les composés azotés ; cette absence du métabolisme fermentatif sépare nettement le genre *Campylobacter* du genre

Vibrio, et sont positifs au test de l'oxydase (**FAUCHERE ET AVRIL, 2002**).

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

Les principaux caractères biochimiques de différenciation entre les différentes espèces de *Campylobacter* sont cités dans le tableau 03.

III. Epidémiologie

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

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

III.1. Prévalence et incidence de l'infection

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

Il existe une recrudescence du nombre d'infections à *Campylobacter* au cours des mois les plus chauds. *C. jejuni* représente 80 à 90 % des agents identifiés parmi les infections à *Campylobacter* (**POLY, 2005**).

Tableau 03 : Caractères d'identification des principales espèces de *Campylobacter* (BURUCOA, 2007).

espèces	Catalase	Croissance		Indacet	Uréase	Hippurate	Céf	Nal	Nit	H ₂ S TSI
		25°c	42°c							
<i>C jejuni spp.jejuni</i>	+	-	+	+	-	+	R	S*	+	-
<i>C jejuni spp.doylei</i>	+f/-	-	-	v	-	v	S	S	-	-
<i>C coli</i>	+	-	+	+	-	-	R	S	+	+f
<i>C fetus spp.veneralis</i>	+	+	-	-	-	-	S	R	+	-
<i>C fetus spp.fetus</i>	+	+	-	-	-	-	S	R	+	-
<i>C sputorum bv.sputorum</i>	-	-	+	-	-	-	S	S	+	+
<i>C sputorum bv.fecalis</i>	+	-	+	-	-	-	S	S	V	+
<i>C mucosalis</i>	-	-	+	-	-	-	S	R	+	+
<i>C concisus</i>	-	-	+	-	-	-	R	R	+	+
<i>C lari</i>	+	-	+	-	v	-	R	R	+	-
<i>C rectus</i>	-	-	+	+	-	-	nd	S	+	+
<i>C hyointestinalis</i>	+	v	v	-	-	-	S	R	+	+
<i>C curvus</i>	-	-	+	+	-	-	nd	S	+	+
<i>C upsaliensis</i>	+f/-	-	+	+	-	-	S	S	+	-
<i>C showae</i>	+	-	v	v	-	-	S	S	+	V
<i>C helveticus</i>	-	-	+	+	-	-	S	S	+	-
<i>C lanienae</i>	+	-	+	-	-	-	nd	R	+	-
<i>C gracilis</i>	-	-	+	+	-	-	nd	v	+	-

III.2. Voies de transmission

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

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

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

Des *Campylobacters* ont été isolés dans des échantillons de sable de plage et de fruits de mer, sans toutefois qu'ils n'aient été incriminés dans des cas humains à ce jour (MEGRAUD, 2003).

L'infection à *Campylobacter* est une zoonose et la transmission principale semble se faire par ingestion d'aliments contaminés insuffisamment cuits, principalement la volaille, ou d'aliments (légumes) contaminés indirectement (FRIEDMAN *et al*, 2000). La transmission interhumaine est rare (MEGRAUD, 2003).

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

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

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

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

Les *Campylobacters* sont souvent retrouvés dans des eaux de surface et de ruissellement (SCHAFFER ET PARRIAUX, 2002). La survie est plus importante à basse température (4°C- 10°C) et est diminuée par une aération-oxygénation des eaux (ZEINHOM ET LATEF, 2014).

Des variations ont également été constatées entre les espèces : les populations de *C. jejuni* et de *C. lari* semblent plus résistantes dans de l'eau de rivière à 5°C et les temps de survie (mesurés par culture) peuvent être très variables en fonction des souches (de 6 à plus de 60 jours) (SCHAFFER ET PARRIAUX, 2002).

L'application d'UV mimant une exposition solaire d'une journée montre que les populations deviennent non cultivables après 30 à 90 minutes dans des eaux de surface (SCHAFFER ET PARRIAUX, 2002).

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

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

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

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

Cette bactérie est en revanche plutôt résistante à la réfrigération (0 à 10°C), cette survie variant selon les conditions de réfrigération (bactérie plus résistante sur supports solides).

Des formes viables non cultivables (VNC) étant décrites pour *Campylobacter*, elles pourraient induire une sous-estimation du niveau de contamination (MEGRAUD et al, 2003).

IV. Pouvoir pathogène des *Campylobacters*

IV. 1. Facteurs de virulence

La motilité, l'adhérence, l'invasion, les protéines secrétées, la survie intracellulaire et la production de toxines sont tous des facteurs qui jouent un rôle dans la pathogénicité des bactéries (LARSON *et al*, 2008).

Les espèces *Campylobacter* sont généralement dotées d'un ou deux flagelles qui leur permettent d'être mobiles. Afin de coloniser ou d'infecter les poulets et les humains, il est primordial pour *C. jejuni* de posséder un flagelle. Le flagelle joue un rôle important dans l'adhérence et l'invasion des cellules de l'hôte (MALIK *et al*, 2007).

Il existe aussi des protéines responsables de l'adhérence, comme la protéine de la membrane externe, Cadf (*Campylobacter* adhesion to fibronectine). Cette protéine agirait comme une andhésine et permettrait l'adhérence aux cellules de l'hôte (LARSON *et al*, 2008).

La production de toxine de distension cytolétale chez *Campylobacter* est soupçonnée d'être un des facteurs de virulence primordiale lors d'une infection par cette bactérie. Cette toxine produite grâce aux gènes *cdtA*, *cdtB* ET *cdtC* est excrétée et attaque les cellules de l'hôte et les bloque dans la phase G2 du cycle cellulaire, ce qui va causer la mort de la cellule par apoptose.

La présence du plasmide pVir serait associée à des diarrhées sévères et sanglantes. Les gènes *flaA* et *flaB* codent pour le ou les flagelles retrouvés à extrémité d'une cellule *Campylobacter* (ON *et al*, 2008).

IV.2. Pathologies humaines et animales liées à *Campylobacter*

IV.2.1.A. Infections humaines causées par *C. jejuni*

La gamme de manifestations liées à la clinique est très variée allant de l'état asymptomatique dans 25% des cas à la mort dans 0.24% des cas. Les manifestations prodromales s'établissent en général sur un à deux jours et se caractérisent par des myalgies, arthralgies, fièvre et céphalée.

C. jejuni peut provoquer une symptomatologie de diarrhée inflammatoire avec douleur abdominales, selles glaireuses et sanglantes. Le volume des selles diarrhéiques peut être

minime ou important. Les vomissements sont parfois présents, quoique rares. La douleur abdominale peut faire hésiter le clinicien vers la possibilité d'une appendicite aigüe.

La symptomatologie peut varier avec l'âge. Ainsi, chez les enfants, il existe un risque accru de déshydratation et de convulsion. La période d'incubation, de 2 à 3 jours en général, peut s'étendre des fois jusqu'à 7 jours et la résolution spontanée des symptômes s'observe habituellement au bout d'une semaine.

Certaines différences dans la campylobactériose peuvent être liées aux espèces. Ainsi, au royaume Uni les patients avec *Campylobacter coli* sont comparativement à ceux atteints de *Campylobacter jejuni* moins souvent malades en été, le plus souvent asiatiques, avec des antécédents de voyage dans les deux semaines ayant précédé l'apparition des symptômes, consommateurs de viande halal, de pâtés de viande à base le plus souvent du porc, et buveurs d'eau embouteillée. De plus les infections à *Campylobacter jejuni* surviennent en général chez les patients plus jeunes que ceux atteints par *Campylobacter coli*.

Même au niveau des sous espèces de *Campylobacter jejuni*, on observe également des différences au sein des manifestations cliniques.

Une infection à *Campylobacter jejuni* peut également être, dans de rares cas, à l'origine du syndrome de Guillain-Barré, maladie inflammatoire du système nerveux périphérique qui se manifeste par une paralysie temporaire.

