

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

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة  
ربيع بوشامة



## THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences  
En Sciences Vétérinaires  
Option : Microbiologie médicale vétérinaire

### Thème :

Prévalence, étude de la sensibilité aux antibiotiques et  
typage des souches animales et humaines de  
Campylobacter thermotolérants isolées dans l'Est de  
l'Algérie.

Présentée par : BAALI MOHAMED

Soutenue le 12/12/2021

Les membres du jury :

<b>Président</b>	Harhoura Khaled	Professeur	E.N.S.V.
<b>Rapporteur</b>	Kassah-Laouarah Ahmed	Professeur	U. Batna 1
<b>Co- Rapporteur</b>	Hamdi TM	Professeur	E.N.S.V.
<b>Examineurs</b>	Bouayad Leila	Professeur	E.N.S.V.
	Hamiroune Mourad	MCA	U. Djelfa
	Khaled Hamza	MCA	ISV Blida
<b>Invité</b>	Ammar Ayachi	Professeur	U. Batna 1

Année universitaire : 2020/2021

## Remerciements

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

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

*Ma reconnaissance va particulièrement à Pr HAMDI TM, Pour votre co-encadrement, vos orientations et conseils, votre gentillesse, amabilité et disponibilité.*

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

*Je tiens également à remercier Pr. Harhoura K, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse. Hommages respectueux.*

*Mes sincères remerciements sont aussi adressés À Dr. HAMIROUN M, Dr. BOUAYAD L et Khaled H, Qui m'ont fait l'honneur de juger avec gentillesse ce travail et de participer dans le jury de thèse, Sincères remerciements.*

*Je voudrais exprimer ma profonde gratitude à mes parents, ma femme et mes frères qui m'ont continuellement apporté un support indispensable à la réalisation de mes buts, à Hicham, à Cherif, à Abdeallh, à Khalil, Abobker et à fouzi pour leur soutien moral*

*Je tiens également à remercier mes collègues :Lounis, zobir, chenouf, pour leur soutien et leur aide.*

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

## Dédicace

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

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

À ma très chère épouse Ahlam, Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon amour et mon attachement à toi. Depuis que je t'ai connu, tu n'as cessé de me soutenir et de m'épauler. Tu me voulais toujours le meilleur. Ton amour ne m'a procuré que confiance et stabilité. Tu as partagé avec moi les meilleurs moments de ma vie, aux moments les plus difficiles de ma vie, tu étais toujours à mes côtés, Je remercie le bon dieu qui a croisé nos chemins. Puisse le bon dieu nous procure santé et longue vie.

À MON FUTUR ENFANT AHMED KHALIL, Dans quelques jours, inchaallah, tu seras parmi nous Puisse dieu te protéger, te procurer santé et longue vie.

À mes chers frères ; Yamine et sa femme Razika, Khalil et sa femme Mouna, Walid et sa femme Dalila, Reyad et sa femme Latifa et surtout EL'HADJE sa femme fatima.

À mes nièces et neveux Sahel, Yakin, Fatima, Mohamed et Meryem. Ahmed, Bara, Islam

À ma chère sœur Nissou et son mari Mourad et ses enfants Mohamed et Fatima, pour leur soutien moral et leur sacrifice le long de ma formation.

À mes Beaux-parents et ma Belle-famille

À mes meilleurs amis ; Hicham, Cherif, Abbellah, Khalil, Abo baker, Faouzi, Ahmed, Abd El-Ghani, Achour, Djmel, Chouib et Hamid.

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

Je dédie ce modeste travail.

## Liste des abréviations

**< : Inférieur**

**≤ : Inférieur ou égal**

**> : Supérieur**

**≥ : Supérieur ou égal**

**% : Pourcentage**

**- : Négatif**

**+ : Positif**

**± : Plus ou moins**

**°C : Degré Celsius**

**β : Béta**

**ε : Epsilon**

**λ : Lambda**

**μl : Microlitre**

**μm : Micromètre**

**ADN : Acide desoxyribonucléique**

**AFNOR : Association Française de Normalisation**

**AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments**

**ATCC: American Type Culture Collection**

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

**C : Cytosine**

***C.* : *Campylobacter***

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

**CIP : Collection institut Pasteur**

**CNW : Catalase-Négative or Weak**

**CO<sub>2</sub> : Dioxyde de carbone**

**DSV : Direction des Services Vétérinaires**

***E. coli* : *Escherichia coli***

**EFSA: European Food Safety Authority**

**etc: et cetera**

**G : Guanine**

**H<sub>2</sub>O** : Molécule d'eau

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**H<sub>2</sub>S** : Sulfure d'hydrogène

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

**HSP** : heat shock proteins

**IC 95%** : Intervalle de confiance à 95%

**i.e.** : C'est-à-dire

**INT 407** : (Intestine 407) épithélium intestinal

**IPA** : Institute Pasteur d'Algérie

**IS** : inserted sequence (séquence d'insertion)

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

**kDa**: Kilo-Dalton

**kGy**: Kilo-Gray

**L** : Litre

**LOS** : Lipooligosaccharide

**LPS** : Lipopolysaccharide

**MADR** : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural

**mCCDA**: modified Cefoperazone Charcoal Deoxycholate Agar

**ml** : Millilitre

**mm** : Millimètre

**MOMP** : Major outer membran protein

**N<sub>2</sub>** : Diazote

**NaCl** : Chlorure de sodium

**NCTC** : National Collection of Type Cultures

**OIE** : Office International des Épizooties

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**OS** : Oligosacharidique

**PAβN** : Phénylalanine-arginine-β-naphthylamide

**Pb** : Paire de bases

**PBS** : Phosphate Buffered Saline (tampon phosphate salin)

**pH** : Potentiel Hydrogène

**RAPD : Randomly Amplified Polymorphic DNA**

**SGB : Syndromes de Guillain- Barré**

**SOD : Superoxyde dismutase**

**SoxRS: Superoxide response**

**sp. : Espèce**

**spp. : Espèces**

**TIAC : Toxi-infection alimentaire collective**

**Tlp: transducer-like-protein**

**TSI: Triple Sugar Iron**

**UE : Union Européenne**

**UFC : unités formant colonie**

**UPTC: uréase-positive thermophilic *Campylobacter***

**VNC: Viable Non Cultivable**

**VWA: Food and Consumer Product Safety Authority (Uppsala)**

**X : fois**

**µg : Microgramme.**

**µl : Microlitre.**

**µm : Micromètre**

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Principaux caractères des espèces de <i>Campylobacter</i> catalase (+) (Euzeby, 2002) _____	- 15 -
<b>Tableau 2.</b> Principaux caractères des espèces de <i>Campylobacter</i> catalase (-) (Euzeby, 2002) _____	- 15 -
<b>Tableau 3.</b> Valeurs D (en kGy) d'une souche de <i>C. jejuni</i> en fonction de différentes températures	- 29 -
<b>Tableau 4.</b> Composition des principaux milieux solides et liquides pour les <i>C.r</i> thermotolérants	- 64 -
<b>Tableau 5.</b> Tests de confirmation pour les <i>Campylobacter</i> thermotolérants _____	- 66 -
<b>Tableau 6.</b> Interprétation des résultats de la gélose TSI (AFNOR, 2004) _____	- 66 -
<b>Tableau 7.</b> Caractéristiques phénotypiques de base des principaux <i>C.</i> thermotolérants _____	- 67 -
<b>Tableau 8.</b> Méthodes de typage moléculaire de <i>C. jejuni</i> et <i>C. coli</i> (AFSSA, 2003). _____	- 70 -
<b>Tableau 9.</b> Description des fermes avicoles testées et des échantillons récoltés. _____	- 73 -
<b>Tableau 10.</b> Description des établissements d'abattage visités. _____	- 74 -
<b>Tableau 11.</b> Répartition des prélèvements en fonction de l'espèce _____	- 75 -
<b>Tableau 12.</b> Échantillonnage au niveau des établissements d'abattage visités. _____	- 77 -
<b>Tableau 13.</b> Description des modalités du prélèvement aviaire par élevage. _____	- 81 -
<b>Tableau 14.</b> Interprétation des réactions observables sur la gélose TSI (AFNOR, 2004) _____	- 89 -
<b>Tableau 15.</b> Interprétation des résultats de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine (AFNOR, 2004). _____	- 90 -
<b>Tableau 16.</b> Caractères de confirmation de <i>Campylobacter</i> spp. _____	- 92 -
<b>Tableau 17.</b> Caractères de différenciation des <i>Campylobacter</i> (ISO 10272 : 1995/2006) _____	- 92 -
<b>Tableau 18.</b> Prévalence globale des <i>Campylobacter</i> thermotolérants. _____	- 99 -
<b>Tableau 19.</b> Prévalence globale des <i>C.</i> thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevage _____	- 102 -
<b>Tableau 20.</b> Prévalence de <i>Campylobacter</i> thermotolérants en fonction de modalité de prélèvements par élevage. _____	- 103 -
<b>Tableau 21.</b> Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants stratifiées par saison _____	- 104 -
<b>Tableau 22.</b> Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants en fonction de l'âge d'abattage _____	- 104 -
<b>Tableau 23.</b> Prévalence des <i>C.</i> thermotolérants stratifiées en fonction de la taille des troupeaux	- 104 -
<b>Tableau 24.</b> Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevages en fonction de type du milieu de culture _____	- 105 -
<b>Tableau 25.</b> Prévalence des <i>C.</i> thermotolérants dans les peaux de cou par abattoir. _____	- 107 -
<b>Tableau 26.</b> Prévalence des <i>C.</i> thermotolérants dans les contenus caecaux par abattoir. _____	- 108 -
<b>Tableau 27.</b> Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants chez l'Homme. _____	- 109 -
<b>Tableau 28.</b> Taux d'isolement des <i>Campylobacter</i> thermotolérants chez la population humaine en fonction de l'âge du patient. _____	- 109 -

<b>Tableau 29.</b> Taux d'isolement des <i>Campylobacter</i> thermotolérants chez la population humaine en fonction du sexe du patient. _____	- 110 -
<b>Tableau 30.</b> Taux d'isolement des <i>Campylobacter</i> thermotolérants chez la population humaine en fonction de la saison. _____	- 110 -
<b>Tableau 31.</b> Prévalence globale des <i>Campylobacter</i> thermotolérants à partir des selles diarrhéiques en utilisant la technique de la filtration passive et le milieu sélectif de Karmali. _____	- 111 -
<b>Tableau 32.</b> Caractères de différenciation des <i>C.</i> thermotolérants (ISO 10272 : 1995/2006) ____	- 111 -
<b>Tableau 33.</b> Répartition globale des espèces de <i>C.</i> thermotolérants par type d'échantillon. ____	- 113 -
<b>Tableau 34.</b> Taux de sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées chez les volailles. _____	- 117 -
<b>Tableau 35.</b> Répartition des taux de résistance aux antibiotiques en fonction de la nature des prélèvements. _____	- 118 -
<b>Tableau 36.</b> Répartition des taux de résistance aux antibiotiques des différentes souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées à partir des fientes dans les différents élevages. _____	- 121 -
<b>Tableau 37.</b> Répartition des taux de résistance aux antibiotiques des différentes souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées à partir des peaux du cou dans les différents abattoirs. -	123 -
<b>Tableau 38.</b> Répartition des taux de résistance aux antibiotiques des différentes souches de <i>C.</i> thermotolérants isolées à partir des contenus caecaux dans les différents abattoirs. _____	- 125 -
<b>Tableau 39.</b> Profils de résistance des souches de <i>C.</i> thermotolérants isolées chez les volailles. _	- 126 -
<b>Tableau 40.</b> Taux de sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées chez les l'Homme. _____	- 127 -
<b>Tableau 41.</b> Lecture et l'interprétation des réactions API Campy (Prospectus du fabricant). _____	L
<b>Tableau 42.</b> Concentrations, et diamètres critiques pour <i>Campylobacter</i> spp. (CA-SFM, 2013). ____	M

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Représentation schématique de l'ordre de <i>Campylobacterale</i> (Larpent, 2000).	_____	- 9 -
<b>Figure 2.</b> Classification dichotomique basée sur les principaux caractères phénotypiques des espèces de <i>Campylobacters</i> (Charrat, 2017)	_____	- 16 -
<b>Figure 3.</b> Exemple de dendrogramme des espèces de <i>Campylobacter</i> et bactéries apparentées		- 18 -
<b>Figure 4.</b> Formes longues de <i>C. jejuni</i> variant aflagellé en microscopie électronique à balayage	_	- 20 -
<b>Figure 5.</b> Morphologie de <i>C. jejuni</i> en microscopie électronique à balayage (Dromigny, 2007)	_	- 20 -
<b>Figure 6.</b> Micrographie électronique de coloration négative montrant l'aspect des cellules de <i>C. jejuni</i> sous ses deux formes vibrioïde et coccoïde (Dromigny, 2007)	_____	- 20 -
<b>Figure 7.</b> <i>C. jejuni</i> en microscopie électronique à balayage, formes vibrioïdes et formes coccoïdes		- 20 -
<b>Figure 8.</b> Schéma d'un flagelle de <i>Campylobacter</i> (Karlyshev et al., 2004).	_____	- 23 -
<b>Figure 9.</b> Diagramme simplifié des procédures l'abattage des volailles (Peyrat, 2008).	_____	- 36 -
<b>Figure 10.</b> Schéma englobant les signes cliniques de la campylobactériose et son évolution et détaillant les atteintes intestinales et nerveuses (SGB) (Charrat, 2017)	_____	- 44 -
<b>Figure 11.</b> La relation entre <i>C. jejuni</i> , anticorps anti gangliosides et SGB (Humbel, 2009).	_____	- 47 -
<b>Figure 12.</b> Incidence des infections à <i>Campylobacter</i> dans 7 pays industrialisés de 1980 à 1998	_	- 48 -
<b>Figure 13.</b> Schéma illustrant le cycle de vie du <i>Campylobacter</i> (Charrat, 2017)	_____	- 50 -
<b>Figure 14.</b> Aspect des colonies de <i>Campylobacter</i> sur gélose Karmali (Lehour et al., 2012)	_____	- 65 -
<b>Figure 15.</b> Représentation schématique de <i>Campylobacter</i> en coloration de Gram	_____	- 65 -
<b>Figure 16.</b> Représentation schématique du mode opératoire de la méthode de référence de recherche des <i>Campylobacter</i> dans les aliments (selon la norme NF-ISO 10272:1995)	_____	- 69 -
<b>Figure 17.</b> Répartition des échantillons selon leur nature.	_____	- 75 -
<b>Figure 18.</b> Répartition des échantillons selon leur provenance.	_____	- 76 -
<b>Figure 19.</b> Répartition des échantillons selon la période de prélèvement.	_____	- 76 -
<b>Figure 20.</b> Répartition des échantillons humains selon le sexe.	_____	- 78 -
<b>Figure 21.</b> Répartition des échantillons humains selon la nature de l'échantillon	_____	- 78 -
<b>Figure 22.</b> Répartition générale des échantillons.	_____	- 79 -
<b>Figure 23.</b> Répartition des échantillons aviaires en fonction du mode de prélèvement	_____	- 81 -
<b>Figure 24.</b> Aspect des Colonies de <i>Campylobacter</i> sur la gélose de Karmali à gauche et Preston modifiée à droit (Photo personnelle)	_____	- 86 -
<b>Figure 25.</b> Photographie d'un portoir ensemencé avec le bouillon <i>Brucella</i> (Photo personnelle).		- 87 -
<b>Figure 26.</b> <i>Campylobacter</i> en coloration de Gram (Gr X100) (Photo personnelle).	_____	- 87 -
<b>Figure 27.</b> Réaction de l'oxydase positive (Photo personnelle).	_____	- 88 -

<b>Figure 28.</b> Différents résultats possibles de la réaction sur gélose TSI (Charrat, 2017).	_____	- 89 -
<b>Figure 29.</b> Réaction de la catalase positive (Photo personnelle).	_____	- 90 -
<b>Figure 30.</b> Photographie montrant les deux résultats éventuels de la réaction de l'hydrolyse de l'Hippurate.	_____	- 91 -
<b>Figure 31.</b> Photographie montrant les résultats éventuels du test d'agglutination au latex (DRYSPOT <i>Campylobacter</i> ) (Photo personnelle).	_____	- 94 -
<b>Figure 32.</b> Photographie montrant les résultats éventuels de la galerie API Campy	_____	- 96 -
<b>Figure 33.</b> Aspect de l'antibiogramme des souches isolées après incubation		- 97 -
<b>Figure 34.</b> Répartition des taux de contamination en fonction du type de prélèvement.	_____	- 100 -
<b>Figure 35.</b> Prévalence globale de <i>C. thermotolérants</i> dans les fientes et les écouvillons cloacaux		- 100 -
<b>Figure 36.</b> Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants par élevage.	_____	- 101 -
<b>Figure 37.</b> Prévalence globale de <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans les peaux du cou.	_____	- 106 -
<b>Figure 38.</b> Prévalence globale de <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans les contenus caecaux.	_____	- 107 -
<b>Figure 39.</b> Répartition globale des espèces de <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans l'ensemble des échantillons aviaires.	_____	- 112 -
<b>Figure 40.</b> Répartition globale des espèces de <i>C. thermotolérants</i> par type d'échantillon.	_____	- 113 -
<b>Figure 41.</b> Répartition des espèces de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées au niveau des bâtiments d'élevages.	_____	- 114 -
<b>Figure 42.</b> Répartition des espèces de <i>C. thermotolérants</i> isolées à partir des contenus caecaux.		- 114 -
<b>Figure 43.</b> Répartition des espèces de <i>C. thermotolérants</i> isolées à partir des Peaux de cou.	_____	- 115 -
<b>Figure 44.</b> Répartition globale des espèces de <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans l'ensemble des échantillons humains.	_____	- 116 -
<b>Figure 45.</b> Taux de sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées chez les volailles	_____	- 117 -
<b>Figure 46.</b> Répartition des taux de résistance aux antibiotiques en fonction de la nature des prélèvements.	_____	- 119 -
<b>Figure 47.</b> Taux de résistance des souches isolées à partir des fientes et écouvillons cloacaux.	_____	- 120 -
<b>Figure 48.</b> Taux de résistance de souches isolées à partir des peaux de cou.	_____	- 122 -
<b>Figure 49.</b> Taux de résistance de souches isolées à partir des contenus caecaux.	_____	- 124 -
<b>Figure 50.</b> Profils de résistance des <i>Campylobacter</i> thermotolérant isolées chez les volailles.	_____	- 127 -
<b>Figure 51.</b> Différentes modalités des prélèvements aviaires (Photos personnelles)	_____	C

# Table des matières

Liste des abréviations	_____	
Liste des tableaux	_____	
Liste des figures	_____	
Introduction :	_____	- 1 -
<b><u>Chapitre I : HISTORIQUE ET ÉLÉMENTS DE LA TAXONOMIE</u></b>		
I. HISTORIQUE :	_____	- 3 -
II. ÉLÉMENTS DE LA TAXONOMIE	_____	- 5 -
II.1. Nomenclatures successives de <i>Campylobacter</i>	_____	- 5 -
II.1.1. La découverte d'un nouveau taxon : (Un nouveau <i>Vibrio</i> )	_____	- 5 -
II.1.2. Les taxons créés ou inclus	_____	- 6 -
II.1.3. Les taxons exclus	_____	- 7 -
II.2. Nomenclature des rangs taxonomiques de <i>Campylobacter</i>	_____	- 8 -
II.2.1. Phylum des <i>Proteobacteria</i>	_____	- 8 -
II.2.2. classe $\epsilon$ des <i>Proteobacteria</i>	_____	- 8 -
II.2.3. Ordre de <i>Campylobacterale</i>	_____	- 8 -
II.2.4. Famille des <i>Campylobacteraceae</i> et apparentées	_____	- 9 -
II.2.5. Genre <i>Campylobacter</i>	_____	- 10 -
II.2.5.1. Les <i>Campylobacter</i> dits thermotolérants	_____	- 10 -
II.2.5.2. <i>Campylobacter fetus</i> et taxons apparentés	_____	- 12 -
II.2.5.3. <i>C. sputorum</i> et voisins phylogéniques	_____	- 12 -
II.2.5.4. UPTC	_____	- 14 -
III. CLASSIFICATION	_____	- 14 -
III.1. Phénotypes	_____	- 14 -
III.2. Clusters et génotypes	_____	- 16 -
III.3. Pathotypes et tropismes	_____	- 17 -
III.4. Écotypes et sources	_____	- 17 -
<b><u>Chapitre II: Morphologie et structure cellulaire</u></b>		
I. FORME ET DIMENSIONS CELLULAIRES	_____	- 19 -
I.1. Forme vibrioïde	_____	- 19 -
I.2. Forme coccoïde	_____	- 19 -
II. COMPOSANTS DE LA SURFACE CELLULAIRE	_____	- 19 -
II.1. Les polysaccharides de surface	_____	- 19 -
II.1.1. Structure générale des LPS	_____	- 20 -
II.1.1.1. Structure générale du Lipide A	_____	- 20 -
II.1.1.2. Structure générale du noyau oligo-saccharidique	_____	- 21 -
II.1.1.3. La chaîne latérale (O)	_____	- 21 -
II.1.2. Lipooligosaccharide (LOS)	_____	- 21 -
II.1.3. Capsule (Le polysaccharide capsulaire)	_____	- 21 -
II.2. Les protéines de surface	_____	- 22 -
II.2.1. La MOMP (Major outer membran protein)	_____	- 22 -
II.3. La S-layer ou couche S	_____	- 22 -
II. 4. Les pili, éléments incertains	_____	- 22 -
III. LE FLAGELLE DE <i>CAMPYLOBACTER</i>	_____	- 22 -
III.1. Morphologie et structure du flagelle	_____	- 22 -
III.2. Fonction antigénique du flagelle	_____	- 22 -
IV. LE GÉNOME DE <i>CAMPYLOBACTER</i>	_____	- 23 -
IV.1. Caractères généraux du génome	_____	- 23 -

### **Chapitre III : Physiologie**

I. MÉTABOLISME DE <i>CAMPYLOBACTER</i> ET RÉGULATION	- 25 -
I.1. Métabolisme central	- 25 -
I.1.1. Catabolisme du carbone	- 25 -
I.1.2. Cycle de l'acide citrique	- 25 -
I.2. Microaérobiose	- 25 -
I.3. Dépendance au CO <sub>2</sub>	- 26 -
I.4. Chimiotactisme	- 26 -
I.5. Transport des électrons	- 26 -
II. RÉSISTANCE À DIVERSES AGENTS	- 27 -
II.1. Facteurs intrinsèques	- 27 -
II.1.1. L'acidité	- 27 -
II.1.2. L'humidité du substrat	- 27 -
II.1.3. Les antimicrobiens naturels	- 27 -
II.2. Facteurs extrinsèques	- 27 -
II.2.1. La chaleur	- 27 -
II.2.2. Le froid	- 28 -
II.2.2.1. Le froid négatif	- 28 -
II.2.2.2. Le froid positif	- 28 -
II.2.3. Rayonnements	- 28 -
II.2.3.1. Rayonnements ionisants	- 28 -
II.2.3.2. Rayonnements UV	- 29 -
II.2.4. Le sel	- 29 -
II.2.5. Dessiccation	- 29 -
II.2.6. Stress oxydatif	- 29 -
III. ADAPTATION AUX STRESS SUBLÉTAUX	- 29 -
III.1. Réponses au froid (cold shock)	- 29 -
III.2. Réponses au stress thermique ou heat shock	- 30 -
III.3. Réponses au stress oxydant	- 30 -
III.4. Réponse au stress nutritionnel et en phase stationnaire	- 30 -
III.5. Les formes viables non cultivables (VNC)	- 30 -
III.5.1. Introduction au concept	- 30 -
III.5.2. Implication du concept	- 31 -
III.5.3. Rôle des formes VNC dans la survie des <i>Campylobacter</i>	- 31 -
III.6. La formation de biofilm	- 31 -

### **Chapitre IV: Campylobactériose aviaire**

I. INFECTION DES VOLAILLES ET LA CONTAMINATION DES DENRÉES ALIMENTAIRES QU'EN DÉRIVENT PAR <i>CAMPYLOBACTER</i>	- 32 -
I.1. Dans les élevages	- 32 -
I.1.1. Infection des lots de volailles par <i>Campylobacter</i>	- 32 -
I.1.1.1. Dose infectante chez le poulet	- 32 -
I.1.1.2. Colonisation du tube digestif des volailles par les <i>Campylobacter</i>	- 32 -
I.1.1.3. Influence de l'âge	- 32 -
I.1.1.4. Saisonnalité	- 32 -
I.1.1.5. Paramètres zootechniques	- 33 -
I.1.2. Prévalence de la contamination des élevages	- 33 -
I.1.3. Sources et voies de contamination des élevages	- 33 -
I.1.4. Mesures de contrôle des <i>Campylobacter</i> en élevages	- 34 -
I.2. Contamination des volailles pendant le transport	- 35 -

1.2.1. Étude de la contamination des lots de volailles par des souches de <i>Campylobacter</i> présentes initialement dans les caisses de transport _____	- 35 -
1.2.2. Mesure de contrôle des campylobacters pendant le transport à l'abattoir _____	- 35 -
I.3. Contamination des carcasses pendant les procédés d'abattage _____	- 36 -
1.3.1. Contamination des carcasses pendant l'abattage et l'éviscération _____	- 36 -
1.3.1.1. Origine de la contamination des carcasses _____	- 36 -
1.3.1.2. Principaux sites de contamination croisée des volailles pendant les procédés d'abattage (étapes et taux de contamination) _____	- 37 -
1.3.1.3. Contamination de la peau des volailles par les <i>Campylobacter</i> pendant l'abattage _____	- 39 -
1.3.1.4. Autres facteurs de variation de la contamination des carcasses _____	- 39 -
II. UTILISATION DES ANTIBIOTIQUES CHEZ LA VOLAILLE _____	- 40 -
II.1. Relation entre l'utilisation des antibiotiques et la résistance aux antibiotiques des <i>Campylobacter</i> isolés chez la volaille _____	- 40 -
II.2. Relations entre la résistance aux antibiotiques chez les souches d'origine aviaire et les souches isolées chez l'Homme. _____	- 41 -
II.3. Conséquences de la résistance aux antibiotiques des <i>Campylobacter</i> sur les symptômes observés lors d'infection chez l'Homme _____	- 41 -
<b><u>Chapitre V: Campylobactériose humaine</u></b>	
I. PATHOGÉNIE _____	- 42 -
1.1. Absorption d'une dose infectieuse _____	- 42 -
1.2. Colonisation du tube digestif et le rôle du flagelle _____	- 42 -
1.3. Adhésion aux cellules hôtes _____	- 42 -
1.4. Invasion des cellules hôtes et production de toxines _____	- 42 -
II. SYMPTÔMES CLINIQUES _____	- 43 -
II.1. Entérite _____	- 45 -
II.2. Infections systémiques _____	- 45 -
II.3. Syndromes post-infectieux _____	- 46 -
III. ÉPIDÉMIOLOGIE DE L'INFECTION À <i>CAMPYLOBACTER</i> CHEZ L'HOMME _____	- 47 -
III.1. Incidence de la maladie _____	- 47 -
III.2. Formes épidémiologiques, réservoirs et mode de transmission de <i>Campylobacter</i> _____	- 48 -
III.3. Sources de contamination et facteurs de risque chez la population humaine _____	- 50 -
IV. FACTEURS ET MÉCANISMES DE VIRULENCE _____	- 51 -
IV.1. Définition _____	- 51 -
IV.2. Fonction de virulence du flagelle (la motilité) _____	- 52 -
IV.3. Facteurs d'adhésion _____	- 52 -
IV.4. Facteurs d'invasion _____	- 52 -
IV.5. Glycosylation _____	- 53 -
V. TRAITEMENT _____	- 54 -
V.1. Utilisation des antibiotiques _____	- 54 -
V.2. Résistance des <i>Campylobacter</i> aux antibiotiques _____	- 54 -
V.2.1. Détection de la résistance aux antibiotiques _____	- 55 -
V.2.2. Mécanismes de résistance aux antibiotiques décrits chez <i>Campylobacter</i> _____	- 56 -
VI. VACCINATION _____	- 58 -
<b><u>Chapitre VI : Méthodes de détection</u></b>	
I. DÉTECTION ET ISOLEMENT DES <i>CAMPYLOBACTER</i> _____	- 59 -
1.1. Conditions générales de culture de <i>Campylobacter</i> _____	- 59 -
1.1.1. Microaérophilie _____	- 59 -
1.1.2. Température _____	- 59 -
1.1.3. Milieu nutritif et le Contrôle de la microflore associée _____	- 60 -

I.1.4. Le PH _____	- 60 -
I.2. Méthodes de détection _____	- 60 -
I.2.1. Choix de la méthode en fonction de l'origine des prélèvements _____	- 60 -
I.2.2. Prélèvement des échantillons _____	- 60 -
I.2.3. Transport des échantillons _____	- 61 -
I.2.4. Traitement des échantillons _____	- 61 -
I.2.5. Techniques de culture sélective des <i>Campylobacter</i> _____	- 62 -
I.2.5.1. La Filtration passive _____	- 62 -
I.2.5.2. Milieux sélectifs pour isolement _____	- 62 -
I.3. Détection moléculaire de <i>Campylobacter</i> _____	- 67 -
I.4. Épreuves sérologiques _____	- 67 -
I.5. Méthode de détection dans les aliments _____	- 68 -
II. TYPAGE DE <i>CAMPYLOBACTER</i> _____	- 68 -
II.1. Méthodes phénotypiques utilisées pour le typage de <i>Campylobacter</i> _____	- 68 -
II.1.1. Biotypage _____	- 68 -
II.1.2. Sérotypage _____	- 68 -
II.1.3. Lysotypage : typage par les phages _____	- 69 -
II.2. Méthodes génotypiques utilisées pour le typage de <i>Campylobacter</i> _____	- 69 -

## **PARTIE EXPÉRIMENTALE**

### **Chapitre I: Matériels et Méthodes**

OBJECTIFS _____	- 71 -
I. PRÉSENTATION DES ÉTABLISSEMENTS _____	- 72 -
I.1. Présentation des bâtiments élevages _____	- 72 -
I.1.1. Fonctionnement _____	- 72 -
I.1.2. Conception _____	- 72 -
I.2. Présentation des établissements d'abattages _____	- 72 -
I.2.1. Fonctionnement _____	- 72 -
I.2.2. Conception _____	- 72 -
II. MATÉRIELS _____	- 74 -
II.1. Matériel de laboratoire _____	- 74 -
II.2. Échantillonnage _____	- 74 -
II.2.1. Échantillons aviaires _____	- 75 -
II.2.1.1. Établissements d'élevage _____	- 76 -
II.2.1.2. Établissements d'abattage _____	- 77 -
II.2.2. Échantillons humains _____	- 77 -
III. MÉTHODES _____	- 79 -
III.1. Méthodes d'échantillonnage _____	- 79 -
III.1.1. Échantillons aviaires _____	- 79 -
III.1.1.1. Au niveau des élevages _____	- 80 -
III.1.1.2. Au niveau des établissements d'abattage _____	- 82 -
III.1.2. Hôpital (Échantillons humains) _____	- 82 -
III.2. Transport des prélèvements _____	- 83 -
III.3. Méthodes de laboratoire _____	- 83 -
III.3.1. Préparation des milieux de culture _____	- 83 -
III.3.2. La détection des <i>Campylobacter</i> thermotolérants _____	- 83 -
III.3.2.1. Préparation de la suspension mère _____	- 84 -
III.3.2.2. Mise en culture sur milieux _____	- 84 -

III.3.2.3. Aspect des colonies de <i>Campylobacter</i> :	_____	- 86 -
III.3.2.4. Confirmation du genre _____	_____	- 86 -
III.3.2.5. Confirmation de l'espèce _____	_____	- 88 -
III.3.2.6. Confirmation des <i>Campylobacter</i> au moyen du test d'agglutination au latex _____	_____	- 92 -
III.3.2.7. Identification phénotypique des <i>C. Thermotolérants</i> à l'aide galeries API Campy _____	_____	- 94 -
III.3.3. Test de sensibilité aux antibiotiques _____	_____	- 96 -
III.3.4. Conservation des souches de <i>Campylobacter</i> _____	_____	- 97 -
III.4. Méthodes d'analyse statistique _____	_____	- 97 -

## **Chapitre II: Résultats**

I. PRÉVALENCE DES <i>CAMPYLOBACTER</i> THERMOTOLÉRANTS _____	_____	- 99 -
I.1. Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants chez les volailles _____	_____	- 99 -
I.1.1. Prévalence globale des <i>C. thermotolérants</i> dans l'ensemble des prélèvements aviaires _____	_____	- 99 -
I.1.2. Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevage _____	_____	- 100 -
I.1.2.a.) Prévalence globale _____	_____	- 100 -
I.1.2.b.) Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants par élevage _____	_____	- 100 -
I.1.2.c.) Prévalence de <i>C. thermotolérant</i> stratifiées par modalité du prélèvement _____	_____	- 101 -
I.1.2.d.) Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevages en fonction de la saison du prélèvement _____	_____	- 102 -
I.1.2.e.) Prévalences des <i>Campylobacter</i> thermotolérants en fonction de l'âge d'abattage _____	_____	- 102 -
I.1.2.f.) Prévalences des <i>C. thermotolérants</i> en fonction de la taille du troupeau _____	_____	- 102 -
I.1.2.h.) Prévalence des <i>C. thermotolérants</i> au niveau des bâtiments d'élevages en fonction de type du milieu de culture _____	_____	- 104 -
I.1.3. Prévalence des <i>C. thermotolérants</i> au niveau des établissements d'abattage _____	_____	- 106 -
I.1.3.a.) Prévalence globale _____	_____	- 106 -
I.1.3.b.) Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans les peaux de cou par établissement d'abattage _____	_____	- 106 -
I.1.3.c.) Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans les contenus caecaux par établissement d'abattage _____	_____	- 107 -
I.2. Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants chez l'Homme _____	_____	- 108 -
I.2.1. Répartition des souches isolées en fonction de l'âge du patient _____	_____	- 109 -
I.2.2. Répartition des souches isolées en fonction du sexe du patient _____	_____	- 109 -
I.2.3. Répartition des souches isolées en fonction de la saison (répartition annuelle) _____	_____	- 110 -
I.2.4. Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants chez l'Homme en fonction de la technique d'isolement utilisée _____	_____	- 110 -
II. CARACTÉRISATION PHÉNOTYPIQUE DES SOUCHES DE <i>C. THERMOTOLERANTS</i> ISOLÉES _____	_____	- 111 -
II.1. Caractérisation phénotypique des souches de <i>C. thermotolérants</i> isolées chez les volailles _____	_____	- 111 -
II.1.1. Répartition globale des espèces de <i>C. thermotolérants</i> par type d'échantillon _____	_____	- 113 -
II.1.2. Répartition des espèces au niveau des bâtiments d'élevages _____	_____	- 114 -
II.1.3 Répartition des espèces au niveau au niveau des établissements d'abattage _____	_____	- 114 -
II.1.3.a.) Contenu Ceacal _____	_____	- 114 -
II.1.3.b.) Peaux de cou _____	_____	- 115 -
II.2. Caractérisation phénotypique des souches de <i>C. thermotolérants</i> isolées chez l'Homme _____	_____	- 115 -
III. ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE <i>C. THERMOTOLERANTS</i> _____	_____	- 117 -
III.1. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées chez les volailles _____	_____	- 117 -
III.1.1. Résultats globaux de l'antibiogramme _____	_____	- 117 -
III.1.2. Taux de résistance aux antibiotiques en fonction de la nature des prélèvements _____	_____	- 118 -
III.1.3. Résistance des <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolés à partir des fientes et des écouvillons cloacaux dans les différents élevages _____	_____	- 119 -

III.1.4. Résistance des <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolés à partir des peaux du cou dans les différents établissements d'abattage _____	- 122 -
III.1.5. Résistance des <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolés à partir des contenus caecaux dans les différents établissements d'abattage _____	- 124 -
III.1.6. Profils de résistance des souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées _____	- 125 -
III.2. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées chez l'Homme _____	- 127 -

### **Chapitre III : Discussion**

I. CHOIX DE SUJET ( <i>CAMPYLOBACTER</i> , VOLAILLE, HOMME) _____	- 129 -
II. JUSTIFICATION DE L'ÉCHANTILLONNAGE _____	- 130 -
II.1. Échantillons de poulets vivants en fin de bande (fientes) _____	- 130 -
II.2. Échantillons de poulets abattus _____	- 130 -
II.2.1. Peau de cou _____	- 130 -
II.2.2. Contenu du caecum _____	- 130 -
II.3. Échantillons humains (selles diarrhéiques) _____	- 131 -
III. CHOIX DE LA MÉTHODOLOGIE DE RECHERCHE : (PRÉLÈVEMENT, TRANSPORT ET ANALYSE) _____	- 131 -
A. Prélèvement et transport _____	- 131 -
B. Techniques d'analyse (choix de milieu et la température d'incubation) _____	- 132 -
B.1. Milieux de culture et réactifs _____	- 132 -
B.2. Enrichissement _____	- 132 -
B.3. Mise en culture sur milieux _____	- 133 -
IV. PRÉVALENCE DE <i>CAMPYLOBACTER</i> THERMOTOLERANTS _____	- 135 -
IV.1 Chez les volailles _____	- 135 -
IV.1.1. Prévalence de <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans l'ensemble des établissements _____	- 136 -
IV.1.2. Prévalence de <i>Campylobacter</i> thermotolérants au niveau des fientes _____	- 136 -
IV.1.3. Prévalence de <i>Campylobacter</i> thermotolérants au niveau des abattoirs _____	- 138 -
IV.1.3.a.) Prévalence de <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans les contenus caecaux _____	- 138 -
IV.1.3.b.) Prévalence de <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans les peaux de cou _____	- 139 -
IV.2. Chez l'Homme _____	- 147 -
V. FACTEUR DE RISQUE DE <i>CAMPYLOBACTER</i> THERMOTOLERANTS _____	- 150 -
V.1. Sources de contamination et facteurs de risque au niveau des bâtiments d'élevage _____	- 150 -
V.1. a.) Effet de la saison sur la prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevages _____	- 150 -
V.1. b.) Effet de l'âge d'abattage sur la prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevages _____	- 151 -
V.1. c.) Effet de la taille du troupeau sur la prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevages _____	- 152 -
V.2. Facteurs de risque pour la population humaine _____	- 154 -
V.2.a) effet de la saison _____	- 154 -
V.2.b) effet de l'âge _____	- 156 -
V.2.c) effet de sexe _____	- 157 -
V.2.d) effet des autres facteurs de risque _____	- 158 -
VI). ÉVALUATION DU RENDEMENT DES DIFFÉRENTES TECHNIQUES DU PRÉLÈVEMENT ET D'ISOLEMENT _____	- 159 -
VI.1. Évaluation du rendement des différentes techniques du prélèvement _____	- 159 -
VI.2. Évaluation du rendement des différentes techniques d'isolement _____	- 159 -
VII. RÉPARTITION DES DIFFÉRENTES ESPÈCES DE <i>CAMPYLOBACTER</i> _____	- 161 -
VII.1. Chez les volailles _____	- 161 -
VII.2. Chez l'Homme _____	- 162 -

VIII. SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE <i>C. THERMOTOLÉRANTS</i> ISOLÉES	___	- 163 -
VIII.1. Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>C.thermotolérants</i> chez les volailles	__	- 163 -
VIII.2. Taux de résistance aux antibiotiques en fonction de la nature des prélèvements	___	- 174 -
VIII.3. Étude du profil de résistance des souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées		- 174 -
VIII.4. Sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>C.thermotolérant</i> isolées chez l'Homme		- 176 -
Conclusion générale et perspectives	_____	- 181 -
Recommandations	_____	- 185 -
Références bibliographiques	_____	I
Annexes		A

---

# Partie bibliographique

---

---

# **Introduction**

---

### Introduction :

La sécurité des aliments représente un véritable enjeu de santé publique, tant dans les pays en voie de développement que dans les pays développés. En effet, les maladies dues à des microorganismes contaminant l'alimentation, bactéries en tête de liste, sont de plus en plus diagnostiquées, de nos jours. Les impacts médicaux et socioéconomiques des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) dans le monde, associés à l'augmentation croissante des taux de résistance des germes aux antibiotiques, encouragent le développement du concept de « sécurité sanitaire alimentaire » basé sur le contrôle et la surveillance de la qualité microbiologique des aliments.

Ainsi 80% des toxi-infections alimentaire (TIA) seraient dues à des virus, 13% à des bactéries et 7% à des parasites, mais les agents bactériens seraient responsables de 71,7% des mortalités (Cherrat, 2017). Les maladies bactériennes gastro-intestinales sont à 80% d'origine alimentaire, les deux principaux agents bactériens incriminés dans les TIA (en termes de nombre de cas totaux et de nombre d'hospitalisations) sont *Salmonella* et *Campylobacter* (MEAD et al., 1999). C'est bien que le *Campylobacter* a l'impact le plus important en terme de morbidité tandis que *Salmonella* cause plus de mortalités (ADAK et al., 2005).

Dans presque tous les pays, l'incidence des infections à *Campylobacter* a considérablement augmenté durant ces dernières années. En effet, la campylobactériose passe le plus souvent, asymptomatique ou bénigne (Cherrat, 2017), ce qui a comme conséquence un degré élevé de sous-signalement.

Dans les pays en développement, les caractéristiques de l'infection à *Campylobacter* spp. diffèrent de celles des pays industrialisés. Les infections symptomatiques sont particulièrement fréquentes chez les enfants de moins de deux ans, et sont peu courantes parmi la population adulte, suggérant le développement d'une immunité (précoce) liée à l'exposition importante au pathogène dès la petite enfance, mais provoquent parfois le décès (OMS, 2011).

De par son émergence et sa virulence, il fait partie, désormais, non seulement des préoccupations majeures des microbiologistes et des hygiénistes, mais influence les décisions politiques, socioculturelles, économiques et commerciales, perturbe le marché et cause des pertes économiques parfois non négligeables. Le *Campylobacter* spp. représente une véritable menace pour la santé publique (EFSA, 2014).

Ce microorganisme utilise une grande variété de réservoirs environnementaux dont le principal est le tractus digestif des animaux à sang chaud, comme les mammifères et les oiseaux, notamment la volaille et, plus particulièrement le poulet. En effet, Plusieurs études ont montré, grâce au

## Introduction

---

phénotypage et au génotypage, que la volaille est la principale source d'infection à *Campylobacter* chez l'Homme (Moore et al., 2005).

À l'abattoir, la contamination des carcasses par *Campylobacter* est, certes, diminuée après l'échaudage, mais la dissémination de la bactérie peut, toutefois, encore se produire, en particulier au cours des processus de plumaison et d'éviscération, en raison de la capacité de ce pathogène à survivre dans l'eau, l'air et l'équipement (Figuroa et al., 2009) mais aussi, à travers les matières fécales qui fuient du cloaque ou par la rupture des caeca, causant une contamination des carcasses.

Le taux d'isolement des *Campylobacter* s'avère influencer par plusieurs facteurs comme : le type et la technique du prélèvement et d'isolement, ainsi que le milieu de culture utilisé.

Bien que la plupart des infections à *Campylobacter* sont spontanément résolutive et n'exigent pas une médication, l'intervention médicale est justifiée dans les infections graves et pour les patients immunodéprimés, dans ces circonstances l'érythromycine et les fluoroquinolones sont les agents antimicrobiens de choix (Aarestrup et Engberg, 2001).

Le niveau croissant de la résistance aux agents antimicrobiens chez les *Campylobacter* devient un souci pour la santé publique dans beaucoup de pays (Engberg, 2001).

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. Cependant, si de nombreuses données concernant la prévalence de ce germe existent pour les pays développés et certains pays émergents, peu d'études ont été réalisées en Algérie.

C'est dans ce contexte, et avec le manque de données en matière de *Campylobacter* aussi bien en médecine humaine que vétérinaire dans notre pays, que nous nous sommes orientés vers ce sujet qui sera traité en plusieurs volets :

- ☞ L'estimation de la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans quelques élevages et abattoirs de poulet de chair dans la région de l'Est de l'Algérie ;
- ☞ L'estimation de la fréquence d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez des malades présentant des problèmes digestifs au niveau des hôpitaux localisés dans cette région (l'est de l'Algérie) ;
- ☞ La caractérisation phénotypique des souches d'origine animale et humaine isolées afin de déterminer quelles sont les espèces thermotolérantes dominantes ;
- ☞ L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées, et l'indication du profil de résistance pour chaque espèce isolée ;
- ☞ La comparaison entre deux méthodes d'isolement de *Campylobacter* thermotolérants (celle de la filtration passive et celle d'isolement sélectif en utilisant le milieu de Karmali) ;

## Introduction

---

- œ La comparaison entre deux milieux sélectifs, en matière de récupération des *Campylobacter* thermotolérants, l'un à base de charbon (Karmali) et l'autre à base du sang (Preston).

**Chapitre I :**

---

**HISTORIQUE et ÉLÉMENTS  
de TAXONOMIE**

---

## I. HISTORIQUE :

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

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

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

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

🌐 **En 1909** : en Grande-Bretagne deux vétérinaires étudient un avortement épizootique chez une brebis et isolent à partir des avortons un «vibrion microaérophile » (Butzler, 2004).

🌐 **En 1914** : Tunnicklif isole un « vibrion anaérobie » à partir d'expectorations humaines, lors d'une bronchite aiguë, qui, deviendra *Vibrio sputorum*, selon Prévôt, en 1940, puis *Vibrio bubulus*, en 1953, selon Florent, puis, *Campylobacter bubulus*, en 1963, selon Sebald et Véron (Euzéby, 2002)

🌐 **En 1919** : Smith isole une bactérie similaire à partir d'avortons de bovins, qu'il décrit comme un « spirillum ». Finissant cette étude, Smith est devenu au courant du travail de McFadyean et de Stockman, et a supposé qu'ils avaient étudié les mêmes bactéries, Il a confirmé ceci et a proposé le nom de « *Vibrio fetus* » (Smith et Taylor, 1919 cité par Butzler, 2004).

🌐 **En 1931** : ces vibrions sont définitivement incriminés comme agents de la dysenterie hivernale par Jones, Orcutt et Little. Ils reproduisent la maladie sur des animaux sains avec des souches provenant de bovins malades, en raison de leur localisation dans le jéjunum et de leur ressemblance avec «*Vibrio fetus*», ils les nomment « *Vibrio jejuni* » (Jones et al., 1931).

🌐 **En 1957** : Elizabeth King, aux États-Unis, montre que les vibrions à catalase positive peuvent être différenciés par leur capacité de croissance en fonction de la température d'incubation. Elle distingue, ainsi, deux groupes parmi tous les isollements qu'elle obtient : Le premier correspond aux descriptions de *Vibrio fetus*, établies par Vinzent, les souches croissant bien à 25 °C et 37 °C mais pas à 42 °C. Le deuxième groupe, qualifié de *related vibrios*, est composé d'espèces à tendance

thermophiles croissant bien à 37 °C et 42 °C mais pas à 25 °C, ils seraient semblables aux *Vibrio jejuni* et *Vibrio coli* décrits par Jones et Doyle (King, 1957).

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

🌐 **En 1958** : Hofstad isole des vibrions chez des volailles atteintes d'hépatite. Peckham nomme cette infection « hépatite vibrionnaire aviaire » ou AVH (Peckham, 1958) qui semble disparaître à la fin des années soixante. Cependant, *Campylobacter jejuni* sera considéré, par la suite, par Peckham comme la cause de cette maladie.

🌐 **En 1959** : Florent distingue, par leurs caractéristiques biochimiques et pathogéniques, d'une part, *Vibrio fetus* subsp. *venerealis*, responsable d'infertilité infectieuse chez les bovins, transmise sexuellement par des taureaux asymptomatiques et causant la stérilité des vaches ; et, d'autre part, *Vibrio fetus* subsp. *intestinalis*, responsable d'avortements (mais pas d'infertilité) chez le mouton et les bovins, affectant probablement plusieurs espèces animales, il est opportuniste chez l'Homme (septicémies, méningites et fausses couches) (Oosterom, 1985 ; Vandamme, 2000). *Vibrio fetus* subsp. *venerealis* et *Vibrio fetus* subsp. *intestinalis* deviendront, respectivement, *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* et *Campylobacter fetus* subsp. *fetus*.

🌐 **En 1963** : vu que leur faible teneur en ADN, leurs conditions microaérophiles de croissance et leur métabolisme non-fermentatif, *V. fetus* et *V. bubulus* ont été regroupées par Sebald et Véron (1963) dans un nouveau genre, nommé *Campylobacter* (du grec *kampulos* : incurvé, et *bacter* : bâtonnet) dont l'espèce type est *Campylobacter fetus* (Vandamme et Deley, 1991)

🌐 **En 1965** : Firehammer isole un « vibron microaérophile », le *Vibrio fecalis*, à partir de fèces de mouton qui deviendra *Campylobacter fecalis* (Smibert, 1978).

🌐 **En 1968** : une étape cruciale de l'isolement de *Campylobacter* dans les selles a été accomplie en 1968 par Dekeyser à l'Institut national pour la recherche vétérinaire, à Bruxelles. Un *related vibrio* (en fait *C. jejuni*) a été isolé à la fois dans le sang et après utilisation d'une technique spéciale de filtration sur les selles d'une femme de 20 ans admise au centre hospitalier universitaire avec une diarrhée aiguë et de l'hyperthermie (40 °C sans autres symptômes) (Dromigny, 2007). Aucun autre microbe pathogène entérique n'a été isolé dans les selles de cette patiente (Bützler, 2004). Cette technique repose, en fait, sur la filtration différentielle des suspensions fécales par des filtres de 0,65

µm, retenant la plupart des micro-organismes composant la microflore fécale, *Campylobacter* traversant le filtre, le filtrat est alors inoculé sur un milieu sélectif.

*Campylobacter jejuni/coli* est ainsi isolé chez 5,3 % parmi 3800 enfants diarrhéiques, et chez seulement 1,6 % de 7200 individus sans diarrhée. 4 % des adultes consultant pour des diarrhées sont touchés (Bützler, 2004).

🌐 **En 1977** : Skirrow a décrit pour les coprocultures de routine une gélose au sang contenant des antibiotiques (vancomycine, triméthoprime, polymyxine B) inhibant la microflore fécale compétitrice (Skirrow, 1977).

🌐 **En 1980** : *Campylobacter* (dont *C. fetus* et *C. sputorum*) est inscrit dans les *Approved Lists of Bacterial Names* (Skerman et al., 1980).

🌐 **En 1982** : isolement de *Campylobacter pyloridis* au niveau des muqueuses gastriques humaines par Marshall et al, qui deviendra *Helicobacter pylori*, ouvrant la voie à une nouvelle ère en matière de gastro-entérologie (Marshall, 1986, cité par Dromigny, 2007).

🌐 **En 1984** : quand le «*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*» a été publié, le genre *Campylobacter* comprend les cinq espèces suivantes : *C. fetus*, *C. jejuni*, *C. coli*, *C. sputorum*, et *Campylobacter concisus* (Smibert R M., 1984, cité par Vandamme, 1991).

🌐 **En 1988**, Thompson et al ont prouvé que les microorganismes appartenant au genre *Campylobacter* composent trois groupes séparés en fonction de l'homologie de l'ARNr ARNr :

Le premier groupe d'homologie ARNr comprend : *C. fetus*, *C. hyointestinalis*, *C. concisus*, *C. coli mucosalis*, *C. sputorum*, *C.jejuni*, *C. lari* et *C.upsaliensis*.

Le seconde groupe d'homologie ARNr comprend : *C. cinaedi*, *C. fennelliae*, *C. pylori* et *Wolinella succinogenes*.

Le troisième groupe d'homologie ARNr comprend : *C. cryarophila* et *C. nitrofgili* (Thompson et al., 1988).

## II. ÉLÉMENTS DE LA TAXONOMIE

La nomenclature de *Campylobacter* a connu de profonds changements, au cours du temps, nous détaillerons, dans ce qui suit, les principaux rapportés par Éric Dromigny (2007).

### II.1. Nomenclatures successives de *Campylobacter*

#### II.1.1. La découverte d'un nouveau taxon : (Un nouveau *Vibrio*)

Les premiers taxons découverts ont été classés et dénommés comme des espèces appartenant au genre *Vibrio* en raison de leur aspect très particulier à l'état frais et de leur mobilité rappelant celle des *Vibrio* (du latin vibro, vibrare, vibrer), les premiers taxons découverts sont dénommés « vibrions microaérophiles » par Mac Fadyean et Stockman (Butzler, 2004).

### II.1.2. Les taxons créés ou inclus

#### a) De *Vibrio* à *Campylobacter*

Il a fallu attendre que Sebald et Véron appliquent à ces « Vibrio-like » (ou| Vibrio-like organisms ou « VLO » le test de Hugh et Leifson et qu'ils déterminent leur métabolisme fermentatif, puis qu'ils déterminent leur composition en ADN, pour les distinguer définitivement des espèces véritables de *Vibrio* (Sebald et Véron, 1963, cité par Dromigny, 2007). Par conséquent, Le genre et la dénomination *Campylobacter* ont ainsi été proposés en 1963 par Sebald et Véron.

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

Il est également considéré comme un nom masculin au singulier mais certains le traduisent en français par les termes « Campylobactérie » ou « Campylobactères » (Euzéby, 2002). Les avis divergent sur la nomenclature en italique ou en majuscule et l'emploi au pluriel du « s » ou non.

Le genre *Campylobacter* comprenait au départ deux espèces seulement *Campylobacter fetus* et *Campylobacter bubulus*, Cependant la majeure partie de la communauté scientifique a continué à se référer à ces taxons en tant que « *Vibrio fetus* » et « *Vibrio bubulus* », jusqu'à ce qu'une recherche plus approfondie sur le genre soit réalisée (Sebald et Véron, 1963).

Cette étude était fondée sur des analyses sérologiques et biochimiques, et sur la composition en ADN, de façon à étudier les rapports entre « *Vibrio fetus* » et « *Vibrio bubulus* » et plusieurs autres espèces mal classés, décrit par divers auteurs mais non inclus dans le genre initial, à savoir « *Vibrio jejuni* », « *Vibrio coli* » et « *Vibrio faecalis* ».

Comme les souches originales de Taylor et Smith n'étaient plus disponibles au laboratoire, Véron et Châtelain retiennent *Vibrio fetus* subsp. *intestinalis* comme espèce- type et le renomment *Campylobacter fetus* subsp. *fetus*. Et, *Vibrio fetus* subsp. *venerealis* devient alors *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* (Véron et Châtelain, 1973).

La controverse durera jusqu' en 1984, date à laquelle la classification de Veron et Chatelaine sera définitivement retenue et publiée dans la « liste officielle de la dénomination bactérienne » (Karmali et Skirrow, 1984).

En parallèle, l'étude de Butzler et al en 1973 ont considérablement augmenté l'intérêt des cliniciens pour la *Campylobacter* en soulignant leur forte participation aux diarrhées humaines (Butzler et al., 1973).

En conséquence, et grâce à une amélioration considérable des techniques de croissance et des méthodes d'isolement de *Campylobacter*, 12 nouvelles espèces ou sous-espèces ont été découvertes

à l'occasion des différentes maladies et dans différents habitats de 1974 à 1988 passées en revue par Vandamme et Goossens en 1992 (Vandamme et Goossens, 1992).

### **b) Des *Spirillaceae* aux *Campylobacteraceae***

Selon Euzéby, dans la huitième édition du *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, les genres *Campylobacter* et *Spirillum* avaient été rassemblés, sur la base de critères morphologiques, dans la famille des *Spirillaceae* dont la nomenclature figure dans les *Approved Lists of Bacterial Names*. (Euzéby, 2002).

En 1991, une étude phylogénique reposant sur la stabilité thermique des hybrides ADN-ARNr, a permis de révéler que les genres *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Arcobacter*, les espèces *Wolinella succinogenes*, *Bacteroides gracilis*, *Bacteroides ureolyticus* et *Flexispira rappini* ainsi que plusieurs bactéries sans nomenclature mais apparentées aux campylobactéries, appartenaient à une nouvelle « superfamille » de la classe des *Proteobacteria*, la « superfamille VI » (Vandamme et al., 1991).

Au sein de cette « superfamille », les genres *Arcobacter* et *Campylobacter* présentent un grand nombre d'affinités phylogéniques et phénotypiques, ce qui justifie de les regrouper au sein d'une même famille, la famille des *Campylobacteraceae* (Vandamme et al., 1991).

### **c) Des NARTC à *Campylobacter lari***

Le groupe empirique NARTC (nalidixic-acid résistant thermophilic *Campylobacter*) est devenu *Campylobacter laridis* corrigé en *Campylobacter lari*. (Vandamme, 2000).

### **d) Des CNW à *Campylobacter upsaliensis***

Dès les années 80, des souches CNW (catalase-negative or weak) ont été décrites, dès 1991, certaines d'entre elles sont devenues *Campylobacter upsaliensis* (Moore et al., 2005).

## **II.1.3. Les taxons exclus**

### **a) Des *Campylobacter* aérotolérants à *Arcobacter***

Les premiers *Arcobacter* (du latin arcus, arc) ont été isolés de fœtus de porcs et de bovins et considérés d'emblée comme des *Campylobacter* dont ils apparaissaient proches sur le plan morphologique, avec la nomenclature *Campylobacter cryaerophila* (pour sa capacité de cultiver à 30 °C et son aérotolérance) corrigée en *Campylobacter cryaerophilus*.

Thompson et al (1988), En créant des groupes d'homologie d'ARNr 16S parmi *Campylobacter* et *Wolinella succinogenes*, *Campylobacter cryaerophilus* puis en 1991 Vandamme et ces collaborateurs sur la base d'hybridations ADN-ARNr 23S ou ADN-ADN, et d'analyses antigéniques sur plus de 70 souches de *Campylobacter* sp. ou appartenant à des taxons apparentés, proposent la création du genre *Arcobacter* (Vandamme et al., 1991).

**b) De *Campylobacter* à *Helicobacter***

En 1984, survient l'isolement original de «*Campylobacter pyloridis* » (nomenclature originale, corrigée par Marshall et Warren (1984) en *Campylobacter pylori*) des muqueuses gastriques humaines par Marshall et al. Il s'agit du futur *Helicobacter pylori* (hélix, hélice, et pylori, du grec pulôros, pour le pylore).

D'autre part, dans les années 80, le manque de critères phénotypiques discriminants pour *Campylobacter* et les souches apparentées a conduit à la création de plusieurs groupes empiriques, les *Campylobacter*-like organisms ou CLO.

Certains ont été considérés comme de nouvelles espèces mais ils ont été ensuite reconnus comme des variantes d'espèces existantes (CLO-1 : *Helicobacter cinaedi*, CLO-2 *Helicobacter fennelliae*, CLO-3 : *Helicobacter innominé*) (Vandamme, 2000).

*Campylobacter cinaedi* et *C. fennelliae* sont isolés dans les selles d'homosexuels ; le *C. pylori* et le *C. mustelae* (isolés respectivement de muqueuses gastriques humaines et de furet) ont été reclassés dans un nouveau genre, *Helicobacter*. (Vandamme, 2000). *Helicobacter* se différenciait, en effet, de *Campylobacter* par la structure flagellaire, la composition en acides gras et les caractères culturels ou G + C %.

**II.2. Nomenclature des rangs taxonomiques de *Campylobacter***

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

Sur la base de certains critères comme : la teneur en bases d'ADN, les besoins microaérophiliques et le métabolisme non fermentatif, Sebald et Veron en 1963 ont créé un nouveau genre appelé *Campylobacter*, ce genre comprenait au départ deux espèces seulement *Campylobacter fetus* et *Campylobacter bubulus* (Dromigny, 2007).

**II.2.1. Phylum des *Proteobacteria***

Les bactéries du genre *Campylobacter* font partie du domaine Eubactéries (ou Eubacteria) et du Phylum des *Proteobacteria* (Dromigny, 2007).

**II.2.2. classe  $\epsilon$  des *Proteobacteria***

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

**II.2.3. Ordre de *Campylobacterale***

L'ordre de *Campylobacterale* appartient à la classe des Epsilon-*Proteobacteria*. Il est figuré dans le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology et il est défini sur la base des séquences ARNr 16S (Dromigny, 2007).

Il comprend trois familles, les *Campylobacteraceae*, les *Hydrogenimonadaceae* et les *Helicobacteraceae*, comme nous pouvons le voir dans la figure 1.

Les bactéries qu'il regroupe sont incurvées ou spiralées, diversifiées sur les plans métabolique et écologique, souvent pathogènes pour l'Homme et les animaux (Larpen, 2000).

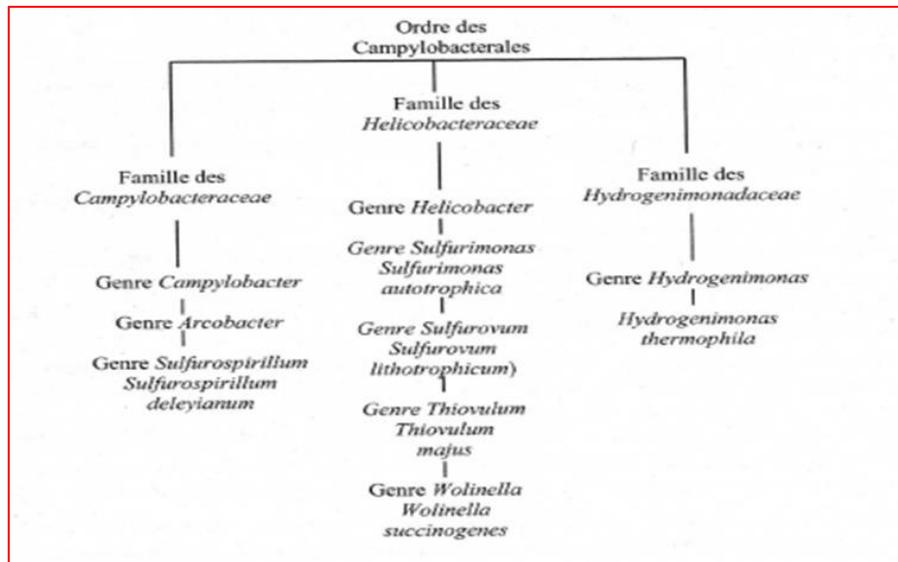


Figure 01: Représentation schématique de l'ordre de *Campylobacterales* (Larpen, 2000).

#### II.2.4. Famille des *Campylobacteraceae* et apparentées

Parmi les représentants des  $\epsilon$ -Protéobactéries, *Campylobacter* et *Arcobacter* présentent de nombreuses affinités phylogéniques et phénotypiques. En particulier, une parenté étroite entre les groupes d'homologie I et II d'ARNr a été notée, ce qui justifie selon Vandamme et De Ley (1991) leur regroupement au sein de la famille des *Campylobacteraceae* (Euzéby, 2002).

##### ➤ Famille des *Campylobacteraceae*

Elle regroupe les genres *Campylobacter*, *Arcobacter* et *Sulfurospirillum*, qui renferment des bacilles à Gram-négatif de 0,2 à 0,8  $\mu\text{m}$  de large et 0,5 à 5  $\mu\text{m}$  de long, incurvés, en forme de S ou en spirale, non sporulés, avec des formes coccoïdes dans les cultures anciennes. Mobiles grâce à un flagelle polaire, avec une mobilité très caractéristique, microaérophiles, avec un métabolisme respiratoire, certaines souches peuvent se multiplier en atmosphère aérobie ou anaérobie strict, les colonies sont généralement non pigmentées, toutes les espèces sont oxydase positives, ne fermentent ni oxydent les hydrates de carbone, dont le genre type est : *Campylobacter*. (Euzéby, 2002).

##### ➤ Famille des *Helicobacteraceae*

Elle est décrite dans le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (janvier/2006).

La famille des *Helicobacteraceae* rassemble des bactéries à Gram-négatif, avec des espèces pathogènes pour l'Homme et les animaux. Cette famille comprend les genres :

- *Helicobacter*
- *Sulfurimonas* dont l'espèce type : *Sulfurimonas autotrophica*
- *Sulfurovum* dont l'espèce type : *Sulfurovum lithotrophicum*
- *Thiovulum* dont l'espèce type : *Thiovulum majus*
- *Wolinella* dont l'espèce type : *Wolinella succinogenes*

Ils ont comme particularité de posséder un ou plusieurs flagelles polaires entourés d'une gaine sauf exceptions (Euzéby, 2002).

➤ **famille des *Hydrogenimonadaceae* ;**

Elle comprend une seule espèce, *Hydrogenimonas thermophila*, elle est constituée de bacilles à Gram (-), anaérobies ou microaérophiles, thermophiles, chimiolithotrophes (Euzéby, 2002).

### II.2.5. Genre *Campylobacter*

#### II.2.5.1. *Campylobacter* dits thermotolérants

On entend par *Campylobacter* thermotolérants des souches pouvant pousser à 42 °C mais pas à 25 °C, cette nomenclature empirique est apparue dans les années 1980 avec Sandstedt en particulier (Sandstedt et al., 1983). Même si elle est consacrée par l'usage de nombreux bactériologistes, et malgré son aspect pratique, cette nomenclature ne fait pas l'unanimité : certains auteurs parlent de « *Campylobacter thermophiles* » comme (Bauwens et al., 1981).

Cette nomenclature a figuré dans l'expression « Nalidixic acid résistant thermophilic *Campylobacter* » ou NARTC (Doyle et Roman, 1982).

Elle apparaît aussi dans l'expression « urease-positive thermophilic *Campylobacter* (UPTC) » utilisée en 1985 par Bolton et ses collaborateurs, ou plus récemment en 1996 par Wilson et Moore (Bolton et al., 1985 ; Wilson et Moore, 1996).

Cette nomenclature a même été reprise dans des méthodes normalisées, comme la méthode AFNOR dite horizontale de recherche des *Campylobacter* thermotolérants ou par certains auteurs (Lubeck et al., 2003).

Toutefois, la température de croissance de 42 °C ne justifie pas une telle dénomination de « thermophiles », car les bactéries thermophiles ont une température optimale de croissance plus proche de 50 °C que de 42° C.

De plus, tous les auteurs ne s'accordent pas à dire que 42 °C est la température optimale de croissance des *Campylobacter*, en toute rigueur, les *Campylobacter* thermotolérants sont plutôt des bactéries « mésophiles à caractère thermophile » ou des bactéries « mésophiles thermotrophes ».

En tout état de cause, la plupart des auteurs incluent dans ce groupe *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* et *Campylobacter upsaliensis* qui, à côté du caractère thermotolérant, répondent à un critère de pathogénicité commun, car ils sont responsables

d'infections gastro-entériques chez l'Homme, ils forment aussi un sub-cluster comme on le démontre par hybridation ADN-ARNr (Vandamme et al., 1991) ou par comparaison des séquences de gènes des ARN ribosomiaux 16S (Snelling et al., 2005).

Toutefois, *Campylobacter helveticus* est aussi thermotolérant, mais n'est pas considéré comme un *Campylobacter* thermotolérant en raison de l'absence de description de cas humains (Euzéby, 2002). En effet, le véritable caractère commun des thermotolérants est de ne pas croître à + 25 °C et donc seraient « psychrophobes ».

**a) *Campylobacter jejuni/coli***

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

Les *C. coli* sont moins cités que les *C.jejuni*, mais il y a là peut-être une sorte d'injustice : beaucoup de travaux publient des résultats où la souche est présentée comme *C. jejuni* mais sans que le test de l'hydrolyse de l'hippurate n'ait été réalisé. Or, certaines souches de *C. jejuni* possèdent le gène *hip O* codant pour l'hippurate hydrolase, mais ne l'expriment pas, ce qui peut causer de faux négatifs lors de l'identification des souches par l'utilisation d'épreuves biochimiques (Caner et al., 2008). De ce fait, certains auteurs sont même allés jusqu'à parler de *Campylobacter jejuni/coli* (Dromigny, 2007).

**b) *Campylobacter lari***

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

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

➔ *Campylobacter lari* subsp. *Lari*

**c) *Campylobacter upsaliensis***

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

**d) *Campylobacter hyoilei***

Alderton et ses collaborateurs en 1995 ont rapporté onze souches isolées de lésions intestinales de porcs avec de l'entérite proliférative « *Campylobacter hyoilei* », (*hyos*, porc en grec, et *ilei* pour l'iléon), plus tard identifié grâce à un éventail de méthodes phénotypiques et génotypiques comme une souche de *C. coli*. En effet, ils pensaient que ces souches étaient une variante pathogène (*pathovar*) de *C. coli* en raison de son adaptation au tube digestif porcin et de l'identification d'un

repère génétique qui est évidemment spécifique de « *C. hyoilei* ». Pour certains auteurs (Dep et al., 2001), l'existence de quelques différences sur le plan métabolique rendent cette hypothèse probable

Cependant, pour Moore et al, *C. coli* et *C. hyoilei* ont plusieurs critères phénotypiques en commun. Le sous-comité taxonomique de l'International Committee on Systematic Prokaryotes a décrété en décourageant l'emploi du nom *C. hyoilei* (Moore et al., 2005).

#### e) *Campylobacter helveticus*

*Campylobacter helveticus* (*helveticus* est un adjectif latin : de l'Helvétie ou de la Suisse) a été décrit en 1993 par Stanley et ses collaborateurs comme une espèce nouvelle (Moore et al., 2005).

### II.2.5.2. *Campylobacter fetus* et taxons apparentés

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

*Campylobacter fetus* subsp. *fetus* (nomenclature issue de l'isolement à partir d'avortons chez le bétail), *C. fetus* subsp. *venerealis* (pour la transmission vénérienne chez les bovins), *Campylobacter hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis* et *C. hyointestinalis* subsp. *lawsonii* (du bactériologiste Lawson) sont proches par le phénotype et le génotype (Euzéby, 2002).

#### a) *C. fetus* et *C. hyointestinalis*

*Campylobacter fetus* est principalement trouvé dans des désordres reproducteurs de bovins, tandis que *C. hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis* est principalement d'origine entérique (deuxième cause d'adénomatose intestinale du porc après *C. mucosalis* et *C. hyointestinalis* subsp. *lawsonii* se trouve dans l'estomac de porcs (Euzéby, 2002). Se fondant sur l'analyse numérique de 38 caractères phénotypiques, sur l'hybridation ADN-ADN et la composition en ADN, On et al (1995) ont proposé le nom de *C. hyointestinalis* subsp. *lawsonii*. Alternativement, le nom de la sous-espèce *C. hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis* a alors été automatiquement créé.

#### b) *C. lanienae*

*C. lanienae* est une nouvelle espèce à catalase-positif qui a été décrite pour la première fois après isolement des selles d'ouvriers d'abattoir en bonne santé en Suisse en 2000 (*laniena* signifiant boucherie ou abattoir en latin). Elle est voisine étroitement avec des souches des sous-espèces existantes de *C. hyointestinalis*.

En effet, *C. hyointestinalis* subsp. *lawsonii* partage avec *C. lanienae* des similitudes de l'ordre de 97,2 à 97,7 % pour le gène de l'ARNr 16S. À ce niveau de similitude, les analyses de l'ARNr 16S manquent de résolution suffisante pour déterminer si les taxons représentent la même chose que l'espèce (On, 2001).

### II.2.5.3. *C. sputorum* et voisins phylogéniques

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

**a) *C. sputorum***

*C. sputorum* (à cause de l'isolement en 1914 d'un «vibrion anaérobie» à partir d'expectorations humaines par Tunnickliff) est un *Campylobacter* anaérobie et catalase négative, sa nomenclature est complexe : deux sous-espèces sont validement publiées.

Il s'agit de *C. sputorum* subsp. *sputorum* et de *C. sputorum* subsp. *bubulus* (du latin *bubulus* en raison de l'isolement par Florent de vibrions chez des taureaux et chez la vache) (Florent, 1953).

Toutefois, On et ses collaborateurs (1995) considèrent qu'il existerait trois biovars de *C. sputorum* : biovar *Sputorum*, biovar *Fecalis* et biovar *Paraureolyticus*. Ce dernier correspond en fait à 44 souches de *Campylobacter* spp. à uréase positive, à catalase négative, produisant de l'H<sub>2</sub>S en milieu TSI et isolées des fèces de bovins.

**b) *C. concisus***

*C. concisus* (de l'adjectif latin *concisus*, court) a été isolé la première fois de la cavité buccale humaine, mais il y a eu plusieurs descriptions de souches liées de la diarrhée, avec parfois une fréquence égale à celle de *C. jejuni* (Tanner et al., 1987).

**c) *C. curvus* et *C. rectus***

*C. curvus* (du latin *curvus*, courbé) était au départ une *Wolinella*, tout comme *Campylobacter rectus* (*rectus*, droit), ils ont comme origine la cavité buccale humaine (Vandamme et al., 1991).

**d) *C. gracilis***

*C. gracilis* (*gracilis*, mince) correspond à l'origine à « *Bacteroides gracilis* » reclassé par Vandamme en *Campylobacter*, ils ont comme origine la cavité buccale humaine (Vandamme et al., 1992).

**e) *Campylobacter hominis***

En 1998, Lawson et ses collaborateurs recherchent dans la salive et les selles de vingt individus en bonne santé par PCR, neuf espèces de *Campylobacter* et le genre *Campylobacter* lui-même.

Ils détectent dans dix des vingt échantillons fécaux, et dans quelques échantillons de salive une espèce de *Campylobacter* non décrite jusque-là et non-cultivable à l'aide des méthodes standard. Il s'agit de la première description de *C. hominis* (du latin *homen*, Homme) (Lawson et al., 1998).

Une méthode d'isolement par filtration sur membrane sur agar non sélective en anaérobiose a permis de cultiver les microorganismes. Les voisins phylogénétiques les plus proches sont *C. gracilis* et *C. sputorum*.

**f) *Campylobacter mucosalis***

*Campylobacter mucosalis* (du latin *mucosalis*, concernant la muqueuse, car isolée de lésions intestinales de porcs souffrant d'adenomatose) en 1981 apparaît, au cours d'hybridation ADN-ADN, très proche de *C. sputorum*, avec qui il partage un phénotype fortement semblable et une source

commune (intestin de porc). Pour cette raison, il a reçu la nomenclature *Campylobacter sputorum* subsp. *mucosalis* en 1981 puis est devenu *C. mucosalis* en 1985, sur la base des résultats des homologies ADN-ADN (Euzéby, 2002 ; Vandamme, 2000).

#### **g) *Campylobacter showae***

*Campylobacter showae* (en l'honneur de la Showa University) a comme origine la cavité buccale humaine (Euzéby, 2002).

#### **II.2.5.4. UPTC**

Cinq ans après la description originale de *C. lari* par Skirrow et de Benjamin en 1980, Bolton et al (1985) en Angleterre, isolent d'échantillons hydro-telluriques les dix premiers isolats atypiques de *C. lari*, à uréase-positif et donc dénommés uréase-positif thermophilic *Campylobacter*.

De 1986 à 1989, quatre isolats d'UPTC ont été trouvés pour la première fois chez des humains (fèces diarrhéiques, appendicite, infection d'appareil urinaire).

Par la suite, environ 200 souches d'UPTC ont été isolées de l'environnement, de l'eau de rivière, de l'eau de mer et des mollusques et crustacés normaux, y compris les oiseaux sauvages (Bolton et al., 1985 ; Moore et al., 2005).

#### **II.2.5.6. Taxons atypiques et émergents**

Plusieurs espèces sont rassemblées dans ce groupe :

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

### **III. CLASSIFICATION**

Il n'est pas possible de faire apparaître pour *Campylobacter* une véritable classification dichotomique. Toutefois, certains groupes se dégagent sur les plans phénotypique, génotypique, pathologique et écologique.

Actuellement, 25 espèces (spp) et 8 sous-espèces sont assignées au genre *Campylobacter* (Man, 2011) dont les plus fréquemment isolées en pathologie humaine sont *C. jejuni* et *C. coli* (Euzéby, 1998). La première se divise en deux sous- espèces : *doylei* et *jejuni* et, cause environ 90 % des campylobactérioses humaines (Gillespie et al., 2008).

#### **III.1. Phénotypes**

La classification phénotypique de *Campylobacter* fait apparaître des groupes taxonomiques importants, la première clé étant le test de la catalase, une autre clé étant la croissance à 25 °C (Tableau 1) (Dromigny, 2007).

Les *Campylobacter* à catalase-négative possèdent les caractéristiques générales du genre *Campylobacter*, mais elles se distinguent des espèces à catalase positive par sa sensibilité accrue à l’oxygène, avec une tendance à l’anaérobiose, nécessitant donc une pression inférieure en oxygène pour une croissance optimale (Tableau 2) (Dromigny, 2007).

**Tableau 1. Principaux caractères des espèces de *Campylobacter* catalase (+) (Euzéby, 2002)**

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

**Tableau 2. Principaux caractères des espèces de *Campylobacter* catalase (-) (Euzéby, 2002)**

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

La figure 2, montre une classification dichotomique basée sur les principaux caractères phénotypiques des espèces de *Campylobacter* notamment le test de catalase et la croissance à 42 C°

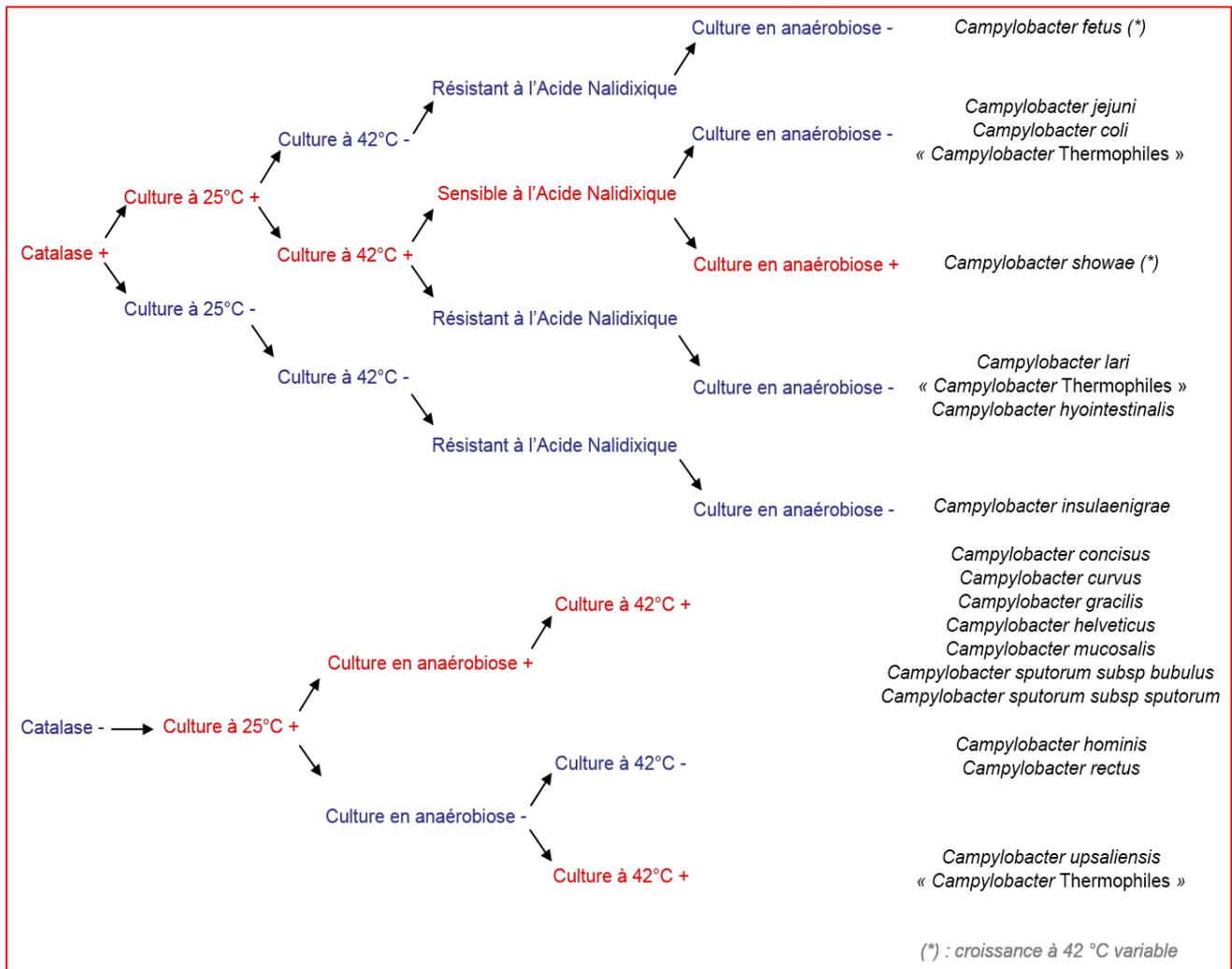


Figure 2. Classification dichotomique basée sur les principaux caractères phénotypiques des espèces de *Campylobacter* (Charrat, 2017)

### III.2. Clusters et génotypes

En réalité, il est très difficile d'établir une véritable classification génotypique pour les *Campylobacter*, mais on peut les regrouper par un « voisinage génomique ». Par exemple, Selon (Dromigny, 2007), nous pouvons affirmer que *C.jejuni*, *C.coli*, *C.lari*, *C.upsaliensis* et *C.helveticus* forment un groupe d'espèces de parenté génétique étroite, et qui sont le plus généralement isolées lors de diarrhée humaine et animale.

*Campylobacter hyoile*, a été identifié par un éventail de méthodes phénotypiques et génotypiques comme une souche de *C. coli* (Vandamme et al., 2000).

*C. concisus*, *C. showae*, *C. curvus*, *C. rectus*, *C.gracilis*, *C. sputorum* et *C. hominis* semblent être étroitement liés phylogénétiquement.

*Campylobacter mucosalis* sont, par des études d'hybridation ADN-ADN, les Plus semblables à *C. sputorum* (Roop et al., 1985).

*C. fetus* subsp. *fetus*, *C. fetus* subsp. *venerealis*, *C. hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis* et *C. hyointestinalis* subsp. *lawsonii* sont proches par le phénotype et le génotype (On, 2001).

En plus, par l'étude des ARNr 16S, nous démontrons que les isolats de *C. insulaenigrae* sont bien des *Campylobacter* génétiquement apparentés et proches de *C. jejuni* subsp. *jejuni*, *C. jejuni* subsp. *doylei*, et *C. coli* (Moore et al., 2005).

La phylogénie des espèces de *Campylobacter* et des bactéries apparentées peut être inférée par comparaison des ARN 16S, comme un exemple en est donné dans la figure 03 sous forme d'un dendrogramme. (Dromigny, 2007)

### III.3. Pathotypes et tropismes

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

### III.4. Écotypes et sources

Comme pour la pathologie, il n'y a pas de description de souches clairement inféodées à un réservoir ou à un autre à l'intérieur d'une même espèce de *Campylobacter* et de clairs écotypes. Toutefois, nous pouvons regrouper les *Campylobacter* par source, malgré une diversité apparente, la source la plus importante reste bien entendu le tube digestif des volailles (Dromigny, 2007).