On estime qu'un cas sur mille d'infection humaine par *Campylobacter* provoque le syndrome de Guillain-Barré. Ce syndrome est très sévère avec une mortalité pouvant atteindre 2 à 3% des cas et peut engendrer des séquelles neurologiques majeures. Selon l'Anses, 20 à 30% des cas de syndrome de Guillain-Barré les plus graves seraient dus à une infection par cette bactérie (TISSERAND, 2011).

IV.2.1.B. Infections humaines causées par les *Campylobacter non jejuni*

Un panorama des infections humaines dues aux *Campylobacter non jejuni* est présenté dans le tableau suivant.

Tableau 04 : Infections humaines dues aux *Campylobacter non jejuni* chez l'homme
(D'après **DROMIGNY, 2007**).

Syndromes gastro-intestinaux	
Gastro-entérites	<i>C. coli</i>
Gastro-entérites	<i>C. concisus</i>
Gastro-entérites	<i>C. curvus</i>
Gastro-entérites	<i>C. fetus subsp. Fetus</i>
Gastro-entérites	<i>C. hypointestinalis subsp. hypointestinalis</i>
Gastro-entérites, septicémies	<i>C. lari</i>
Gastro-entérites	<i>C. sputorum bv. Sputorum</i>
entérites	<i>C. sputorum bv. Paraureolyticus</i>
Gastro-entérites	<i>C. upsaliensis</i>
Syndromes gingivaux	
Périodontites	<i>C. concisus</i>
Périodontites	<i>C. curvus</i>
Périodontites	<i>C. gracilis</i>
Périodontites	<i>C. rectus</i>
Périodontites	<i>C. showae</i>
Syndromes généraux	
Septicémies, méningites	<i>C. fetus subsp. Fetus</i>
Septicémies	<i>C. fetus subsp. Venerealis</i>
Septicémies	<i>C. upsaliensis</i>
Syndromes de Guillain- Barré	<i>C. upsaliensis</i>
SHU	<i>C. upsaliensis</i>
Syndromes abortifs	
Fausse couches	<i>C. fetus subsp. Fetus</i>
Fausse couches	<i>C. upsaliensis</i>

IV.2.2. Infection à *Campylobacter* chez l'animal

Les *Campylobacters* peuvent être isolées dans les fèces d'un éventail d'espèces sauvages, domestiques et de laboratoire. Cependant, de tels animaux pourtant bien colonisés montrent rarement les signes des maladies cliniques.

La raison de ce paradoxe est inconnue. Cela peut refléter l'infection avec des souches qui manquent de virulence et sont donc non pathogènes, ou le développement de l'immunité protectrice suivant une exposition répétée, ou un manque de sensibilité, par exemple par la suite de l'absence de récepteurs appropriés de l'hôte pour des toxines (**DROMIGNY, 2007**).

V. Sensibilité aux antibiotiques

Le profil d'antibiorésistance des *Campylobacter spp.* ne cesse d'évoluer et de soulever des interrogations chez les partenaires travaillant sur ce sujet, tant chez l'homme et l'animal. *Campylobacter* est naturellement résistantes à la plupart des familles d'antibiotiques, toutefois une résistance peut être acquise vis-à-vis de certaines d'entre elles tels que les macrolides, aminosides, bêta lactamines, tétracycline et quinolones.

V.1.1. Résistances intrinsèques

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

Les *Campylobacters* sont naturellement résistants aux antibiotiques suivants : Vancomycine, Bacitracine, Novobiocine, Colimycine, Streptogramine B, Triméthoprime.

C. jejuni et *C. coli* sont également résistants à la céphalotine et à la rifampicine (**PEYRAT, 2008**). 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 (**PEYRAT, 2008**). Notons que les mécanismes de résistance intrinsèque sont peu connus (**LACHANCE et al, 1991**).

V.1.2. Résistances acquises

Les *Campylobacter* ont, comme toute bactérie, développé des résistances acquises aux différents agents antimicrobiens (**KUSTERS ET KUIPERS, 2001**).

Cette résistance résulte de l'acquisition de nouveaux mécanismes par la bactérie. Ces mécanismes les rendent résistantes à l'antibiotique considéré. Ils reposent sur des mutations ponctuelles ou sur l'acquisition de matériel génétique exogène (plasmides de conjugaison, transposons, intégrons).

Chez les *Campylobacters*, elle repose sur 3 mécanismes :

- la synthèse d'enzymes dégradant les types de molécules d'antibiotiques,
- des modifications structurales des sites de liaison 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.

Très souvent, ces mécanismes de résistance sont combinés et modulent l'intensité de la résistance observée.

Les principaux mécanismes de résistance acquise identifiés chez les *Campylobacter* sont présentés dans le tableau 05.

Tableau 05 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques de *Campylobacter*.

Classe d'antibiotiques	Les mécanismes de résistance
Aminosides	Modification de l'antibiotique par des enzymes aminoglycosides modifiant (APHA, AADE, Sat) Contribution d'efflux n'est pas clair
Béta-lactamines	L'inactivation enzymatique de l'antibiotique par la β -lactamase (penicillinase, de OXA-61) Diminution de la perméabilité de la membrane de la plupart anionique et des antibiotiques MW > 360 kDa en raison de MOMP Efflux par CmeABC et éventuellement d'autres
Fluoroquinolones	Modification de la cible ADN gyrase (Thr-86-Ile ; aussi Asp-90-Asn, Ala-70-Thr) Efflux par CmeABC
Macrolides	Les mutations dans l'ARNr 23S Contribution des mutations dans les protéines ribosomales L4 / L22 est mineure susceptible Efflux par CmeABC et éventuellement d'autres Diminution de la perméabilité de la membrane en raison de MOMP
Tétracycline	Modification de la cible ribosomal Un site par liaison TetO Efflux par CmeABC et éventuellement d'autres Contribution de la diminution de la perméabilité de la membrane en raison de MOMP est pas clair

VI. Diagnostic

VI.1. La culture

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

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

La plupart des milieux sélectifs contenant du sang, tels que le milieu Skirrow, ont été conçus pour une utilisation à 42 ° C afin d'améliorer leurs propriétés sélectives, tandis que le CCDA et Karmali montrent de bonnes propriétés sélectives à 37 ° C (CORRY et al, 1995).

Deux possibilités existent pour cultiver sélectivement les bactéries de genre *Campylobacter* : L'utilisation de milieux sélectifs ou d'une technique de filtration (non sélectif).

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

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

Les milieux les plus utilisés sont ceux formulés par Skirrow, Butzler et ses collègues, Blaser et al, et Bolton et Robeston qui sont constitués par un milieu de base additionné de sang (Poly, 2005).

D'autres milieux ont ensuite été proposés comme le milieu de Karmali et enfin le milieu de Bolton et Huchinson, milieux dans lesquels le sang est remplacé par du charbon (TEYSSOU et al, 2003).

Le pouvoir inhibiteur du milieu de Skirrow est considéré comme assez faible et les cultures obtenues à partir d'isolement de selles sont souvent envahies par des bactéries de la flore fécale non inhibée, en particulier des souches de *Proteus* ou de *Pseudomonas* (TEYSSOU et al, 2003), ce qui gêne l'exploitation de l'isolement.

Cependant, pour isoler *C. jejuni* à partir d'un produit alimentaire (dont la flore associée est moins dense), le milieu de Skirrow reste un des plus adaptés (BURRUCOA, 2007). Ce problème de contaminants est commun pour l'ensemble des milieux qui contiennent du sang.

Des études comparatives de la plupart des milieux de culture donnent la préférence au milieu de Karmali qui est à base de charbon. Ce milieu contient trois agents antibactériens, ce qui permet une meilleure croissance tout en ayant une sélectivité excellente (TEYSSOU et al, 2003).