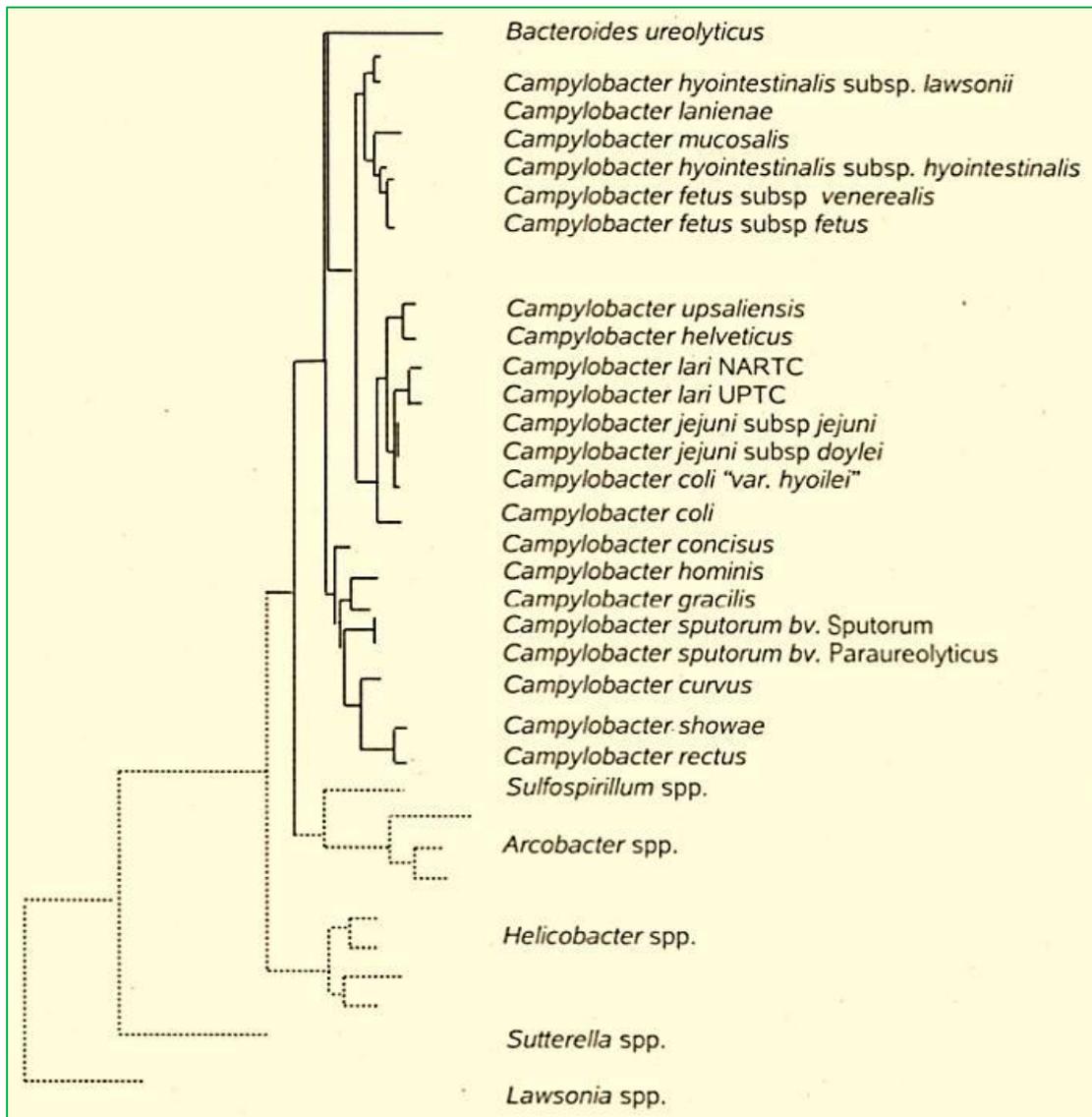


Figure 3. Exemple de dendrogramme des espèces de *Campylobacter* et bactéries apparentées (On, 2005)

## **Chapitre II :**

---

# **Morphologie et structure cellulaire**

---

## I. FORME ET DIMENSIONS CELLULAIRES

Le genre *Campylobacter* est constitué de bacilles à Gram négatif, incurvés ou en S ou de forme spiralée, non sporulés, de 0,2 à 0,5  $\mu\text{m}$  de diamètre sur 0,5 à 5  $\mu\text{m}$  de longueur, certaines bactéries peuvent toutefois atteindre une longueur de 8,0  $\mu\text{m}$  pour des cellules de variant aflagellé du *C. jejuni* (Figure : 04), dans les vieilles cultures, ils donnent des formes coccoïdes (Euzéby, 1992).

### I.1. Forme vibrioïde

La forme vibrioïde de *Campylobacter* est la forme classiquement observée à la coloration de Gram dans les cultures jeunes, les cellules sont en forme de virgule, voire de S, parfois avec plusieurs ondulations dans les cultures plus âgées (Dromigny, 2007) (figure 05).

En microscopie électronique à balayage, les cellules de *Campylobacter* présentent une ou deux ondulations sur des cultures récentes (figure 06 et 07).

### I.2. Forme coccoïde

La forme coccoïde est décrite traditionnellement chez *Campylobacter jejuni /coli*, il s'agit d'une forme de dégénérescence (Buck et al., 1983). Cette forme prédomine dans des cultures anciennes, généralement après 48 heures d'incubation sur un milieu solide. En plus, au moins pour le *C. jejuni*, cette forme ont une viabilité réduite et représente probablement un état dégénéré (Buck et al., 1983).

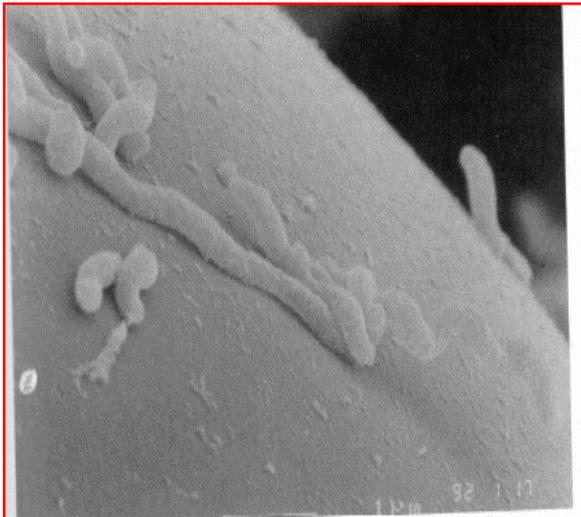
Les principales caractéristiques des formes coccoïdes (forme arrondie, taille de l'ordre de 1  $\mu\text{m}$ ) sont bien visualisées au microscope électronique à balayage (Dromigny, 2007). (Figure 06 et 07).

## II. COMPOSANTS DE LA SURFACE CELLULAIRE

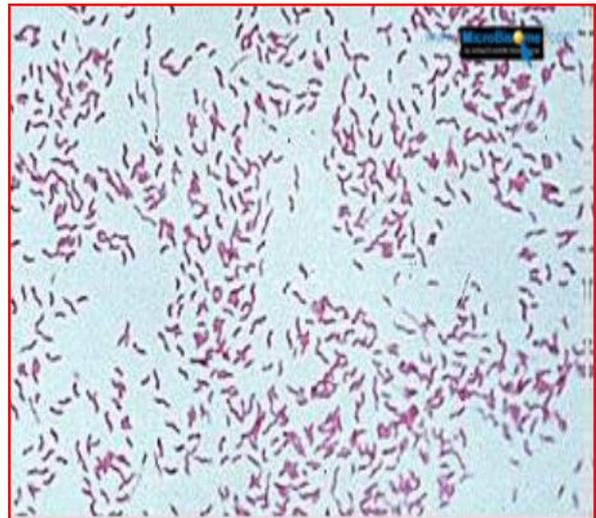
*Campylobacter* possède les mêmes composants de surface que la plupart des bactéries à Gram-négatif.

### II.1. Les polysaccharides de surface

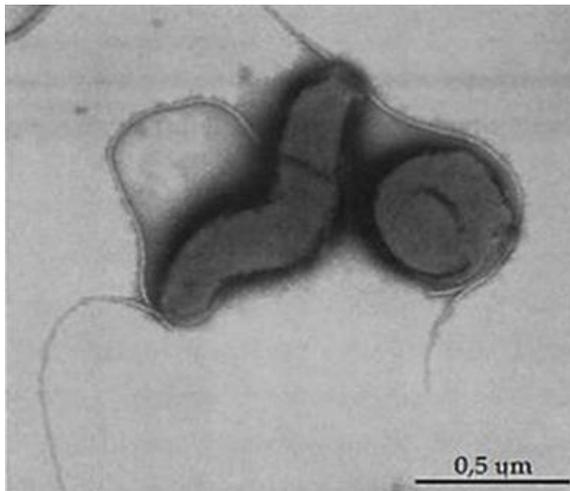
Les lipopolysaccharides (LPS) sont des constituants de la membrane externe de la plupart des bacilles à Gram négatif, y compris les *Campylobacter*, c'est une endotoxine appartenant à la famille des toxines glycolipidiques phosphorylées, qui est le principal antigène de surface (antigène O) des bactéries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



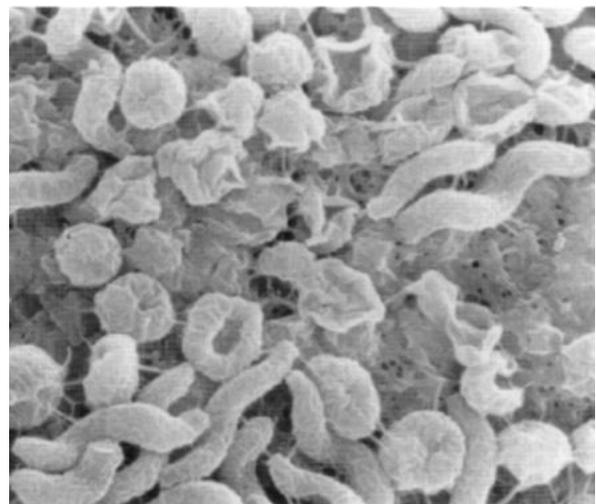
**Figure 4. Formes longues de variant aflagellé en microscopie électronique à balayage (Dromigny, 2007).**



**Figure 5. Morphologie de *C. jejuni* en microscopie électronique à balayage (Dromigny, 2007).**



**Figure 6. Micrographie électronique de coloration négative montrant l'aspect des cellules de *C. jejuni* sous ses deux formes vibrioïde et coccoïde (Dromigny, 2007)**



**Figure 7. *C. jejuni* en microscopie électronique à balayage, formes vibrioïdes et formes coccoïdes (Dromigny, 2007).**

### II.1.1. Structure générale des LPS

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

#### II.1.1.1. Structure générale du Lipide A

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

### II.1.1.2. Structure générale du noyau oligo-saccharidique

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

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

### II.1.1.3. La chaîne latérale (O)

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

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

## II.1.2. Lipooligosaccharide (LOS)

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

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

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

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

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

## II.1.3. Capsule (Le polysaccharide capsulaire)

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

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

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

## **II.2. protéines de surface**

### **II.2.1. MOMP (Major outer membran protein)**

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

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

### **II.3. S-layer ou couche S**

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

## **II. 4. pili, éléments incertains**

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

## **III. FLAGELLE DE CAMPYLOBACTER**

### **III.1. Morphologie et structure du flagelle**

Structurellement, le flagelle peut être décomposé en plusieurs structures basiques, le moteur et le commutateur qui sont inclus dans la membrane cytoplasmique, la tige qui traverse la paroi, le crochet, et le filament, qui est la structure externe hélicoïdale (Dromigny, 2007) (figure 08).

Le poids moléculaire moyen des sous-unités de la protéine de crochet des *Campylobacter* est de 92500 kDa, la structure de crochet ainsi que les grandes tailles de ses sous-unités peuvent refléter le besoin des *Campylobacter* d'être motiles dans la couverture muqueuse épaisse de l'intestin (Dromigny, 2007).

### **III.2. Fonction antigénique du flagelle**

Il est bien établi que la possession d'un flagelle ainsi que une motilité chimiotactique sont des préalables de la virulence dans les deux modèles in vivo et in vitro disponible. D'autre part, l'antigène flagellaire contribue de manière significative à la diversité antigénique parmi des souches

de *C. jejuni* (Penn, 2001). En effet, les antigènes flagellaires sont maintenant reconnus comme étant le principal antigène thermolabile impliqué dans la méthode de sérotypage de «Lior » (Lior et al., 1982).

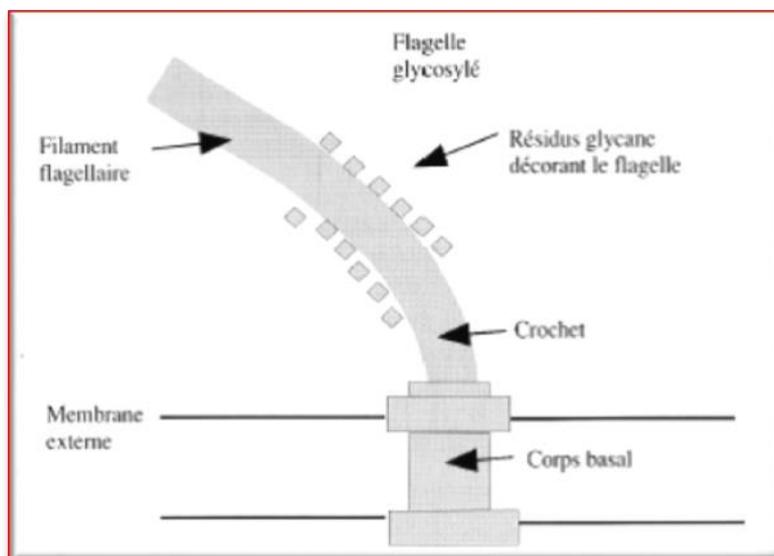


Figure 8. Schéma d'un flagelle de *Campylobacter* (Karlyshev et al., 2004).

## IV. LE GÉNOME DE *CAMPYLOBACTER*

### IV.1. Caractères généraux du génome

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

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

Le génome de la souche NCTC11168 affiche un total de 1641481 paires de bases et est constitué d'une unique molécule d'ADN circulaire de 1,64 méga-bases au pourcentage en G+C de 30,6%, contenant 1654 séquences codantes, parmi lesquelles 20 représentent probablement des pseudogènes et 54 des ARN stables (Parkhill et al., 2000).

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

Le génome a la particularité de ne présenter aucune séquence d'insertion (IS), aucune séquence d'origine phagique, et de présenter un certain nombre de séquences répétées. En effet, le génome présente un certain nombre de séquences répétées (seulement 4 séquences répétées dans tout le génome). Ces dernières correspondent à des répétitions de nucléotides G et C, ces séquences sont rencontrées au niveau de gènes codant pour des enzymes de biosynthèse ou impliquant une modification de structure de la membrane, ainsi qu'à des gènes à fonction inconnue (Hook, 2005).

La découverte de séquences hypervariables, généralement présentes dans les gènes codant la biosynthèse ou la modification des structures externes, est aussi très importante. Le taux élevé de variation des séquences hypervariables pourrait expliquer comment des caractères génétiques sont modifiés dans des populations de *Campylobacter jejuni*, et comment le micro-organisme peut survivre à des conditions environnementales changeantes (Hook, 2005).

L'organisation des gènes est atypique. Effectivement, mis à part les deux opérons codant les protéines ribosomales et les groupes de gènes impliqués dans la biosynthèse des polysaccharides extracellulaires et dans la modification du flagelle, peu de gènes paraissent agencés en opérons ou clusters (Hook, 2005).

Bien que les gènes appartiennent apparemment à des ensembles liés, les gènes dans ces ensembles paraissent en général fonctionnellement indépendants, la distribution des gènes impliqués dans la biosynthèse d'acides aminés, par exemple, reflète cette organisation : une partie des gènes de l'histidine et de tryptophane sont apparemment organisés en opérons, mais pour les autres acides aminés, gènes sont dispersés aléatoirement dans tout le génome (Hook, 2005).

## **Chapitre III :**

---

# **Physiologie**

---

## I. MÉTABOLISME DE *CAMPYLOBACTER* ET RÉGULATION

### I.1. Métabolisme central

#### I.1.1. Catabolisme du carbone

Les sources principales de carbone utilisables *in vivo* pour la croissance bactérienne sont des hydrates de carbone et/ou des acides aminés (Dromigny, 2007).

*Campylobacter* a été longtemps connu pour ne pas pouvoir métaboliser les sucres fournis, la phosphofructokinase, l'enzyme glycolytique principale, est absente chez cette bactérie (Dromigny, 2007).

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

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

#### I.1.2. Cycle de l'acide citrique

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

### I.2. Microaérobiose

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

L'importance de l'alkylhydroperoxyde réductase (AhpC) dans l'aérotolérance et la résistance au stress oxydant a été démontrée chez *C. jejuni* par l'analyse d'un mutant *ahp C*, qui était fortement plus sensible à l'oxygène et aux hydroperoxydes biologiques (Baillon, 1999).

Il y a quelques protéines additionnelles prévues par la séquence du génome de *C. jejuni*, qui sont potentiellement impliqués dans le métabolisme de l'oxygène notamment un homologue bactérien de l'hémoglobine (Parkhill et al., 2000).

### I.3. Dépendance au CO<sub>2</sub>

*C. jejuni* exige en plus d'une concentration en oxygène faible, des niveaux élevés en CO<sub>2</sub> pour sa croissance (5 à 10 % v/v) (Dromigny, 2007).

L'acétyl-CoA carboxylase est une enzyme essentielle dans la biosynthèse d'acides gras et son gène est présent chez *C. jejuni* (Dromigny, 2007).

Un autre mécanisme qui peut contribuer au phénotype capnophilique de *C. jejuni* est l'activité des mécanismes de concentration de l'anhydride carbonique négociés par les anhydrases carboniques (Kelly, 2001).

### I.4. Chimiotactisme

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

- ❶ Groupe A : comprend les chimiorécepteurs suivants : Tlp1 (transducer-like-protein1), Tlp2, Tlp3, Tlp 4 et Tlp 10), ces récepteurs se caractérisent par la présence des domaines transmembranaire et un domaine ligand-binding périplasmique.
- ❷ Groupe (B) contient un homologue du récepteur Tlp9. C'est une protéine cytoplasmique ancrée à la membrane par une région amino-terminale transmembranaire.
- ❸ Groupe (C) : comprend les chimiorécepteurs suivants (Tlp 5, Tlp 6 et Tlp 8), ce groupe contient probablement les récepteurs protéiques qui détectent les signaux cytoplasmiques et susceptible ainsi de sentir les signaux physiologiques internes importants chez *C. jejuni*.

L'analyse *in silico* (ou analyse informatisée) de la séquence de génome de *C. jejuni* NCTC 11168 indique que des orthologues des gènes du chimiotactisme sont situés dans trois régions séparées du génome (Marchant et al., 2002).

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

### I.5. Transport des électrons

*C. jejuni* est considéré comme une bactérie microaérophile avec un métabolisme respiratoire aérobie, mais il semble exister quelques voies anaérobies de transport d'électrons (Dromigny, 2007)

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

## II. RÉSISTANCE À DIVERSES AGENTS

### II.1. Facteurs intrinsèques

Ils définissent les conditions de milieu fournies par l'aliment (potentiel d'oxydoréduction, antimicrobiens naturels, pH, Aw) à *Campylobacter*

#### II.1.1. L'acidité

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

Le pH est dépendant de la température ; à pH égal, les cellules de *Campylobacter jejuni* meurent plus vite à 42 °C qu'à 4 °C. (Altmeyer, 1994, cité par Dromigny, 2007).

#### II.1.2. L'humidité du substrat

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

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

#### II.1.3. Les antimicrobiens naturels

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

L'albumen de l'œuf est très toxique pour *Campylobacter jejuni* (Clark et Bueschkens, 1986)

### II.2. Facteurs extrinsèques

*Campylobacter* survit difficilement dans les denrées alimentaires d'origine animale. Il est souvent détruit au cours de la préparation des aliments en raison de la grande sensibilité de sa forme végétative aux agents physiques et biologiques (Altmeyer, 1994, cité par Dromigny, 2007)

#### II.2.1. La chaleur

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

La thermosensibilité varie en fonction de l'aliment dans lequel se trouve *C. jejuni* (Dromigny 2007).

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

## II.2.2. Le froid

### II.2.2.1. Le froid négatif

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

- Des conditions de l'environnement : *C. jejuni* semble plus sensible à la congélation dans les milieux liquides que dans les denrées solides (Christopher et al., 1982, cité par AFSSA, 2003).
- Du type de souche : ainsi les souches isolées chez l'Homme survivent mieux lors de la congélation que les souches d'origine animale (Doyle, 1984, cité par AFSSA, 2003) sans qu'une explication rationnelle ait été apportée.
- L'utilisation d'une ventilation forcée : lors de la congélation, entraîne une réduction significativement supérieure de la contamination de surface des carcasses de porcs, par rapport à une congélation sans ventilation, sans doute du fait de la dessiccation (Doyle, 1984, cité par AFSSA, 2003).

### II.2.2.2. Le froid positif

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

## II.2.3. Rayonnements

### II.2.3.1. Rayonnements ionisants

La sensibilité de *C. jejuni* aux rayons ionisants a été étudiée dans un milieu de culture et dans la viande de poulet. *C. jejuni* n'a pas survécu à un traitement de 1 k Gray et ceci quel que soit le milieu. Par conséquent, les traitements habituels de 3 à 5 kGy sont donc suffisants pour détruire les *Campylobacter* (Tarjaan, 1985). Divers facteurs influent sur le résultat, surtout : la température ; la valeur D représente l'exposition nécessaire, à la température indiquée, pour réduire la population d'une puissance de dix dans un échantillon de viande de bœuf.

Comme l'indiquent les résultats, la résistance augmente quand la température baisse (Lambert et Maxcy, 1984, cité par AFSSA, 2003,) (tableau 3).

**Tableau 3. Valeurs D (en kGy) d'une souche de *Campylobacter jejuni* en fonction de différentes températures**

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

### II.2.3.2. Rayonnements UV

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

### II.2.4. Le sel

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

### II.2.5. Dessiccation

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

### II.2.6. Stress oxydatif

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

## III. ADAPTATION AUX STRESS SUBLÉTAUX

### III.1. Réponses au froid (cold shock)

Les *Campylobacter* thermotolérants ne peuvent pas se développer sous des températures au-dessous de 30 °C (Park, 2002). En plus, ils ne possèdent pas d'homologue de la protéine majeure de réponse au choc froid d'*E. coli*, CspA (Cold shock protein A). Néanmoins, il a été montré qu'à 4°C, *C. jejuni* était mobile, maintenait l'activité catalase, consommait du dioxygène, synthétisait des protéines et était capable de survivre (Hazeleger et al., 1998). Cependant si aucun régulateur de la réponse du choc au froid n'est à ce jour connu, il semblerait que la bactérie ressent le choc au froid comme un choc oxydatif car plusieurs gènes dont les protéines sont impliquées dans la réponse au stress oxydatif voient leurs transcriptions augmentées à basses températures (Dromigny, 2007).

### III.2. Réponses au stress thermique ou heat shock

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

### III.3. Réponses au stress oxydant

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

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

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

Pour beaucoup de bactéries, le régulateur central pendant la phase stationnaire est le facteur sigma RpoS, qui est absent chez *C.jejuni*, mais malgré cela *C. jejuni* survit dans des environnements oligotrophiques et possède donc un mécanisme original de régulation (Dromigny, 2007).

En effet, quand les niveaux nutritifs ont diminué et que les métabolites toxiques se sont accumulés, *Campylobacter* n'a pas la capacité de former une réponse globale devant ces circonstances stressantes. Cependant, *Campylobacter* pour se protéger, il développe d'autres mécanismes comme l'augmentation d'expression du matériel capsulaire ou le changement de la composition des acides gras composant la membrane bactérienne (Dromigny, 2007).

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

#### III.5.1. Introduction au concept

Après la mise en évidence, d'une part des bactéries que l'on n'a pas encore réussi à cultiver comme par exemple *Helicobacter heilmannii* et d'autre part des bactéries à multiplication intracellulaire obligatoire, l'expression bactérie " Viable Non Cultivable" (VNC) devient plus favorablement acceptée par les microbiologistes (Cantet et al., 1999).

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

tube digestif d'un animal à sang chaud, faisant apparaître le concept VNC comme un problème de santé publique (Bloomfield et al., 1998).

### **III.5.2. Implication du concept**

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

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

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

### **III.6. La formation de biofilm**

Les *Campylobacter* sont capables de former des biofilms dans les environnements aquatiques (Buswell et al., 1998).

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

## **Chapitre IV :**

---

# **Campylobactériose aviaire**

---

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

### I.1. Dans les élevages

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

##### I.1.1.1. Dose infectante chez le poulet

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

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

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

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

##### I.1.1.3. Influence de l'âge

La colonisation naturelle par *Campylobacter* dépend de l'âge des volailles, les poussins ne sont pas porteurs, les poulets restent négatifs pour *Campylobacter* jusqu'à l'âge de 10 jours (Newell et Fearnley, 2003) et la plupart des lots ne deviennent positifs qu'à l'âge de 3 à 4 semaines. (Jacobs-Reitsma et al., 1995).

Les campylobacters n'entraînent pas de symptôme chez les volailles, et la colonisation persiste pendant toute la vie de la bande. Au fil du temps, le niveau d'excrétion diminue suggérant un rôle de l'immunité, cependant la durée de vie courte des poulets et des dindes ne permet au mieux qu'une réduction de 1 facteur 10 de l'excrétion (Wagenaar et al., 2006).

La raison pour laquelle les poulets ne sont pas contaminés avant l'âge de 10 jours n'est pas connue, les raisons invoquées sont l'immaturation du tube digestif, la composition de l'alimentation ou encore la présence d'anticorps maternels (Newell et Fearnley, 2003).

##### I.1.1.4. Saisonnalité

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

Haneau-Salaùn et al (2007) ont montré que sur la période de mars 2003 à mars 2004, 91.8% des lots élevés durant les mois de printemps et d'été étaient contaminés par *Campylobacter* spp, contre 73.9% en automne et 52,3% en hiver.

Réfreger-Petton et al (2001) quant à eux, mettent en évidence que 47% des lots élevés en été et en automne sont contaminés, contre 17% au printemps et 36% en hiver.

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

#### **I.1.1.5. Paramètres zootechniques**

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

#### **I.1.2. Prévalence de la contamination des élevages**

La proportion de lots de poulets contaminés par *Campylobacter* varie entre les pays, ce qui peut vraisemblablement liée à certain nombre de facteurs tels que : la localisation géographique et la saison (Heuer et al ., 2001 ; Kapperud et al., 1993 ), la taille de l'échantillon (Jeffrey et al., 2001), l'âge des sujets (Berndtson et al., 1996), le type d'échantillon, le milieu de culture utilisé, la technique d'isolement et les conditions d'incubation (Jorgensen et al., 2002).

En Europe, la prévalence varie de 18 à plus de 90%. Les pays du Nord de l'Europe ont des prévalences plus faibles que les pays du sud. Cependant, les raisons de ces écarts ne sont pas connues, mais les conditions climatiques peuvent être, au moins en partie, responsable de ces écarts (Peyrat, 2008).

#### **I.1.3. Sources et voies de contamination des élevages**

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

##### **a) Transmission horizontale**

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

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

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

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

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

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

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

#### **b) Transmission verticale**

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

#### **I.1.4. Mesures de contrôle des *Campylobacter* en élevages**

##### **a) Mesures de biosécurité**

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

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

##### **b) Mesures de contrôle additionnelles**

###### **① Utilisation des flores de barrière**

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

## ② Vaccination des poulets contre *Campylobacter*

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

- ☞ La variabilité antigénique des souches de *Campylobacter*.
- ☞ La méconnaissance des antigènes induisant une réponse protectrice.

### **I.2. Contamination des volailles pendant le transport**

#### **1.2.1. Étude de la contamination des lots de volailles par des souches de *Campylobacter* présentes initialement dans les caisses de transport**

Les volailles sont transportées de l'élevage à l'abattoir dans des caisses de transport. Ces caisses peuvent être en métal ou en plastique. Le sol des caisses peut être plein mais le plus souvent il est grillagé, différentes études ont mis en évidence que les caisses de transport utilisées pour les volailles entre l'élevage et l'abattoir étaient très souvent contaminées par des souches de *Campylobacter* (Berndtson et al. 1996 ; Newell et al., 2001 ; Hansson et al., 2005).

Ces mêmes études ont également démontré que des lots de volailles initialement négatifs pour *Campylobacter* pouvaient devenir positifs après l'abattage, et que les souches retrouvées sur les carcasses avaient été isolées dans les caisses de transport.

Cependant, il semblerait qu'il ne s'agisse pas d'une colonisation intestinale des volailles, mais d'une contamination extérieure du plumage (Rasschaert, et al., 2007).

#### **1.2.2. Mesure de contrôle des *Campylobacters* pendant le transport à l'abattoir**

##### ➤ **Mise à jeun des animaux**

La mise à jeun des oiseaux 8 à 12 heures avant le transport diminue le contenu intestinal. Cette mesure permet de réduire la contamination extérieure du plumage par des *Campylobacters* pendant le transport. Cependant, la mise à jeun et le transport sont des stress pour les volailles qui peuvent entraîner une augmentation de l'excrétion fécale en *Campylobacter*. Parallèlement, il a également été montré que l'augmentation du nombre de *Campylobacters* dans le tube digestif des volailles n'induisait pas forcément une augmentation de la contamination des carcasses à la fin des opérations d'abattage (Corry and Atabay 2001).

##### ➤ **Nettoyage et désinfection des caisses de transport**

En théorie, les caisses utilisées pour transporter les volailles sont nettoyées et désinfectées à chaque utilisation. Mais en raison de difficulté pour nettoyer les caisses, les produits désinfectants ne sont pas appliqués sur des surfaces propres et des études ont montré que le nettoyage et la désinfection des caisses de transport n'avaient que peu ou pas d'effet sur la présence de *Campylobacter* dans ces caisses (Newell, 2001 ; Hansson, et al. 2005).

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

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

Cependant, cette hypothèse mérite d'être confirmée en caractérisant des isolats collectés sur les animaux vivants, ainsi que sur la chaîne d'abattage.

Une étude japonaise menée par Ono et Yamamoto (1999) ont mis en évidence, par analyse RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), que la contamination à l'abattoir pouvait effectivement être attribuée au contenu intestinal des poulets. Deux types de contamination (auto-contamination et inter-contamination) prédominent à l'abattoir au cours des différents procédés d'abattage (voir Figure 9).

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

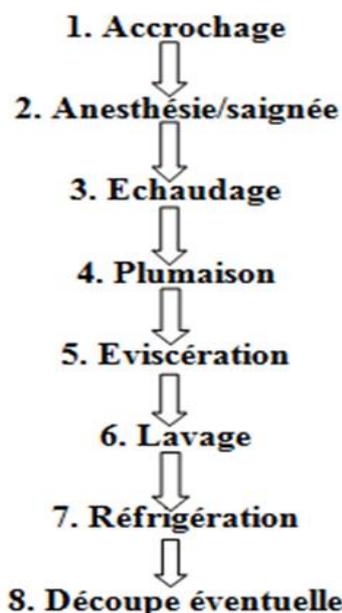


Figure 9. Diagramme simplifié des procédures l'abattage des volailles (Peyrat, 2008).

#### I.3.1. Contamination des carcasses pendant l'abattage et l'éviscération

##### 1.3.1.1. Origine de la contamination des carcasses

La contamination de la viande de volaille est surtout superficielle, et comme la peau n'est pas retirée, de nombreux microorganismes sont retrouvés sur ou dans la peau. Les *Campylobacter* présents sur la peau proviennent soit directement du contenu intestinal soit indirectement de l'équipement de l'abattoir. Les lots initialement négatifs pour *Campylobacter* deviennent fortement

positifs lorsqu'ils sont abattus après des lots positifs, et la proportion de carcasses positives augmente pendant l'abattage (Rivoal et al., 1999).

Comme nous l'avons vu précédemment, la prévalence des Campylobacters est importante dans la plupart des élevages avicoles, l'excrétion augmente à la faveur du transport et des contaminations croisées peuvent survenir lors du ramassage et du transport des poulets, les Campylobacters retrouvés à l'abattoir sont donc apportés par les lots porteurs, et la contamination des carcasses, des équipements, des mains et des produits finaux est d'origine intestinale (Oosterom et al 1983).

Une étude plus récente a utilisé le typage *fla* pour identifier les sources des souches à l'origine de la contamination des carcasses de 5 lots déterminés porteurs de *Cornpylobacter* spp avant l'abattage et de 2 lots non porteurs, dans la plupart des cas les mêmes sous-types étaient retrouvés tout le long de la chaîne d'abattage et étaient peu nombreux (2-3 sous-types différents isolés par lot) (Rivoal et al., 1999).

Dans tous les cas, un ou plusieurs sous-types isolés dans les caeca étaient retrouvés sur les carcasses à au moins un endroit sur la ligne d'abattage pour les lots positifs avant abattage, pour les deux lots négatifs, les sous-types isolés sur les carcasses lors de l'abattage ont été retrouvés dans les caisses de transport, ce qui laisse supposer une contamination croisée au moment du transport (Newell et al. 2001).

La nature des procédés d'abattage des volailles rend impossible la prévention d'une contamination croisée des lots négatifs par les lots positifs (Peyrat, 2008).

### **1.3.1.2. Principaux sites de contamination croisée des volailles pendant les procédés d'abattage (étapes et taux de contamination)**

Globalement, il est mis en évidence dans la plupart des études que la prévalence et le niveau de contamination des carcasses tant à diminuer avec les processus d'abattage décrit dans la figure (9). Cependant, lorsqu'on examine la contamination des carcasses à chaque étape du processus d'abattage, on constate que certaines étapes entraînent une augmentation de la contamination, tandis que d'autres tendent à la diminuer (Peyrat, 2008).

#### **❶ Dans le bac d'échaudage**

L'échaudage est l'étape de l'abattage consistant à plonger les poulets préalablement saignés dans un ou plusieurs bacs d'eau chaude successifs afin de dilater les follicules plumeux avant l'étape de plumaison.

Une diminution de la contamination des carcasses est observée après cette étape (Berrang et Dickens., 2000), Cette diminution dépend de plusieurs facteurs, notamment de la température de l'eau et du temps de passage dans les bacs successifs (Oosterom 1993).

#### **❷ Dans les plumeuses**

La plumaison consiste au passage des carcasses échaudées dans une machine composée de rotors munis de doigts en caoutchouc frappant les carcasses, ce qui, grâce à la dilatation des follicules plumeux due à l'échaudage, permet de retirer mécaniquement les plumes de la carcasse.

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

Musgrove et al (1997) ont voulu étudier la contribution des bactéries contenues dans le tractus intestinal distal à la contamination des carcasses durant la plumaison en bouchant le cloaque de plusieurs carcasses à l'aide d'un tampon. Ensuite, ils comparent la contamination des carcasses ainsi traitées avec celle de carcasses non traitées après l'étape de plumaison, ils ont mis en évidence une contamination par *Campylobacter* spp significativement moins importante pour les carcasses traitées (2.5 log UFC/ml de liquide de rinçage contre 3.0 log UFC/ml).

Une étude expérimentale a montré qu'une faible quantité de contenu caecal contaminé déposée sur une demi-carcasse entraînait une augmentation significative de du nombre de Campylobacters isolés par rapport à la demi-carcasse de contrôle (Berrang et al., 2004).

#### ③ Pendant l'éviscération

D'après une étude menée par l'AFSSA en 2004, 92,5% des lots abattus ont subi une éviscération automatique, Cette étape est précédée par une incision automatique autour du cloaque, puis une cuillère mécanique pénètre dans la carcasse et retire l'ensemble des viscères abdominaux et thoraciques (excepté les poumons et les reins).

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

#### ④ Pendant le rinçage interne et externe et ressuage

Le rinçage interne / externe de la carcasse est une étape succédant à l'éviscération et précédant le ressuage permettant de réduire la contamination visuelle et de contrôler partiellement la contamination des carcasses (Berrang et al. 2000), alors que l'étape de ressuage consiste à refroidir les carcasses avant conditionnement,

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

L'utilisation d'eau chlorinée lors du ressuage par immersion permet de réduire significativement la contamination finale des carcasses (Berrang et al., 2007).

#### ⑤ Pendant le conditionnement

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

Le conditionnement a également un impact sur la contamination, dans la plupart des abattoirs, les volailles sont directement mises sous emballage (film étirable) après le refroidissement pour éviter les changements de couleur et les pertes de poids éventuelles, mais cette pratique va également protéger les bactéries, il a été montré que les *Campylobacters* peuvent survivre au moins une semaine à 4 °C et trois mois sur des carcasses de poulets congelées (Svedhem et al., 1981).

Si une partie des *Campylobacters* est détruite par la congélation, les *Campylobacters* survivants peuvent rester viables pendant de longues périodes, les produits de volaille achetés dans différents points de vente et conservés à 4 °C sous film étirable sont souvent contaminés par des *Campylobacters* : 30 à 69 % des carcasses de volailles (Willis et Murray, 1997) et 67,7 % des ailes de poulets (Flynn et al., 1994).

Les différents types de conditionnement, sous atmosphère modifiée (teneur en O<sub>2</sub> contrôlée) ou sous vide, dont le but est de prolonger la durée de vie des produits de volailles, entraînent une diminution du nombre des *Campylobacters* dans les premiers jours, mais ne contribuent pas à leur élimination totale, étant donné la forte contamination initiale.

#### **1.3.1.3. Contamination de la peau des volailles par les *Campylobacters* pendant l'abattage**

Pendant la phase d'échaudage ou au cours des différents rinçages, la peau des volailles absorbe l'eau. Les *Campylobacters* (initialement présents ou apportés par les fientes, le contenu intestinal ou les différentes machines) adhèrent à la peau d'abord par des mécanismes physicochimiques puis par des liaisons plus permanentes entraînant la formation d'un biofilm difficile à retirer si le rinçage de la peau n'est pas réalisé immédiatement après la contamination. En particulier, les microorganismes seront retenus dans la fine couche d'eau présente à la surface de la carcasse après l'échaudage.

Le rinçage des carcasses permet de retirer une partie de la contamination mais la peau se gorge d'eau et les *Campylobacters* sont retenus dans les plis et les brèches de la peau, en particulier les follicules plumeux (Corry and Atabay 2001).

En raison des modalités de l'abattage des volailles, la contamination croisée entre les lots est inévitable ce qui conduit à un nombre de carcasses contaminées en fin de chaîne important (jusqu'à 100%) et à des niveaux de contamination très élevés (de l'ordre de 10<sup>2</sup> à 10<sup>4</sup> UFC/g de peau) (Corry and Atabay 2001).

#### **1.3.1.4. Autres facteurs de variation de la contamination des carcasses**

##### **➤ La saisonnalité**

Comme pour la prévalence des campylobacterioses humaines et de la contamination des bandes par *Campylobacter* spp dans les élevages avicoles, la plupart des études rapportent une saisonnalité de prévalence et du niveau de contamination des carcasses de poulets par *Campylobacter* spp à

l'abattoir, avec un pic durant les mois d'été et les valeurs les plus faibles enregistrées en hiver (Hansson, 2007)

➤ **Souches de *Campylobacter* spp**

Deux études utilisant le typage de la gène fla de *Campylobacter* spp ont montré des variations dans les souches retrouvées sur les carcasses à différentes étapes de l'abattage, la diversité génétique des bactéries trouvées en début de chaîne d'abattage est plus importante que celle en fin de chaîne.

Certaines souches, probablement plus aptes à s'adapter aux différents stress environnementaux inhérents au processus d'abattage sont retrouvées tout au long de l'abattage sur les carcasses du lot et parfois sur les lots suivants. Les souches les moins adaptées ne sont retrouvées que sur le début de la chaîne d'abattage (Newell et al., 2001).

## II. UTILISATION DES ANTIBIOTIQUES CHEZ LA VOLAILLE

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

La relation entre l'usage des antibiotiques dans les élevages de volailles et la résistance aux antibiotiques chez les *Campylobacter* isolés chez la volaille a été mise en évidence par trois types d'études (Peyrat, 2008) :

➤ Des études descriptives qui comparent l'évolution des taux de résistance des *Campylobacter* à divers antibiotiques en fonction de leur mode d'utilisation dans la filière aviaire (études en conditions réelles)

➤ Des études expérimentales avec la mise en œuvre d'essais cliniques,

➤ Des études étiologiques par la réalisation d'essais cliniques sur le terrain en conditions réelles.

Certaines études ont montré que l'utilisation des antibiotiques chez la volaille sélectionne les souches de *Campylobacter* résistantes à ces antibiotiques (McDermott et al., 2002). Cependant, la relation entre l'utilisation des antibiotiques et la résistance n'est pas toujours aussi simple, de nombreux facteurs influencent la sélection et la diffusion de l'antibiorésistance, et en particulier (Sanders 1999) :

- La population bactérienne concernée
- Les effets liés à la pharmacocinétique de l'antibiotique
- Les effets liés aux traitements de la volaille : les doses utilisées et la durée du traitement, le

nombre d'animaux traités, les pratiques d'élevage.

Ainsi, une étude réalisée par Lin et al (2007) a mis en évidence que l'érythromycine utilisée à faible dose pendant une longue période (facteur de croissance) sélectionne les souches de *Campylobacter* résistantes, alors que la même molécule utilisée dans un but thérapeutique (dose

plus importante et pendant une courte période) ne sélectionne pas de souche résistante parce que le taux de mutation conduisant à la résistance à l'érythromycine est très faible chez *Campylobacter*.

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

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

Dès 1976, dans une étude portant sur des poulets ayant reçu de la tétracycline dans l'alimentation, il a été observé un transfert de gènes de résistance entre les souches d'*Escherichia coli*, entre les poulets et l'Homme (Levy et al., 1976).

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

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

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

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

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

## **Chapitre V :**

---

# **Campylobactériose humaine**

---

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

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

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

## I. PATHOGÉNIE

### I.1. Absorption d'une dose infectieuse

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

Une fois la barrière gastrique passée, les conditions d'environnement dans l'intestin sont favorables au développement de *Canrpylobacter* spp (Peyrat, 2008).

### I.2. Colonisation du tube digestif et le rôle du flagelle

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

### I.3. Adhésion aux cellules hôtes

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

### I.4. Invasion des cellules hôtes et production de toxines

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

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

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

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

## II. SYMPTÔMES CLINIQUES

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

La variété, l'intensité, la fréquence et la durée des signes cliniques et des symptômes varient selon les individus, notamment en fonction de leur capacité de réponse immunitaire (Figure 10).

Ces symptômes varient d'un bref épisode de gastro-entérite à une entérocolite sévère durant plusieurs semaines, accompagnée de douleurs abdominales et d'une diarrhée sanglante (Ketley, 1997).

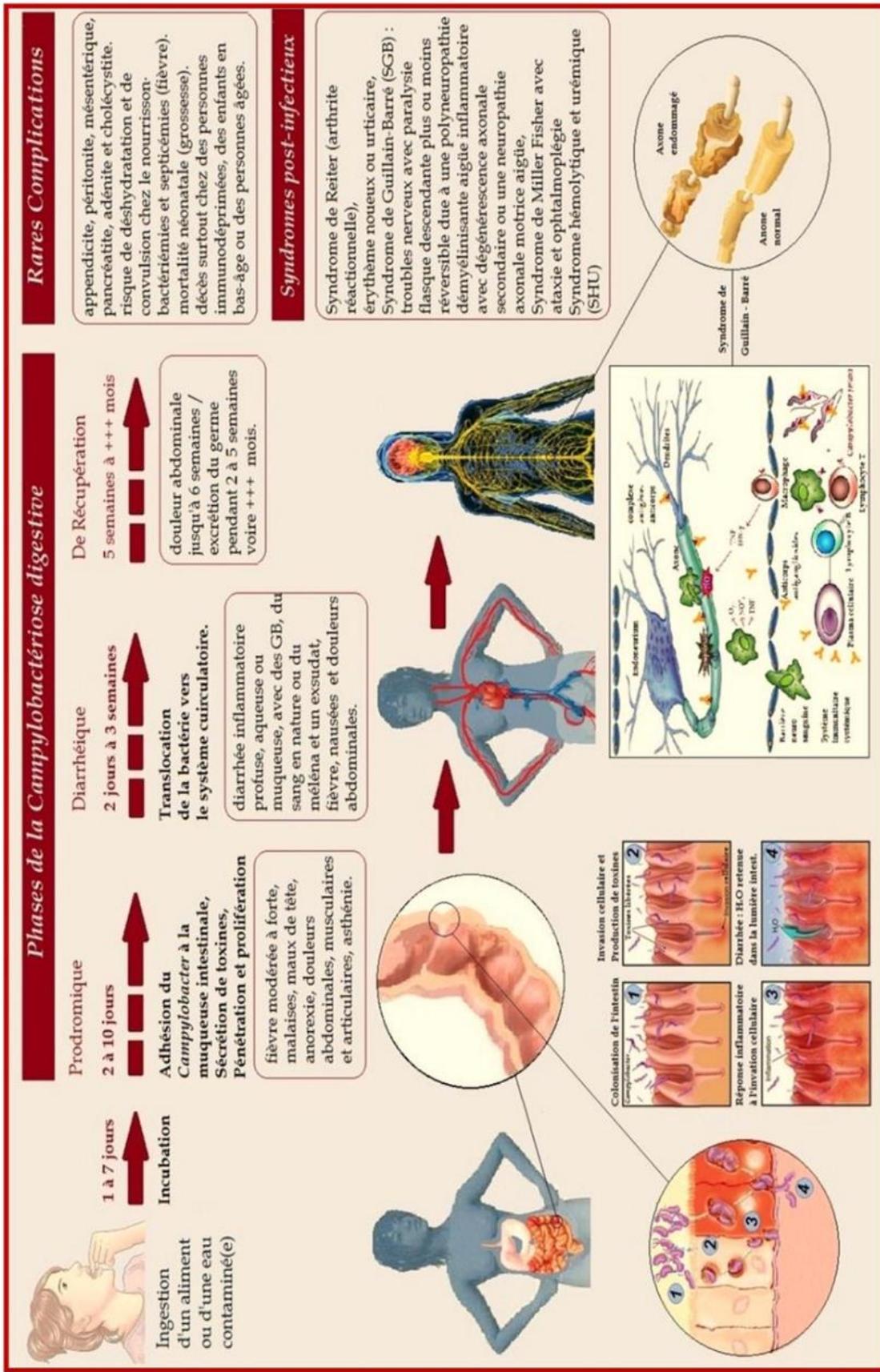


Figure 10. Schéma englobant les signes cliniques de la campylobactériose et son évolution et détaillant les atteintes intestinales et nerveuses (SGB) (Charrat, 2017)

## II.1. Entérite

Une association entre la présence des *Campylobacter* et l'entérite a été montrée et les critères de causalité ont été remplis (Skirrow, 1977).

Les entérites sont provoquées dans plus de 90% des cas par *C. jejuni* et pour le reste par *C. coli*, on pourra néanmoins rencontrer des formes de campylobactériose entérique à *C. fetus* mais avec proportions très minimes (Thomas, 2009).

L'incubation dure 3-4 jours en moyenne (AFSSA, 2003) voire plus (7 jours), cette durée d'incubation relativement longue ne facilite plus la recherche des aliments à incriminer lorsqu'il s'agit d'un épisode de toxi-infection alimentaire (Thomas, 2009). Typiquement les premiers signes apparaissent sont constitués de la fièvre en général modérée (rarement supérieure à 39 °C), associée à des diarrhées profuses, parfois sanguinolentes accompagnées à des vomissements et à des crampes abdominales, c'est bien que la diarrhée fait presque toujours partie du tableau clinique. Elle est d'abondance variable, elle est surtout de type inflammatoire et parfois profuse, tout l'intestin peut être concerné mais en particulier le colon. Les vomissements sont peu fréquents signifiant l'absence d'atteinte gastrique (AFSSA, 2003), ils sont associés à des douleurs abdominales surtout localisées à la région péri-ombilicale.

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

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

L'entérite à *Campylobacter* peut survenir à tous les âges de la vie mais le tableau peut présenter des variantes en fonction de l'âge du patient. Chez le nourrisson, un risque de déshydratation et de convulsions existe.

L'allaitement maternel protège en partie de l'expression clinique de l'infection (Nachamkin et al., 1994). Dans les pays en développement où l'exposition est très fréquente, l'enfant souffre d'infections successives, une immunité s'installe qui aboutit à un portage asymptomatique (Diarra., 1993, cité par AFSSA, 2003).

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

## II.2. Infections systémiques

Bien que les *Campylobacter* soient capables de transloquer dans le torrent circulatoire, les bactériémies sont rares (Pacanowski et al., 2008) en raison de la sensibilité des *Campylobacter* à

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

### II.3. Syndromes post-infectieux

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

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

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

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

Les relations entre les SGB et l'infection par *C. jejuni* (Figure : 11) ont fait l'objet de nombreux travaux, des recherches moléculaires ont mis en évidence l'existence sur certaines souches de *C. jejuni* des motifs sucrés identiques à ceux des gangliosides, il existe une grande diversité des souches de *C. jejuni* qui se différencient par la structure des résidus d'oligosaccharides.

Le sérotype O : 19 a des oligosaccharides communs avec les gangliosides GM1 et GD1b, un autre sérotype, le O : 2 possède des résidus sucrés identiques à ceux des gangliosides GT1a. C'est donc le sérotype de *C. jejuni*, par lequel le malade a été infecté, qui peut déterminer le type d'anticorps anti-gangliosides et la nature de l'atteinte neurologique qui en résulte (Humbel, 2009).

Ce syndrome est la cause la plus commune de paralysie neuromusculaire aiguë dans le monde industrialisé. En effet, dans 50% à 75% des cas, le SGB est précédé d'une infection aiguë reconnue.

En ce qui concerne *C. jejuni*, on sait qu'au moins 30% à 40% des patients souffrant du SGB ont d'abord été infectés par cette bactérie dans les 10 jours à 3 semaines précédant leurs symptômes neurologiques.

En plus, Allos (1997) rapporte que lorsque le GBS survient suite à une infection au *Campylobacter*, la maladie est plus sévère et résulte plus souvent en des dommages neurologiques irréversibles (20% des cas) que lorsqu'un autre agent infectieux précède le syndrome (Allos, 1997), le traitement consiste en une plasmaphérèse

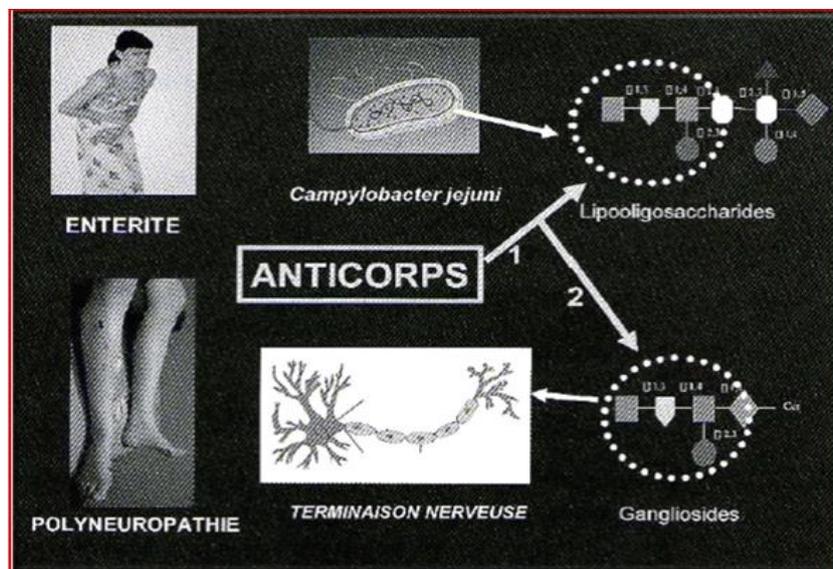


Figure 11. La relation entre *C. jejuni*, anticorps anti gangliosides et SGB (Humbel, 2009).

### III. ÉPIDÉMIOLOGIE DE L'INFECTION À *CAMPYLOBACTER* CHEZ L'HOMME

#### III.1. Incidence de la maladie

Les *Campylobacter* sont reconnus comme une des principales voire la première cause de gastro-entérites bactériennes d'origine alimentaire dans le monde (Murphy et al., 2006), c'est bien que l'incidence annuelle estimée des infections à *Campylobacter* dans les pays industrialisés varie selon les pays (Figure :12) (AFSSA, 2003). En Europe, durant l'année 2009, *Campylobacter* a continué d'être le pathogène bactérien incriminé dans les gastro-entérites le plus isolé dans l'union européen et cela depuis 2005, c'est bien que, *C. jejuni* était l'espèce la plus fréquemment isolée avec 36.4% des cas déclarés, suivi par *C. coli* (2,5%) et d'autres espèces (10,1%) dont *C.lari* (0,19%) et *C. upsaliensis* (0,01%). (EFSA, 2011).

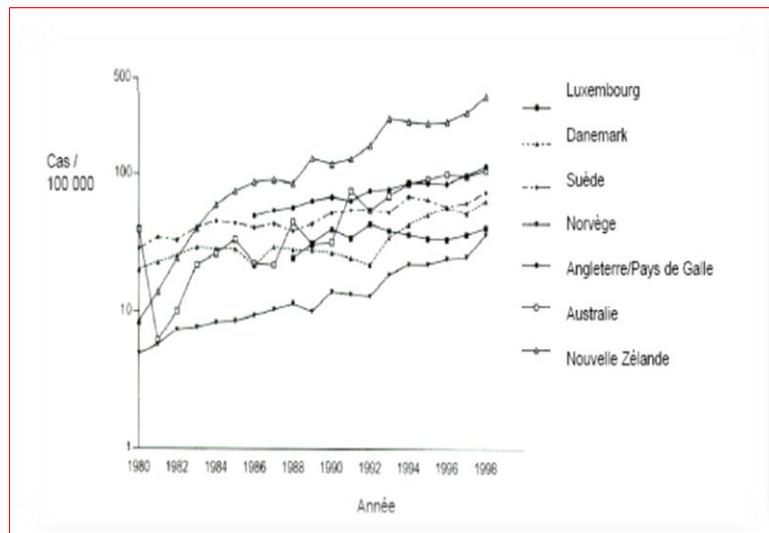
La recherche de *Campylobacter* dans les coprocultures n'étant pas systématique en France, et cette recherche étant relativement difficile, le nombre de cas confirmés estimé à partir du nombre de cas confirmés observé est une sous-estimation du nombre de cas qui auraient pu être confirmés.

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

1) Il existe un défaut de diagnostic des *Campylobacter* :

- ➔ Le diagnostic bactériologique d'une infection à *Campylobacter* est techniquement plus difficile que celui des infections à *salmonella* tant chez l'Homme que dans l'aliment incriminé.

- Il n'y a pas de recherche systématique de *Campylobacter* dans les coprocultures par les laboratoires contrairement aux salmonelles.
- Les praticiens ne pensent pas à demander la recherche de *Campylobacter* dans les coprocultures.
  - 2) Les *Campylobacter* sont rarement en cause dans les TIAC de grande ampleur, parce que, contrairement aux salmonelles, ils ne peuvent se multiplier dans les aliments.
  - 3) La durée d'incubation des *Campylobacter* est longue, ce qui contribue à majorer les difficultés diagnostiques, en raison de délais plus prolongés entre le moment de la contamination, l'événement aigu de la maladie et les démarches d'investigation. (Peyrat, 2008).



**Figure 12. Incidence des infections à *Campylobacter* dans sept pays industrialisés de 1980 à 1998 (AFSSA, 2003)**

### III.2. Formes épidémiologiques, réservoirs et mode de transmission de *Campylobacter*

Trois formes épidémiologiques de campylobactériose digestive peuvent être distinguées (Simon, 2010)

- ❶ **La forme épidémique** : un seul aliment est à l'origine de la contamination de plusieurs personnes
- ❷ **La forme sporadique** : un aliment particulier est identifié pour chaque personne atteinte.
- ❸ **La forme professionnelle** : maladie professionnelle en raison du fort risque d'exposition (agriculteurs, vétérinaires et les ouvriers d'abattoir...).

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

Le principal réservoir de *Campylobacter* est de loin l'espèce animale, que ce soit des animaux domestiques, d'élevage ou sauvages. Ces animaux vont pour la plupart héberger ce *Campylobacter* au sein de leur appareil digestif sans pour autant en exprimer des manifestations cliniques : on

parlera alors de portage asymptomatique chez l'animal. Néanmoins, selon l'espèce animale concernée, on pourra remarquer de grandes disparités quant à la présence ou non de *Campylobacter*.

Les oiseaux et oiseaux de basse-cour semblent être un hôte de choix pour les *Campylobacter* (Thomas, 2009).

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

La circulation des *Campylobacter* entre ces trois réservoirs et les modes de transmission des *Campylobacter* sont résumés dans la figure 13.

Les *Campylobacter* sont peu pathogènes pour l'animal et de nombreux animaux sont porteurs de *Campylobacter*, les réservoirs sont les animaux domestiques, les animaux de compagnie et les animaux sauvages, si le contact avec des animaux domestiques ou de compagnie a été retrouvé comme facteur de risque des infections à *Campylobacter* chez l'Homme, 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).

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. Les cas sporadiques sont la principale forme d'expression des infections à *Campylobacter*. Cependant, les cas sporadiques pourraient correspondre à des épidémies communautaires ou cas groupés non détectés par des systèmes de surveillance insuffisamment performants (Friedman et al., 2000).

Les volailles ont une importance considérable dans l'épidémiologie des campylobactérioses humaines. En effet, la plupart des études cas-témoins établissent que la viande de poulet est la principale source d'exposition du consommateur à *Campylobacter* spp. (Allos, 2001). D'autres aliments, comme les produits laitiers ou la viande de porc, peuvent être à l'origine d'infections par *Campylobacter* spp. (EFSA, 2009).

Le contact avec des animaux de compagnie ou domestiques infectés, les voyages à l'étranger (pays en voie de développement), le contact avec de la viande crue dans le cadre d'une activité professionnelle, les activités aquatiques sont également des facteurs de risque d'acquisition des infections à *Campylobacter* (Vellinga et Van Loock, 2002).

La transmission interhumaine est rare (Winquist et al., 2001 ; Lehours et al., 2012).

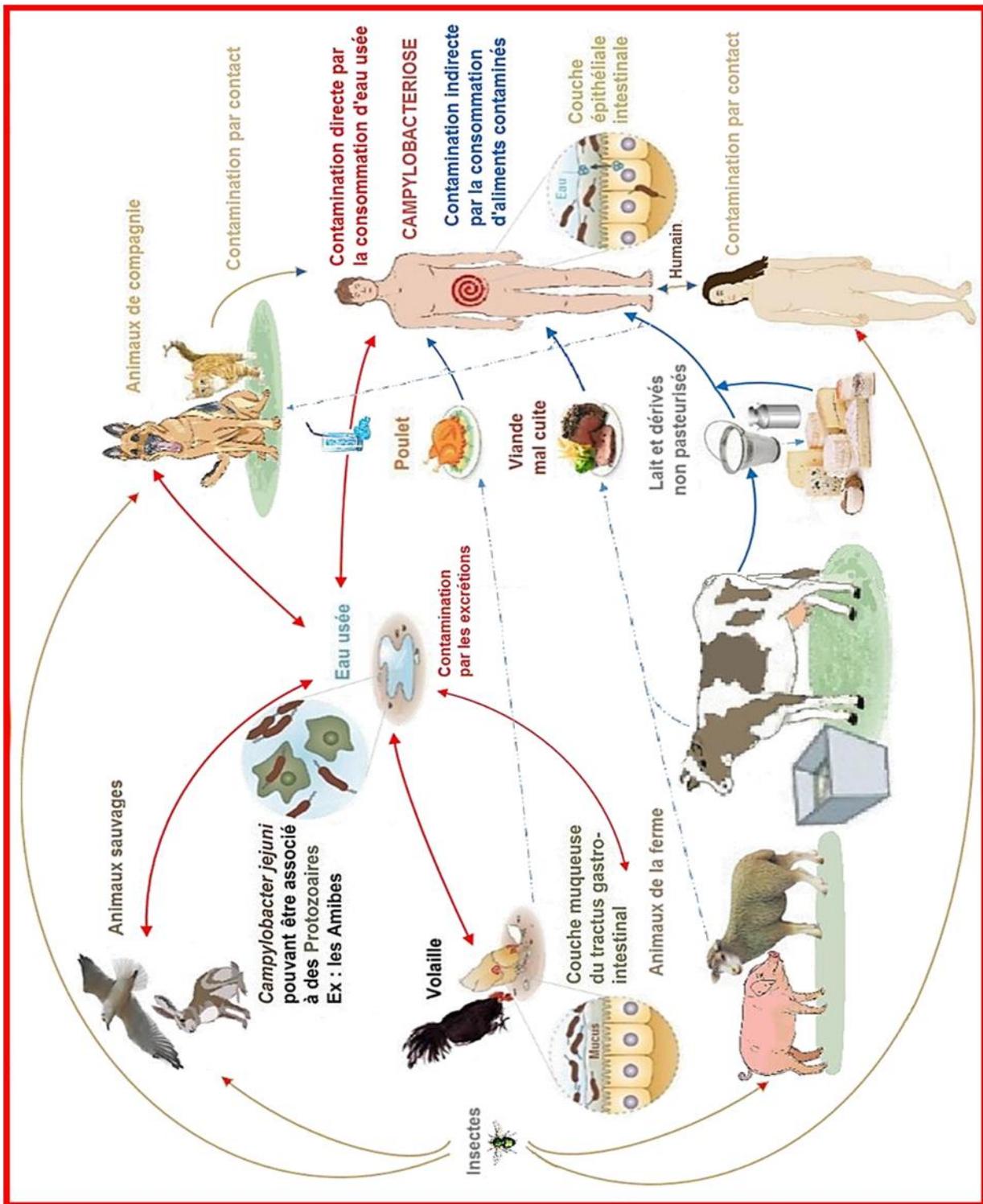


Figure 13. Schéma illustrant le cycle de vie du *Campylobacter* (Charrat, 2017)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### IV. FACTEURS ET MÉCANISMES DE VIRULENCE

##### IV.1. Définition

Une bactérie pathogène est un microorganisme capable de causer une maladie à une plante ou un animal, la pathogénèse est l'habilité à provoquer une maladie chez l'organisme hôte, de manière générale les microbes expriment leur pathogénèse à travers leur virulence. Le degré de virulence d'un microorganisme pathogène est conféré par soit un déterminant génétique, biochimique ou une structure particulière provoquant une maladie chez l'organisme hôte.

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

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

#### IV.2. Fonction de virulence du flagelle (la motilité)

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

Pour *C. jejuni*, la possession du flagelle et la motilité chimiotactique sont des préalables bien établis de la virulence dans les modèles disponibles in vivo et in vitro. En effet, la motilité et le chimiotactisme sont nécessaires pour la pénétration du mucus de l'estomac et de l'intestin, de sorte que *Campylobacter* puisse se positionner correctement par rapport à l'épithélium gastro-intestinal (Penn, 2001). Des mutants n'expriment plus la flagelline montrent des phénotypes d'adhérence atténuées (Yao et al., 1994, cité par Bolla, 2008).

#### IV.3. Facteurs d'adhésion

L'adhérence des bactéries sur la surface épithéliale est probablement une cause déterminante et importante pour la colonisation et peut augmenter la concentration locale des produits bactériens sécrétés (Dromigny, 2007). L'adhérence des bactéries sur la surface épithéliale est probablement une cause déterminante pour la colonisation et peut augmenter la concentration locale des produits bactériens sécrétés (Dromigny, 2007).

L'adhérence a été étudiée intensivement in vitro, mais des adhésines spécifiques, sur le corps bactérien, n'ont pas été identifiées, mises à part certaines adhésines putatives identifiées par leur gène (Kelle et al. 1998) ou récemment la protéine PEB1a de *Campylobacter jejuni* négociant des interactions avec les cellules épithéliales (Leon-Kempis Mdel et al., 2006).

#### IV.4. Facteurs d'invasion

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

*Campylobacter jejuni* sécrète un ensemble de protéines nommées antigènes d'invasion de *Campylobacter* (protéines Cia) de 12,8 à 108 kDa, Ces antigènes jouent un rôle crucial dans l'internalisation des *C. jejuni* avec les cellules animales (Konkel et al., 1999).

#### IV.5. Glycosylation

##### ➤ Glycosylation de protéines

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

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

##### ➤ Le système d'O- glycosylation

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

##### ➤ Le système de N-glycosylation

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

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

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

## V. TRAITEMENT

### V.1. Utilisation des antibiotiques

L'excrétion du germe peut durer de 2 à 5 semaines, voire plusieurs mois. L'antibiothérapie de choix semble être à base de macrolides (L'érythromycine notamment) grâce à leur résorption intestinale rapide ainsi qu'à leur spectre étroit qui perturbe peu la flore intestinale, de plus l'excrétion fécale de *Campylobacter* est rapidement interrompue. Cependant la médication survient généralement trop tard pour réduire la durée des signes cliniques (Dromigny, 2007).

La prévalence des souches de *Campylobacter* résistantes à l'érythromycine reste faible et stable (Butzler, 2001).

Pour Butzler, l'entérite à *Campylobacter* a un très bon pronostic, et l'isolement de ces micro-organismes des selles ne justifie pas l'antibiothérapie. En l'absence d'antibiothérapie, les selles restent positives environ 2 à 7 semaines après la maladie (Butzler et al., 2001).

La plupart des antibiotiques sont efficaces pour traiter les campylobactérioses humaines, les antibiotiques couramment prescrits dans le traitement des infections par *Campylobacter* spp sont l'érythromycine (macrolide) chez l'enfant et la ciprofloxacine (fluoroquinolone) chez l'adulte (Nelson et al., 2007).

Cependant, les macrolides et les fluoroquinolones ne doivent pas être prescrits en première intention, sans diagnostic de certitude, car les bénéfices thérapeutiques chez les adultes ou les enfants présentant une atteinte peu sévère sont limités, voire nuls, et les risques d'antibiorésistance sont plus importants (Cox et Popken, 2006).

La thérapie antibiotique est indiquée pour les patients à forme grave avec entérite, fièvre persistante, diarrhée sanglante, plus de huit jours ou perte significative de poids, ainsi que les HIV-positifs ou les immunodéprimés. Quand la thérapie antimicrobienne est indiquée, l'érythromycine est le traitement de choix (efficace, faible toxicité et peu coûteux) (Ashkenazi et al., 1987)

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

### V.2. Résistance des *Campylobacter* aux antibiotiques

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

Les macrolides restent les antibiotiques de choix, la résistance à l'érythromycine reste très faible (Nachamkim et al., 2000). De plus, les fluoroquinolones, très efficaces contre les bactéries

entériques, sont utilisées pour traiter les diarrhées bactériennes graves, la ciprofloxacine étant largement utilisée chez les voyageurs (Gibreel et al., 1998). L'émergence de la résistance à ces molécules rend leur efficacité moins certaine. La résistance a été rapportée chez certains patients après un traitement aux fluoroquinolones (Bacon et al., 2000), et coïncidait avec l'introduction de ces molécules en médecine vétérinaire (Aarestrup et Engberg, 2001). Cependant, un nombre croissant des souches de *Campylobacter* résistantes à ces antibiotiques sont actuellement isolées dans plusieurs pays, à la fois dans les échantillons humains et alimentaires. En effet, depuis les années 1990, la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones augmente, et elle est reconnue comme étant un problème émergent de santé publique dans plusieurs pays européens (Engberg et al., 2001).

### V.2.1. Détection de la résistance aux antibiotiques

Généralement il existe 2 méthodes

#### ❶ Méthodes traditionnelles

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

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

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

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

#### ❷ Méthodes génétiques

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

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

Chez *Campylobacter*, de nombreux mécanismes de résistance ont été identifiés ainsi que les gènes responsables. La détection de ces gènes permet l'étude de l'épidémiologie de la résistance chez *Campylobacter* en apportant des connaissances soit sur l'accumulation soit sur la dissémination de ces gènes au sein des populations de *Campylobacter* étudiées.

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

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

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

#### a) Résistances intrinsèques

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

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

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

#### b) Résistances acquises

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

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

#### b. 1) Résistance aux bêta-lactamines

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

*C. coli* est plus sensible aux bêta-lactamines que *C. jejuni* en particulier à l'ampicilline et à l'amoxicilline. La résistance aux bêta-lactamines est due à une interdiction de pénétrer dans la cellule et secondairement à la production des bêta-lactamase (Dromigny, 2007). La résistance semble

être chromosomique et environ 92% de *C. jejuni* et *C. coli* produisent des bêtalactamases (Federighi., 1999, cité par Peyrat, 2008).

### **b2) Résistance aux fluoroquinolones**

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

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

### **b3) Résistance aux macrolides : l'érythromycine**

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

Les mutations conduisent à une mutation de haut niveau et concernent les positions 2074 et 2075 de l'ARNr 23S. Plus rarement, des mutations affectant les protéines structurales L4 et L22 du ribosome ont aussi été décrites mais dans ce cas le niveau de résistance est plus faible (Corcoran et al, 2006).

Un second type de résistance a été rapporté et concerne les mécanismes d'efflux dont la pompe *CmeABC*, le rôle de ce type de résistance a été mis en évidence par l'utilisation d'un inhibiteur d'efflux : phénylalanine-arginine  $\beta$ -naphthylamide (PA $\beta$ N), qui peut augmenter de manière significative la susceptibilité de *Campylobacter* à l'érythromycine (Mamelli et al., 2003).

### **b4) Résistance au chloramphénicol**

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

### **b5) Résistance aux tétracyclines**

La résistance à la tétracycline est en générale plasmidique, elle due à la présence d'un gène nommé *tet(O)* (Taylor et al., 1988), les plasmides portant ce gène sont transférables, notamment par conjugaison, ce qui conduit à une diffusion importante de la résistance, le gène *tet(O)* conduit au déplacement de la tétracycline de son site de fixation sur le ribosome, libérant ainsi celui-ci de l'activité inhibitrice de la drogue. (Connell et al., 2003).

## VI. VACCINATION

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

PEB1 est un facteur putatif d'adhérence et de colonisation, c'est une protéine fortement immunogène et conservée parmi les souches de *Campylobacter jejuni*. Cependant, une étude démontre que des niveaux pourtant significatifs d'IgG anti-PEB sériques ne se sont pas révélés protecteurs contre *C. jejuni* par voie orale (Sizemore et al., 2006).

## **Chapitre VI :**

---

# **Méthodes de détection**

---

## I. DÉTECTION ET ISOLEMENT DES *CAMPYLOBACTER*

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

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

#### I.1.1. Microaérophilie

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

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

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

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

#### I.1.2. Température

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

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

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

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

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

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

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

### I.1.4. Le PH

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

## I.2. Méthodes de détection

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

L'origine des prélèvements influe sur :

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

### I.2.2. Prélèvement des échantillons

#### ↪ Volailles

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

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

#### ↳ L'Homme

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

### I.2.3. Transport des échantillons

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

### I.2.4. Traitement des échantillons

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

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

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

#### ❶ Isolement direct

Selon la norme ISO 10272, pour les produits suspectés de contenir une quantité importante de *Campylobacter*, procéder à un isolement direct en ensemençant la suspension mère non incubé sur la surface de la gélose Karmali et un autre milieu. Puis incuber à 42 °C en atmosphère microaérophile, et examiner après 48 heures, 72 heures voire 5 jours, pour contrôler s'il y a présence de colonies présumées être des *Campylobacter* (AFNOR, 1995).

## ② Enrichissement

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

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

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

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

#### I.2.5.1. La Filtration passive

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

Pour la filtration passive, les fèces sont mélangées avec le PBS (dilution au 1/10e environ) pour préparer une suspension. Environ 100 µl de cette suspension sont ensuite déposés délicatement sur une membrane avec des pores de 0,45 ou 0,65 µm, qui a été au préalable placée à la surface d'une gélose au sang non sélective. Une incubation de 30 à 45 min à 37 °C ou à température ambiante permet de laisser les bactéries migrer à travers les pores du filtre. Le filtre est ensuite retiré, le fluide qui a traversé le filtre est étalé à l'aide d'un étaleur stérile en verre ou en plastique et la boîte est incubée en atmosphère microaérophile à 42 °C (OIE, 2005).

#### I.2.5.2. Milieux sélectifs pour isolement

De nombreux milieux sont d'usage courant pour la culture de *Campylobacter* spp. les milieux sélectifs peuvent être divisés en 2 grandes catégories : les milieux contenant du sang et les milieux contenant du charbon. Les composants du sang et le charbon permettent d'éliminer les dérivés oxygénés, la sélectivité des milieux dépend des antibiotiques utilisés (Tableau 4).

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

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

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

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

La composition du milieu d'enrichissement de Preston et de 3 milieux sélectifs (Skirrow, Karmali et Butzler) est indiquée dans le tableau (4).

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

#### **a) Inoculation du milieu sélectif**

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

#### **b) Incubation**

##### **b.1) Atmosphère**

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

##### **b.2) Température d'incubation**

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

### b.3 Durée d'incubation

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

### c) Identification des *Campylobacter*

#### c.1.) Aspect des cultures

Sur la gélose Karmali, les colonies caractéristiques sont grises, humides et plates, avec une tendance à l'étalement (AFNOR, 1995) (figure 14).

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

#### c.2) Identification au microscope

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

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

La figure 15 montre schématiquement l'aspect de *Campylobacter jejuni* ainsi que les bactéries voisines (*Campylobacter fetus* subsp. *fetus*) à la coloration de Gram.

**Tableau 4. Composition des principaux milieux solides et liquides pour les *Campylobacter* thermotolérants (Corry et al., 1995)**

	Milieu de Base	Système Antioxydant	CFZ (mg/l)	Polymyxine B ou Colistine (C) (UI)	Rifampicine (UI)	Antifongique (mg/l)	TMP mg/l
<b>Preston</b>	Bouillon nutritif	5% sang de CV Lysé	-	5000	10	Cycloheximide50	-
<b>Skirrow</b>	Gélose au sang	7% sang de CV Lysé	-	2500	-	-	5
<b>Karmali</b>	Gélose Colombia	4 g de charbon, 0.32g hématine 0.1g pyruvate de sodium	32	-	-	-	-
<b>Butzler</b>	Bouillon nutritif	5-7% de sang de mouton	15	10000	10	Amphotéricine B	-

CFZ =Céfopérazone ; TMP = triméthoprime



Figure 14. Aspect des colonies de *Campylobacter* sur gélose Karmali (Lehour et al., 2012)

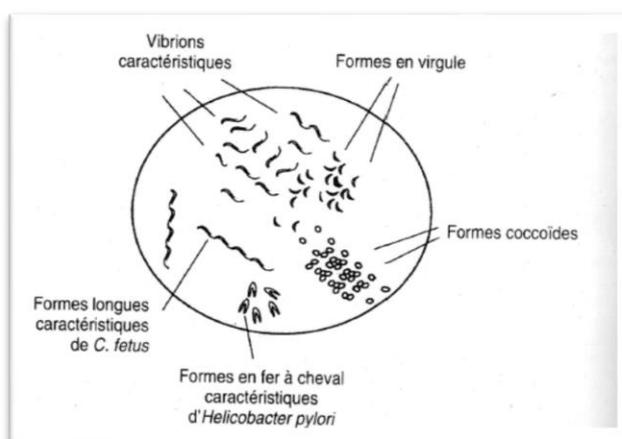


Figure 15. Représentation schématique de *Campylobacter* en coloration de Gram (Dromigny

### c.3) L'identification phénotypique (confirmation)

Une culture pure est nécessaire pour les tests de confirmation, les tests de confirmation de la présence de *Campylobacter* et leur interprétation sont donnés dans le tableau (5), des témoins positifs et négatifs doivent valider les résultats des tests de confirmation.

#### ⇒ Détection de l'oxydase

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

#### ⇒ Fermentation des sucres et production de sulfure d'hydrogène

Une gélose TSI = Gélose au citrate de fer et aux 3 sucres est inoculée par des stries longitudinales sur la pente et par piqûre profonde jusqu'au fond de la gélose. Incuber en atmosphère microaéroophile à 42 °C pendant 24 à 48 h. L'interprétation des résultats se fait selon le tableau (6).

#### ⇒ Croissance à 25 °C

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

**Tableau 5. Tests de confirmation pour les *C. thermotolérants* (Dromigny, 2007).**

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

**Tableau 6. Interprétation des résultats de la gélose TSI (AFNOR, 2004)**

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

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

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

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

Le tableau (7) montre quelques caractéristiques phénotypiques des espèces les plus importantes de *Campylobacter* thermotolérants. La sensibilité à l'acide nalidixique était une des caractéristiques

les plus utilisées, mais elle risque de poser des difficultés d'interprétation du fait de l'augmentation des souches de *C. jejuni* et *C. coli* résistantes à l'acide nalidixique et de l'isolement de génogroupes de *C. lari* sensibles à l'acide nalidixique, les résultats du diagnostic d'espèce devraient être confirmés à l'aide de témoins positifs et négatifs définis (OIE, 2005).

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

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

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

#### **c.4.2.) Détection de l'activité catalase**

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

Ce genre est composé de deux groupes : l'un catalase positive contenant notamment *C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari*, l'autre catalase négative contenant *C. upsaliensis* (Dromigny, 2007).

### **I.3. Détection moléculaire de *Campylobacter***

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

**Tableau 7. Caractéristiques phénotypiques de base des principaux *Campylobacter* thermotolérants (Manuel terrestre de l'OIE : 2005)**

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

### **I.4. Épreuves sérologiques**

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

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

### **I.5. Méthode de détection dans les aliments**

En raison du grand nombre de milieux d'enrichissement et d'isolement existants pour *Campylobacter*, de nombreuses combinaisons sont possibles. Il existe cependant une méthode de référence normalisée pour la détection des *Campylobacter* dans les aliments : la norme NF-ISO 10272 :1995. (Voir figure 16).

## **II. TYPAGE DE *CAMPYLOBACTER***

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

#### **II.1.1. Biotypage**

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

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

#### **II.1.2. Sérotypage**

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

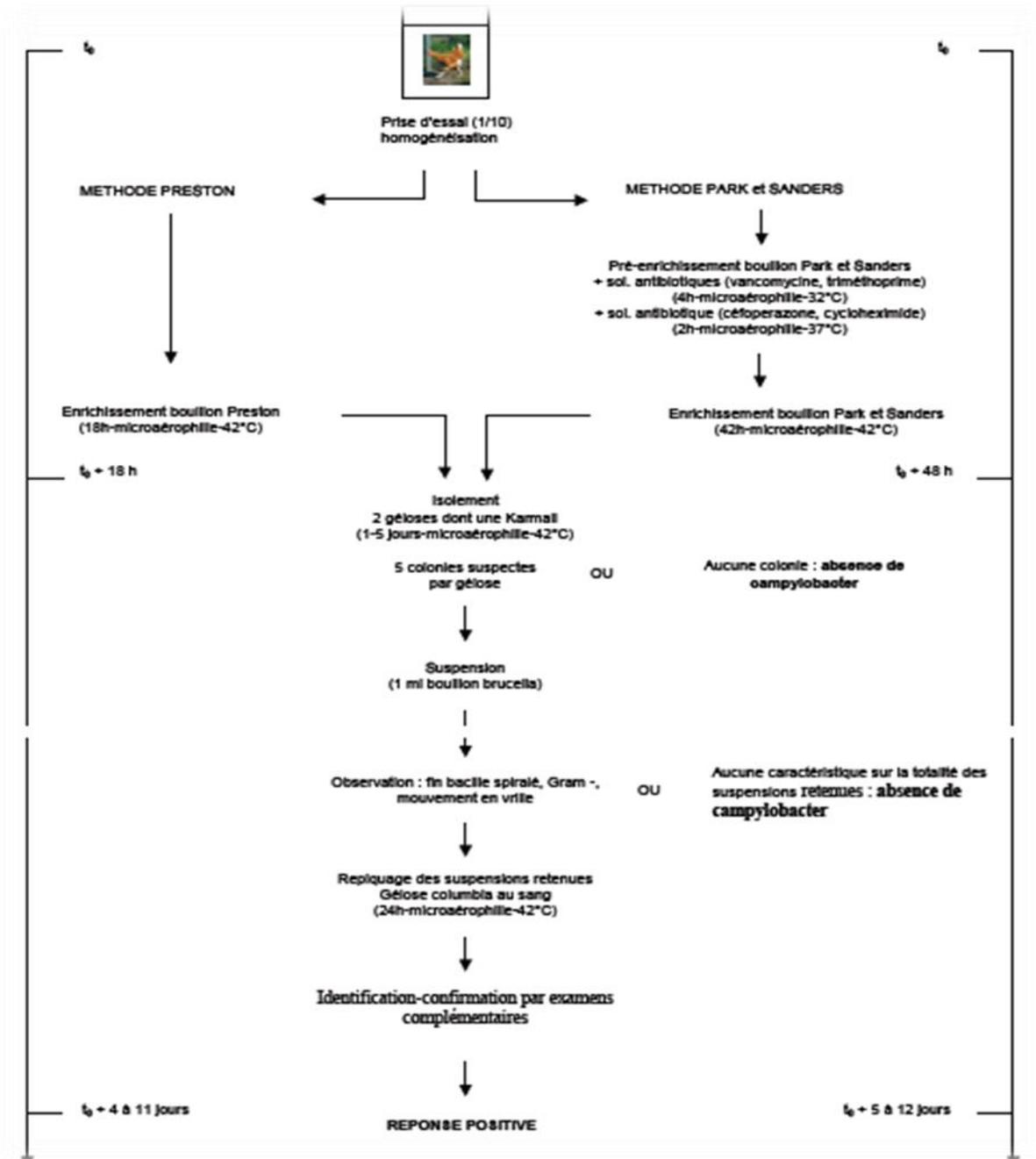


Figure 16. Représentation schématique du mode opératoire de la méthode de référence de recherche des *Campylobacter* dans les aliments (selon la norme NF-ISO 10272 :1995)

### II.1.3. Lysotypage : typage par les phages

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

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

Toutefois les méthodes génotypiques (typage moléculaire) ont actuellement la faveur des spécialistes. Trois méthodes ont été récemment évaluées et standardisées dans un réseau européen

appelé Campynet. Il s'agit : du typage des gènes *flaA* et *flaB* par PCR-RFLP, de la macrorestriction du génome par électrophorèse en champs pulsés, et de « l'amplified fragment length polymorphism » (AFLP). D'autres méthodes sont également utilisables : « randomly amplified polymorphic DNA » (RAPD), ribotypage (Stanley et al., 1995), et séquençage « Multi Locus Sequence Typing » (MLST).