Une méthode de filtration a été utilisée pour isoler les *Campylobacters* à partir d'échantillons fécaux, principalement pour certaines espèces sensibles aux différents antibiotiques présents dans les milieux sélectifs (BURRUCOA, 2007). Cette méthode a été développée par Steele et McDermott (OIE, 2005).

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

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

Des milieux d'enrichissement ont été utilisés pour l'isolement de *Campylobacter* à partir d'échantillon de selles. L'intérêt de ce type de milieux reste controversé, sauf dans le cas où l'on suspecte la présence d'une quantité faible de bactéries comme au décours d'une

Infection, s'il y a eu problèmes d'acheminement au laboratoire, ou encore lors de la recherche de *Campylobacter* dans les aliments. Ces milieux sont incubés 24h à 37°C avant d'être repiqués sur milieu d'isolement (**TEYSSOU et al, 2003**).

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

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

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

Les colonies typiques de *Campylobacter* sont plates, brillantes et étalées, et ont tendance à diffuser, lorsqu'elles sont bien espacées, elles évoquent des gouttelettes qui auraient éclaboussé la gélose. Toutefois, certaines souches, forment des colonies plus distinctes et bombées (**BOLLA ET GARNOTEL, 2008**). Cet aspect macroscopique des colonies diffèrent d'un milieu à un autre.

Sur le milieu Karmali par exemple, les *Campylobacters* forment des colonies brillantes, lisses ou granuleuses, d'aspects blancs grisâtre. Alors que, sur le milieu Skirrow les colonies sont plutôt petites, brunâtres, peuvent être muqueuse ou en voiles (OIE, 2005).

VI.2. Biotypage

Les méthodes de biotypage les plus utilisées sont ceux développés par Skirrow et Benjamin (1980).

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

VI.4. Tests biochimiques

Les tests biochimiques sont utilisés dans les méthodes officielles pour l'identification des *Campylobacter* (THIBODEAU, 2013). Ils sont résumés dans le tableau 5.

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

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

VI.4. Tests sérologiques

Deux schémas de sérotypage pour *Campylobacter* ont été décrits, le système de Lior, qui est un stéréotypage basé sur un système antigénique thermolabile des polysaccharides capsulaires des *Campylobacter spp.* a pu détecter 108 stéréotypes de *C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari* (BOLLA ET GARNOTEL, 2008).

Face au système de Lior se dresse le système de sérotypage de Penner qui repose sur 24 des antigènes thermostables de la capsule polysaccharidique des *Campylobacter spp.* (Pour revue, ON, 1996) et peut détecter 66 sérotypes de *C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari*.

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

Tableau 06 : Épreuves biochimiques pour l'identification de *Campylobacter*

Tiré de (FDA, 2011)

Caractéristiques	<i>jejuni</i>	<i>Jejuni subsp. doylei</i>	<i>coli</i>	<i>lari</i>	<i>fetus subsp. Fetus</i>	<i>hypointestinalis</i>	<i>upsaliensis</i>
Croissance à 25°C	-	+/-	-	-	+	D	-
Croissance à 35-37°C	+	+	+	+	+	+	+
Croissance à 42°C	+	+/-	+	+	D	+	+
Réduction du Nitrate	+	-	+	+	+	+	+
3.5% Nacl	-	-	-	-	-	-	-
H2S, lead acetate strip	+	+	+	+	+	+	+
H2S, TSI	-	-	D	-	-	+	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	-
Oxidase	+	+	+	+	+	+	+
Mac Conkey's Agar	+	+	+	+	+	+	-
Mobilité	++	+	+	+	+	+	+
Croissance à 1% glycine	-	+	+	+	+	+	+
Dégradation du Glucose	+	-	-	-	-	-	-
Hydrolyse d'hippurate	+	+	-	-	-	-	-
Résistance à l'Acide nalidixique	S	S	S	R	R	R	S
Résistance à la céphalotine	R	R	R	R	S	S	S

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

**LA PARTIE
EXPERIMENTALE**

Objectifs

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

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

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

I. Matériels et méthodes

I.1. Présentation des abattoirs

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

Tous les jours, en général, des poulets de chair destinées à l'abattage sont ramenées de plusieurs régions du pays et une fois abattues, elles sont livrées, dans des camions frigorifiques, à des boucheries situées dans différentes villes du pays.

I.2. Matériels

I.2.1. Matériel biologique

I.2.1.1. Fiche d'enquête (Annexe 01)

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

I.2.1.2. Échantillonnage

Un total de cent (100) prélèvements a été réalisé de façon aléatoire au niveau des 04 établissements d'abattage avicole. Cela nous a permis de prélever des sujets issus de régions et d'endroits divers.

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

La période de cette étude expérimentale s'est étendue entre le mois de novembre 2017 et le mois de Janvier 2018.

Cent prélèvements de peau de cou au sein des abattoirs situés respectivement dans les communes el Anasser (A), Mechta Fatima (B), El hamadia 01 (C) et El Hamadia 02 (D) entre 06h30 et 11h30 du matin.

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

I.2.2. Matériel de laboratoire

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

A. Réactifs chimiques

- Sachets générateurs d'atmosphère (GENbox microaer).
- Galerie Api Campy
- Solution physiologique de NaCl
- Eau physiologique et eau distillé stériles
- BHIB et glycérol
- Réactifs pour coloration de Gram (BioMerieux)
- Milieu Urée indol (IPA)
- Réactifs individuels
 - ✓ TDA
 - ✓ VP1+ VP2
 - ✓ Disque d'oxydase
 - ✓ Huile de paraffine
 - ✓ Huile à émersion
 - ✓ H₂O₂
 - ✓ Hippurate de sodium
 - ✓ Dihydrogénophosphate monosodique monohydraté
 - ✓ Ninhydrine
 - ✓ Butanol
 - ✓ Acétone
- Suppléments d'antibiotiques :
 - ✓ Skirrow (Oxoid France : SR0069E)
- Disques d'antibiotiques (Cité ci- dessous dans la partie Méthodologie de travail)

B. Milieux de culture

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

C. Équipements de laboratoire

- Les jarres d'incubation : *AnaeroJar[™]* (Oxoid, AGOO25A)
- Pipettes à usage unique
- Gants stériles
- Équipements général de laboratoire de bactériologie

I.3. Méthodes

I.3.1. Méthodes de prélèvement

En se munissant de gants en latex jetables, les prélèvements ont été effectués en moins de deux heures dans les différents établissements visités.

Par ailleurs, les techniques de prélèvement employées sont tirées des recommandations mentionnées dans le manuel terrestre de l'OIE de 2005.

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

I.3.2. Transport des prélèvements

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

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

I.3.3. Méthodes de laboratoire

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

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

Par ailleurs, la composition ainsi que la préparation des différents milieux de culture ayant servi à l'élaboration de notre étude sont décrites en **annexe 02**.

I.3.4. Détection des *Campylobacter* thermotolérants

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

- Les techniques de laboratoire du manuel de l'OMS (2003) : pour la préparation de l'échantillon à tester et l'isolement des *Campylobacter* ;
- Le manuel terrestre de l'OIE (2005) : pour la confirmation des colonies caractéristiques.

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

- Utilisation du bouillon d'enrichissement de Preston
- Incubation du bouillon d'enrichissement en aérobiose au lieu d'une incubation en microaérobiose (OIE, 2005) ;
- Emploi des géloses Skirrow au lieu de la gélose CCDA (Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar) ;

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

I.3.5. Préparation de l'échantillon à tester

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

I.3.6. Isolement des *Campylobacter*

I.3.6.1. Enrichissement en milieu sélectif liquide

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

I.3.6.2. Ensemencement et identification sur milieu sélectif solide

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

Les colonies caractéristiques de *Campylobacter* sont :

Grises à brunes et de différentes tailles sur gélose Skirrow (Figure 02).

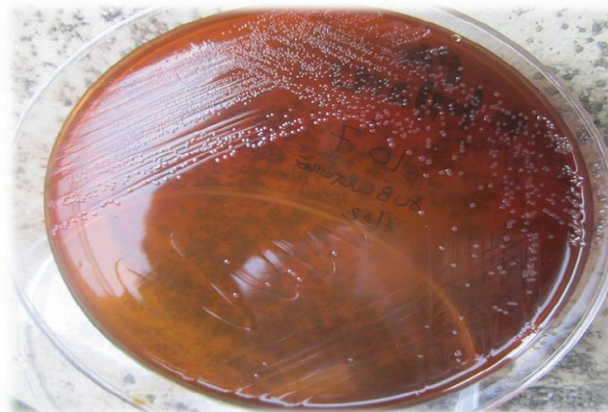


Figure 02 : Aspect de colonies de *Campylobacter jejuni* sur le milieu Skirrow
(Photo personnelle)

II. Confirmation des colonies caractéristiques

II.1. Confirmation préliminaire

Une fraction de chaque colonie caractéristique par boîte est soumise à une identification microscopique afin d'examiner la morphologie et la mobilité des *Campylobacter* présumés. Ne sont retenues que les colonies dont l'examen microscopique révèle la présence de bacilles spiralés, incurvés, ou en virgule Gram négatif à mobilité caractéristique. (Figure 03)

II.2. Purification des isolants

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

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

II.3. Tests de confirmation

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

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

1. Identification microscopique

➤ Principe :

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

- **Etat frais**

➤ Mode opératoire

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

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

La lecture se fait immédiatement :

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

- **Coloration de Gram**

La coloration de Gram est réalisée conformément au mode opératoire du kit Gram-Nicolle décrit en annexe 03.

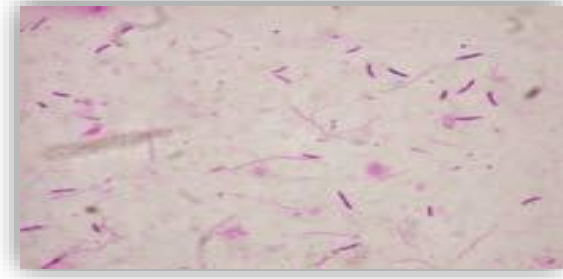


Figure 03 : *Campylobacter jejuni* : Coloration de Gram
(Photo personnelle)

2. Recherche de l'oxydase

➤ Principe

La présence de l'oxydase est mise en évidence par le biais de la détection de l'indophénol issu de l'oxydation de certains dérivés phényle-diamine par cette enzyme (OMS, 2003). (Figure 04)

➤ Mode opératoire

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

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

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



Figure 04 : *Campylobacter jejuni* : Test d'oxydase
(Photo personnelle)

3. Recherche de la fermentation des sucres

➤ Principe

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

➤ Mode opératoire

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

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

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

Pente : Couleur jaune Couleur rouge ou inchangée

Glucose + Glucose - Gaz + Gaz -

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

4. Détection de la croissance à 25°C

➤ Principe

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

➤ Mode opératoire

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

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

III.1. Identification des *Campylobacter spp.* À l'aide de galeries classiques

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

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

Il est important de souligner que pour des raisons d'ordre matériel, seule une partie de peaux de cou a fait l'objet de la recherche de l'hydrolyse de l'hippurate lors de leur identification biochimique au moyen des 22 galeries API Campy qui étaient à notre disposition.

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

1. Recherche de la production d'H₂S

➤ Mode opératoire

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

La lecture concerne uniquement le culot :

Couleur noire H₂S +

Couleur inchangée H₂S –

2. Recherche de la catalase

➤ Principe

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



➤ Mode opératoire

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

Le résultat apparaît dans les 30 secondes comme suit :

Effervescence

Non effervescence

Catalase +

Catalase - (ISO 10272, 1995)

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

➤ Principe

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

➤ Mode opératoire

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

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

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

III.2. Identification des *Campylobacter spp.* À l'aide de galeries API Campy

➤ Principe

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

➤ Mode opératoire

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

- Préparation de l'inoculum

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

- Inoculation de la galerie

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

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

- Incubation de la galerie

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

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

L'aspect de *C. jejuni* sur galerie API Campy est représenté par la figure 05.



Figure 05 : Aspect de *C. jejuni* sur galerie API Campy

III. 3. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées

➤ Principe

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

Cette dernière a été réalisée selon la fiche technique des *Campylobacter spp.* du fascicule du «Comité National de Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Humaine à l'Échelle Nationale» de la 5ème édition de 2008 (**Anonyme, 2008**), elle-même extraite des recommandations du «Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie» (CA-SFM) de l'édition de janvier 2012, 2017 et 2018.

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

➤ Mode opératoire

Tout d'abord, grâce à un densitomètre, une suspension d'opacité égale à 0,5 Mc Farland est préparée en prélevant à l'aide d'un écouvillon stérile quelques colonies bien distinctes d'une culture pure jeune, de 18 à 24 heures d'incubation, afin de les inoculer dans 4 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

Ensuite, après une dilution au 1/10^{ème}, un ensemencement par écouvillonnage est réalisé sur la surface de la gélose Mueller Hinton additionnée de 5% de sang de cheval comme suit : - L'écouvillon est plongé dans la suspension puis essoré à l'intérieur du tube, en le pressant contre la paroi ;

- L'ensemencement est ensuite établi en faisant des stries serrées sur la totalité de la surface de la gélose puis la même action est répétée deux fois de suite en imprimant, à chaque fois, des mouvements de rotation de 60°C à la boîte et en faisant tourner l'écouvillon sur lui-même;

- L'écouvillon est finalement tourné sur le pourtour de la gélose puis la boîte est fermée et laissée sur la paillasse durant 5 minutes ;

Enfin, grâce à un applicateur, les disques d'antibiotiques à tester sont appliqués sur la gélose en veillant à ce qu'ils soient espacés et bien en place. Les boîtes sont par la suite incubées à 37°C pendant 24 heures en microaérophilie.

Le diamètre des zones d'inhibition des disques d'antibiotiques est mesuré au moyen d'un pied à coulisse métallique placé sur les boîtes fermées. Selon le diamètre critique noté, chaque souche de *Campylobacter spp.* est classée dans l'une des trois catégories suivantes : Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistante (R)

Dans le tableau suivant nous mentionnons les différents antibiotiques utilisés et les charges correspondantes.

Tableau 07 : Les différents antibiotiques utilisés et les charges correspondantes

Famille d'antibiotiques	Nom d'antibiotique	Abréviation	Charge des disques
Céphalosporine	Céfalotine	CF	30 ug
Macrolides	Erythromycine	E	15 (10 UI)
Quinolones	Acide nalidixique	NA	30 ug
Quinolones	Ciprofloxacine	CIP	5 ug
Cyclines	Tétracycline	TE	30 UI
Phénicoles	Chloramphénicol	C	30 ug

IV. Résultats et Discussion

IV.1. Fiches d'enquêtes

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

IV.1.1. Opérations de pré-abattage

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

IV.1.2. Opérations d'abattage

- Un seul lot de poulet de chair était abattu par jour ;

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

IV.1.3. Hygiène du personnel et de l'abattoir

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

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

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

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

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

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

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

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

V. Détection des *Campylobacter* thermotolérants

Sur l'ensemble des 100 prélèvements réalisés en établissements d'abattage, nous avons détecté 49 souches de *Campylobacter* thermotolérants (49,0%).

Les prévalences observées sont notées dans le tableau 08 et représentées par la figure 06.