Les différentes méthodes de génotypage sont présentées dans le tableau (8)

**Tableau 8. Méthodes de typage moléculaire de *C. jejuni* et *C. coli* (AFSSA, 2003).**

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

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

---

# **Partie expérimentale**

---

---

# **Matériels et méthodes**

---

## OBJECTIFS

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

- ☞ D'apprécier le niveau de contamination de quelques élevages avicoles par les *Campylobacter* thermotolérants dans l'est de l'Algérie ;
- ☞ D'isoler des souches de *Campylobacter* thermotolérants à partir du caecum et des peaux du cou du poulet de chair juste après le lavage des carcasses, dans quelques établissements d'abattages dans les wilayas de Batna, Sétif et Bordj Bou Arréridj ;
- ☞ De caractériser phénotypiquement les souches d'origine animale isolées, et d'étudier leur sensibilité aux antibiotiques ;
- ☞ D'étudier la prévalence de cette zoonose chez des malades présentant des problèmes digestifs au niveau des hôpitaux localisés dans cette région (l'est de l'Algérie), ainsi que la caractérisation des souches isolées sur le plan phénotypique et d'étudier leur sensibilité aux antibiotiques;
- ☞ De comparer deux méthodes d'isolement de *Campylobacter* thermotolérants (la technique de la filtration passive et celle d'isolement sélectif en utilisant le milieu de Karmali) ;
- ☞ De comparer deux milieux sélectifs, en matière de récupération des souches de *Campylobacter* thermotolérants, l'un à base de charbon (Karmali) et l'autre à base du sang (Preston).

## **I. PRÉSENTATION DES ÉTABLISSEMENTS**

Avant d'entamer cette partie proprement dite, nous avons jugé nécessaire de faire une brève description des lieux où les différents prélèvements ont été réalisés.

### **I.1. Présentation des bâtiments élevages**

#### **I.1.1. Fonctionnement**

Tous les élevages visités se trouvent dans des zones rurales abritant des sujets provenant des éclosiers différents et élevés en bande unique jusqu' à leur abattage. La capacité de production varie de 4000 à 8000 sujets par bâtiment.

La description des élevages visités ainsi que les informations concernant les différents prélèvements récoltés sont résumées dans le tableau 9.

#### **I.1.2. Conception**

Tous les bâtiments d'élevages sont en béton, les mangeoires ainsi que et les abreuvoirs sont installés dans tous les bâtiments. La ventilation est naturelle. Par ailleurs, les litières sont sous forme de sciures de bois. À l'exception de quelques bâtiments d'élevages, les conditions d'élevage sont généralement respectées. Toutes les fermes suivent des protocoles de biosécurité similaires.

### **I.2. Présentation des établissements d'abattages**

#### **I.2.1. Fonctionnement**

Les abattoirs avicoles visités font à la fois l'abattage des poulets et la vente aux détaillants et aux consommateurs. Ils se situent dans des zones urbaines et sont dotés d'une capacité de production variant de 200 à 1200 sujets par heure. Les sujets abattus sont livrés dans des camions frigorifiques.

La description des établissements d'abattage visités ainsi que les informations concernant les différents prélèvements récoltés sont résumés dans le tableau 10.

#### **I.2.2. Conception**

Dans toutes les salles où se déroulent les opérations d'abattage telles que la signée et la plumaison, les murs sont recouverts de faïence et le sol de carrelage. L'éclairage est surtout procuré par la lumière du jour et la ventilation est statique. Les abattoirs sont composés de 3 à 4 salles, chacune est désignée pour une opération spécifique : (le débarquement, la saigné et l'éviscération, ainsi que le stockage (chambre froide).

Tableau 9. Description des fermes avicoles visitées et des échantillons récoltés.

Élevage	Localisation du bâtiment	Nombre de sujets par bâtiment	Nombre d'échantillons prélevés par bâtiment	Age des sujets au moment du prélèvement (jours)	Provenance des sujets (éclosoir)
É 1	Barika	6000	20	35	Barika
É 2	Barika	6000	20	45	Barika
É 3	Barika	8000	20	42	Bir Ghbalou
É 4	Barika	4000	20	40	El Eulma
É 5	Ain Touta	6000	20	46	Ain Touta
É 6	Ain Touta	8000	20	36	Ain Touta
É 7	Ain Touta	6000	20	41	Ain Touta
É 8	Ain Touta	4000	20	36	Ain Touta
É 9	Bordj Ghedir	5000	20	42	Ras El Oued
É 10	Bordj Ghedir	4000	20	43	Ras El Oued
É 11	Bordj Ghedir	5000	20	36	Ras El Oued
É 12	Bordj Ghedir	8000	20	44	Magra
É 13	Ghilassa	8000	20	40	Magra
É 14	Ghilassa	5000	20	40	Ras El Oued
É 15	Ghilassa	4000	20	42	Ras El Oued
É 16	Ghilassa	5000	20	36	Magra
É 17	Salah Bey	5000	20	39	Ras El Oued
É 18	Salah Bey	8000	20	45	Barika
É 19	Salah Bey	6000	20	35	Ras El Oued
É 20	Salah Bey	8000	20	39	Barika
É 21	Ouled Tebben	4000	20	45	Magra
É 22	Ouled Tebben	6000	20	42	Magra
É 23	Ouled Tebben	4000	20	38	Magra
É 24	Ouled Tebben	5000	20	43	Ras El Oued
total	//	//	480	//	//

Tableau 10. Description des établissements d'abattage visités.

Établissement d'abattage	Capacité de production (sujet/h)	Provenance de sujets abattus	Type
Barika	1200	Magra- Barhom- M'cif- Barika	Industriel
N' Gaous	500	Sefiane - N' Gaous- Barika	Traditionnel
Ain Touta	1200	Barika- Seggana -El Kantara	Industriel
Sefiane	200	Djezzar- Seggana- Sefiane	Traditionnel
Aïn Taghrout	200	Bir Kasdali,- Tixter-Aïn Taghrout	Traditionnel
Ghilassa	300	Ghilassa- Bordj Ghedir	Traditionnel
Ras El Oued	1200	Bordj Ghedir- Bir Kasdali-Ras El Oued	Industriel
Bordj Ghedir	500	Ghaylassa- Rabta - Khelil	Traditionnel
Aïn Oulmene	1200	Aïn Azel- Kasr El Abtal- Aïn Oulmene	Industriel
Salah Bey	600	Aïn Azel- Ouled Tebben- Salah Bey	Traditionnel
Ouled tebbene	300	Dehahna- Rasfa- Ouled tebbene	Traditionnel
Rasfa	500	Ouled tebbene- Barhom- Rasfa	Traditionnel

## II. MATÉRIELS

### II.1. Matériel de laboratoire

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

### II.2. Échantillonnage

Notre étude a été réalisée dans quelques régions de l'Est de l'Algérie (Batna, Sétif et Bordj Bou Arreridj) pour les prélèvements aviaires, et dans la wilaya de Batna pour les prélèvements humains, elle s'est déroulée durant la période allant du mois du Juin 2016 jusqu'au mois du Juin 2019.

L'analyse des échantillons a été réalisée dans le laboratoire de microbiologie (faculté des sciences de la nature et de la vie, université de M'sila) et l'annexe de l'institut Pasteur de M'sila.

Elle a porté sur 960 prélèvements d'origine aviaires et 240 prélèvements d'origine humains.

La répartition des prélèvements en fonction de l'espèce est rapportée dans le tableau 11.

Tableau 11. Répartition des prélèvements en fonction de l'espèce

Prélèvements	Nombre de prélèvements	Pourcentage (%)
Aviaires	960	80%
Humains	240	20%
Total	1200	100%

### II.2.1. Échantillons aviaires

Un total de neuf cent soixante (960) prélèvements a été réalisé au niveau de 36 établissements privés de la région de l'est de l'Algérie (24 établissements d'élevage et 12 établissements d'abattage). Cela nous a permis de prélever des sujets issus de régions et d'endroits divers. Les échantillons sont répartis comme suit :

#### a) Répartition des échantillons selon leur nature

- 480 soit 50% étaient des écouvillonnages cloacaux et des fientes de poulet de chair ;
- 240 soit 25% étaient des peaux de cou de poulet de chair ;
- 240 soit 25% étaient des cæca de poulet de chair.

#### b) Répartition des échantillons selon leur provenance

- 320 soit 33.3 % provenaient de la wilaya de Batna ;
- 320 soit 33.3 % provenaient de la wilaya de Sétif ;
- 320 soit 33.3 % provenaient de la wilaya de Bordj Bou Arreridj.

#### c) Répartition des échantillons selon la période de prélèvement

- 480 soit 50% durant la période 06/2016 à 04/2017 ;
- 480 soit 50% durant la période 07/2017 à 05/2018.

Les répartitions des échantillons sont schématisées par les figures 17 ,18 et 19.

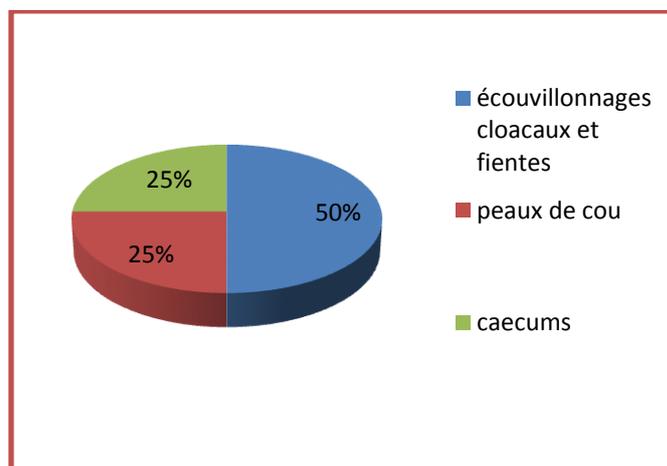


Figure 17. Répartition des échantillons selon leur nature.

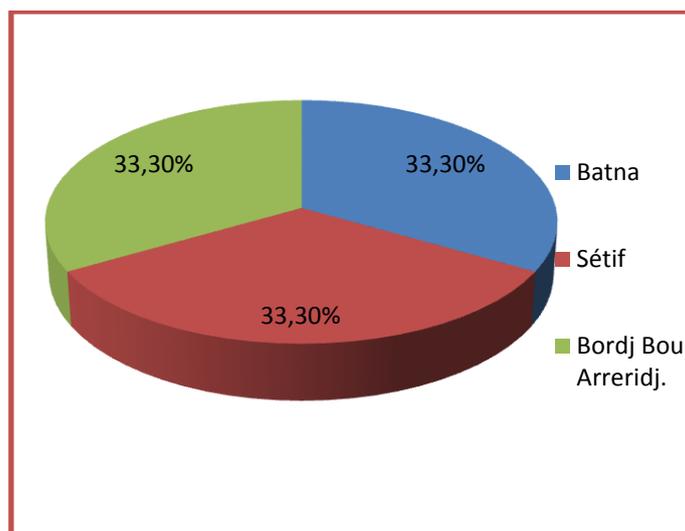


Figure 18. Répartition des échantillons selon leur provenance.

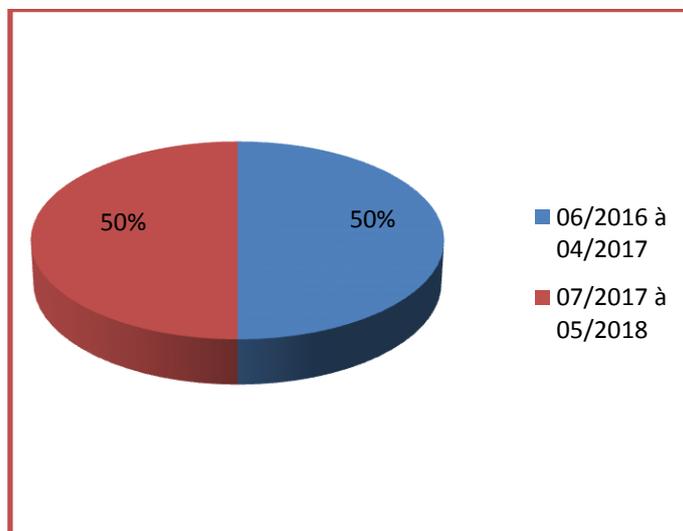


Figure 19. Répartition des échantillons selon la période de prélèvement.

### II.2.1.1. Établissements d'élevage

Quatre cents quatre-vingt (480) prélèvements (240 écouvillons cloacaux et 240 échantillons de fientes) ont été récoltés à partir de vingt-quatre (24) bâtiments d'élevage situés dans les communes suivantes :

(Barika, Ain Touta) : **wilaya de Batna** ;

(Bordj Ghedir, Ghilassa) : **wilaya de Bordj Bou Arreridj** ;

(Salah Bey, Ouled Tebben) : **wilaya de Sétif**.

Une seule visite par bâtiment a été réalisée. Des informations telles que l'âge de sujets au moment de prélèvement, ainsi que la taille du troupeau (nombre de sujets) ont été recueilli.

L'échantillonnage au niveau des bâtiments élevages visités est déjà résumé dans le tableau 9.

### II.2.1.2. Établissements d'abattage

Deux cent quarante (240) prélèvements de peau du cou ainsi que deux cent quarante autres de caecum du poulet de chair ont été effectués au sein de douze (12) abattoirs situés dans les wilayas de Batna, Sétif et Bordj Bou Arreridj.

Une seule visite par établissement d'abattage a été menée le matin à 9.00 (tableau 12).

**Tableau 12. Échantillonnage au niveau des établissements d'abattage visités.**

Établissement d'abattage	Capacité de production (Sujet/h)	Type	Nombre d'échantillons	
			Peau du cou	Caeca
Barika	1200	Industriel	20	20
N' Gaous	500	Traditionnel	20	20
Ain Touta	1200	Industriel	20	20
Sefiane	200	Traditionnel	20	20
Aïn Taghrout	200	Traditionnel	20	20
Ghilassa	300	Traditionnel	20	20
Ras El Oued	1200	Industriel	20	20
Bordj Ghedir	500	Traditionnel	20	20
Aïn Oulmene	1200	Industriel	20	20
Salah Bey	600	Traditionnel	20	20
Ouled tebbene	300	Traditionnel	20	20
Rasfa	500	Traditionnel	20	20

### II.2.2. Échantillons humains

Dans le cadre des demandes de coproculture, deux cent quarante (240) échantillons humains ont été examinés pour la présence de *Campylobacter* thermotolérants au niveau de l'annexe de l'institut Pasteur de M'sila, dont 120 sous forme des selles diarrhéiques et 120 écouvillons rectaux.

Ces prélèvements proviennent de malades souffrant des problèmes digestifs (diarrhée, douleurs abdominales ou des entérites).

Les échantillons sont répartis comme suit :

#### a) Répartition des échantillons humains selon le sexe

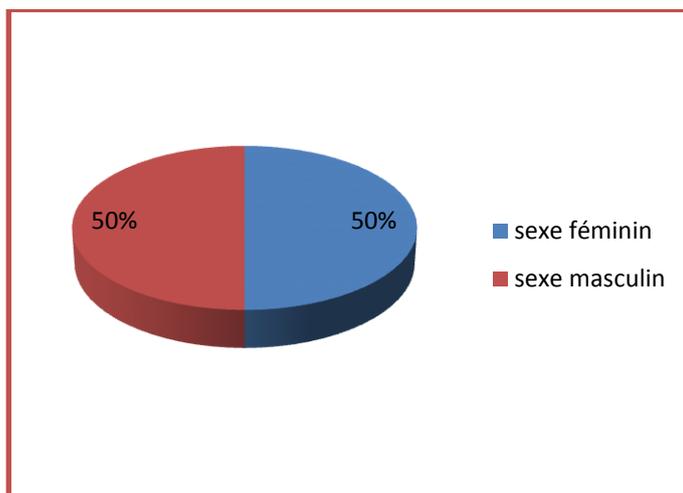
- 120 échantillons soit 50% provenaient des malades de sexe masculin ;
- 120 échantillons soit 50% provenaient des malades de sexe féminin.

#### b) Répartition des échantillons humains selon la nature de l'échantillon (type)

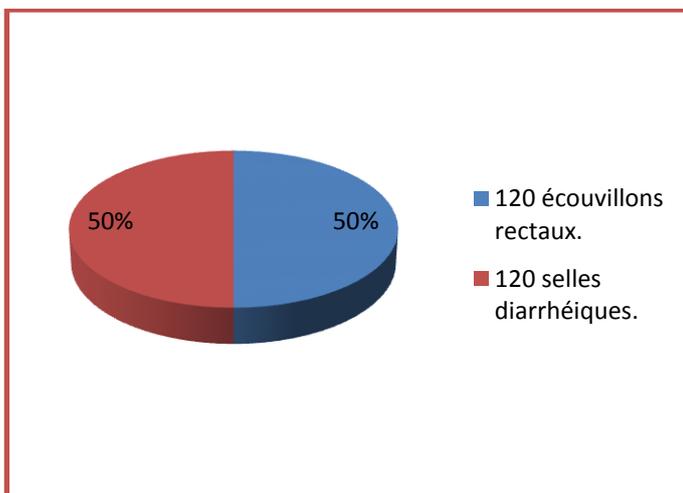
- 120 soit 50% des échantillons étaient des écouvillons rectaux ;

- 120 soit 50% des échantillons étaient des selles diarrhéiques.

Les répartitions des échantillons humains sont schématisées par les figures 20 et 21.



**Figure 20. Répartition des échantillons humains selon le sexe.**



**Figure 21. Répartition des échantillons humains selon la nature de l'échantillon (type de l'échantillon).**

La répartition générale des échantillons (aviaires et humains) est schématisée par la figure 22.

### III. MÉTHODES

#### III.1. Méthodes d'échantillonnage

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

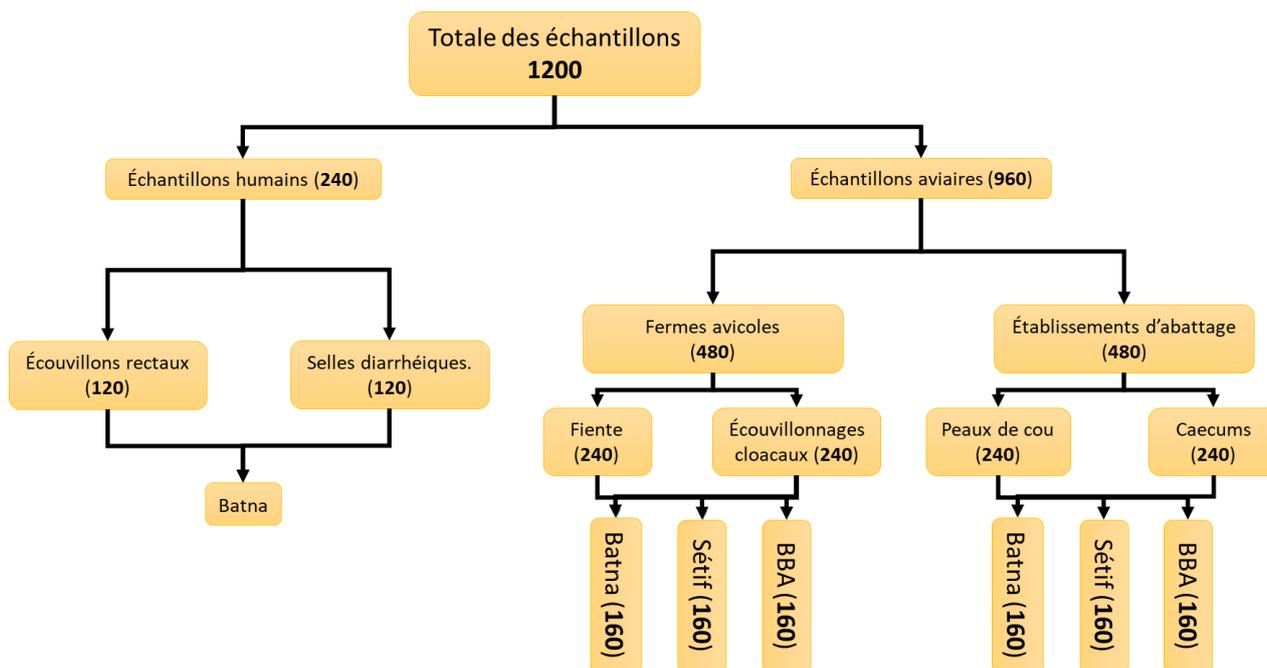


Figure 22. Répartition générale des échantillons.

##### III.1.1. Échantillons aviaires

En l'absence de méthodes d'échantillonnage normalisées relatives à la recherche des *Campylobacter* thermotolérants dans les viandes de volaille à l'échelle nationale, européenne ou encore internationale, nous nous sommes inspirés de plusieurs textes parmi lesquels : les directives générales sur l'échantillonnage du Codex Alimentarius «CAC/GL 50-2004».

Les troupes de poulets de chair à tester ont été choisis de manière aléatoire en essayant de cibler plusieurs régions et aussi selon la coopération des éleveurs et des propriétaires des établissements d'abattage de poulet de chair et la disponibilité des différents réactifs d'analyse.

20 échantillons ont été prélevés par lot.

##### Définition du lot

Selon le CAC/GL 50-2004, un lot est une quantité identifiée d'une marchandise déterminée, fabriquée ou produite dans des conditions présumées uniformes. Dans notre cas, nous considérons une ferme avicole (bâtiment d'élevage) comme un lot.

Selon le CAC/GL 78-2011, un lot est un sous-groupe d'un troupeau. Groupe de poulets tous expédiés au même moment à l'abattoir.

#### **Définition de l'échantillon** (CAC/GL 50-2004 ; JORA, 2015)

L'échantillon est un ensemble composé d'un ou plusieurs individus (ou une fraction de matière) sélectionnés de différentes façons dans une population (ou dans une importante quantité de matière).

Il est destiné à fournir une information caractéristique de la population (ou de la matière) étudiée, et éventuellement à servir de base à une décision concernant cette population ou cette matière ou le procédé qui l'a produite.

**Un échantillon représentatif** est un échantillon dans lequel on retrouve les caractères du lot d'où il provient. C'est notamment le cas lorsque chacun des individus ou des prélèvements élémentaires à choisir dans le lot a la même probabilité de figurer dans l'échantillon (échantillon aléatoire simple). Effectuez des prélèvements dans chaque quart de travail sur une base aléatoire afin que l'ensemble de la série des échantillons reflète l'échantillonnage des différents quarts. Les proportions de prélèvements des quarts de travail peuvent varier (JORA, 2015).

#### **III.1.1.1. Au niveau des élevages**

En se munissant des gants jetables, les techniques de prélèvement de la matière fécale ont été réalisées selon 2 modalités : soit par un écouvillonnage cloacal soit par la prise des fientes fraîchement émises au sol (voir annexe C).

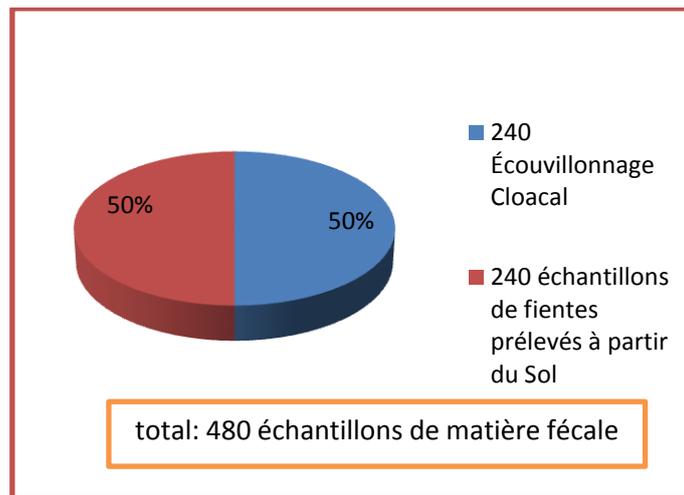
En effet, Pour chaque bâtiment nous avons prélevé 20 échantillons (10 écouvillons cloacaux et 10 échantillons de fientes fraîchement émises au sol). En totalité, nous avons réalisé :

- Deux cent quarante (240) écouvillonnages cloacaux : des écouvillons stériles, dont l'extrémité est cotonnée ont été utilisés pour la réalisation des prélèvements cloacaux. Le coton est humidifié par trempage dans l'eau physiologique stérile avant le prélèvement, ceci pour éviter la dessiccation trop importante pendant le transport. L'écouvillon stérile est bien inséré dans le cloaque en pratiquant des mouvements de rotation contre la muqueuse cloacale.
- Deux cent quarante (240) échantillons de fientes fraîchement émises au sol ont été prélevés aseptiquement à l'aide d'une spatule stérile et déposés dans des pots stériles et identifiés.

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

Le mois et la modalité du prélèvement par élevage sont mentionnés dans le tableau 13.

La répartition des échantillons aviaires en fonction du mode de prélèvement est schématisée par la figure 23.



**Figure 23. Répartition des échantillons aviaires en fonction du mode de prélèvement**

**Tableau 13. Description des modalités du prélèvement aviaire par élevage.**

Élevages	Mois de prélèvement	Modalités de prélèvements	
		Écouvillonnage Cloacal	Fientes prélevées à partir du Sol
Élevage 1	06/2016	10	10
Élevage 2	06/2016	10	10
Élevage 3	07/2016	10	10
Élevage 4	09/2016	10	10
Élevage 5	09/2016	10	10
Élevage 6	10/2016	10	10
Élevage 7	12/2016	10	10
Élevage 8	12/2016	10	10
Élevage 9	01/2017	10	10
Élevage 10	03/2017	10	10
Élevage 11	03/2017	10	10
Élevage 12	04/2017	10	10
Élevage 13	07/2017	10	10
Élevage 14	08/2017	10	10
Élevage 15	08/2017	10	10
Élevage 16	11/2017	10	10

Élevage 17	10/2017	10	10
Élevage 18	10/2017	10	10
Élevage 19	01/2018	10	10
Élevage 20	01/2018	10	10
Élevage 21	02/2018	10	10
Élevage 22	04/2018	10	10
Élevage 23	05/2018	10	10
Élevage 24	05/2018	10	10

### III.1.1.2. Au niveau des établissements d'abattage

Au moyen d'une pince et d'un scalpel, des peaux de cou ont été stérilement collectées à partir de carcasses de poulet de chair abattu, par incision d'un morceau de 10 g de peau juste après dépôt des carcasses sur les chariots de transport (en fin de chaîne d'abattage et après rinçage des carcasses).

Dès lors, un caecum par intestin a été prélevé grâce à des ciseaux stériles en vue d'une extraction ultérieure de contenu caecal.

Pour chaque établissement d'abattage, nous avons pris 40 échantillons (20 échantillons de peau du cou et 20 caecums).

Les différentes modalités de prélèvement sont représentées dans figure 51 (annexe C).

### III.1.2. Hôpital (Échantillons humains)

Nous avons réalisé une étude qui s'est étalée entre Juin 2018 et Juin 2019 sur 240 échantillons fécaux des patients adultes et pédiatriques hospitalisés à l'hôpital de Barika (wilaya de Batna).

Les 240 malades concernés présentaient tous un tableau abdominal justifiant une demande de coproculture au laboratoire de bactériologie : (gastroentérite, diarrhée avec ou sans mucus, plus ou moins sanglante, fièvre et douleurs abdominales). La diarrhée était définie comme le passage d'au moins trois selles molles ou aqueuses dans les 24 heures précédentes.

Les échantillons consistaient en 120 selles généralement diarrhéiques récoltés dans des flacons stériles et 120 écouvillonnages rectaux immergés dans un milieu de transport type Cary Blaire pour éviter la dessiccation.

La coproculture a été réalisée avec recherche des différents pathogènes classiques dont *Campylobacter* sp.

Le consentement a été obtenu des patients et de chacune des mères de tous les enfants impliqués dans cette étude, une enquête détaillée concernant leurs symptômes cliniques et des données démographiques tels que le nom, l'âge, et le sexe ont été enregistrés dans un formulaire pré-imprimé. De plus, lors de l'échantillonnage, tous les sujets ont été interrogés sur la consommation de viande de poulet -et le contact avec la volaille.

### III.2. Transport des prélèvements

Après avoir transféré chaque prélèvement de fiente (ou selles) et de caecum dans un pot en plastique stérile et chaque peau de cou dans un sac à stomacher stérile immédiatement scellé, tous les prélèvements ont été placés à l'intérieure d'une enceinte réfrigérée (+ 4 °C ) et rapidement acheminés au laboratoire afin d'éviter la dessiccation, de telle façon que le délai entre le prélèvement et l'arrivée au laboratoire n'excède pas les quatre heures, le traitement des échantillons est réalisé le jour même.

### III.3. Méthodes de laboratoire

L'isolement et l'identification des *Campylobacter* thermotolérants, ainsi que l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées se sont déroulés au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université de M'sila pour les prélèvements aviaires et au niveau du laboratoire de microbiologie de l'annexe de l'institut pasteur de M'sila.

#### III.3.1. Préparation des milieux de culture

Les milieux de culture (bouillons et géloses) ont été préparés tel que recommandé par les normes (NF ISO 11133-1 : 2009) et leurs fabricants, sauf pour le bouillon de Preston, nous avons utilisé du sang de mouton à la place du sang de cheval laqué, comme le mentionné par le fabricant (Oxoid).

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

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

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

#### III.3.2. La détection des *Campylobacter* thermotolérants

Pour toutes les étapes du protocole d'analyse des échantillons, l'incubation des milieux de culture a été réalisée dans des jarres étanches avec des sachets générateurs d'atmosphère microaerophile [(CampyGen 2.5 litre CN0025A, Oxoid) et (CampyGen Comp, CN0020C, Oxoid)], l'atmosphère microaerophile signifie un mélange gazeux de 5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> et 85 % N<sub>2</sub>.

Les différents échantillons ont été analysés selon :

- La norme NF ISO 10272 : 2006 (VWA, 2011).
- Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Campylobacter* spp. - Partie 1 : méthode de recherche ;
- Les recommandations de l'OMS (2003) ; Techniques de laboratoire : Cours pratique de niveau 2 Isolement, identification et détermination de la sensibilité aux antibiotiques des *Campylobacter*.
- Le manuel terrestre de l'OIE : *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*. (OIE, 2008).

### III.3.2.1. Préparation de la suspension mère

En générale pour préparer la suspension mère, nous introduisons une quantité x de prise d'essai dans un volume de 9 x du milieu d'enrichissement (bouillon de Preston), de façon à obtenir un rapport pris d'essai/ bouillon d'enrichissement 1/10 (rapport masse/volume), conformément à la NF EN ISO 6887-1 : 1999. L'homogénéisation de l'échantillon se fait à l'aide d'un vortex.

### III.3.2.2. Mise en culture sur milieux

#### A) Ensemencement des prélèvements aviaires

##### A.1. Fientes (écouvillons cloacaux) et caecum :

Pour ce genre d'échantillons suspectés de contenir une quantité importante de *Campylobacter* thermotolérant, nous avons procédé à un isolement direct, en ensemençant la suspension mère non incubé (1g de fientes dans 9 ml de bouillon Preston, ou 25g de contenu caecal dans 225 ml de bouillon Preston) sur la surface des deux géloses Karmali et Preston préparées extemporanément.

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

##### A.2. Peau de cou

Pour ce type d'échantillons, les *Campylobacter* s'ils sont présents, ils sont en faible nombre et au sein d'une abondante flore microbienne compétitive, de ce fait l'isolement est précédé d'une étape d'enrichissement dans un bouillon sélectif.

##### A.2.1. Enrichissement

Le sachet contenant le bouillon et l'échantillon (suspension mère : 25 g de peau de cou dans 225 ml de bouillon Preston) est ensuite homogénéisé au broyeur (Stomacher), doublé d'un autre sachet de protection également stérile, placé dans un portoir d'incubation, fermé de manière hermétique, puis incubé (étuve) en atmosphère microaéroophile, à 42 °C pendant 18 h.

### **A.2.2. Isolement et identification**

0,1 ml de la culture obtenue dans la suspension mère incubé est prélevé à travers le filtre latéral du sachet, puis déposés, à l'aide d'une anse bouclée, à la surface du premier milieu d'isolement sélectif, la gélose Karmali (Base Agar CM0935, Oxoid).

Ensuite, les boîtes ont été ensuite incubées, de nouveau, à 42 °C, en atmosphère microaérophile dans une jarre de 2.5 L avec un générateur de microaérophilie, à raison de 12 boites par jarre au maximum.

Après 24h ou plus, généralement, 48 h et même 3 jours à 5 jours d'incubation, les boîtes sont examinées afin de rechercher la présence de colonies présumées être des *Campylobacters* thermotolérants en raison de leurs caractéristiques visibles.

### **B.) Ensemencement des prélèvements humains**

Pour les échantillons de selles diarrhéiques, nous avons eu recours à deux méthodes d'isolement pour chaque échantillon (la technique de la filtration passive, et l'isolement sur milieu sélectif Karmali). Alors que pour les écouvillons rectaux, nous avons fait recours à une seule technique, c'est celle de l'isolement direct sur milieu solide (Karmali).

#### **B.1. Isolement direct sur milieu solide (Karmali)**

##### **B.1.1. Préparation de la suspension mère et enrichissement**

En générale pour préparer la suspension mère, nous introduisons une quantité x de prise d'essai dans un volume de 9 x du milieu d'enrichissement, de façon à obtenir un rapport prise d'essai/bouillon d'enrichissement 1/10. L'homogénéisation de l'échantillon se fait à l'aide d'un vortex.

Ensuite, le mélange est incubé en atmosphère microaérophile, à 42 °C, pendant 24 h.

##### **B.1.2. Isolement et identification**

0,1 ml de la culture obtenue dans la suspension mère incubée est prélevée, puis déposée à l'aide d'une anse bouclée, à la surface du milieu d'isolement sélectif, la gélose Karmali (CM0935, Oxoid).

Ensuite, les boîtes ont été ensuite incubées, de nouveau, à 42 °C, en atmosphère microaérophile dans une jarre de 2.5 L avec un générateur de microaérophilie.

Après 24 h ou plus, généralement, 48 à 72 heures voire 5 jours d'incubation, les boîtes sont examinées afin de rechercher la présence de colonies présumées être des *C.* thermotolérants

#### **B.2. Isolement par technique de la filtration passive**

En ce qui concerne les échantillons traités par cette technique, les fèces sont mélangées avec le PBS (dilution au 1/10 environ) pour préparer une suspension. Environ 100 µl de cette suspension sont ensuite déposés délicatement sur une membrane avec des pores de 0,65 µm, qui a été préalablement placée à la surface d'une gélose au sang. Il faut prendre soin de ne pas laisser l'inoculum déborder des bords du filtre. Une incubation de à 45 minutes à 37 °C. Puis, le filtre est

ensuite retiré, le fluide qui a traversé le filtre est étalé à l'aide d'un étaleur et la boîte est incubée en atmosphère microaéroophile à 42 °C et examinée après 48 à 72 heures.

### III.3.2.3. Aspect des colonies de *Campylobacter* :

Pour les échantillons positifs, nous avons noté la présence de petites colonies caractéristiques de (1-2 mm) de diamètre, grisâtres ou aux reflets métalliques, humides et plates, avec une :

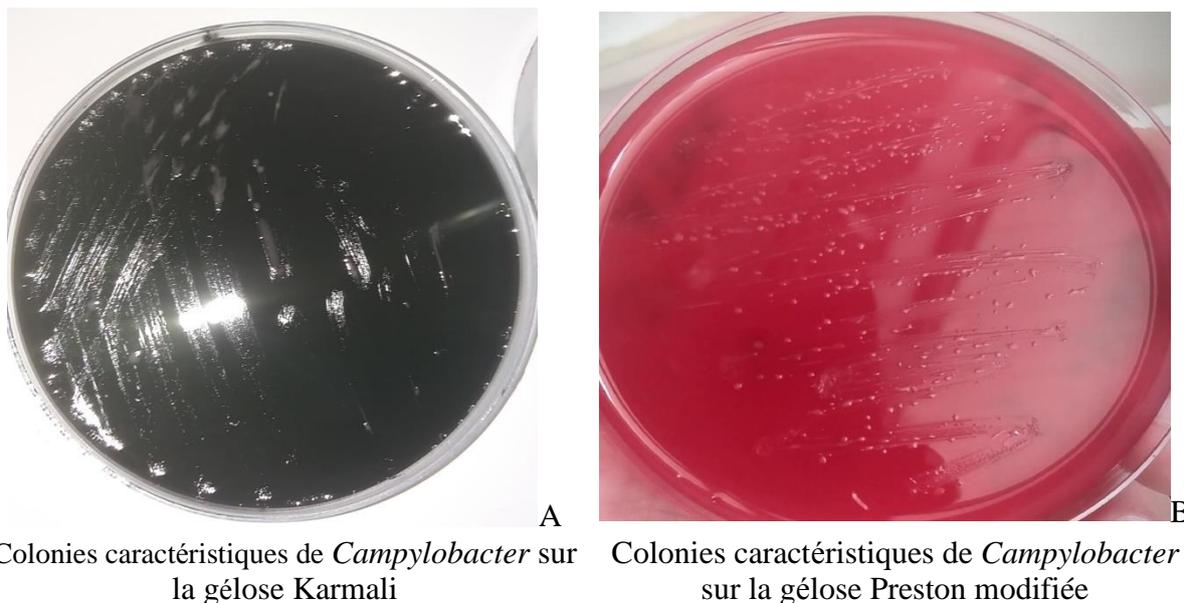
- tendance à l'étalement avec une teinte jaune clair sur la gélose Karmali (figure 24 A).
- tendance brunâtre et légèrement bombées sur la gélose Preston modifiée (figure 24 B).

### III.3.2.4. Confirmation du genre

Comme les germes ne survivent qu'en atmosphère microaéroophile, nous avons appliqué les étapes suivantes sans délai :

#### ➔ Sélection des colonies pour la confirmation :

Nous avons sélectionné pour les essais de confirmation, un total de 5 colonies typiques et/ou suspectes sur l'ensemble des boîtes ensemencées.



Colonies caractéristiques de *Campylobacter* sur la gélose Karmali

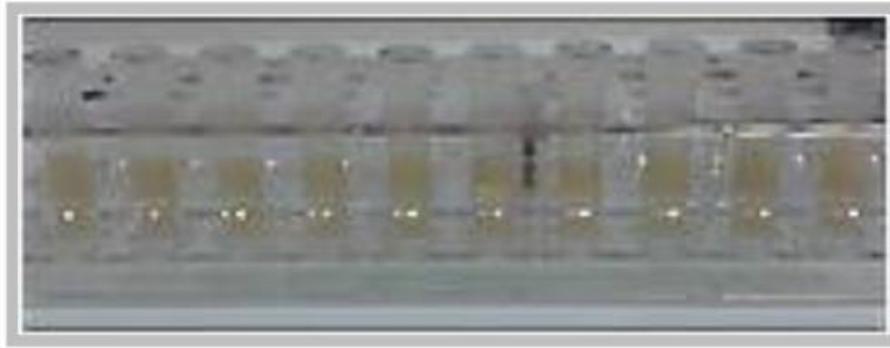
Colonies caractéristiques de *Campylobacter* sur la gélose Preston modifiée

**Figure 24. Aspect des Colonies de *Campylobacter* sur la gélose de Karmali à gauche et Preston modifiée à droite (Photo personnelle)**

#### ➔ Examen microscopique de la morphologie et de la mobilité

L'examen microscopique permet la mise en évidence de la morphologie ainsi que la mobilité typique des *Campylobacter*.

Pour ce faire, nous avons mis en suspension, séparément chacune des colonies sélectionnées de chaque milieu (Karmali et Preston modifié) dans 1 ml de bouillon *Brucella* (figure 25).



**Figure 25. Photographie d'un portoir ensemencé avec le bouillon *Brucella* (Photo personnelle).**

À partir du bouillon *Brucella*, nous avons réalisé :

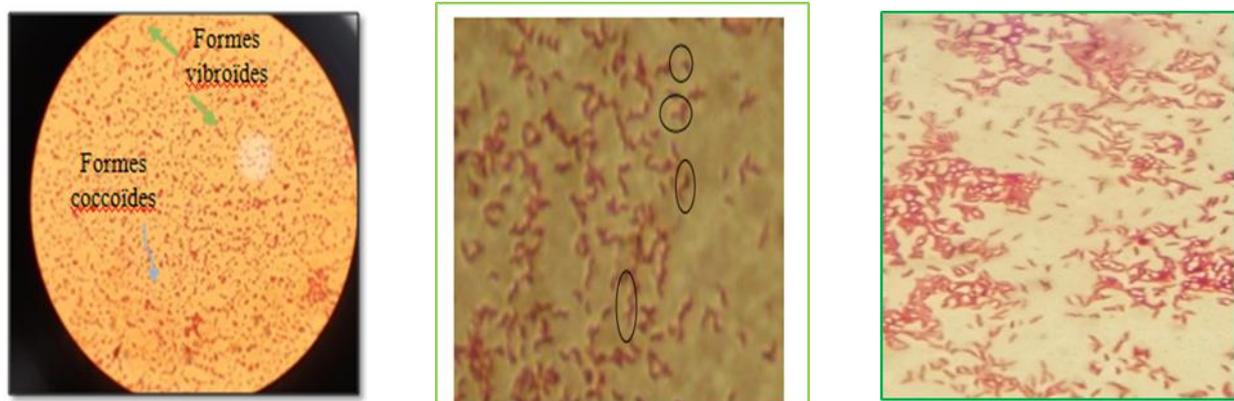
➔ **Examen à l'état frais :**

L'observation au microscope optique à objectif x 100 montre un déplacement caractéristique en vrille souvent décrit comme un «vol de moucheron» ou « en tire-bouchon » (Vandamme, 1991).

➔ **Coloration de Gram :**

L'aspect des *Campylobacter* lors de la coloration de Gram est très caractéristique, ils paraissent sous forme des bacilles à Gram négatifs présentant différentes formes : incurvés en virgule, en spirale ou en S, ces formes dites vibroïdes prédominent lors des cultures jeunes, alors que, les formes coccoïdes prédominent lors des cultures plus âgées (plus de 72 heures).

L'aspect des *Campylobacter* lors de la coloration de Gram est représenté dans la figure 26.



**Figure 26. *Campylobacter* en coloration de Gram (Gr X100) (Photo personnelle).**

Les techniques de la préparation du frottis, de l'examen à l'état frais ainsi que la coloration de Gram sont décrites en annexe (iv).