Tableau 08 : Taux de contamination des prélèvements par *Campylobacter*

Nombre de prélèvement Total	Nombre de prélèvement positifs	Taux de positivité %
100	49	49%

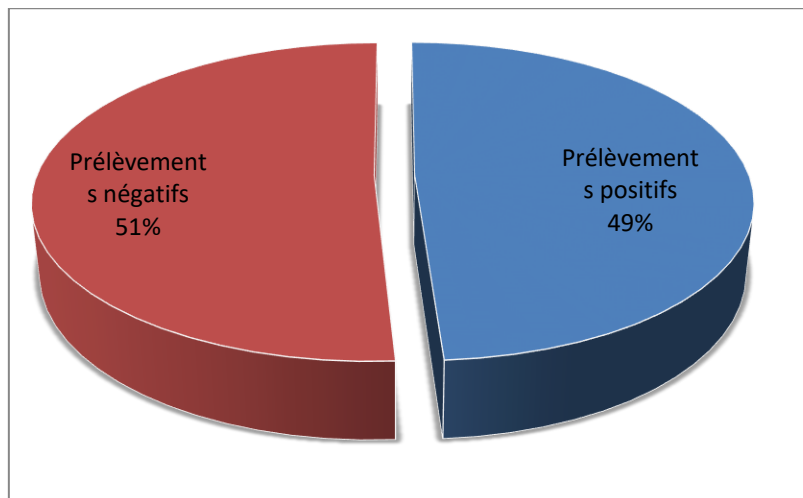


Figure 06 : Taux de contamination des prélèvements par *Campylobacter*

La distribution des 49 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des contenus caecaux était comme suit :

- Pour l'abattoir A : 18 souches étaient isolées ; ce qui représente un taux de contamination de 36.7%.
- Pour l'abattoir B : 10 souches étaient isolées ; ce qui représente un taux de contamination de 20.41%.
- Pour l'abattoir C : 12 souches étaient isolées ; ce qui représente un taux de contamination de 24.49%.
- Pour l'abattoir D : 09 souches étaient isolées ; ce qui représente un taux de contamination de 18.37%.

La distribution des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées par établissement d'abattage est représentée dans le tableau 09 et la figure 07.

Tableau 09 : Taux de contamination par les *Campylobacter* thermotolérants au niveau des différents abattoirs

Etablissement d'abattage	Nombre et date de prélèvement	Nombre de prélèvement positive	Taux de positivité %
A	25 - 21/11/2017	18	36.7
B	25 - 25/11/2017	10	20.41
C	25 - 03/01/2018	12	24.49
D	25 - 03/01/2018	09	18.37
Total	100	49	100

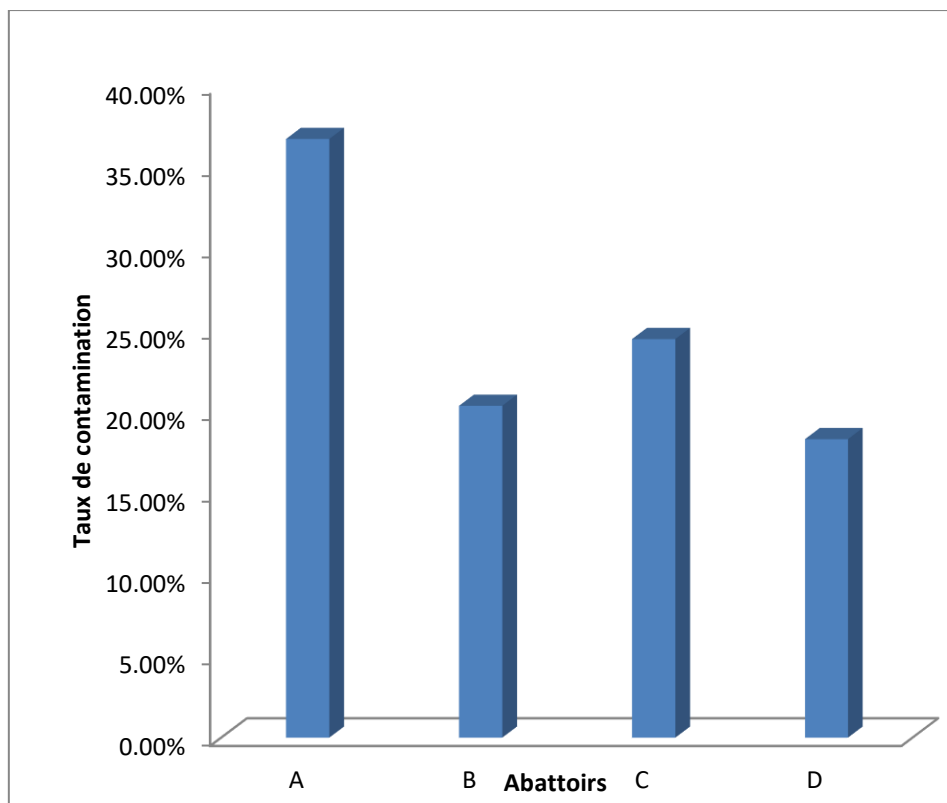


Figure 07 : Taux de contamination par les *Campylobacter* thermotolérants au niveau des différents abattoirs

Pour la totalité des lots analysés durant l'abattage des poulets de chair, 49,0% des peaux de cou étaient contaminées par les *Campylobacter* thermotolérants.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Selon **FRANCHIN ET AL. (2007)**, la rupture intestinale avec expulsion de son contenu est toujours possible lors de l'éviscération. Ils considèrent que cette étape est le principal facteur qui conduit à une sérieuse augmentation du taux de détection des *Campylobacter* au niveau des abattoirs.

Quant à la contamination indirecte, elle serait principalement représentée par l'équipement, notamment la plumeuse car comme l'indique **BERRANG ET AL. (2002)**, excepté le contact direct avec la peau, la plupart des *Campylobacter* portés par l'équipement après la plumaison, se retrouvent sur la peau.

En outre, il convient de noter que les souches de *Campylobacter* éventuellement présentes dans les contenus de jabots (**WESLEY ET AL., 2005**) de même que dans les aérosols (**ALLEN ET AL, 2007**) auraient pu être véhiculées jusqu'aux carcasses par le biais d'un nettoyeur à haute pression vu que l'eau sous pression en provenance de ce conduit était dirigée vers la rigole qui se situait juste en dessous des carcasses lors du nettoyage du sol souillé par les intestins et les contenus de jabots pendant les étapes d'éviscération et de finition.

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

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

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

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

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

La distribution des espèces de *Campylobacter* thermotolérants isolées est notée sur le tableau 10 et présenté dans la figure 08.

Tableau 10 : Distribution des espèces de *Campylobacter* thermotolérants isolées

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

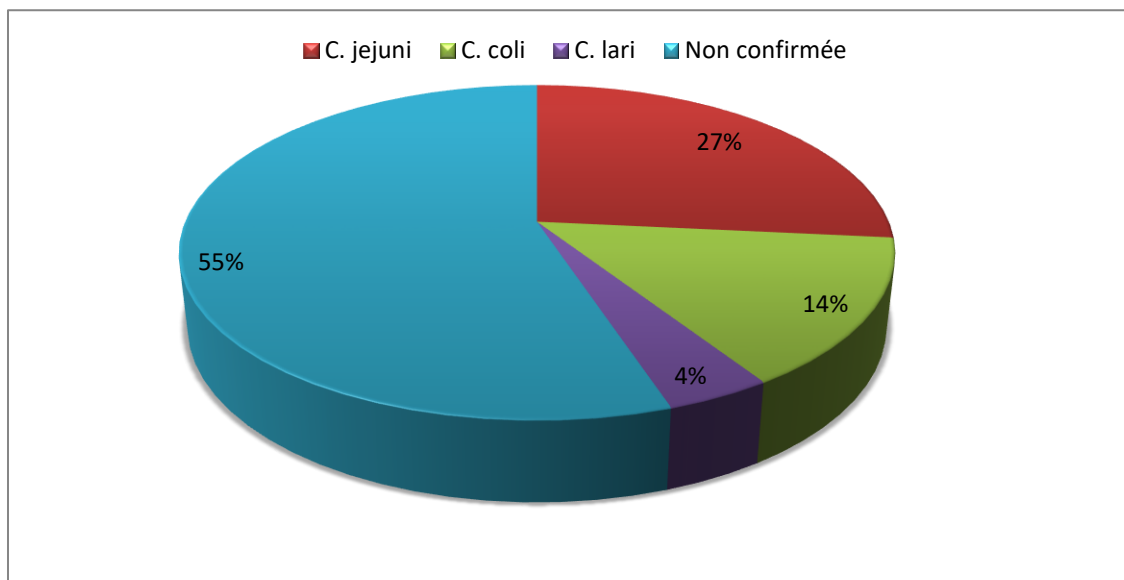


Figure 08 : Distribution des espèces de *Campylobacter* thermotolérants isolées

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

D'après ALTER et AL., (2005), *C. jejuni* serait plus résistante au stress environnemental d'où sa haute prévalence après l'abattage des sujets. Toutefois, il convient de préciser que peu de travaux sont parvenus jusqu'à l'identification de l'espèce de *Campylobacter* chez le dinpoulet de chair ; supposant sans doute que *C. jejuni* représente l'espèce la plus fréquemment isolée.

V.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

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

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

Les taux de sensibilité aux antibiotiques des 22 souches isolées sont présentés dans le tableau 08 et la figure 11.

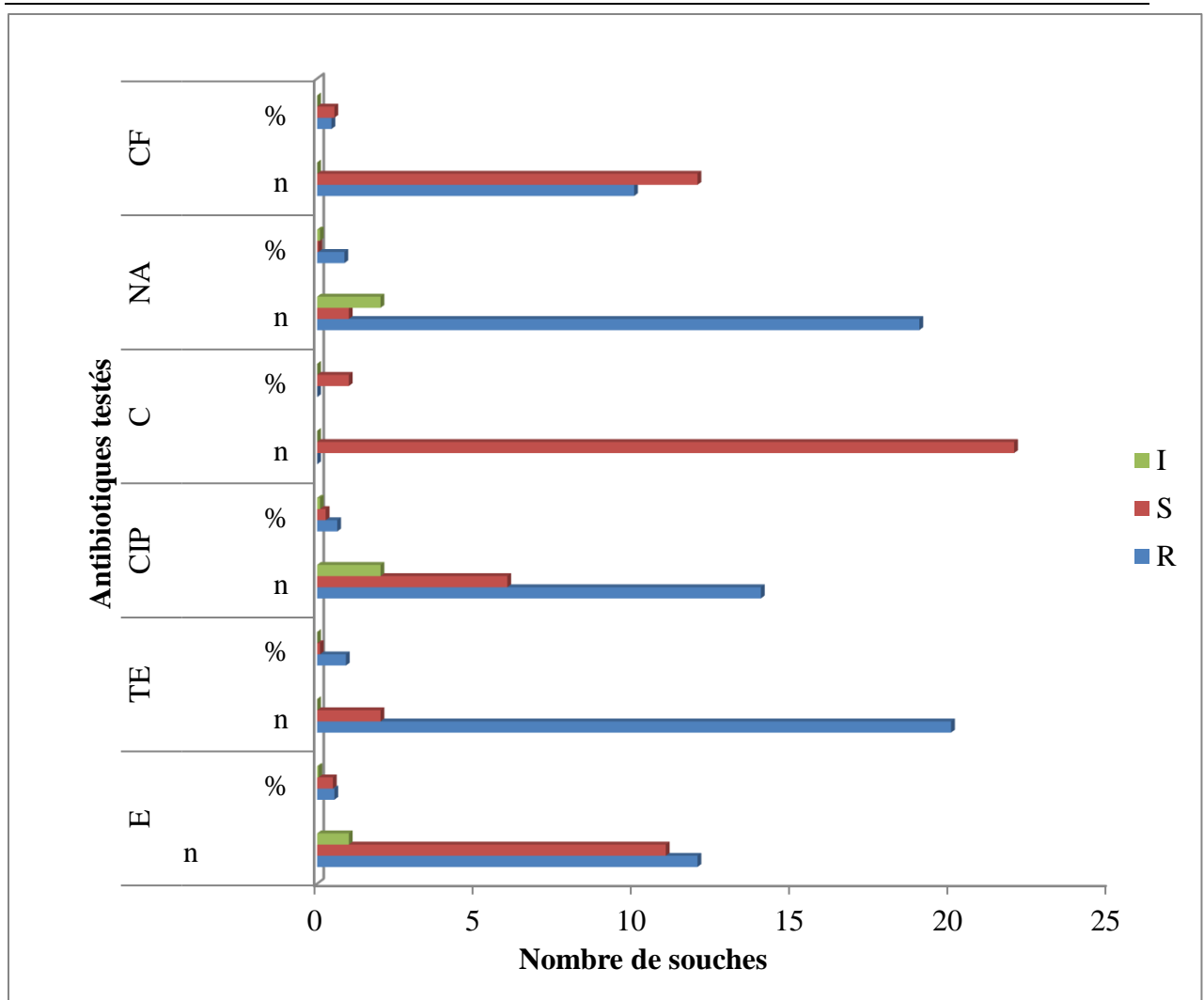


Figure 09 : Taux de résistance et de sensibilité des 22 souches de *Campylobacter* thermotolérants aux différents antibiotiques testés.

Tableau 11 : Taux de résistance et de sensibilité des 22 souches de *Campylobacter* thermotolérants aux différents antibiotiques testés.

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

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

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

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

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

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

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

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

Toutes les souches testées étaient résistantes à au moins un seul antibiotique (100%) et 20 isolants étaient résistants à au moins trois antibiotiques ; ce qui signifie que 81,2% des souches analysées étaient multi résistantes. Ces résultats sont comparables aux données de la littérature.

Au cours de cette étude, nous avons noté 22 profils de résistance différents. La pression de sélection engendrée par l'utilisation de différents antibiotiques dans les élevages de poulets de chair serait à l'origine de l'acquisition de ces divers profils de résistances. Ces derniers

pourraient être transmis à l’homme via la chaîne alimentaire et poser ainsi de sérieux problèmes dans sa thérapeutique ; d’autant plus que plusieurs auteurs tel que **HAKANEN ET AL. (2003)** ont rapporté que des souches de *Campylobacter* isolées chez l’homme présentaient également des multi résistances intéressant la ciprofloxacine et/ou de l’érythromycine ; principaux antibiotiques pour le traitement des campylobactérioses humaines (**BOLLA ET GARNOTEL, 2008**).

Les profils de résistance obtenus par les 22 souches sont présentés dans le tableau 12

Tableau 12 : Profils d’antibio-résistance des 22 souches testées

Souches	E	TE	Cip	C	NA	CF
1	R	R	R	S	R	S
2	I	R	R	S	R	S
3	R	R	I	S	R	S
4	R	R	R	S	R	S
5	S	R	R	S	R	R
6	R	R	I	S	R	R
7	R	R	R	S	S	R
8	R	R	S	S	R	R
9	S	R	R	S	R	S
10	S	R	R	S	R	R
11	R	R	S	S	R	R
12	R	R	S	S	R	R
13	S	R	R	S	I	R
14	R	R	R	S	S	S
15	S	S	S	S	R	R
16	S	R	R	S	R	S
17	R	R	R	S	R	R
18	R	R	S	S	R	S
19	S	S	R	S	R	S
20	S	R	R	S	R	S
22	R	R	R	S	I	S

CONCLUSION

Conclusion

Cette présente étude est a priori l'une des premières à s'être intéressée à la recherche ainsi qu'à l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des *Campylobacter* thermotolérants dans la filière aviaire dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj.