Nous retenons pour les observations ultérieures toutes les suspensions dans lesquelles nous observons des bacilles incurvés à Gram négatif et dont le mouvement de déplacement en vrille est caractéristique.

Nous avons, ensuite ensemencé, à l'aide d'une anse bouclée, la surface d'une gélose Columbia (IPA) additionnée de sang de mouton défibriné avec chaque suspension retenue afin de permettre le

développement de colonies bien isolées. Puis, nous avons incubé les boîtes ensemencées à 42 °C en atmosphère microaérophile pendant 24 h et utiliser les cultures pures pour les essais biochimiques.

### III.3.2.5. Confirmation de l'espèce

Une série d'essais biochimiques ou tests d'identification ont été réalisés :

#### ➤ Recherche de l'oxydase

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

L'apparition en 10 à 30 secondes d'une coloration violette à pourpre indique un test positif. Des réactions tardives ou l'absence de couleur indique un test négatif (Figure 27).

Nous avons confirmé les résultats avec des contrôles positif (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) et négatif (*E. coli* ATCC 25922).

Toutes les espèces du genre *Campylobacter* sont oxydase positive. (Vandamme et al., 1991).

#### ➤ Examen de la croissance à 25°C

À partir des colonies isolées de la gélose Columbia au sang (IPA), nous avons ensemencé, à l'aide d'une anse bouclée, un tube de bouillon *Brucella*, que nous avons incubé à 25 °C et à 42 °C en atmosphère microaérophile, pendant 2 à 5 jours afin d'examiner s'il y a ou non croissance.

- *Campylobacter jejuni/coli* se développent à 42 °C mais pas à 25 °C.
- *Campylobacter fetus* (non thermotolérants) se développe à 25 °C mais pas à 42 °C.

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



Figure 27. Réaction de l'oxydase positive (Photo personnelle).

#### ➤ Ensemencement de la gélose TSI (Triple Sugar Iron)

Le milieu TSI ou «Triple Sugar Iron» ou gélose au citrate de fer et aux trois sucres contenant en particulier des sels de fer permettant de mettre en évidence la production d'hydrogène sulfuré par certaines souches de *Campylobacter*.

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

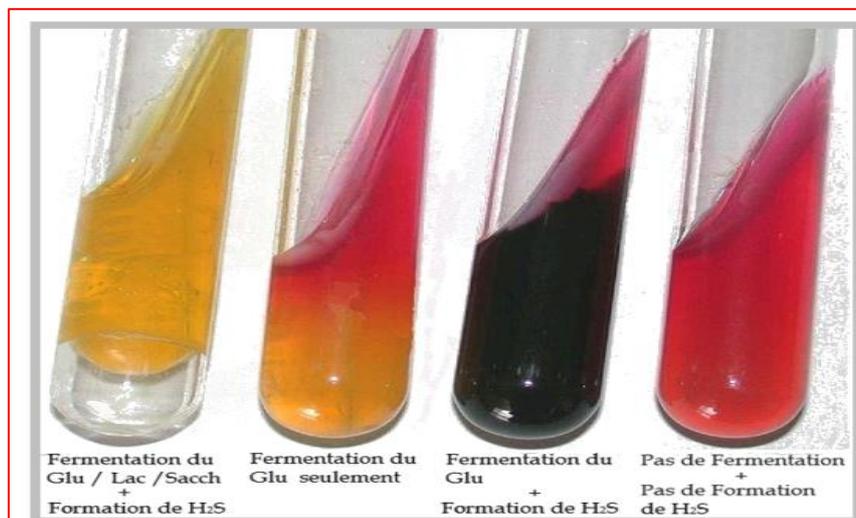
Les règles d'interprétation des résultats observés lors de la lecture de la gélose TSI sont résumées dans le tableau 14 et la figure 28.

Les *Campylobacter* thermotolérants ne fermentent pas les sucres et ne produisent pas de gaz à partir de glucose (Vandamme et al., 1991).

Toutefois, un biotype particulier de *C. jejuni* (*Campylobacter jejuni* biotype 2) est H<sub>2</sub>S (+).

**Tableau 14. Interprétation des réactions observable sur la gélose TSI (AFNOR, 2004)**

	Réaction observée	Interprétation
<b>Culot</b>	Jaune	Glucose positif (fermentation du glucose)
	Rouge ou inchangé	Glucose négatif (pas de fermentation du glucose)
	Noir	Formation de sulfure d'hydrogène (H <sub>2</sub> S)
	Bulles ou fissures	Formation de gaz à partir du glucose
<b>Pente</b>	Jaune	Lactose et/ou saccharose positifs (fermentation de l'un ou les deux sucres)
	Rouge ou inchangé	Lactose et saccharose négatifs (aucun sucre n'est utilisé)



**Figure 28. Différents résultats possibles de la réaction sur gélose TSI (Charrat, 2017).**

### ➤ Recherche de la catalase

Le principe du test de la catalase et son mode opératoire sont mentionnés en annexe (iv).

La réaction positive se traduit par un dégagement gazeux sous forme de bulles dans les 30 secondes (Figure 29).

*Nota Bene* : Le sang possède une activité catalasique, il ne faut surtout pas racler la gélose au moment du prélèvement et être vigilant devant tout résultat positif.

Nous avons confirmé les résultats avec des contrôles positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et négatif (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212).



Figure 29. Réaction de la catalase positive (Photo personnelle).

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

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

L'observation ou non d'une zone d'inhibition autour du disque d'acide nalidixique 30 µg et de la céfalotine 30 µg est interprétée comme suit (ISO 10272, 1995) :

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

L'interprétation des résultats de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine se fait selon le tableau (15).

**Tableau 15. Interprétation des résultats de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine (AFNOR, 2004).**

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

<sup>R</sup> : Une augmentation des souches de *C. jejuni* et *C. coli* résistantes à l'acide nalidixique a été observée.

### ➤ Hydrolyse de l'Hippurate

Les souches bactériennes dotées d'une hippuricase sont capable d'hydrolyser l'acide hippurique sont, ce qui engendre la libération de l'acide benzoïque et de la glycine (Panner, 1988).

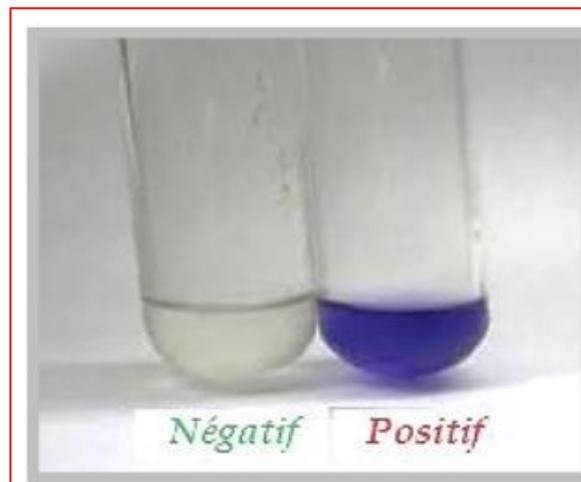
À l'aide d'une anse bouclée, nous avonsensemencé les colonies sélectionnées, dans un tube à hémolyse contenant 0.4 ml de la solution d'Hippurate de Sodium, en prenant soin de ne pas incorporer de gélose, dont les acides aminés feraient virer au violet foncé la Ninhydrine et donné un résultat faux positif.

Nous avons donc agité le mélange pour l'homogénéiser, et incubé à 37 °C dans un bain marie pendant 2h, puis nous avons ajouté avec précaution 0.2 ml de la solution de Ninhydrine au-dessus de la solution d'Hippurate de Sodium, sans agitation.

Les résultats ont été validés et interprétés après une nouvelle incubation à 37 °C dans un bain marie de 10 min comme suit :

- Une couleur violette foncée indique une réaction positive (figure 30).
- Une couleur violette pâle ou l'absence de changement de couleur indique une réaction négative.

Nous avons confirmé les résultats avec des contrôles négatif (*C. coli* ATCC 43478) et positif (*C. jejuni subsp. jejuni* ATCC 49943). *Campylobacter jejuni* est « **hippurate positif** ». *Campylobacter coli* est « **hippurate négative** ».



**Figure 30. Photographie montrant les deux résultats éventuels de la réaction de l'hydrolyse de l'Hippurate.**

Les bactéries du genre *Campylobacter* sont Gram-négatifs, microaérophiles, oxydase positive, et, n'acidifient pas le milieu à partir de sucres.

A ce stade, nous devons conclure par la présence de *Campylobacter* spp, si au moins une colonie présente les caractéristiques ci-dessous (Tableau 16).

Parmi les *Campylobacter* spp. Présentant une croissance à 42 °C, certaines espèces constituent le groupe des thermotolérants dont les plus fréquemment rencontrés sont :

*C. jejuni* et *C. coli*. Cependant, d'autres espèces ont été décrites (*C. lari* et *C. upsaliensis*), les caractéristiques données dans le tableau 17, permettent de les différencier.

Tableau 16. Caractères de confirmation de *Campylobacter* spp (Charrat, 2017).

Test	Résultat
Morphologie	petits bacilles à Gram - incurvés, sous forme de S, de spirale ou encore longs et flagellés voire coccoïdes dans de vieilles cultures.
Mobilité	vol de moucheron
Oxydase	+
Glucose (TSI)	-
Lactose (TSI)	-
Saccharose (TSI)	-
Gaz (TSI)	-
H <sub>2</sub> S (TSI)	-
Croissance à 25°C	-

Tableau 17. Caractères de différenciation des *Campylobacters* (ISO 10272 : 1995/2006).

Caractéristique	<i>Campylobacters</i>				
	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. upsaliensis</i>
Oxydase	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	- ou (±)
Croissance à 25°C	-	-	-	+	-
Croissance à 37°C	+	+	+	+	+
Croissance à 42°C	+	+	+	-	+
Production d'H <sub>2</sub> S	- sauf biotope 2 +	(±)	-	-	-
Hydrolyse de l'hippurate	+	-	-	-	-
Acide nalidixique	S	S	R	R	S
Céphalotine	R	R	R	S	S

Légende : + : positif ; - : négatif ; (±) = faiblement positif ; S = sensible ; R = résistant

### III.3.2.6. Confirmation des *Campylobacter* au moyen du test d'agglutination au latex

Le test d'agglutination au latex (DRYSPOT *Campylobacter* : DR0150, OXOID, France) est pour l'identification des *Campylobacter* entéropathogènes à partir de colonies. C'est bien que *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* donnent un résultat positif. Alors que, les autres *Campylobacter* tels que *C. upsaliensis* et *C. fetus* donnent un résultat variable.

#### ❖ Principe

Le Test *Campylobacter* Dryspot consiste en des particules de latex bleu sensibilisées par des anticorps de lapin dirigés contre des antigènes de surface sélectionnés de *Campylobacter*.

Le réactif de contrôle est constitué de particules de latex bleu sensibilisées par des anticorps de lapin non spécifiques des *Campylobacter*.

Les réactifs au latex sont déshydratés sur des cartes de réaction (Chaque carte comporte 1 zone test et 1 zone de contrôle) (figure 31). Lorsqu'un extrait de *Campylobacter* est mélangé avec le réactif test, il apparaît une agglutination due à une réaction entre le latex sensibilisé par les anticorps et les

antigènes de *Campylobacter*. Si l'extrait ne contient pas les antigènes de *Campylobacter*, aucune agglutination n'apparaît et le résultat est négatif

Le Test Dryspot *Campylobacter* contient les réactifs pour l'extraction de l'antigène et un contrôle antigénique positif.

#### ❖ Mode d'emploi

- Les colonies dont la morphologie suggère un *Campylobacter* peuvent être testées après environ 24 à 48 heures d'incubation.
- Retirer les réactifs du réfrigérateur et les laisser revenir à température ambiante (18-25°C).
- Placer un tube sur un portoir.
- Déposer une goutte de réactif d'extraction A dans le tube.
- Prélever suffisamment de colonies suspectes pour remplir la boucle d'une oese. Mettre ces germes en suspension dans la goutte de réactif A. Laisser l'oese 3 minutes en contact avec le réactif A. Ne pas la jeter.
- Ajouter 2 gouttes de réactif d'extraction B. Bien mélanger à l'aide de l'oese précédemment utilisée.
- À l'aide d'une pastette, déposer 1 goutte (50 µl) de l'extrait neutralisé sur le cercle test et 1 goutte sur le cercle de contrôle.
- À l'aide de la partie plate de la pastette, mélanger l'extrait et le réactif de contrôle déshydraté jusqu'à complète homogénéisation. Couvrir toute la surface de réaction. Utiliser la même pastette pour mélanger le réactif test.
- Imprimer à la carte un mouvement de rotation pendant 3 minutes. Observer l'agglutination sous lumière normale. Ne pas utiliser de loupe.
- Éliminer les cartes de réaction dans un désinfectant.

#### ❖ Lecture et interprétation des résultats

- Un résultat est considéré comme **positif** s'il y a agglutination des particules de latex en moins de 3 minutes. Ceci indique la présence de *Campylobacter* thermotolérants.

- Un résultat est considéré comme **négatif** s'il n'y a pas d'agglutination et si une suspension bleue homogène reste dans la zone de test après 3 minutes de mélange. Ceci indique que le germe isolé n'est ni *C. jejuni*, ni *C. coli* ou *C. lari*.

**Ne pas tenir compte des réactions se produisant après 3 minutes.**

La composition du coffret DRY SPOT *Campylobacter* est donnée en annexe (v)



**Figure 31. Photographie montrant les résultats éventuels du test d'agglutination au latex (DRYSPOT *Campylobacter*) (Photo personnelle).**

### III.3.2.7. Identification phénotypique des *Campylobacter* Thermotolérants à l'aide galeries API Campy

Le système d'identification Api *Campylobacter* permet l'identification en 24 h et présente plusieurs avantages :

- **Fiabilité** : méthode standardisée associant les tests de référence et les conditions opératoires optimales pour ce groupe bactérien.
- **Simplicité d'utilisation et efficacité** : en une seule étape, identification et prédiction thérapeutique (érythromycine).
- **Conditionnement adapté** à la fréquence de ces bactéries (12 tests).

#### ❖ 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 (H<sub>2</sub>S à ERO) représentent des tests d'assimilation ou d'inhibition.

Il ne faut pas oublier le test de catalase qui constitue le 21<sup>ème</sup> 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 Mc Farland.

**❖ Inoculation de la galerie**

La première partie de la galerie ainsi que le test H<sub>2</sub>S de la deuxième partie de la galerie sont inoculés à l'aide d'une pipette pasteur stérile à partir de l'inoculum préparé.

Cette partie comporte les tests suivants :

- Production d'uréase (UREE)
- Production du nitrate (NIT)
- Production d'estérase (EST)
- Hydrolyse d'hippurite (HIP)
- Production du Gamma Glutamyl transférase (GGT)
- Réduction du chlorure de triphényl tétrazolium (TTC)
- Synthèse de la pyrrolidonyl arylamidase (PyrA)
- Synthèse de L-Arginine Arylamidase (argA)
- Synthèse de L-Aspartate Arylamidase (AspA)
- Synthèse de la phosphatase alcaline (PAL)

Le reste de la suspension est transféré dans une ampoule API AUX Medium afin de compléter la deuxième partie de la galerie (GLU à ERO) qui comporte les tests suivants :

- Production d'H<sub>2</sub>S.
- Assimilation de glucose (GLU).
- Production de sodium succinate (SUT).
- Inhibition de la croissance par l'acide nalidixique (NAL).
- Inhibition de la croissance par la céfazoline (CFZ).
- Inhibition de la croissance par ion de l'acétate de sodium (ACE).
- Assimilation de l'acide propionique (PROP).
- • Assimilation de l'acide malique (MLT).
- • Assimilation de trisodium citrate (CIT).
- • Sensibilité à l'érythromycine (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 (NIT1 et NIT2) au test NIT, ninhydrine (NIN) au test HIP et Fast Blue FB nécessaire aux tests GGT, PyrA, Arg, AspA et PAL.

La lecture et l'interprétation des réactions sont des répertoriées dans le tableau 41 (annexe L) et la figure 32.



Galerie Api Campy après incubation (lecture)

Galerie Api Campy avant incubation

**Figure 32. Photographie montrant les résultats éventuels de la galerie API Campy (Photo personnelle).**

### III.3.3. Test de sensibilité aux antibiotiques

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

L'interprétation des résultats en catégorisation clinique, Sensible (S), Intermédiaire (I) et Résistant (R) a été faite selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM). (CA-SFM janvier 2014).

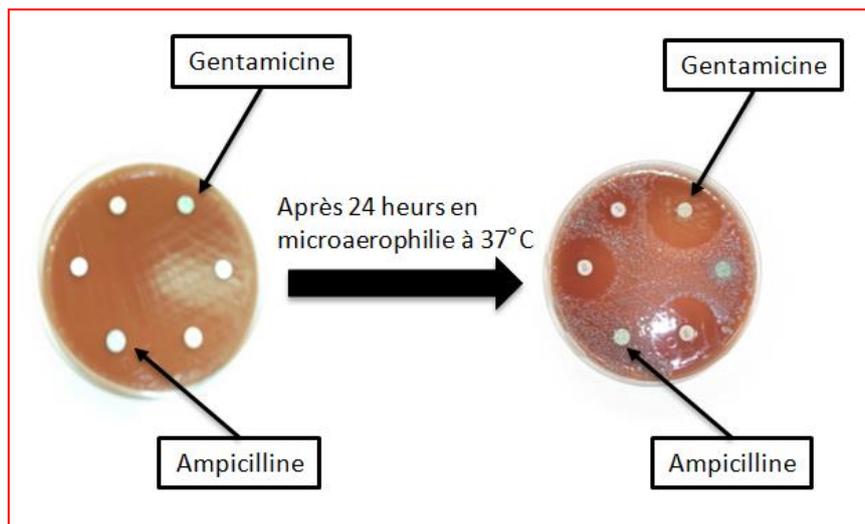
Les antibiotiques testés sont :

- **Liste standard** : Ampicilline, Amoxicilline /ac. Clavulanique, Gentamicine, Erythromycine, Tétracycline et Ciprofloxacin (oxid, France) ;
- **Liste complémentaire** : Acide nalidixique, Chloramphénicol et la Céfotaxime (oxid, France).

Les charges des disques, ainsi que les diamètres critiques de lecture sont illustrés dans le tableau (42) mentionné en annexe (M).

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

Le diamètre des zones d'inhibition des disques d'antibiotiques est mesuré au moyen d'un pied à coulisse métallique placé sur les boîtes fermées, selon le diamètre critique, chaque souche de *Campylobacter* thermotolérant est classée soit (R), (S) ou (I) (Figure 33).



**Figure 33. Aspect de l'antibiogramme des souches isolées après incubation. (Photos personnelles)**

### III.3.4. Conservation des souches de *Campylobacter*

La conservation des souches pures de *Campylobacter* est toujours un point extrêmement délicat, car ce sont des bactéries qui ont tendance à dégénérer rapidement.

Contrairement aux bactéries classiquement recherchées, il n'est pas possible de les conserver au-delà de quelques jours à température ambiante (Dromigny, 2007).

Il ne faut pas conserver les micro-organismes dans le milieu de culture qui leur a permis la croissance, car leurs déchets métaboliques sont toxiques. (Larpen, 1997).

Après avoir retenu toutes les boîtes confirmées, Les souches identifiées sont remises en suspension dense dans un bouillon Glycérolé à 20% (BHIB + glycérol).

Les suspensions sont distribuées en cryotubes et Eppendorfs et congelées -20°C.

### III.4. Méthodes d'analyse statistique

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

- ➔ Excel 2007 (Microsoft).
- ➔ SPSS 20.0 software (IBM Corp., NY, USA).

Les résultats ont été analysés en utilisant les tests suivants :

- 🌐 Le calcul des intervalles de confiance (IC : 95%)
- 🌐 Le test de comparaison Khi-deux ( $\chi^2$ ) avec un risque  $\alpha$  fixé à 5%.
- 🌐 Le test d'analyse des variances : ANOVA

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

---

# Résultats

---

## RÉSULTATS

Notre étude s'est déroulée durant la période allant du mois de Juin 2016 au mois de Juin 2019, durant laquelle nous avons estimé la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans des échantillons d'origine humaine et aviaire, puis nous avons procédé à la caractérisation des souches isolées sur le plan phénotypique, et à l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques.

### I. PRÉVALENCE DES *CAMPYLOBACTER* THERMOTOLÉRANTS

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

Dans cette partie, nous présenterons dans un premier temps, le taux d'isolement global des *Campylobacter* thermotolérants dans l'ensemble des échantillons examinés puis nous détaillerons les prévalences observées dans chaque type de prélèvement, au niveau des élevages ainsi qu'au niveau des établissements d'abattage avicoles visités.

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

Sur l'ensemble des 960 prélèvements réalisés au niveau des élevages et des établissements d'abattage aviaires, nous avons isolé 612 souches de *Campylobacter* thermotolérants, soit un taux d'isolement de (63.7%), ce qui implique que 348 prélèvements (36.3%) sont rapportés négatifs.

Les échantillons positifs sont répartis comme suit :

- ❖ 65 % (312/480) des prélèvements fécaux (fientes et écouvillons cloacaux) ;
- ❖ 55 % (132/240) des prélèvements de peaux de cou ;
- ❖ 70% (168/240) des prélèvements de contenus caecaux.

Le taux de contamination des contenus caecaux (70%) est le plus élevé, viennent ensuite, les taux de contamination des fientes (65%) puis des peaux du cou (55%).

Il est à noter la différence entre ces trois valeurs était statistiquement non significative ( $p < 0.05$ )

Les prévalences observées sont notées dans le tableau 18 et représentées par la figure 34.

**Tableau 18. Prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants.**

Type de prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre de prélèvements (+)	Prévalence
Peaux de cou	240	132	55%
Fientes	480	312	65%
Contenu caecal	240	168	70%

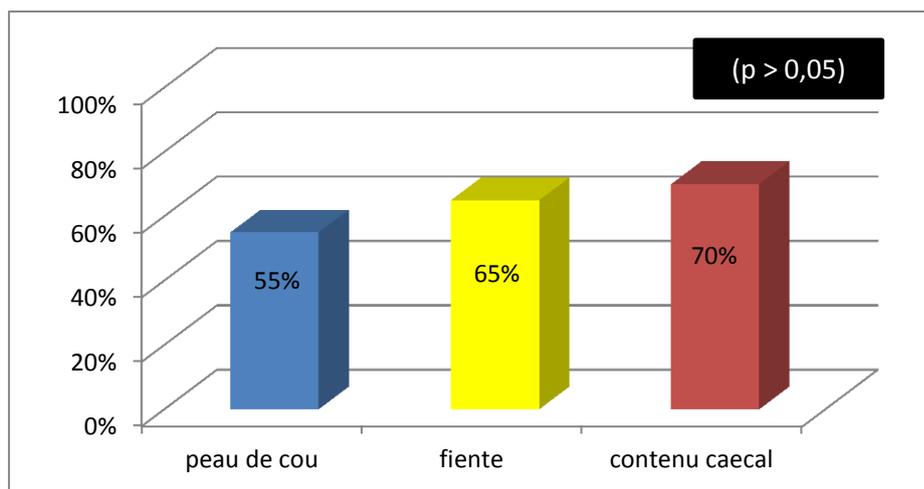


Figure 34. Répartition des taux de contamination en fonction du type de prélèvement.

### I.1.2. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevage

#### I.1.2.a.) Prévalence globale

Sur l'ensemble de 480 échantillons prélevés au niveau des élevages (240 écouvillons cloacaux et 240 échantillons de fientes), nous avons isolé 312 souches de *Campylobacter* thermotolérants, soit un taux d'isolement de (65%), ce qui implique que 168 prélèvements (35%) sont rapportés négatifs.

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

Les résultats concernant le taux global d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevage sont consignés par la figure 35.

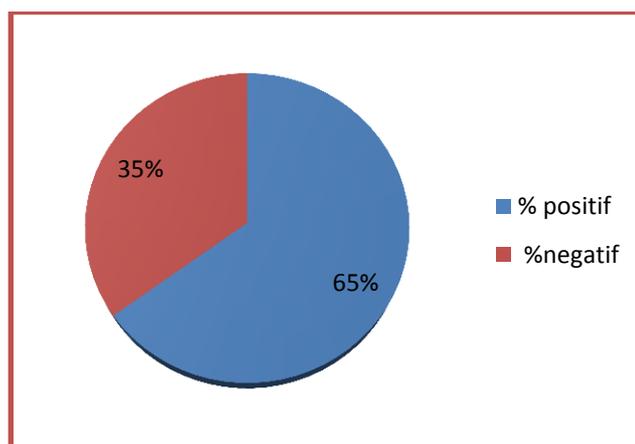


Figure 35. Prévalence globale de *Campylobacter* thermotolérants dans les fientes et les écouvillons cloacaux

#### I.1.2.b.) Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants par élevage

La répartition des 312 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées au niveau de 24 bâtiments d'élevage visités est représentée par la figure 36.

Parmi les 24 élevages visités durant notre étude, aucun élevage n'a été qualifié indemne de *Campylobacter* thermotolérant, et l'éventail de contamination des élevages varie de 20 % à 100 %.

La plus grande prévalence (100%) a été constatée au niveau des élevages E1, E2 et E14, alors que la plus faible (20%) prévalence a été constatée au niveau de l'élevage E7.

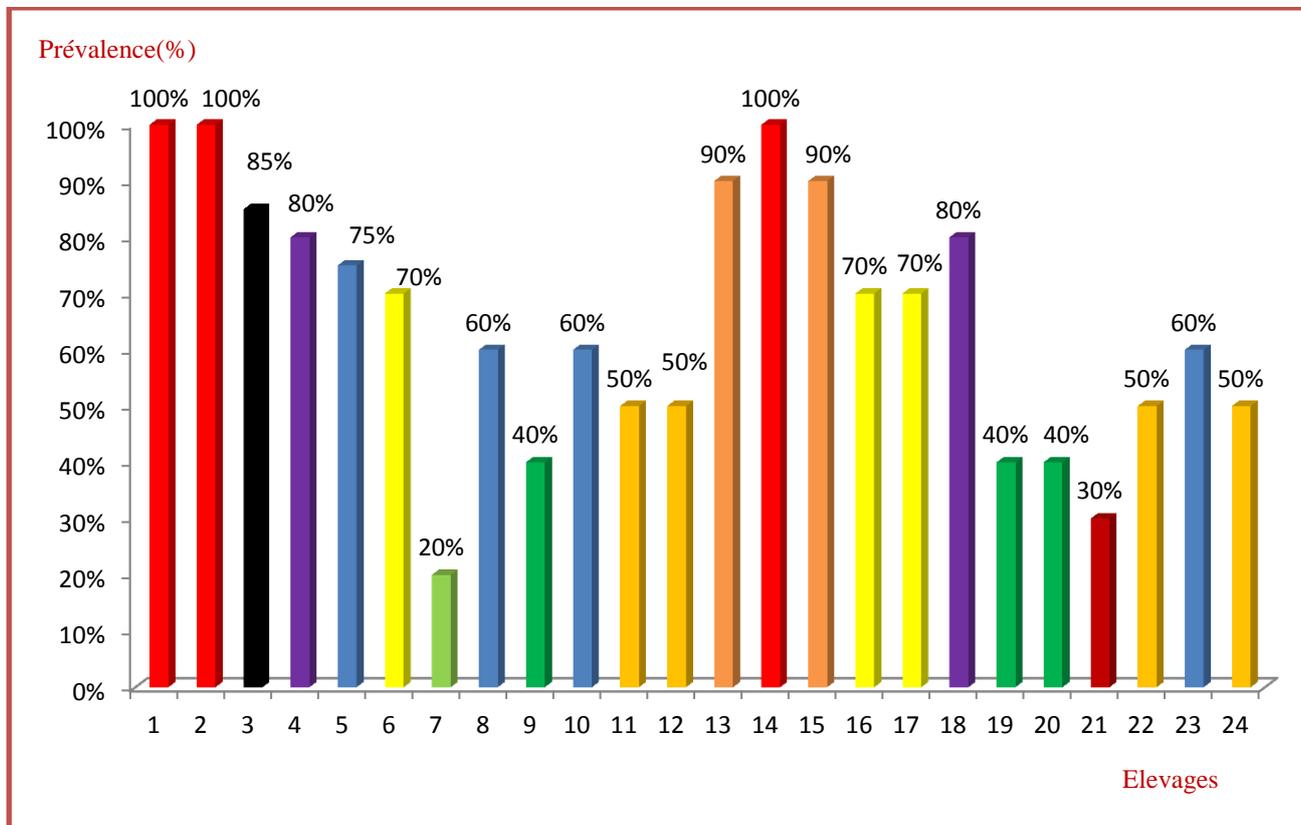


Figure 36. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants par élevage.

#### I.1.2.c.) Prévalence de *Campylobacter* thermotolérant stratifiées par modalité du prélèvement

Comme nous l'avons mentionné précédemment, les prélèvements au niveau des bâtiments d'élevage sont réalisés selon deux modalités : soit par un écouvillonnage cloacal, soit par un prélèvement des fientes fraîches à partir du sol.

La prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des élevages en fonction de modalité de prélèvements est représentée dans le tableau (19).

Nous avons constaté que la différence entre les taux d'isolement constatés (65,8% et 64,2%) à la suite d'utilisation de 2 modalités de prélèvement est statistiquement non significative ( $p > 0,05$ ).

La prévalence des *Campylobacter* thermotolérants au niveau de chaque élevage en fonction de modalité de prélèvements est représentée dans le tableau 20.

**Tableau 19. Prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevage**

Type de prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre de Prélèvements positifs	Prévalence	P-Value
Fientes	240	154	64,2%	P > 0.05
Écouvillons cloacaux	240	158	65,8%	
Total	480	312	65%	

#### **I.1.2.d.) Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevages en fonction de la saison du prélèvement**

Les prévalences de *Campylobacter* thermotolérants au niveau bâtiments d'élevages stratifiées en fonction de la saison sont rapportées dans le tableau 21.

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

Nous constatons qu'il y a des variations saisonnières avec un pic estival, c'est bien que les prévalences les plus élevées sont constatées en été, avec un taux de contamination globale de (94,2%) [IC : 89,6% ; 98,8%]. D'autre part, les prévalences les plus faibles sont constatées en hiver, avec un taux de contamination globale de (38,3%) [IC : 29,2% ; 47,4%].

#### **I.1.2.e.) Prévalences des *Campylobacter* thermotolérants en fonction de l'âge d'abattage**

Les prévalences des *Campylobacter* thermotolérants stratifiées en fonction de l'âge des troupeaux sont rapportées dans le tableau (22). La prévalence variait de 63,7% à 66,2%.

Notre étude n'a montré aucune association entre la prévalence de *Campylobacter* thermotolérants et l'âge d'abattage des volailles ( $P > 0,05$ ).

#### **I.1.2.f.) Prévalences des *Campylobacter* thermotolérants en fonction de la taille du troupeau**

Les prévalences des *Campylobacter* thermotolérants stratifiées en fonction de la taille des troupeaux sont représentées par le tableau 23.

Au cours de la présente étude, nous avons remarqué une densité élevée des poulets de chair dans les élevages visités (4000 à 8000) pour des superficies relativement réduites et la prévalence variait de 63,7% à 66,2%.

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

**Tableau 20. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants en fonction de modalité de prélèvements par élevage.**

	Fientes			Écouvillonnage cloacaux		
	Nombre des échantillons testés	Nombre des échantillons positifs	Prévalence	Nombre des échantillons testés	Nombre des échantillons positifs	Prévalence
E1	10	10	100%	10	10	100%
E2	10	10	100%	10	10	100%
E3	10	08	80%	10	09	90%
E4	10	08	80%	10	08	80%
E5	10	08	80%	10	07	70%
E6	10	06	60%	10	08	80%
E7	10	01	10%	10	03	30%
E8	10	06	60%	10	06	60%
E9	10	04	40%	10	04	40%
E10	10	06	60%	10	06	60%
E11	10	04	40%	10	06	60%
E12	10	05	50%	10	05	50%
E13	10	09	90%	10	09	90%
E14	10	10	100%	10	10	100%
E15	10	09	90%	10	09	90%
E16	10	08	80%	10	06	60%
E17	10	07	70%	10	07	70%
E18	10	09	90%	10	07	70%
E19	10	03	30%	10	05	50%
E20	10	04	40%	10	04	40%
E21	10	04	40%	10	02	20%
E22	10	04	40%	10	06	60%
E23	10	06	60%	10	06	60%
E24	10	05	50%	10	05	50%
Total	10	154	64,2%	00	158	65,8%
<b>P-Value</b>	<b>P &gt; 0.05</b>					

Tableau 21. Prévalences des *Campylobacter* thermotolérants stratifiées par saison

	Été	Automne	Hiver	Printemps
Élevage concerné	E (1,2,3,13,14,15)	E (4,5,6,16,17,18)	E (7,8,9,19,20,21)	E (10,11,12,22,23,24)
Taux de contamination	94.2%	74.2%	38,3%	53,3%

Tableau 22. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants en fonction de l'âge d'abattage

Élevages (E)	Age des sujets/jours	Nombre de prélèvements (+)	Prévalence	P-Value
E (1, 6, 8, 11, 16, 17, 19,23)	34 à 38	106	66.2 %	P > 0.05
E (4, 7, 9, 13, 14, 15, 20,22)	39 à 42	102	63.7 %	
E (2, 3, 5, 10, 12, 18, 21,24)	> 42	104	65%	

Tableau 23. Prévalences des *Campylobacter* thermotolérants stratifiées en fonction de la taille des troupeaux.

Élevages	Taille du troupeau	Nombre de prélèvements positifs	Prévalence	P-Value
E (4, 8, 10, 15, 21,23)	4000	76	60.3 %	P > 0.05
E (9, 11, 14, 16, 17,24)	5000	78	65 %	
E (1, 2, 5, 7, 19,22)	6000	77	64.2%	
E (3, 6, 12, 13, 18,20)	8000	81	67.5 %	

#### I.1.2.h.) Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevages en fonction de type du milieu de culture

Au cours de la présente étude, nous avons procédé pour les échantillons fécaux à un isolement direct, pour ce faire, nous avonsensemencé la suspension mère sur la surface des deux géloses Karmali (à base de charbon) et Preston (à base du sang) préparées extemporanément. Cela d'une part, pour suivre les instructions de la norme NF ISO 10272 : 1995 qui préconise l'ensemencement de milieux solides : la gélose Karmali et un autre milieu solide (dans notre cas : gélose Preston), et d'autre part, pour comparer le rendement d'isolement de ces 2 milieux ainsi que leurs sélectivités.

Le tableau (24) montre la prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants à partir des fientes en utilisant les deux milieux sélectifs : Karmali et Preston.

**Tableau 24. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevages en fonction de type du milieu de culture**

	Milieu sélectif de Karmali			Milieu sélectif Preston		
	Nombre des échantillons testés	Nombre des échantillons positifs	Prévalence	Nombre des échantillons testés	Nombre des échantillons positifs	Prévalence
E1	20	20	100%	20	20	100%
E2	20	20	100%	20	20	100%
E3	20	17	85%	20	16	80%
E4	20	16	80%	20	16	80%
E5	20	15	75%	20	13	65%
E6	20	14	70%	20	14	70%
E7	20	04	20%	20	04	20%
E8	20	10	50%	20	12	60%
E9	20	08	40%	20	08	40%
E10	20	12	60%	20	11	55%
E11	20	10	50%	20	10	50%
E12	20	10	50%	20	10	50%
E13	20	18	90%	20	17	85%
E14	20	20	100%	20	20	100%
E15	205	18	90%	20	18	90%
E16	20	14	70%	20	12	60%
E17	20	14	70%	20	14	70%
E18	20	16	80%	20	16	80%
E19	20	08	40%	20	08	40%
E20	20	06	30%	20	08	50%
E21	20	06	30%	20	06	30%
E22	20	10	50%	20	10	50%
E23	20	12	60%	20	11	55%
E24	20	10	50%	20	10	50%
Total	480	308	64,2%	480	304	63.3%
<b>P-Value</b>	<b>P &gt; 0.05</b>					

Le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants en utilisant le milieu de Karmali est de 64,2%, un taux légèrement supérieur à celui obtenu en utilisant le milieu de Preston. Mais cette différence était statistiquement non significative, indiquant que le type de milieu n'a pas une grande influence sur le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants, et les deux milieux (Karmali et Preston) ont presque le même rendement de récupération des *Campylobacter* thermotolérants

### I.1.3. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des établissements d'abattage

#### I.1.3.a.) Prévalence globale

300 souches de *Campylobacter* thermotolérants ont été isolées dans les douze établissements d'abattage à partir de 480 prélèvements testés (62.5%). C'est bien que 132 souches de *Campylobacter* thermotolérants ont été isolées à partir de 240 prélèvements de peaux de cou (55%) et 168 souches de *Campylobacter* thermotolérants ont été isolées à partir de 240 prélèvements de contenus caecaux (70%).

#### I.1.3.b.) Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux de cou par établissement d'abattage

La Prévalence globale de *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux du cou, ainsi que la répartition de 132 souches isolées par établissement d'abattage sont représentées par la figure 37 et le tableau (25).

Parmi les 12 établissements d'abattage visités durant notre étude, aucun établissement n'a été qualifié indemne de *Campylobacter* thermotolérant, et l'éventail de contamination des élevages varie de 45 % à 60 %.

La plus grande prévalence (60%) a été constatée au niveau des abattoirs (1, 3,5 et 8), alors que la plus faible prévalence (45%) a été constatée au niveau de l'abattoir 12.

Aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'a été constatée entre les taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants à partir des peaux de cou entre les différents établissements d'abattage testés

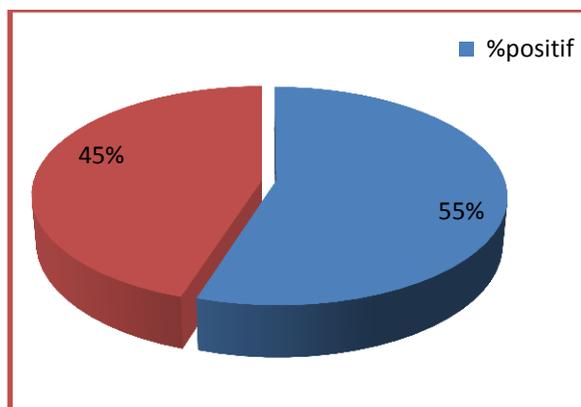


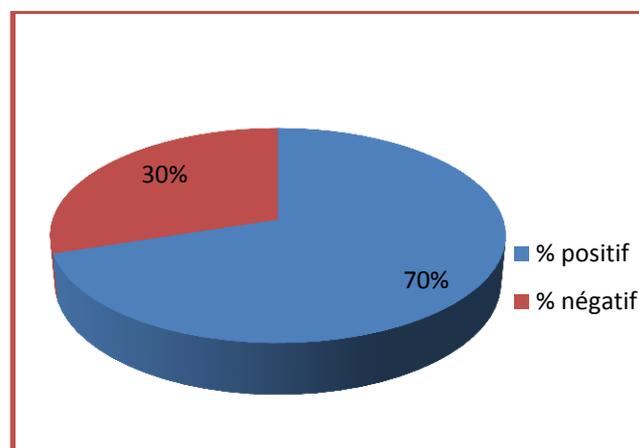
Figure 37. Prévalence globale de *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux du cou.

Tableau 25. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux de cou par abattoir.

Désignation	Nombre de prélèvements	Cas positifs	
		Nombre	%
Abattoir 01	20	12	60
Abattoir 02	20	11	55
Abattoir 03	20	12	60
Abattoir 04	20	11	55
Abattoir 05	20	12	60
Abattoir 06	20	11	55
Abattoir 07	20	11	55
Abattoir 08	20	12	60
Abattoir 09	20	10	50
Abattoir 10	20	10	50
Abattoir 11	20	11	55
Abattoir 12	20	09	45
<b>Total</b>	240	132	
<b>P-Value</b>	<b>P &gt; 0.05</b>		

### I.1.3.c.) Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caecaux par établissement d'abattage

La Prévalence globale de *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caecaux, ainsi que la répartition de 168 souches isolées par établissement d'abattage sont représentées par la figure (38) et le tableau (26).

Figure 38. Prévalence globale de *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caecaux.

**Tableau 26. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caecaux par abattoir.**

Désignation	Nombre de prélèvements	Cas positifs	
		Nombre	%
Abattoir 01	20	16	80
Abattoir 02	20	12	60
Abattoir 03	20	15	65
Abattoir 04	20	13	75
Abattoir 05	20	15	65
Abattoir 06	20	15	75
Abattoir 07	20	14	70
Abattoir 08	20	16	80
Abattoir 09	20	13	75
Abattoir 10	20	14	70
Abattoir 11	20	14	70
Abattoir 12	20	11	55
Total	240	168	P > 0.05
<b>P-Value</b>	<b>P &gt; 0.05</b>		

Parmi les 12 établissements d'abattage visités durant notre étude, et à l'instar des prélèvements de peaux de cou, aucun établissement n'a été qualifié indemne de *Campylobacter* thermotolérant, et l'éventail de contamination des élevages varie de 55 % à 80 %.

La plus grande prévalence (80%) a été constatée au niveau des abattoirs (1 et 8), alors que la plus faible prévalence (55%) a été constatée au niveau de l'abattoir 12.

De façon similaire aux prélèvements de peaux de cou, aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'a été constatée entre les taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants à partir des prélèvements de contenus caecaux entre les différents établissements d'abattage testés.