Nos résultats ont montré que tous les lots prélevés étaient hautement contaminés par les *Campylobacters* thermotolérants (49%).

A propos de la répartition d'espèces nous avons constaté une prédominance de *C. jejuni*, l'espèce la plus pathogène chez l'homme.

L'étude de l'antibiogramme réalisé sur les 22 souches isolées dans deux abattoirs a mis en évidence une résistance exprimée vis-à-vis de nombreuses molécules d'antibiotiques, les taux de résistance les plus élevés ont été observés aux quinolones

Par ailleurs, des taux de multirésistance alarmants notamment à quatre antibiotiques (43,0%) ont été observés et la plupart des souches testées présentaient dans leur profil de résistance l'un des deux ou bien les deux antibiotiques de choix pour le traitement des campylobactérioses humaines (érythromycine et ciprofloxacine).

Ainsi, l'important réservoir que représente le poulet de chair participe non seulement à la dissémination de souches pathogènes de *Campylobacter*, mais également à l'émergence et/ou à l'extension de la résistance aux antibiotiques en médecine vétérinaire et en médecine humaine.

De plus larges investigations de ce modeste travail mériteraient d'être menées en commençant par augmenter le nombre de wilayas à prélever et donc des lots à échantillonner au niveau des abattoirs.

De même, il serait également intéressant de déterminer dans ces établissements les principaux facteurs de risque et d'opérer à un suivi des sujets depuis leur arrivée à l'élevage jusqu'à leur abattage.

En outre, il conviendrait d'employer des méthodes de référence afin de rechercher, de dénombrer et d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des *Campylobacter spp.*

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Adak, G.K., Long, S.M. and O'Brian, S.J. (2005)** Trends in indigenous foodborne disease and deaths, England and Wales: 1992–2000. *Gut* 52, 832–841.
- **AFSSA, 2004** : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Appréciation des risques alimentaires liés aux *Campylobacters* : Application au couple poulet / *Campylobacter jejuni*. 1-96.
- **Alfredson Anders Österlund, Magnus Hermann & Gunnar Kahlmeter (2007)** Antibiotic Resistance among *Campylobacter jejuni/coli* Strains Acquired in Sweden and Abroad: A Longitudinal Study. *Scand.Journal. Infec. Diseases*.
- **Allen VM., Bull SA., Corry JEL., Domingue G., Jørgensen F., Frost JA., Whyte R., Gonzalez A., Elviss N., Humphrey TJ., 2007:** *Campylobacter* spp. contamination of chick- en carcasses during processing in relation to flock colonisation. *International Journal of Food Microbiology* 113: 54-6
- **Alter T., Gaull F., Froeb A., Fehlhaber K., 2005:** Distribution of *Campylobacter jejuni* strains at different stages of a turkey slaughter line. *Food Microbiology* 22 (4) : 345-351.
 - o **Berrang ME., Buhr RJ..., Cason JA., 2000:** *Campylobacter* Recovery from External and Internal Organs of Commercial Broiler Carcass Prior to Scalding. *Poultry Science* 79: 286290
- **BOLLA J M., GARNOTEL É. :** Diarrhées d'origine bactérienne. Les infections à *Campylobacter*. *Revue Francophone des Laboratoires.*, 2008, 400-27, 35.
- **Borck B., Stryhn H., Ersbøll AK. Pedersen K., 2002:** Thermophilic *Campylobacter* spp. in turkey samples: evaluation of two automated enzyme immunoassays and conventional microbiological techniques. *Journal of Applied Microbiology* 92: 574-582.
- **Burucoa C., 2007** : Bacilles à gram négatif micro aérophiles : *Campylobacter*. In : Denis F., Ploy MC., Martin C., Bingen E. Quentin R. 'Bactériologie médicale : techniques usuelles'. Paris, Masson : 387-393.
- **Corry JEL., Atabay HI., 2001:** Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. *Journal of Applied Microbiology* 90: 96-114.
- **Davis MA., Conner DE., 2007:** Survival of *Campylobacter jejuni* on poultry skin and meat at varying temperatures. *Poultry Science* 86: 765–767.

- **Dromigny E., 2007** : Monographie de microbiologie : *Campylobacter*. Paris Tec & Doc : 25, 27, 35, 97, 149-151, 158-161, 166, 176, 198-199, 230-232.
- **EL AMIR L., MOUFFOK F., HELLAL A.**: *Campylobacter* in poultry research in Algeria: Study of antibiotic resistance profile. Rev. Med. Vet., 2013, **164**, 307-311.
- **Engberg J, Aarestrup FM, Taylor DE, Gerner-Smidt P, Nachamkin I.** Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. Emerg Infect Dis. 2001 Jan-Feb; 7(1):24-34.
- **FAUCHÈRE J.L., AVRIL J.L.** : Bactériologie générale et médicale. *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Arcobacter* FAUCHERE J.L. and AVRIL J.L. (eds), Ed. Ellipses, 2002, pp.: 332-335.

- **Food Standards Agency (2011)** Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food; 2nd Report on Salmonella in Eggs. London: The Stationary Office.
- **Franchin PR., Oglier PJ., Batista CRV., 2007**: Frequency of thermophilic *Campylobacter* in broiler chickens during industrial processing in a Southern Brazil. Poultry Science 48: 127-132.
- **Freney -Alvarez, R.M., Carballo-Cuervo, S., de la RosaJorge, M.C. and Rodriguez-de Lecea, J.** (2007).The influence of agricultural run-off on bacterial populations in a river. J Appl Bacteriol 70, 437–442.
- **Gallay H., THORMAR H., and THRÁINSSON J.H., GUNNARSSON E.**: Effect of glycerol monocaprinate (monocaprin) on broiler chickens: an attempt at reducing intestinal *Campylobacter* infection. Poult Sci.2005, 85,588-592.

- **Gobet TRB., 1990** : Contribution à l'étude de la contamination des carcasses de volailles par les bactéries du genre *Campylobacter* enquête dans deux abattoirs de la région MidiPyrénées. Thèse de doctorat. École Nationale Vétérinaire de Toulouse. 1-128.
- **LEHOURS P.**: *Campylobacter*, biological diagnosis and monitoring of resistance to antibiotics in France, Bull. Acad. Vet., 2005, Tome 158, N 4.
- **MALIK et AL, 2007**
- **MEGRAUD F., BOUDRAA G., BESSAOUD K., BENSID S., DABIS F., SOLTANA R.**: Incidence of *Campylobacter* infection in infants in western Algeria and the possible protective role of breast feeding. Epidemiology and Infection.2003, **105**, 73e 78.

- **MESSAD S., HAMDI TM., BOUHAMED R., AND RAMDANI-BOUGUESSA N., TAZIR M.:** Frequency of contamination and antimicrobial resistance of thermotolerant *Campylobacter* isolated from some broiler farms and slaughterhouses in the region of Algiers. *Food Control*.2013, 40, 324-328.
- **OIE :** *Campylobacter jejuni et Campylobacter coli. Manuel terrestre de l'OIE, Office international des épizooties, 2008, Chapitre 2.9.3, p1186, 1187.*
- **On SLW. 2005:** Taxonomy, phylogeny and, methods for the identification of *Campylobacter* species. In: Ketley JM., Konkel ME. 'Campylobacter Molecular & Cellular biology'.
- **Peyrat M.B., 2008 :** Étude de l'influence du nettoyage et de la désinfection et des procédés d'abattage en abattoir de volailles sur le niveau de résistance aux antibiotiques des *Campylobacter*. Thèse de doctorat. Université de Rennes 1. 1-237.
- **Rahimi E., Momtaz H., Bonyadian M., 2010:** PCR detection of *Campylobacter* sp. from turkey carcasses during processing plant in Iran. *Food Control* 21: 692–694.
- **Vandamme P., De Ley J., 2008:** Proposal for a new family, *Campylobacteraceae*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 41 (3): 451-455.
- **Wesley IV., Muraoka WT., 2005:** Time of Entry of *Salmonella* and *Campylobacter* into the Turkey Brooder House. *Food Bioprocess Technol* 4 (4): 616- 623.
- **WHO:** *The global view of Campylobacteriosis. Report of expert consultation, WHO Document Production service. World Health organization, 2005, 69 pages.*
- **Zeinhom MMA, Abdel-Latef GK (2014).** Public health risk of some milk borne pathogens. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3) : 209-215.