### **I.2. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants chez l'Homme**

Sur l'ensemble de 240 prélèvements humains, nous avons isolé 36 souches de *Campylobacter* thermotolérants, soit un taux d'isolement de (15%). Ce qui implique que 204 prélèvements ont été rapportés négatifs (85%). Ces 36 isolats ont été répartis comme suit : 26 souches ont été isolées par un écouvillonnage rectal (21.7%) et 10 souches à partir des selles diarrhéiques (8.3%).

Le tableau (27) représente le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine examinée en fonction de type du prélèvement.

Tableau 27. Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants chez l'Homme.

Type de prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre de Prélèvements positifs	Prévalence	P-Value
Écouvillonnage rectal	120	26	21.7%	p ≤ 0.05
Selles diarrhéiques	120	10	8,3%	
<b>Total</b>	240	36	15 %	

### I.2.1. Répartition des souches isolées en fonction de l'âge du patient

Le tableau (28) représente le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine en fonction l'âge du patient.

Le taux d'isolement était plus élevé (22.5%) chez les enfants âgés de moins de 5 ans par rapport aux autres tranches d'âge (p ≤ 0.05) (tableau 28).

Les personnes âgées de plus de 50 ans viennent en deuxième position par un taux d'isolement de 10%. Pour celles-ci, elles ont présenté un contexte épidémiologique assez évocateur d'une campylobactériose humaine (extrême d'âge, une diarrhée persistante, des douleurs articulaires et surtout la consommation de viande du poulet deux jours avant l'apparition des symptômes).

**Tableau 28. Taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine en fonction de l'âge du patient.**

Tranches d'âge	Nombre de prélèvements	Nombre de Prélèvements positifs	Prévalence %	P-Value
<b>5 &lt; ans</b>	120	27	22,5	p ≤ 0.05
<b>≥5 ans</b>	120	9	7,5	
<b>5 à 20 ans</b>	40	3	7,5	
<b>21 à 49 ans</b>	40	2	5	
<b>Plus de 50</b>	40	4	10	
<b>Total</b>	240	36	15 %	

### I.2.2. Répartition des souches isolées en fonction du sexe du patient

Le tableau (29) montre le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine en fonction du sexe du patient.

Le taux d'isolement de *Campylobacter* était plus élevé chez les malades du sexe masculin (16,7%) que chez les malades du sexe féminin (13.3%). Mais cette différence était statistiquement non significative (P > 0.05), indiquant que la prévalence des infections à *Campylobacter* n'était pas influencée par le sexe du patient.

**Tableau 29. Taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine en fonction du sexe du patient.**

Sexe du patient	Nombre de prélèvements	Nombre de Prélèvements positifs	Prévalence %	P value
hommes	120	20	16,7	(P > 0.05)
Femmes	120	16	13.3	
Total	240	36	15 %	

### **I.2.3. Répartition des souches isolées en fonction de la saison (répartition annuelle)**

Le tableau (30) montre le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine en fonction de la saison (répartition annuelle).

Une recrudescence saisonnière des isollements de *Campylobacter* a été notée pendant la période estivale. C'est bien que le taux d'isolement le plus élevé est constaté durant la période allant du mois de Juillet au mois de Septembre (30% : 18/60). D'autre part, le taux d'isolement le plus faible est constatées durant la période allant du mois de Janvier au mois de Mars (5% : 3/60).

**Tableau 30. Taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez la population humaine en fonction de la saison.**

Le mois du prélèvement (saison)	Nombre du prélèvement	Nombre de Prélèvements positifs	Prévalence %	P-Value
Janvier – Mars	60	3	5	p ≤ 0.05
Avril – Juin	60	9	15	
Juillet- septembre	60	18	30	
Octobre – Décembre	60	6	10	

### **I.2.4 Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants chez l'Homme en fonction de la technique d'isolement utilisée**

Comme nous l'avons mentionné précédemment, les échantillons sous forme de selles diarrhéiques, ont été examinés par deux méthodes d'isolement, celle de la filtration passive, et celle d'isolement direct sur milieu sélectif de Karmali.

Le tableau (31) montre la prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants à partir des selles diarrhéiques, en utilisant les deux techniques citées au-dessus.

**Tableau 31. Prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants à partir des selles diarrhéiques en utilisant la technique de la filtration passive et le milieu sélectif de Karmali.**

Milieu sélectif de Karmali			La filtration passive		
Nombre des échantillons testés	Nombre des échantillons positifs	Prévalence	Nombre des échantillons testés	Nombre des échantillons positifs	Prévalence
120	8	6.7%	120	10	8.3%
<b>(P &gt; 0.05)</b>					

En utilisant la technique de la filtration passive, nous avons isolé 10 souches de *Campylobacter* thermotolérants à partir de 120 échantillons de selles diarrhéiques, soit un taux d'isolement de (8.3%), dont deux souches sont caractérisées en tant que des *C. upsaliensis*. Ce taux est légèrement supérieur à celui obtenu en utilisant la technique l'isolement direct sur milieu sélectif de Karmali. Cependant, cette différence est statistiquement non significative ( $P > 0.05$ ).

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

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

Nous avons recherché la présence de tous les *Campylobacter* spp. comme le préconisait la norme ISO 10272 : 1995 versus 2006, à savoir : *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* et *C. upsaliensis*.

Nous avons procédé à l'identification des espèces de *Campylobacter* grâce aux tests de l'hippurate et à celui de la sensibilité des antibiotiques : Acide nalidixique (ANC) et Céphalotine, conformément à la norme ISO 10272.

Nos résultats ont démontré l'existence des 4 espèces habituellement présentes chez les oiseaux : *Campylobacter jejuni*, *coli*, *lari*, et *C. upsaliensis* dans nos échantillons.

Rappelons les principaux critères de différenciation, au niveau du tableau (32) ci-dessous :

**Tableau 32. Caractères de différenciation des *Campylobacter* thermotolérants (ISO 10272 : 1995/2006)**

Espèces	<i>C.jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>
<b>Caractéristique</b>				
<b>Hydrolyse de l'hippurate</b>	+	-	-	-
<b>Acide nalidixique</b>	S	S	R	S
<b>Céphalotine</b>	R	R	R	S

Partant du fait que le *C. jejuni* est la seule espèce positive à l'hippurate (HIP), et qu'elle est sensible à l'Acide Nalidixique et résistante à la Céphalotine, nous avons automatiquement déduit que les souches présentant ce caractère (HIP+), étaient *C. jejuni* bien qu'elles soient résistantes à l'ANC, contrairement au critère standardisé pour cette espèce.

Le fait que, le *C. coli* ainsi que le *C. lari* étant négatifs à l'hippurate, résistants à la Céphalotine mais que l'un (*C. coli*) est sensible à l'Acide Nalidixique et que l'autre (*C. lari*) est résistant à cet antibiotique, et avec l'augmentation des souches de *C. jejuni* et *C. coli* résistantes à l'Acide Nalidixique (D'après la norme ISO 10272 : 2006), il est possible que les *C. lari* identifiés ne sont que des *C. coli*, résistantes à l'ANC, contrairement au critère standardisé pour cette espèce.

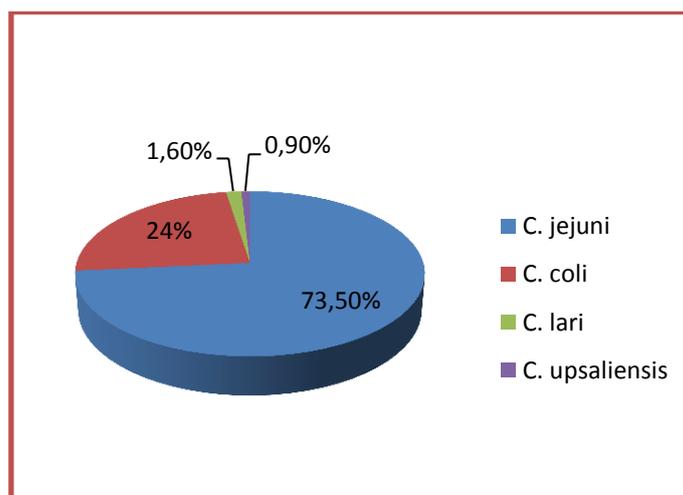
Après avoir confirmé au moyen des galeries classiques ainsi que test d'agglutination au latex (Dry Spot *Campylobacter*) que les souches isolées appartenaient bien aux espèces thermotolérantes, nous avons procédé à l'identification de chacune d'elles au moyen de galeries API Campy.

Cette combinaison, nous a permis d'interpréter nos résultats bactériologiques comme suit, sur les 612 souches :

- 450 (73.5%) souches étaient des *C. jejuni* dont 10 résistants et 440 sensibles à l'ANC,
- 147 (24 %) souches étaient des *C. coli*.
- 10 (1.6%) souches étaient des *C. lari*
- 5 (0.9%) souches étaient des *C. upsaliensis*

La différence entre tous ces résultats était statistiquement significative ( $p \leq 0.05$ ) (figure 39).

La figure 39 montre la répartition globale des espèces de *Campylobacter* thermotolérantes dans l'ensemble des échantillons aviaires.



**Figure 39. Répartition globale des espèces de *Campylobacter* thermotolérants dans l'ensemble des échantillons aviaires.**

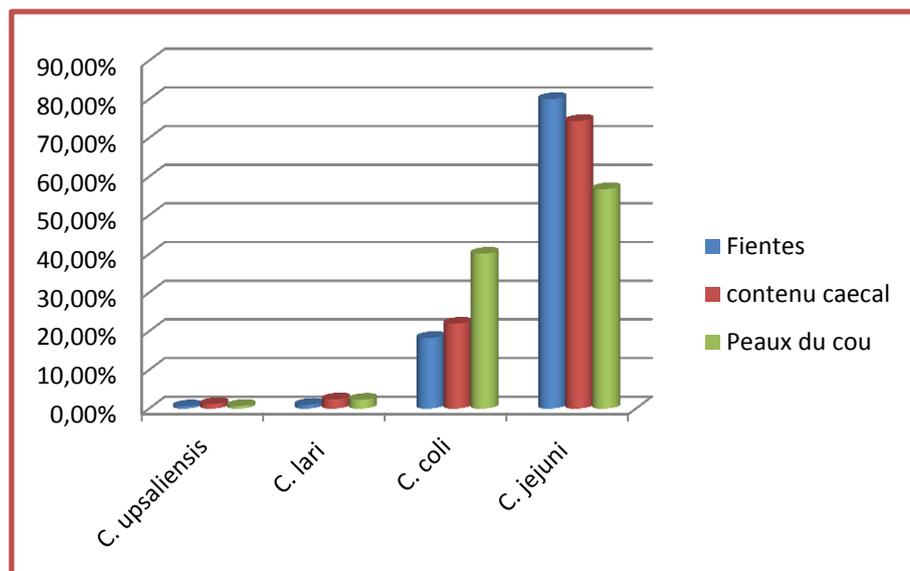
Les résultats de l'étude phénotypique montrent que l'espèce *C. jejuni* est de loin l'espèce la plus isolée dans l'ensemble des échantillons aviaires, avec un taux de 73.5%, vient ensuite, l'espèce *C. coli*. Cependant les deux espèces restant (*C. lari* et *C. upsaliensis*) sont rarement isolées.

### II.1.1. Répartition globale des espèces de *C. thermotolérants* par type d'échantillon

La répartition des espèces isolées dans l'ensemble des échantillons de fientes, contenu caecal et de peaux du cou est résumée dans le tableau (33) et la figure 40.

**Tableau 33. Répartition globale des espèces de *Campylobacter* thermotolérants par type d'échantillon.**

Type d'échantillon	Espèces				Prélèvements positifs / Prélèvements examinés (%)
	<i>C. jejuni</i> (%)	<i>C. coli</i> (%)	<i>C. lari</i> (%)	<i>C. upsaliensis</i> (%)	
Fientes et écouvillons cloacaux	250 (80.1)	57 (18.3)	3 (1)	2(0.6)	312/480 (65)
Contenu caecal	125 (74.4)	37(22.0)	4(2.4)	2(1.2)	168/240 (70)
Peaux du cou	75 (56.8)	53 (40.1)	3 (2.3)	1 (0.7)	132/240 (55)
<b>Total</b>	<b>450 (73.5)</b>	<b>147 (24)</b>	<b>10 (1.6)</b>	<b>5 (0.8)</b>	<b>612/960(63.7)</b>



**Figure 40. Répartition globale des espèces de *Campylobacter* thermotolérants par type d'échantillon.**

### II.1.2. Répartition des espèces au niveau des bâtiments d'élevages

Sur l'ensemble de 312 isolats, 250 (80,1%) étaient *C. jejuni*, 57 (18,3%) étaient *C. coli*, 3 (1%) étaient *C. lari* et deux (0,6%) étaient *C. upsaliensis*.

La répartition des espèces de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des fientes et des écouvillons au des bâtiments d'élevages est représentée par la figure 41

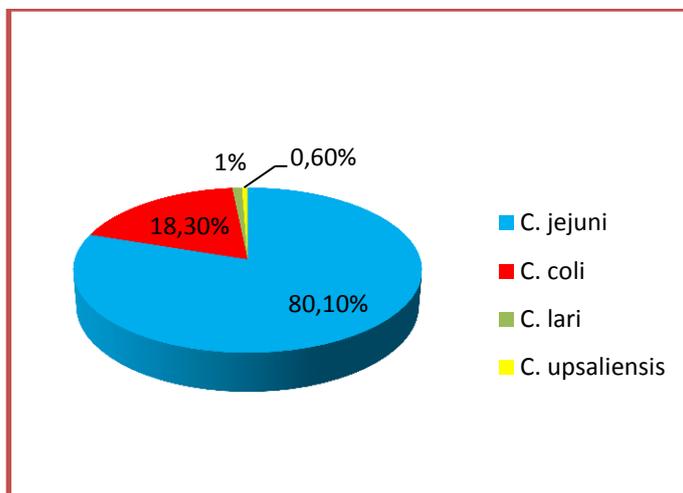


Figure 41. Répartition des espèces de *Campylobacter* thermotolérants isolées au niveau des bâtiments d'élevages.

### II.1.3 Répartition des espèces au niveau au niveau des établissements d'abattage

#### II.1.3.a.) Contenu Ceacal

Parmi les 168 isolats, 125 (74,4%) étaient *C. jejuni*, 37 (22%) étaient *C. coli*, 4 (2,4%) étaient *C. lari* et deux (1,2%) étaient *C. upsaliensis*.

La répartition des espèces de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des contenus caecaux au niveau des établissements d'abattage est représentée par la figure 42.

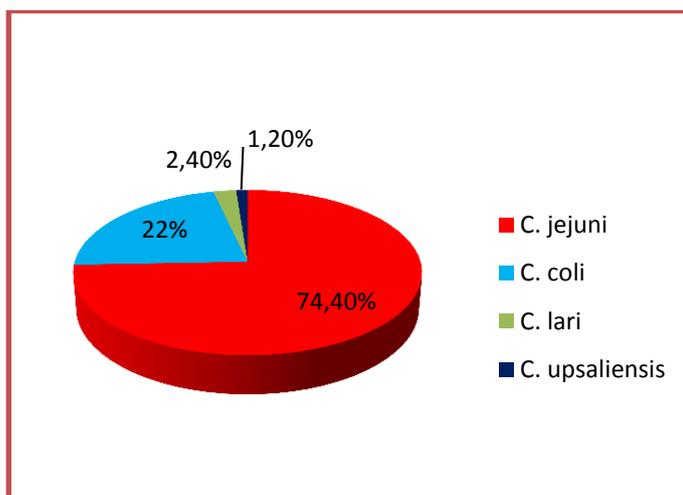
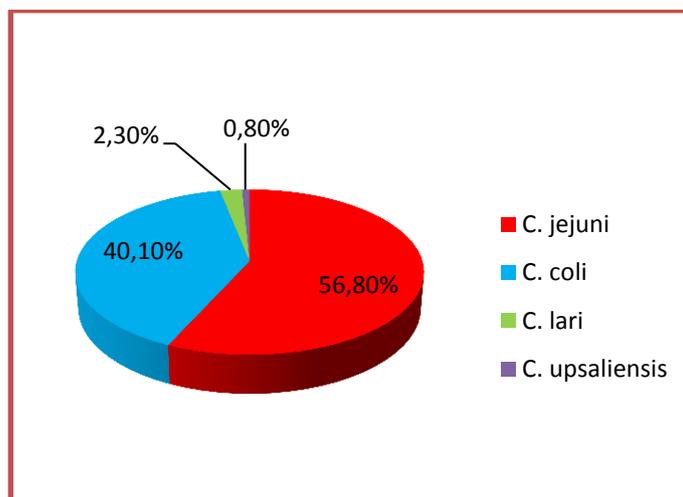


Figure 42. Répartition des espèces de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des contenus caecaux.

### II.1.3.b.) Peaux de cou

Parmi les 132 isolats, 75 (56,8%) étaient *C. jejuni*, 53 (40,1%) étaient *C. coli*, 3 (2,3%) étaient *C. lari* et (0,8%) était *C. upsaliensis*.

La répartition des espèces de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des Peaux de cou au niveau des établissements d'abattage est représentée par la figure 43.



**Figure 43. Répartition des espèces de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des Peaux de cou**

Globalement, *C. jejuni* semble être plus fréquent dans les écouvillons cloacaux et le contenu caecal que dans la peau du cou, tandis que *C. coli* a été isolé avec un taux plus élevé dans la peau du cou que dans le contenu caecal et les écouvillons cloacaux. Finalement, *C. lari* et *C. upsaliensis* ont été isolés avec une faible prévalence dans tous les échantillons.

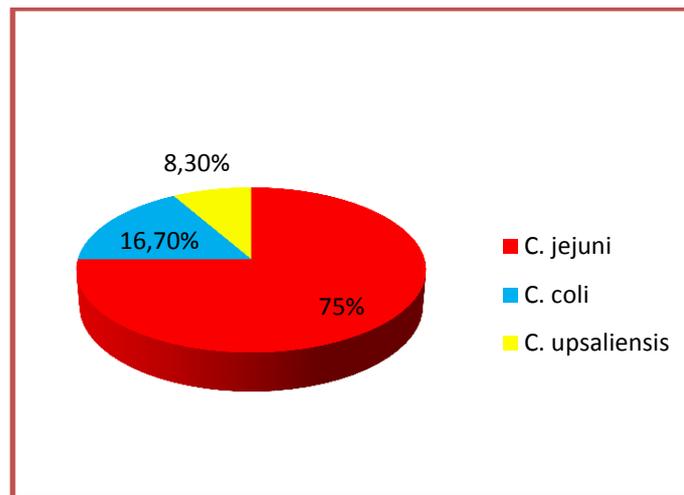
## II.2. Caractérisation phénotypique des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez l'Homme

La combinaison de la lecture des résultats de galeries classiques, du test d'agglutination au latex (Dry Spot *Campylobacter*) et ceux de galeries API Campy, nous a permis d'interpréter nos résultats bactériologiques comme suit, sur les 36 souches :

- 27 (75%) souches étaient des *C. jejuni*
- 6 (16.7 %) souches étaient des *C. coli*.
- 3(8.3%) souches étaient des *C. upsaliensis*

La différence entre tous ces résultats était statistiquement significative ( $p \leq 0.05$ ).

La figure 44 montre la répartition globale des espèces de *Campylobacter* thermotolérants dans l'ensemble des échantillons humains.



**Figure 44. Répartition globale des espèces de *Campylobacter* thermotolérants dans l'ensemble des échantillons humains.**

L'espèce *Campylobacter jejuni* est prédominante (75 %) dans l'ensemble des échantillons humains analysés, suivie de *C. coli* (16.7 %) et de *C. upsaliensis* (8.3%). D'autre part, aucune souche n'a été qualifiée comme étant un *C.Lari*.

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

#### III.1. Étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *C. thermotolerants* isolées chez les volailles

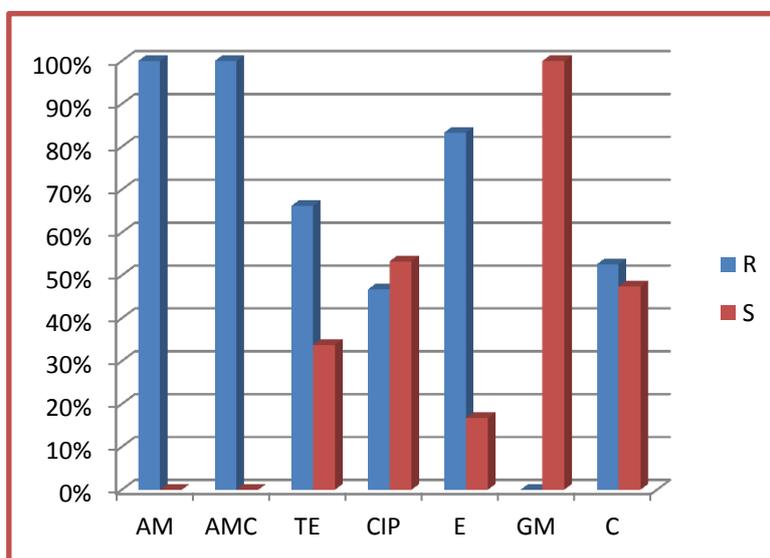
##### III.1.1. Résultats globaux de l'antibiogramme

La lecture des diamètres d'inhibition pour les 612 souches isolées, nous a permis de constater l'existence aussi bien de souches sensibles que résistantes aux différents antibiotiques testés.

Les résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de l'ensemble des souches de *Campylobacter* thermotolerants isolées chez les volailles sont rapportés dans le tableau (34) représentés par la figure 45.

**Tableau 34. Taux de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* thermotolerants isolées chez les volailles.**

ATB	AM		AMC		TE		CIP		E		GM		C	
	N	%	N	%	n	%	n	%	N	%	n	%	N	%
R	612	100	612	100	405	66.2	286	46,7	510	83.3	00	00	322	52.6
S	00	00	00	00	207	33.8	326	53.3	102	16,7	612	100	290	47,4



**Figure 45. Taux de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* thermotolerants isolées chez les volailles**

<b>R :</b>	Résistante	<b>S :</b>	Sensible	<b>C :</b>	Chloramphénicol
<b>AM :</b>	Ampicilline	<b>TE :</b>	Tétracycline	<b>CIP</b>	Ciprofloxacine
<b>AMC :</b>	Amoxicilline/ac.Clavulanique	<b>E :</b>	Erythromycine	<b>GM :</b>	Gentamicin

L'interprétation des résultats de l'antibiogramme des 612 souches testées a révélé, par ordre de fréquence décroissante, que 612 souches étaient résistantes à l'Ampicilline ainsi que l'Amoxicilline /ac. Clavulanique (100%), 510 souches à l'Erythromycine (83.3%), 405 souches à la Tétracycline (66.2%), 322 souches à la Chloramphénicol (52.6%) et 286 souches à la Ciprofloxacine (46.7%). Cependant, aucune résistance n'a été notée vis-à-vis de la Gentamicine.

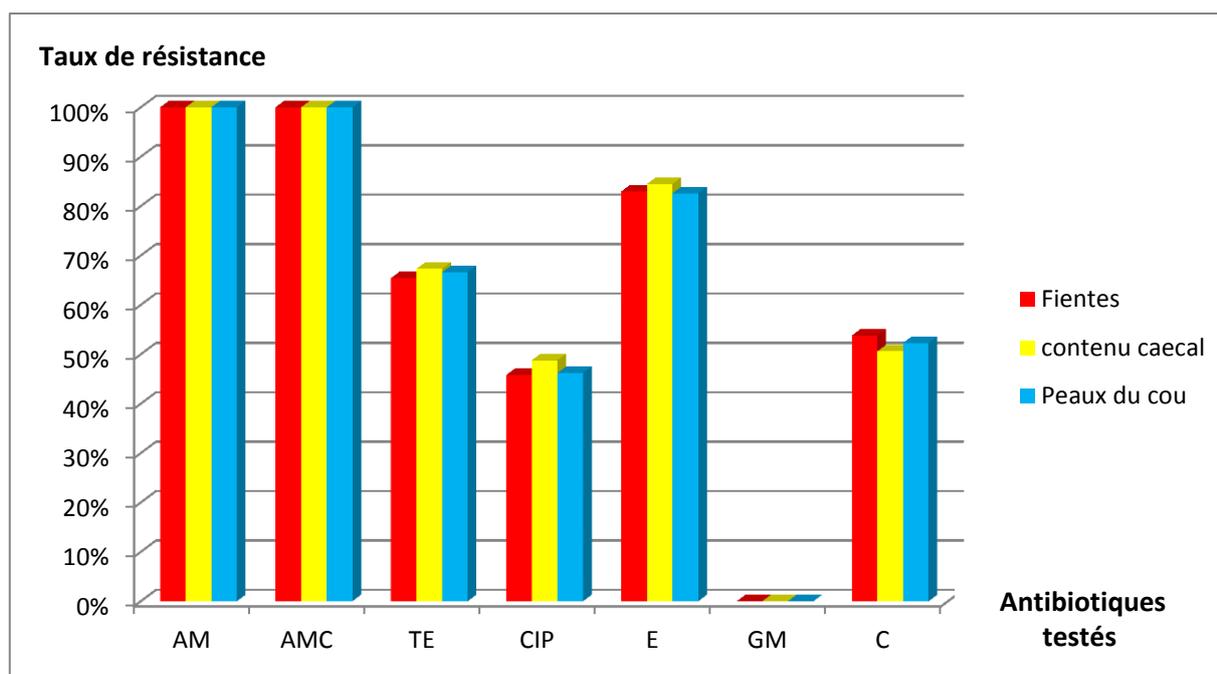
### III.1.2. Taux de résistance aux antibiotiques en fonction de la nature des prélèvements

Après avoir comparé les taux de résistance à chaque antibiotique pour les souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des fientes, des écouvillons cloacaux, des contenus caecaux et des peaux de cou, nous avons pu déduire que la différence n'était pas statistiquement significative ( $P > 0.05$ ).

Les résultats sont rapportés dans le tableau (35) représentés par la figure 46.

**Tableau 35. Répartition des taux de résistance aux antibiotiques en fonction de la nature des prélèvements.**

Antibiotiques testés	Nature du prélèvement						p
	Fientes et écouvillons cloacaux		Contenu caecal		Peaux du cou		
	n	%	n	%	n	%	
<b>AM</b>	312	100	168	100	132	100	> 0.05
<b>AMC</b>	312	100	168	100	132	100	> 0.05
<b>TE</b>	204	65.4	113	67.3	88	66.6	> 0.05
<b>CIP</b>	143	45.8	82	48.8	61	46.2	> 0.05
<b>E</b>	259	83	142	84.5	109	82.6	> 0.05
<b>GM</b>	00	00	00	00	00	00	> 0.05
<b>C</b>	168	53.8	85	50.6	69	52.3	> 0.05



**Figure 46. Répartition des taux de résistance aux antibiotiques en fonction de la nature des prélèvements.**

### III.1.3. Résistance des *Campylobacter* thermotolérants isolés à partir des fientes et des écouvillons cloacaux dans les différents élevages

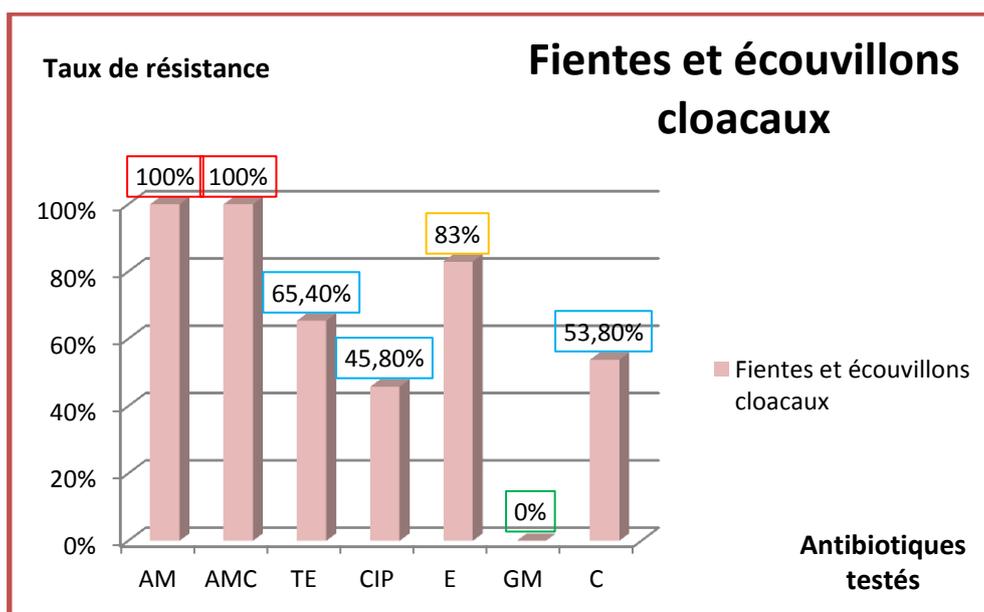
Pour les souches isolées à partir des fientes et des écouvillons cloacaux, les résultats de l'antibiogramme ont montré différents taux de résistance aux différents antibiotiques testés :

- 312 souches étaient résistantes à l'ampicilline et l'amoxicilline /acide clavulanique (100%).
- 259 souches étaient résistantes à l'érythromycine (83%).
- 143 souches étaient résistantes à la ciprofloxacine (45,8%).
- 204 souches étaient résistantes à la tétracycline (65,4%).
- 168 souches étaient résistantes à la Chloramphénicol (53,8%).
- aucune résistance n'a été notée vis-à-vis de la Gentamicine (0%).

La figure 47 montre les taux de résistance globaux des *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des fientes et des écouvillons cloacaux dans l'ensemble des bâtiments d'élevages.

Les taux de résistance aux différents antibiotiques des différentes souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des fientes et des écouvillons cloacaux dans chaque élevage sont représentés dans le tableau (36).

Les résultats obtenus montrent que la différence entre les taux de résistance constatés vis-à-vis au même antibiotique dans les différents élevages n'était pas statistiquement significative ( $P > 0.05$ ).



**Figure 47. Taux de résistance des souches isolées à partir des fientes et écouvillons cloacaux.**

L'ampicilline ainsi que l'association amoxicilline /acide clavulanique ont perdu complètement leur efficacité contre toutes les souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées au niveau des bâtiments d'élevage. Cependant, la Gentamicine, reste le seul antibiotique qui présente une efficacité absolue contre toutes les souches isolées.

Pour la tétracycline, le taux de résistance le plus élevé (75%) a été constaté au niveau de l'élevage 7. Par contre, le taux de résistance le plus faible (58.3%) a été enregistré au niveau de l'élevage 23.

Pour le chloramphénicol, le taux de résistance le plus élevé (62.5%) a été constaté au niveau de l'élevage 9. Par contre, le taux de résistance le plus faible (47%) a été enregistré au niveau de l'élevage 3.

Pour la ciprofloxacine, le taux de résistance le plus élevé (52.9%) a été constaté au niveau de l'élevage 2. Par contre, le taux de résistance le plus faible (38.9%) a été enregistré au niveau de l'élevage 15.

L'antibiotique pour lequel, nous avons constaté des taux de résistance alarmants dans tous les élevages avec un moyen de résistance de 83 %, c'est l'érythromycine et un maximum de résistance dans l'élevage 22 avec un taux de 90%.

**Tableau 36. Répartition des taux de résistance aux antibiotiques des différentes souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des fientes dans les différents élevages.**

	AM n (%)	AMC n (%)	TE n (%)	CIP n (%)	E n (%)	GM n (%)	C n (%)
Élevage 01 (20)	20 (100)	20 (100)	13 (65)	09 (45)	16 (80)	00 (00)	11 (55)
Élevage 02 (20)	20 (100)	20 (100)	14 (70)	10 (50)	16 (80)	00 (00)	10 (50)
Élevage 03 (17)	17 (100)	17 (100)	11 (64.7)	09 (52.9)	14 (82.3)	00 (00)	08 (47)
Élevage 04 (16)	16 (100)	16 (100)	11(68.7)	07(43.7)	14 (87.5)	00 (00)	09 (56.2)
Élevage 05 (15)	15 (100)	15 (100)	10 (66.7)	06 (40)	13 (86.7)	00 (00)	08 (53.3)
Élevage 06 (14)	14 (100)	14 (100)	09 (64.3)	07 (50)	12 (85.7)	00 (00)	08 (57.1)
Élevage 07 (04)	04 (100)	04 (100)	03 (75)	02 (50)	03 (75)	00 (00)	02 (50)
Élevage 08 (12)	12 (100)	12 (100)	08 (66.7)	06 (50)	10 (83.3)	00 (00)	07 (58.3)
Élevage 09 (08)	08 (100)	08 (100)	05 (62.5)	04 (50)	07 (87.5)	00 (00)	05 (62.5)
Élevage 10 (12)	12 (100)	12 (100)	08 (66.7)	06 (50)	10 (83.3)	00 (00)	06 (50)
Élevage 11 (10)	10 (100)	10 (100)	07 (70)	05 (50)	08 (80)	00 (00)	06 (60)
Élevage 12 (10)	10 (100)	10 (100)	07 (70)	05 (50)	08 (80)	00 (00)	05 (50)
Élevage 13 (18)	18 (100)	18 (100)	12 (66.7)	08(44.4)	15 (83.3)	00 (00)	11 (61.1)
Élevage 14 (20)	20 (100)	20 (100)	13 (65)	08 (40)	17 (85)	00 (00)	11 (55)
Élevage 15 (18)	18 (100)	18 (100)	12 (66.7)	07(38.9)	16 (88.9)	00 (00)	10 (55.5)
Élevage 16 (14)	14 (100)	14 (100)	09 (64.3)	06(42.8)	12 (85.7)	00 (00)	07 (50)
Élevage 17 (14)	14 (100)	14 (100)	09 (64.3)	06(42.8)	11 (78.6)	00 (00)	08 (57.1)
Élevage 18 (16)	16 (100)	16 (100)	10 (62.5)	07(43.7)	14 (87.5)	00(00)	09 (56.2)
Élevage 19 (08)	08 (100)	08 (100)	05 (62.5)	04 (50)	06 (75)	00 (00)	04 (50)
Élevage 20 (08)	08 (100)	08 (100)	05 (62.5)	04 (50)	06 (75)	00 (00)	04 (50)
Élevage 21 (06)	06 (100)	06 (100)	04 (66.7)	03 (50)	05 (83.3)	00 (00)	03 (50)
Élevage 22 (10)	10 (100)	10 (100)	06 (60)	05 (50)	09 (90)	00 (00)	05 (50)
Élevage 23(12)	12 (100)	12 (100)	07 (58.3)	05(41.7)	09 (75)	00 (00)	06 (50)
Élevage 24 (10)	10 (100)	10 (100)	06 (60)	04 (40)	08 (80)	00 (00)	05 (50)
P	/	/	> 0.05	> 0.05	> 0.05	/	> 0.05
Total	312(100)	312(100)	204(65,4)	143(45,8)	259 (83)	00	168(53,8)

### III.1.4. Résistance des *Campylobacter* thermotolérants isolés à partir des peaux du cou dans les différents établissements d'abattage

Pour les souches isolées à partir des peaux de cou, les résultats de l'antibiogramme ont montré différents taux de résistance aux différents antibiotiques testés (figure 48) :

- 132 souches étaient résistantes à l'ampicilline et l'amoxicilline /acide clavulanique (100%).
- 109 souches étaient résistantes à l'érythromycine (82,6%).
- 61 souches étaient résistantes à la ciprofloxacine (46,2%).
- 88 souches étaient résistantes à la tétracycline (66,6%).
- 69 souches étaient résistantes à la Chloramphénicol (52,3%).
- aucune résistance n'a été notée vis-à-vis de la Gentamicine (0%).

La figure 48 montre les taux de résistance globaux des *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des à partir des peaux de cou dans l'ensemble des établissements d'abattage.

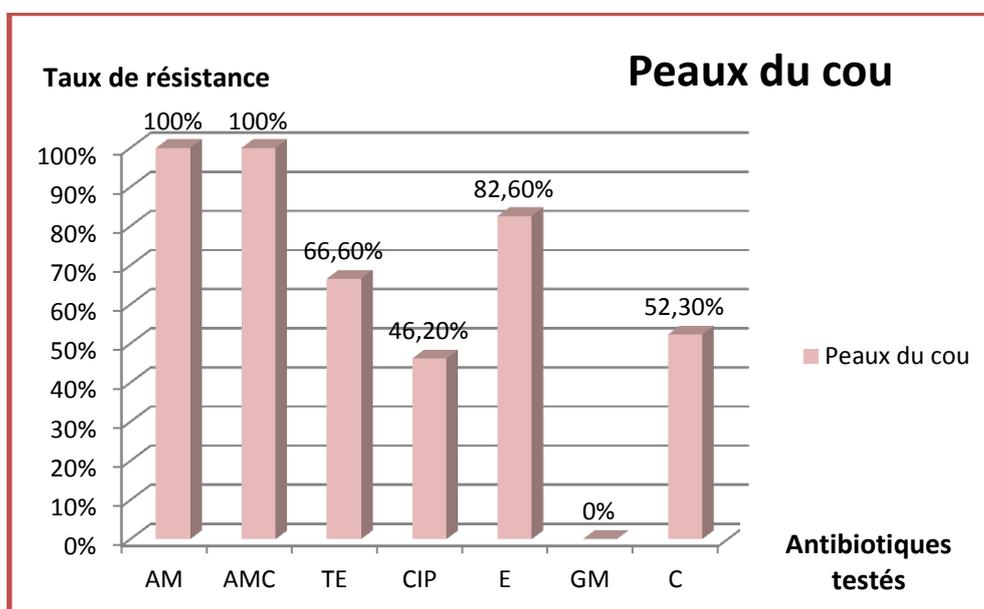


Figure 48. Taux de résistance de souches isolées à partir des peaux de cou.

Les taux de résistance aux antibiotiques des différentes souches *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des peaux de cou dans chaque établissement d'abattage sont représentés dans le tableau (37).

Les résultats obtenus montrent que pour l'ampicilline, l'association amoxicilline /acide clavulanique, gentamicine, l'érythromycine, ciprofloxacine et le chloramphénicol, il n'y pas une différence significative entre les taux de résistance notés à ces antibiotiques dans les différents élevages ( $> 0.05$ ). Par contre, pour la tétracycline, cette différence était statistiquement significative ( $p \leq 0.05$ ).

**Tableau 37. Répartition des taux de résistance aux antibiotiques des différentes souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des peaux du cou dans les différents abattoirs.**

	AM n (%)	AMC n (%)	TE n (%)	CIP n (%)	E n (%)	GM n (%)	C n (%)
Abattoir 01 (12)	12 (100)	12 (100)	9 (75)	6 (50)	10 (83.3)	00 (00)	6 (50)
Abattoir 02 (11)	11 (100)	11 (100)	8 (72.7)	5 (45.4)	9 (81.8)	00 (00)	6 (54.5)
Abattoir 03 (12)	12 (100)	12 (100)	9 (75)	5 (41.6)	10 (83.3)	00 (00)	7 (58.3)
Abattoir 04 (11)	11 (100)	11 (100)	8 (72.7)	6 (54.5)	9 (81.8)	00 (00)	6 (54.5)
Abattoir 05 (12)	12 (100)	12 (100)	8 (66.6)	5 (41.6)	10 (83.3)	00 (00)	6 (50)
Abattoir 06 (11)	11 (100)	11 (100)	7 (63.6)	5 (45.5)	9 (81.8)	00 (00)	6 (54.5)
Abattoir 07 (11)	11 (100)	11 (100)	9 (81.8)	5 (45.5)	9 (81.8)	00 (00)	5 (45.4)
Abattoir 08 (12)	12 (100)	12 (100)	10 (83.3)	5 (41.6)	10 (83.3)	00 (00)	7 (58.3)
Abattoir 09 (10)	10 (100)	10 (100)	4 (40)	4 (40)	8 (80)	00 (00)	5 (50)
Abattoir 10 (10)	10 (100)	10 (100)	7 (70)	5 (50)	9 (90)	00 (00)	5 (50)
Abattoir 11 (11)	11 (100)	11 (100)	03 (27.3)	6 (54.5)	9 (81.8)	00 (00)	5 (45.4)
Abattoir 12 (9)	9 (100)	9 (100)	6 (66.7)	4 (44.4)	7 (77.8)	00 (00)	5 (55.5)
P	//	//	$p \leq 0.05$	$> 0.05$	$> 0.05$	//	$> 0.05$
Total	132(100)	132(100)	88 (66,6)	61(46,2)	109 (82.6)	00 (00)	69 (52,3)

L'ampicilline ainsi que l'association amoxicilline /acide clavulanique ont perdu complètement leur efficacité contre toutes les souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées au niveau des établissements d'abattage. Cependant, la gentamicine, reste le seul antibiotique qui présente une efficacité absolue contre toutes les isolées.

Pour le chloramphénicol, le taux de résistance le plus élevé (58.3%) a été constaté au niveau des abattoirs 3 et 8. Par contre, le taux de résistance le plus faible (45.4%) a été enregistré au niveau des abattoirs 11 et 7.

Pour la tétracycline, le taux de résistance le plus élevé (83.3%) a été constaté au niveau de l'abattoir 8. Par contre, le taux de résistance le plus faible (27.3%) a été enregistré au niveau de de l'abattoir 11. Nous constatons que la tétracycline, c'est le seul antibiotique qui présente une différence très significative entre les différents abattoirs visités.