Annexes

Fiche d'enquête

Date.....

Prélèvement

- N° des prélèvements :
- Nombre de prélèvements par bâtiment :
- Heure du début de prélèvement :
- Heure de fin de prélèvement :
- Heure du début d'arrivée au laboratoire :

1. Opérations de pré-abattage:

- Mise à jeun :
- Transport :
Propreté du camion Entassement des poulets de chair :
- Salle de débarquement :
Propreté Toiture :

2. Abattoir:

▪ Opérations d'abattage:

- Unique
- Industriel
- Manuel

▪ **Chaînes d'abattage Croisement des lots**

- Une
- Deux

▪ **Conception des locaux**

.....
.....

▪ **Equipements d'abattage**

.....

▪ **Sources de contamination**

.....

▪ **Eau**

.....

▪ **Contrôle de la température**

.....

- Hygiène du personnel et de l'abattoir

- Personnel
- Nettoyage/désinfection
- Lutte contre les nuisibles

Annexe 02 : Préparation des milieux de culture

Préparation des milieux de culture

Tous les milieux de base complets déshydratés sont dissous dans de l'eau puis stérilisés à l'autoclave réglé à 121°C pendant 15 minutes.

- **Bouillon de Preston modifié**

- Après stérilisation du milieu de base, 5% de sang de cheval lysé défibriné stérile ainsi que le supplément de Butzler au lieu du supplément de Preston sont ajoutés ;
- Le bouillon de Preston modifié est réparti par la suite de façon stérile dans des flacons de 100 ml.

- **Gélose Columbia au sang**

- Après stérilisation du milieu de base, 5% de sang de cheval défibriné stérile est additionné ;
- Le milieu complet est ensuite coulé dans des boîtes de Petri stériles de 90 mm de diamètre qu'on laisse refroidir et se solidifier sur pailleasse avant de les sécher dans une étuve à 37°C.

- **Gélose Mueller Hinton au sang**

- Après stérilisation du milieu de base, 5% de sang de cheval défibriné stérile est additionné ;
- Le milieu complet est ensuite coulé dans des boîtes de Petri stériles de 90 mm de diamètre qu'on laisse se solidifier sur pailleasse avant de les sécher dans une étuve à 37°C.

Annexe 04 : Coloration de Gram (Description)

Mode opératoire de la coloration de Gram

Une fois le frottis préparé et fixé sur une lame porte-objet, une coloration de Gram est réalisée conformément au mode opératoire du kit Gram-Nicolle dont la procédure est la suivante :

- Coloration au violet de gentiane phéniqué pendant 1 à 5 minutes.
- Rinçage abondant à l'eau.
- Rinçage avec un jet de liquide de lugol stabilisé PVP pendant 30 secondes à 1 minute.
- Rinçage rapide à l'eau.
- Décoloration par le différenciateur rapide (alcool / acétone) puis rinçage à l'eau.
- Coloration avec la solution de fuchsine de Ziehl 1 / 10 pendant 1 minute.
- Rinçage à l'eau, séchage puis observation au microscope, à l'objectif x 100 à immersion.

La lecture est effectuée comme suit :

- Coloration violette de la paroi Gram positif
- Coloration rose de la paroi Gram négatif

Résumé

Les objectifs de notre travail étaient d'estimer la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans des établissements d'abattage de poulets de chair de la wilaya de Bordj Bou Arreridj, de caractériser phénotypiquement les souches isolées et d'étudier la sensibilité aux antibiotiques de ces souches.

100 prélèvements ont été effectués au niveau de 04 établissements d'abattage. Après préparation de l'échantillon à tester, un isolement des CTT a été réalisé sur le milieu Skirrow. Toutes les colonies suspectes ont été confirmées et 22 souches isolées à partir des établissements d'abattage ont fait l'objet d'une caractérisation phénotypique à l'aide de galeries classiques et de galeries API Campy puis une étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Les résultats obtenus ont montré que le taux de contamination de 49 % avec une prédominance de *C. jejuni* (26,53%). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a révélé que les souches testées étaient résistantes à l'acide nalidixique (86.36%), à la tétracycline (90.91%), à la ciprofloxacine (63,64%) et à l'érythromycine (54,55%).

Grâce à ce présent travail, qui pourra constituer un point de repère pour des études ultérieures, nous constatons que la situation est inquiétante pour l'hygiène alimentaire.

Mots clés : poulet de chair, *Campylobacter* thermotolérants, antibiorésistance, peaux du cou.

Abstract

The main objectives of our work were to assess the prevalence of *Campylobacter* thermotolerants in broiler slaughter establishments in Bordj Bou Arreridj region, Algeria, to characterize the isolated strains phenotypically and also to study the antibiotic sensitivity of these strains.

100 samples were taken from 04 slaughter establishments. After preparation of the test sample, CTT isolation was performed on Skirrow medium. All doubtful colonies were confirmed and 22 strains isolated from slaughter amenities were phenotypically characterized using conventional galleries and API Campy galleries followed by a study of antibiotic susceptibility of isolated strains was carried out by the diffusion method in agar medium.

The results obtained showed that the contamination rate of 49% with a predominance of *C. jejuni* (26.53%). The antibiotic susceptibility study revealed that the strains tested were resistant to nalidixic acid (86.36%), tetracycline (90.91%), ciprofloxacin (63.64%) and erythromycin (54.55%).

Thanks to this work, which may serve as a reference point for future studies, we deduce that the situation is worrying for food hygiene.

Key words: broiler chicken, thermotolerant campylobacter, antimicrobial resistance, neck skin.

الملخص

يتمثل الهدف من عملنا هذا في تقدير مدى انتشار العطيفة (المنثنية) الحرارية في منشآت ذبح الدجاج في ولاية برج بوعريبيج، وكذلك تمييز النمط الظاهري للسلاطات المعزولة، ودراسة حساسية هذه السلاطات للمضادات الحيوية. تم أخذ 100 عينة في 04 منشآت الذبح، وبعد تحضير عينة الاختبار، تم إجراء عزل العطيفة الحرارية في وسط سكيرو. تم التأكيد على جميع المستعمرات المشبوهة، وتم تمييز 22 سلالة ظاهريا كانت متواجدة في المذابح، باستخدام الفهرس القديم والفهرس التحليلي كومي، وبعدها تم دراسة حساسية السلاطات المعزولة للمضادات الحيوية باستخدام طريقة الانتشار في وسط أجار.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن معدل التلوث كان بنسبة 49% مع هيمنة العطيفة الصائمة (26.53%). كشفت دراسة حساسية السلاطات المختبرة للمضادات الحيوية، أنها كانت مقاومة للحامض النالديكسيك (86.36%)، التتراسيكلين (90.91%)، السيبروفلوكساسين (63.64%) والإريثروميسين (54.55%).

بفضل هذا العمل، الذي قد يكون بمثابة نقطة مرجعية للدراسات المستقبلية، نلاحظ أن الوضع مثير للقلق لنظافة الأغذية. **الكلمات الرئيسية:** الدجاج اللحم، العطيفة الحرارية، المقاومة للمضادات الحيوية، جلد الرقبة.