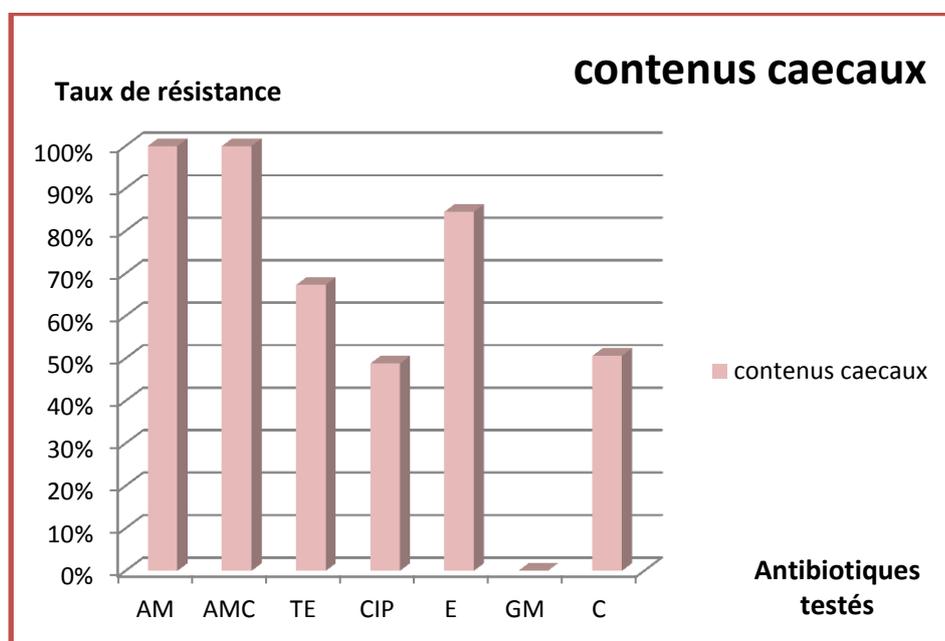
De façon similaire aux prélèvements de fientes, l'antibiotique qui montre un taux de résistance alarmant dans l'ensemble des abattoirs avec un moyen de résistance de 82.6 %, c'est l'érythromycine.

### III.1.5. Résistance des *Campylobacter* thermotolérants isolés à partir des contenus caecaux dans les différents établissements d'abattage

Pour les souches isolées à partir des contenus caecaux, les résultats de l'antibiogramme ont montré différents taux de résistance aux différents antibiotiques testés :

- 168 souches étaient résistantes à l'ampicilline et l'amoxicilline /acide clavulanique (100%).
- 142 souches étaient résistantes à l'érythromycine (84.5%).
- 82 souches étaient résistantes à la ciprofloxacine (48,8%).
- 113 souches étaient résistantes à la tétracycline (67,3%).
- 85 souches étaient résistantes au chloramphénicol (50.6%).
- aucune résistance n'a été notée vis-à-vis de la Gentamicine (0%).

La figure 49 montre les taux de résistance globaux des *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des contenus caecaux dans l'ensemble des établissements d'abattage.



**Figure 49. Taux de résistance de souches isolées à partir des contenus caecaux.**

Les taux de résistance aux différents antibiotiques des différentes souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des contenus caecaux dans chaque élevage sont représentés dans le tableau (38).

Les résultats obtenus montrent que la différence entre les taux de résistance constatés vis-à-vis au même antibiotique dans les différents abattoirs n'était pas statistiquement significative ( $P > 0.05$ ).

L'ampicilline ainsi que l'association amoxicilline /acide clavulanique ont perdu complètement leur efficacité contre toutes les souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées au niveau des établissements d'abattage. Cependant, la gentamicine, reste le seul antibiotique qui présente une efficacité absolue contre toutes les isolées.

**Tableau 38. Répartition des taux de résistance aux antibiotiques des différentes souches de *C. thermotolerans* isolées à partir des contenus caecaux dans les différents abattoirs.**

	AM n (%)	AMC n (%)	TE n (%)	CIP n (%)	E n (%)	GM n (%)	C n (%)
Abattoir 01 (16)	16 (100)	16 (100)	12 (75)	8 (50)	14 (87.5)	00 (00)	8 (50)
Abattoir 02 (12)	12 (100)	12 (100)	8 (66.7)	6 (50)	10 (83.3)	00 (00)	6 (50)
Abattoir 03 (15)	15 (100)	15 (100)	11 (73.3)	7 (46.7)	12 (80)	00 (00)	8 (53.3)
Abattoir 04 (13)	13 (100)	13 (100)	9 (63.2)	7 (53.8)	11 (84.6)	00 (00)	7 (53.8)
Abattoir 05 (15)	15 (100)	15 (100)	10 (66.7)	7 (46.7)	13 (86.7)	00 (00)	8 (53.3)
Abattoir 06 (15)	15 (100)	15 (100)	9 (60)	7 (46.7)	13 (86.7)	00 (00)	7 (46.7)
Abattoir 07 (14)	14 (100)	14 (100)	9 (64.3)	6 (42.8)	12 (85.7)	00 (00)	7 (50)
Abattoir 08 (16)	16 (100)	16 (100)	11 (68.7)	8 (50)	14 (87.5)	00 (00)	8 (50)
Abattoir 09 (13)	13 (100)	13 (100)	8 (61.5)	6 (46.1)	11 (84.6)	00 (00)	7 (53.8)
Abattoir 10 (14)	14 (100)	14 (100)	9 (64.3)	7 (50)	12 (85.7)	00 (00)	7 (50)
Abattoir 11 (14)	14 (100)	14 (100)	10 (71.4)	7 (50)	11 (78.6)	00 (00)	6 (42.8)
Abattoir 12 (11)	11 (100)	11 (100)	7 (63.6)	6 (54.6)	9 (81.8)	00 (00)	6 (54.5)
P	//	//	> 0.05	> 0.05	> 0.05	//	> 0.05
Total	168(100)	168(100)	113(67,3)	82(48,8)	142 (84.5)	00 (00)	85 (50.6)

Pour la tétracycline, le taux de résistance le plus élevé (75%) a été constaté au niveau de l'abattoir 1. Par contre, le taux de résistance le plus faible (60%) a été enregistré au niveau de l'abattoir 6.

Pour le chloramphénicol, le taux de résistance le plus élevé (54.5%) a été constaté au niveau de l'abattoir 12. Par contre, le taux de résistance le plus faible (42.8%) a été enregistré au niveau de l'abattoir 11.

Pour la ciprofloxacine, le taux de résistance le plus élevé (54.6%) a été constaté au niveau de l'abattoir 12. Par contre, le taux de résistance le plus faible (42.8 %) a été enregistré au niveau de l'abattoir 7.

De façon similaire aux prélèvements de fientes, et des peaux du cou, l'antibiotique qui montre un taux de résistance alarmant dans l'ensemble des abattoirs avec un moyen de résistance de 84.5 %, c'est l'érythromycine.

### III.1.6. Profils de résistance des souches de *Campylobacter* thermotolerants isolées

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* thermotolerants isolées au niveau des bâtiments d'élevages et des établissements d'abattage a révélé l'existence de

souches multirésistantes. En effet, toutes les souches isolées étaient résistantes simultanément à au moins deux des antibiotiques testés (l'ampicilline et l'amoxicilline / ac. Clavulanique).

L'étude du profil de résistance des différentes souches a montré des résistances associées à 2, 3, 4, 5, et 6 antibiotiques, ce qui permet d'établir 16 profils de résistance différents, le profil le plus commun a été constaté 127 fois et comprenait les antibiotiques suivants : l'ampicilline, l'amoxicilline/ac. Clavulanique, l'érythromycine, la tétracycline et le chloramphénicol

Le tableau (39) et la figure 50 montrent les profils de résistance des souches de *Campylobacter* thermotolérants pouvant être établis.

**Tableau 39. Profils de résistance des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez les volailles.**

Résistance associées à	Profil de résistance	Nombre des souches		Pourcentage
2 ATB	AM, AMC	2	2	0,3 %
3ATB	AM,AMC,E	5	30	4,9 %
	AM,AMC,C	5		
	AM,AMC,CIP	8		
	AM,AMC,TE	12		
4ATB	AM, AMC, E, C	35	269	43,9 %
	AM, AMC, C, TE	27		
	AM, AMC, E, TE	113		
	AM, AMC, E, CIP	75		
	AM, AMC, TE, CIP	12		
	AM, AMC, CIP, C	7		
5ATB	AM,AMC,C,E,TE	127	289	47,2 %
	AM,AMC,C,E,CIP	70		
	AM,AMC,E,TE,CIP	29		
	AM,AMC,TE,CIP,E	63		
6ATB	AM, AMC, C, TE, E, CIP	22	22	3,6 %



L'interprétation des résultats de l'antibiogramme des 36 souches testées a révélé, par ordre de fréquence décroissante, que 24 souches étaient résistantes à l'ampicilline (66.7%), 21 souches à l'amoxicilline /ac. clavulanique (58.3%), 18 souches à la tétracycline (50%), 15 souches à ciprofloxacine (41.7%), et 2 souches à l'érythromycine (5.5%). Par contre, aucune résistance n'a été notée vis-à-vis de la gentamicine et le chloramphénicol (00%).

---

---

# Discussion

---

---

## Discussion

Nos travaux de recherche consistaient à détecter et à caractériser phénotypiquement les souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir de matrices issues de poulet de chair et de l'Homme par différentes approches.

Cette étude, alliant le triplet (*Campylobacter*- poulet de chair- Homme), était une occasion pour nous de confronter les méthodes bactériologiques qui visent les germes classiques aéro-anaérobie facultatives aux méthodes bactériologiques qui visent les germes micro- aérophiles dites exigeantes.

Notre discussion sera portée tout d'abord sur le choix de l'échantillonnage et de la méthodologie de recherche, puis nous discuterons la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants aussi bien chez les volailles que chez les êtres humains dans la région de l'Est de l'Algérie. Ensuite, nous mettrons l'accent sur la répartition des souches d'après l'identification et la caractérisation phénotypique et enfin, nous finirons notre discussion par l'étude de la sensibilité des différentes souches de *Campylobacter* isolées à la gamme d'antibiotiques utilisée.

### **I. CHOIX DE SUJET (CAMPYLOBACTER, VOLAILLE, HOMME)**

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

La volaille a été reconnue comme le principal réservoir de *Campylobacter*, et selon des estimations, la viande des volailles est responsable d'environ 40% des cas humains de la campylobactériose (Puterflamet al., 2005).

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

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

## II. JUSTIFICATION DE L'ÉCHANTILLONNAGE

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

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

LABERGE (2003) a observé que *Campylobacter* est très prévalent dans le système de production des poulets de chair et la période d'élevage représente une étape critique d'implantation de la bactérie dans leur tube digestif.

Les *Campylobacter* sont rarement détectés chez le poulet de chair avant 2-3 semaines d'âge, c'est la raison pour laquelle, la plupart des lots sont négatifs jusqu'à l'âge de 2 à 3 semaines (Manuel terrestre de l'OIE, 2005).

Les *Campylobacter* peuvent être isolés à partir des fientes caecales ou intestinales fraîches ou à partir des écouvillons cloacaux. De ce fait, les échantillons de fientes de poulets de chair vivants, destinés à la chaîne alimentaire, sont collectés aussi près que possible de l'abattage

### II.2. Échantillons de poulets abattus

#### II.2.1. Peau de cou

En ce qui concerne les échantillons de peaux de cou des carcasses de poulets de chair abattus, cette partie fait le plus souvent l'objet de prélèvements car d'une part, l'excision de peau de cou est à préférer parce qu'elle est plus pratique, plus rapide, moins onéreuse, plus reproductible et dont le prélèvement ne déprécie pas la valeur de la carcasse. D'autre part, le cou est le meilleur endroit pour prélever la peau qui y contient un nombre représentatif de germes. En effet, la croissance microbienne s'effectue toujours à partir de la peau et c'est seulement après un certain temps de stockage que les bactéries vont pénétrer à l'intérieur du muscle, la structure de la peau, de même que son humidité sont des facteurs qui vont intervenir directement sur la croissance spécifique des germes (Hutchison et al., 2006 cités par Mesaad, 2014).

De plus, les carcasses de poulets abattus sont laissées couvertes de leurs peaux, les germes hébergés en grande quantité dans la peau sont susceptibles de pénétrer dans le muscle et contaminer ainsi la viande destinée à la consommation humaine.

#### II.2.2. Contenu du caecum

Chez les volailles, les caecums sont généralement utilisés pour la détection de *Campylobacter*. Ils peuvent être séparés du reste de l'intestin avec des ciseaux stériles, et adressés intacts au laboratoire dans un sac plastique ou une boîte de Pétri (Dromigny, 2007).

En effet, *Campylobacter* a la faculté de se multiplier à l'intérieur du tube digestif des volailles et particulièrement du poulet de chair. Cette colonisation semble être facilitée du fait des conditions

optimales de développement qu'il trouve dans l'intestin (température élevée et microaérophilie); ainsi que des facteurs intrinsèques qui lui procurent un avantage sélectif sur la flore commensale : sa résistance aux sels biliaires, sa morphologie et sa grande mobilité, son chimiotactisme positif pour le mucus (Burucoa, 2007; Dromigny, 2007).

### **II.3. Échantillons humains (selles diarrhéiques)**

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

## **III. CHOIX DE LA MÉTHODOLOGIE DE RECHERCHE : (PRÉLÈVEMENT, TRANSPORT ET ANALYSE).**

### **A. Prélèvement et transport**

Les *Campylobacter* sont des organismes relativement fragiles, qui meurent rapidement une fois sortis de l'intestin de l'hôte. C'est pourquoi, il convient de veiller à ce que les échantillons soient prélevés d'une manière appropriée et analysés rapidement (Messad, 2014).

Pour les prélèvements de poulets de chair, selon le Manuel terrestre de l'OIE (2005), nous avons utilisé des fientes fraîchement émises ou d'écouvillons cloacaux. Toutefois les fientes ont été récoltées aléatoirement à différents endroits du bâtiment (pour balayer toute la surface).

En effet, nous avons utilisé des techniques de prélèvement différentes (fientes fraîchement émises et d'écouvillons cloacaux) pour essayer d'une part, de déterminer la technique la plus fiable pour l'isolement du germe cible, et le plus convenable pour le manipulateur, et d'autre part, pour tenter de mettre en évidence l'effet de séjour des fientes dans la litière sur le taux d'isolement des *Campylobacter*.

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

En outre, vu la sensibilité accrue des *C.* aux conditions environnementales, en particulier la déshydratation, l'oxygène, la lumière du soleil et les températures élevées, le transport et les étapes qui suivent doivent donc être aussi rapides que possible, de préférence le jour même.

La congélation, les fortes températures et les fluctuations de température doivent être évitées pour ne pas réduire la viabilité des *Campylobacter*. Cependant, une température de +4 °C ( $\pm 2$  °C) est conseillée lors du transport (OIE, 2008).

## **B. Techniques d'analyse (choix de milieu et la température d'incubation)**

La méthode bactériologique utilisée au cours de notre étude, est une méthode dite horizontale ou encore de référence, utilisée en vue de déterminer la présence ou l'absence des *Campylobacter* thermotolérants (ISO 10272 version 1995).

### **B.1. Milieux de culture et réactifs**

Les milieux de culture (bouillons et géloses) ont été préparés tel que recommandés par les normes (NF ISO 11133-1 : 2009) et leurs fabricants, sauf dans le cas du bouillon de Preston, où à l'étape d'enrichissement bactérien, nous avons utilisé du sang de mouton à la place du sang de cheval laqué, comme il est recommandé par la norme ISO 10272 : (1995).

Le bouillon Preston contient du sang ce qui augmente la sensibilité du milieu de culture pour l'enrichissement des *Campylobacter* thermotolérants d'échantillons de carcasses. Le sang neutralise les composés toxiques de l'oxygène. Lorsque le sang est retiré de la formulation du bouillon Preston, la limite de détection du milieu modifié augmente (Williams et al., 2009, cité par Charrat, 2017). Le charbon activé, l'hémine et le FBP (ferrosulfate, sodium métabisulfite, sodium pyruvate) neutralisent aussi les dérivés toxiques de l'oxygène (Rodgers et al., 2012, cité par Charrat, 2017).

Concernant les autres tests (oxydase, catalase...), la vérification de leur performance s'est faite au fur et à mesure de leur utilisation dans les essais, par des souches de références.

### **B.2. Enrichissement**

Pour les prélèvements de peaux de cou, les *Campylobacter* lorsqu'ils sont présents, ils le sont en très faible nombre et au sein d'une abondante flore microbienne compétitive, de ce fait, une étape d'enrichissement en milieu liquide est préconisée (Newell et al., 2001).

Le milieu d'enrichissement liquide choisi au cours de notre étude est le bouillon de Preston (5% (v/v) avec sang de mouton) (Base Agar CM0689, supplément SR0204E ; Oxoid), idéal pour un aliment frais (Dromigny, 2007). Le milieu sélectif de Preston est basé sur la formule décrite par Bolton et Robertson (1982). Le milieu est particulièrement adapté à l'isolement des *Campylobacter* spp. à partir de tous les types d'échantillons humains, animaux et de l'environnement.

Au cours des études comparatives des milieux sélectifs de Skirrow, Butzler, Blaser et Preston, ce dernier a été trouvé comme étant le milieu permettant l'isolement maximum de *Campylobacter* à partir de tous les types d'échantillons testés, ainsi que le plus sélectif. (Bolton et al., 1983).

Le bouillon d'enrichissement Preston est un bouillon sélectif, il contient des agents nutritifs et en plus, il aide à la revivification des germes stressés. Sa formule permet d'éviter l'emploi d'une atmosphère microaérobie. La température d'incubation est montée à 42°C afin d'accroître la sélectivité sur la flore compétitive. Le milieu contient du pyruvate de sodium et du métabisulfite de sodium. Ces 2 ingrédients permettent de neutraliser d'éventuels composés toxiques produits dans le milieu. Les quatre antibiotiques contenus dans le supplément sélectif optimisent la sélectivité pour les *Campylobacter* spp. La Rifampicine (un antibiotique de la famille des rifamycines) agit contre les cocci Gram+ (Staphylocoques et les Mycobactérie), la Polymyxine B (antibiotique de la famille des polypeptides) contre les aérobies à Gram-. Le triméthoprime (antibiotique bactériostatique de la famille des diaminopyrimidines) à spectre large agit contre les Gram- et les Gram+, et l'amphotéricine B (antibiotique antifongique à la place de la cycloheximide) inhibe la croissance des levures et des moisissures (Dellares, 2014). Le bouillon d'enrichissement n'a pas été utilisé pour les échantillons de fientes car ils sont supposés contenir un grand nombre de germes.

Le bouillon d'enrichissement de Preston additionné du supplément de croissance (Oxoid, SR0084E) selon la formule de George et Coll (Bolton, 1983) évite l'incubation en microaérophilie.

Cette technique d'enrichissement est recommandée pour les échantillons fortement contaminés et/ou contenant un faible nombre de micro-organismes viables.

Le mélange « échantillon et bouillon » est incubé, à 42 °C, pendant 18 h, en atmosphère microaérophile, il est ensuite enrichi, une seconde fois, dans un milieu sélectif, afin d'isoler et identifier les éventuels *Campylobacters*.

### **B.3. Mise en culture sur milieux**

La norme NF ISO 10272 : 1995 préconise l'ensemencement de milieux solides à partir de la culture obtenue sur le bouillon de Preston : la gélose Karmali et un autre milieu solide (gélose Bützler modifiée, gélose Skirrow, gélose à la céfopérazone, au charbon et au désoxycholate (CCDA) ou gélose Preston). Comme le milieu Karmali est fixé par la norme, le choix du second milieu s'est fait de façon à ce qu'il soit complémentaire, de par sa composition (nature et concentration des substances antibiotiques), par rapport au premier, par conséquent, nous avons choisi la gélose Preston comme second milieu.

Le milieu Preston, à base de sang, et le milieu Karmali, à base de charbon, sont, avec le milieu Bützler, les plus connus pour l'isolement des *Campylobacters* thermotolérants. Tous les trois contiennent un mélange d'antibiotiques différents (Karmali et al., 1986). Les milieux Preston et Karmali, plus récents, sont plus sélectifs que les milieux Skirrow et Bützler et permettent une meilleure détection des *Campylobacters*. (Karmali et al., 1986). Aussi, le milieu Preston modifiée

contient de l'Amphotéricine, idéal pour un échantillon de volaille, riche en levures, d'où notre choix (Dromigny, 2007).

Les milieux sélectifs à base de charbon (Karmali) ont des taux de récupération plus élevés que les autres milieux, ainsi qu'une grande capacité de distinguer la flore fécale (Gun-Munro et al., 1987). En outre, dans le milieu de Karmali, le charbon remplace le sang, ce qui permet la neutralisation des substances toxiques des bases nutritives et les dérivés toxiques de l'oxygène (Bonney et al., 2002). Ce milieu a le rendement le plus élevé non seulement dans la récupération des *Campylobacter* thermotolérants mais aussi dans la suppression de la flore compétitive.

Plusieurs auteurs font recours au milieu de Karmali car les colonies de *Campylobacter* thermotolérants sont facilement reconnaissables sur ce milieu par rapport le milieu de mCCDA et les autres milieux. (Corry et al., 1995).

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

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

Le milieu sélectif de Preston est basé sur la formule décrite par Bolton et Robertson (Bolton et Robertson, 1982). Le milieu est particulièrement adapté à l'isolement des *Campylobacter* sp. à partir de tous les types d'échantillons humains, animaux et de l'environnement.

Au cours d'études comparatives ((Bolton et al., 1983) des milieux sélectifs de Skirrow, Butzler, Blaser et Preston, ce dernier a été trouvé comme étant le milieu permettant l'isolement maximum de *Campylobacter* à partir de tous les types d'échantillons, ainsi que le plus sélectif.

La gélose de base pour *Campylobacter* (Oxoid, CM0689) a été préparée à partir de matières premières décrites par Bolton et Robertson. Elle est utilisable comme milieu de base pour les suppléments sélectifs de Blaser-Wang, Skirrow et Butzler.

Le supplément de Preston pour *Campylobacter* (SR0117) peut aussi être utilisé pour préparer le bouillon d'enrichissement sélectif de Preston

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

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

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

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

Le test d'hydrolyse de l'hippurate, qui devrait permettre de faire la distinction entre *C. jejuni* (résultat positif) et *C. coli* (résultat négatif), donne parfois des réactions intermédiaires. Il existe également des souches de *C. jejuni* négatives au test de l'hippurate, et le test de phénotypage n'est par conséquent pas toujours fiable pour différencier ces deux espèces. De ce fait l'identification phénotypique correct ne pourrait se faire qu'en utilisant des méthodes alternatives telle que la galerie Api Campy car elle prend en considération d'autres caractères ainsi des tests d'assimilation et d'inhibition et la fiabilité de ce test a été prouvé au fil des années (Olsson et al., 2011).

#### **IV. PRÉVALENCE DE *CAMPYLOBACTER* THERMOTOLERANTS**

##### **IV.1 Chez les volailles**

Notre étude a visé à apprécier l'impact des bactéries pathogènes zoonotiques du genre *Campylobacter* chez les poulets de chair dans l'Est de l'Algérie. Sachant que, très peu de données épidémiologiques sont actuellement disponibles dans notre pays sur cette zoonose.

Au cours de la présente étude, nous avons constaté que les taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants étaient relativement élevés dans les différentes matrices testées à savoir, les fientes, les contenus caecaux et les peaux de cou de poulet de chair soit respectivement 65% ,70% et 55%.

Pour faciliter la discussion, nous avons comparé nos résultats avec ceux annoncés tout d'abord en Algérie, puis avec ceux constatés dans les pays en voie de développement, et en fin avec ceux enregistrés dans les pays développés.

Selon différents auteurs, chez la volaille, les variations de la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants constatée entre les différentes études, seraient vraisemblablement liées à un certain nombre de facteurs tels que :

La localisation géographique et la saison (Heuer et al., 2001), la taille de l'échantillon (Jeffrey et al., 2001), l'âge des sujets (Berndtson et al., 1996), le type d'élevage (Heuer et al., 2001), le type

d'échantillon, le milieu de culture utilisé, la technique d'isolement et les conditions d'incubation (Jorgensen et al., 2002).

#### **IV.1.1. Prévalence de *Campylobacter* thermotolérants dans l'ensemble des établissements (élevage et abattoirs)**

Étant donné que le poulet de chair fait partie des principaux réservoirs de *Campylobacter* thermotolérants, la fréquence de ces bactéries se trouve naturellement plus élevée au niveau du tractus intestinal qu'au niveau de la peau du cou (Corry et Atabay, 2001).

L'analyse bactériologique des échantillons a démontré que les *Campylobacter* thermotolérants sont répandus dans l'Est de l'Algérie aussi bien dans le contenu caecal que dans les écouillons cloacaux de poulets de chair, avec un taux de contamination des carcasses (peaux de cou) généralement inquiétant. Cela confirme les résultats des études précédentes en Algérie (Messad et al, 2014).

#### **IV.1.2. Prévalence de *Campylobacter* thermotolérants au niveau des fientes**

Au cours de notre étude, nous avons constaté que la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants était de l'ordre de 65% (312/480) pour l'ensemble des lots prélevés ce qui confirme que les *Campylobacter* sont des hôtes réguliers de tube digestif des volailles.

Selon l'OIE (2008), les volailles principalement le poulet sont fréquemment trouvées porteuses de *Campylobacter* thermotolérants (65 à 95 %). Ces bactéries ont un tropisme particulier pour le tube digestif des animaux en général, et des volailles en particulier. Ce tropisme est lié à l'évolution de ces bactéries avec leur niche durant des millions d'années, ce qui a abouti à une sélection de gènes adaptés, notamment liés à leur caractère microaérophile, à leur métabolisme et à leurs caractères physiques (morphologie spiralée et flagelle polaire) leur permettant de se mouvoir dans le mucus. Le flagelle est d'ailleurs considéré comme un facteur patent de colonisation (Megraud et Bultel, 2004).

Au cours de notre étude, les *Campylobacter* thermotolérants ont été isolés dans chacun des vingt-quatre élevages testés, indiquant une contamination généralisée. Cela corrobore les résultats d'un rapport suisse sur les zoonoses en 2009, signalant que, les *Campylobacter* ont été découverts dans pratiquement tous les troupeaux examinés (Luginbühl et al., 2010). Cette constatation est étayée par le fait que la transmission horizontale entre les oiseaux se produit rapidement (généralement en 1 à 2 semaines) et qu'elle est renforcée par l'excrétion fécale et la coprophagie des poulets (Jacobs-Reitsma et al., 1995).

Des études menées en Algérie, évaluant le taux des *Campylobacter* thermotolérants isolés à partir des prélèvements de fiente fraîches chez le poulet de chair en fin de période d'élevage étaient largement supérieur aux nôtres (Messad, 2011 ; Guessoum, 2011). Cependant, des résultats

inférieurs au notre ont été notés par Mouffok et Labres (1992) qui ont noté une prévalence de 12% dans les fientes des poulets de chair.

Bouhamed (2011) en Algérie, a constaté un taux de 68% à partir des fientes fraîches des dindes en fin de période d'élevage.

Cette divergence entre les différentes études réalisées en Algérie peut être expliquée par les variations climatiques et latitude des régions où se déroulèrent les expérimentations. En effet, le caractère froid et sec de la région de l'Est peut expliquer en partie notre faible prévalence (65%) par rapport les autres études algériennes. Une autre explication raisonnable de cette constatation, est l'utilisation des méthodologies de recherche différentes notamment les milieux de culture utilisée pour l'isolement.

Les taux d'isolement élevés constatés au cours de notre étude et celle de Guessoum (2011), s'expliquent en partie par l'utilisation de la technique de prélèvement par écouvillonnage, qui permet le grattage de la muqueuse cloacale (Kaplan et al., 1982), ainsi que l'utilisation du milieu Karmali, qui montre avec le milieu mCCDA le rendement le plus élevé non seulement dans la récupération de *Campylobacter* thermotolérant mais aussi dans l'élimination de la flore compétitive.

Bien que peu d'informations soient disponibles sur la prévalence de *Campylobacter* dans les pays en voie de développement, nos résultats étaient cohérents avec ceux rapportés au Sénégal (63%) (Cardinale et al., 2004). Cependant des résultats inférieurs aux notre ont été notés en Tunisie (22,4%) (Gharbi et al, 2018) et en Égypte (23,5%) (Abushahba et al., 2018).

En ce qui concerne les pays développés, nous avons trouvé que, nos résultats étaient cohérent avec d'autres rapportés en littérature : en France 71,2% ( Huneau- Salaun et al., 2007), et en Grande-Bretagne (68%) (Humphrey, 1994 cité par Hald et al., 2000).

De plus, en Irlande du Nord, Oza et al, durant la période allant de février 2000 à octobre 2001 ont obtenu dans une étude épidémiologique de grande échelle sur 387 troupeaux de poulets de chair un taux d'isolement de 67,7% (Oza et al., 2003).

Des taux largement supérieurs aux nôtres ont toutefois étaient constatés dans de nombreux pays industrialisé tels que : la France (96%) (Huneau- Salaun et al., 2007), les États Unis 87,5% (Hiatt et al., 2002) et l'Italie (82.9) (Pezzotti et al., 2003).

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

Nos résultats sont nettement supérieurs à ceux rapportés dans de nombreux pays industrialisés, tel que l'Espagne (38.1%) (Torrallbo et al., 2014).

En Estonie, durant une année (2005 à 2006) et sur un total de 1254 échantillons de fientes fraîches, Meremae et al (2010) n'arrivaient plus à isoler des *Campylobacter* thermotolérants, ce qui

correspond à un taux de contamination de (0%), à savoir qu'aucun prélèvement n'a été effectué pendant les mois de Juillet et d'Août (Meremae et al., 2010).

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

Les taux de contamination très faibles de *Campylobacter* thermotolérants enregistré dans les pays Scandinavies, s'explique d'une part, par le fait que ces pays pratiquent des mesures drastiques pour contrôler les infections y compris les campylobactérioses. Et d'autre part, les conditions climatiques très froides de ces pays constituent un facteur hostile pour la survie des *Campylobacter* thermotolérants.

#### **IV.1.3. Prévalence de *Campylobacter* thermotolérants au niveau des abattoirs**

L'un des principaux objectifs de notre travail était d'évaluer le taux de contamination des poulets de chair par *Campylobacter* thermotolérants. Dans les fermes en analysant les caeca des animaux à leur arrivée à l'abattoir mais aussi en fin de chaîne d'abattage en analysant les carcasses des animaux en visant les peaux de cou.

Ainsi, plus de 480 échantillons de caecum et de peaux de cou de poulets ont été collectés et analysés par des méthodes microbiologiques. Fait frappant, ces bactéries ont été détectées dans 70% des caeca de volailles testés dans notre étude, alors que, pour ce qui est des peaux de cou, 55% d'entre elles étaient encore positives pour *Campylobacter* thermotolérants.

##### **IV.1.3.a.) Prévalence de *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caecaux**

Pour la totalité des établissements d'abattage visités, le taux de portage caecal était de 70 %. Bien que ce taux de contamination soit très élevé, il concorde avec les prévalences enregistrées par Reich et al (2008) (70%) en Allemagne et Rasschaert et al (2007) (73%) en Belgique.

De plus, en France, lors d'une évaluation de portage de *Campylobacter* thermotolérants dans le tube digestif des lots de poulet abattus, il a été constaté un taux de portage intestinal de 65.3 % (Megraud et Bultel, 2004), ce qui est en accord avec notre étude.

Nos résultats se rapprochent aux ceux rapportés par Ansari-lari et al (2011) en Iran et Salihu et al (2009) au Nigeria, qui ont constaté des taux d'isolement de *Campylobacter* thermotolérants à partir de contenu caecal de 76% et 77.6% respectivement, il est à noter que le nombre des échantillons testés au cours de ces études étaient de 100 et 866 caeca respectivement.

Puterflam et al (2007) rapportent que 47 à 100 des lots de poulet de chair arrivant à l'abattoir seraient porteurs de *Campylobacter* thermotolérants. De même, Ghafir et Daube (2007) mentionnent que la grande majorité des volailles abattues est colonisée par *Campylobacter*.

Le taux de portage intestinal très élevé constaté au cours de notre étude peut être dû au fait que ces bactéries entériques sont adaptées à la vie dans le mucus du tractus digestif.

Même encore importante, cette prévalence était pourtant plus faible que celles rapportées en Algérie par Messad (2011) et Guessoum (2011), et à Grenade par Hariharan et al (2009).

Dans les différents établissements d'abattage visités, les *Campylobacter* thermotolérants étaient isolés à partir de tous les lots prélevés avec des prévalences allant de 55 % à 80 %, ce qui indique que la majorité des élevages des lots prélevés étaient fortement contaminés. D'après Jeffrey et al (2001), le seul organe qui reflète réellement la prévalence des *Campylobacter* des élevages avicoles au niveau de l'abattoir est l'intestin.

En effet, outre la période d'élevage qui semble décisive pour la colonisation du tractus digestif par ces bactéries, le stress engendré par la diète hydrique pourrait également jouer un rôle dans l'augmentation du taux de contamination des contenus caeaux par *Campylobacter* spp (Wesley et al., 2005).

Le transport peut provoquer une augmentation de l'excrétion des *Campylobacter* par les poulets. Certaines études ont signalé que les méthodes de ramassage des volailles pour le transport en cage vers l'abattoir renforçaient la probabilité de contamination, de même que l'équipement et les véhicules de transport vers l'abattoir (Whyte et al., 2001). Ce rôle a été clarifié par plusieurs travaux belges qui ont constaté que la contamination par *Campylobacter* s'accroît lors de transport et de l'abattage, elle passait de 72% à 79% (Rasschaert et al., 2007)

D'autre côté, nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Chena et al (2010), et Jacobs-Reitsma et al (2001) qui ont obtenu des taux d'isolement de *Campylobacter* de 36 % et 32% à partir de 767 et 661 caeca de poulet de chair respectivement. Ces faibles taux de portage intestinal sont difficilement explicables, étant donné que les *Campylobacter* sont des hôtes réguliers de tube digestif des volailles, probablement cela est peut être attribué aux techniques d'investigations utilisées (pré-enrichissement, enrichissement ou isolement direct).

#### **IV.1.3.b.) Prévalence de *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux de cou**

Dans l'ensemble des prélèvements effectués au niveau des abattoirs, nous avons réalisé systématiquement sur le même lot de poulet abattu des prélèvements de contenu caecal et de peaux du cou. Ceci a été effectué pour essayer de cerner la modalité de contamination des carcasses.

Pour les échantillons de peaux du cou, les boîtes de primo-culture contenant les colonies suspectes de *Campylobacter* thermotolérants, étaient fortement contaminées, par conséquent, nous avons procédé à un deuxième isolement pour purifier les souches. Contrairement aux échantillons positifs des fientes et de contenus caeaux où la plupart des primo-culture étaient pures.

Pour la totalité des lots analysés durant l'abattage des poulets, 55% (IC 95% : 45-65) des peaux de cou étaient contaminées par *Campylobacter* thermotolérants. Des résultats similaires aux

nôtre évalués à 60.8 %, 51.9% et 54 % ont été constatés à partir des prélèvements de peaux de cou en Lettonie, en Belgique et au Chili respectivement (Kovalenko et al., 2013 ; Habib et al., 2012 ; Figueroa et al., 2009).

En réalité, les taux de contamination par *Campylobacter* varient considérablement d'un pays à un autre. Dans une étude bibliographique réalisée par Suzuki et Yamamoto (2009) faisant référence à 73 publications à travers du monde sur la viande de volaille vendue au détail a montré un taux de contamination des carcasses de 58 % avec une fourchette de 8 % à 100 %.

Il est admis que la peau des carcasses de volaille procure un micro-environnement favorable à la survie des *Campylobacter* thermotolérants d'où leur affinité pour cet organe (Davis et Conner., 2007).

Pendant la phase d'échaudage ou au cours des différents rinçages, la peau des volailles absorbe l'eau. Les *Campylobacter* (initialement présents ou apportés par les fientes, le contenu intestinal ou les différentes machines) adhèrent à la peau d'abord par des mécanismes physico-chimiques puis par des liaisons plus permanentes, ce qui entraîne subséquemment la formation d'un biofilm dont l'éradication s'avère très difficile surtout si le rinçage de la peau n'est pas réalisé immédiatement après la contamination (Corry et Atabay, 2001). En particulier, les microorganismes seront retenus dans la fine couche d'eau présente à la surface de la carcasse après l'échaudage. Le rinçage des carcasses permet de retirer une partie de la contamination, mais la peau se gorge d'eau et les *Campylobacter* sont retenus dans les plis et les brèches de la peau, en particulier les follicules plumeux qui constituent un environnement favorable par sa disponibilité en eau et sa faible teneur en oxygène (Corry et Atabay, 2001).

Selon une étude menée par Bare et al (2013), la peau du cou de poulet constitue le site le plus contaminé par les *Campylobacter* dans la carcasse, en comparant aux autres sites tel que les ailes, le bréchet ou l'abdomen.

Selon Jay (2009), la contamination des peaux de cou aux abattoirs peut être primaire ou secondaire :

- La contamination primaire se ferait par transfert du contenu digestif (réservoir) à la carcasse directement lors d'une mauvaise maîtrise de l'éviscération.

- La contamination secondaire de la carcasse se ferait par transfert du contenu digestif par l'intermédiaire d'une source secondaire comme la planche à découper. Ces contaminations peuvent se réaliser aussi via le matériel d'abattage, le personnel, l'eau, l'air, les nuisibles etc.

La nature des procédés d'abattage des volailles rend impossible la prévention d'une contamination croisée des lots négatifs par les lots positifs (Peyrat, 2008).

Nous supposons que la contamination par les *Campylobacter* peut survenir dans différents points de la chaîne d'abattage, principalement lors de l'échaudage, la plumaison et l'éviscération.

Mais, avant tout, il est important de tenir compte du fait que l'influence relative des différentes étapes de transformation des volailles dans la contamination des carcasses à *Campylobacter* peut varier selon l'abattoir (Sahin et al., 2015). De plus, les concentrations initiales de *Campylobacter* retrouvées sur un lot de poulet au début du processus d'abattage peuvent faire varier l'influence de chacune des étapes. Cela suggère aussi que l'influence relative des étapes du procédé d'abattage varie aussi selon le lot de volailles (Seliwiorstow et al., 2015).

#### ❖ Dans le bac d'échaudage

À l'instar de Messad (2014), Nous avons remarqué que le plumage des poulets était fréquemment souillé par leurs fientes en raison des conditions de transport des volailles, et leur condensation dans les aires de débarquement avant l'abattage. Après la saignée, les volailles sont trempées directement dans un bac d'échaudage commun à tous les poulets d'un même lot et même de plusieurs lots successifs. De ce fait, les souillures présentes à la surface des volailles et dans leur plumage se retrouvent dans l'eau d'échaudage et peuvent se redéposer sur les carcasses suivantes.

Les *Campylobacter* vont survivre dans l'eau d'échaudage car la température peut baisser au-dessous de la température qui permet de réduire éventuellement le risque microbiologique, surtout dans les abattoirs traditionnels, la température descend progressivement après trempage des poulets.

Par ailleurs, il est important de souligner que différents travaux ont considéré que l'eau de l'échaudage représentait l'une des plus importantes sources de contamination (Shane, 1992, Rahimi et al., 2010). Notamment, quand la température des bacs d'échaudage est inférieure à 53 °C ce qui permet aux *Campylobacter* de survivre (Newell et al., 2001). Aussi, les matières fécales provenant des poulets peuvent constituer un milieu qui protège le pathogène et par conséquent, favoriser sa survie dans l'eau de la cuve d'échaudage (Lehner et al., 2014).

Cependant, au cours de notre étude, l'eau ne peut être incriminée car sa température était supérieure à 53 °C. Or, d'après Sanchez et al (2002) une telle température ne permet pas la survie des *Campylobacter*. Toutefois, plusieurs recherches convergent pour montrer que l'échaudage réduit la prévalence et les niveaux de contamination des carcasses de volailles par ce pathogène (Meunier et al., 2015 ; Pacholewicz et al., 2015). Cette diminution dépend de plusieurs facteurs, notamment de la température de l'eau et du temps de passage dans les bacs successifs (Oosterom et al., 1993).

Il est ressorti d'une étude d'Oosterom et al. (1993) que l'échaudage à 58 °C pendant 2 minutes réduit le nombre de *Campylobacter* initialement présents, ce qui n'est pas toujours le cas à 51,8 °C pendant 14 minutes.

Les carcasses de lots d'animaux exempts de *Campylobacter* peuvent se contaminer lors de l'échaudage, ou par le matériel (inter-contamination) (Genigeorgis, 1986).

De plus, accroître la température des réservoirs d'échaudage lors de cette étape est propice à la réduction de *Campylobacter* (Lehner et al., 2014).

Il est important de souligner qu'une température trop élevée (dépassant les 65 degrés Celsius) peut provoquer des déchirures à la peau des carcasses (Lehner et al., 2014). Ces lésions constituent alors de nouveaux endroits où différentes bactéries peuvent s'attacher, en plus de procurer au produit une apparence non souhaitée (Kim et al., 1993).

L'étape de l'échaudage peut donc s'avérer une clé dans la réduction de *Campylobacter* si l'on optimise les systèmes d'échaudage, la température à laquelle les poulets sont échaudés, le taux de renouvellement de l'eau propre et également la durée pendant laquelle on immerge les carcasses (Lehner et al., 2014).

#### ❖ Dans les plumeuses

La plumaison constitue une autre étape de transformation à haut risque en raison de la contamination potentielle par l'expulsion et la dispersion de matières fécales qui peuvent se déposer sur les carcasses (Emanowicz et al., 2020).

En effet, la quasi-totalité des études récentes mentionnent que cette phase fait partie de l'un des deux endroits principaux qui accentuent les niveaux de *Campylobacter* sur les carcasses (Gruntar et al., 2015). Cela est sans doute le résultat de la nature brutale du processus déplumant les poulets.

Dans les plumeuses, les doigts en caoutchouc peuvent être souillés par la contamination extérieure des volailles sortant du bac d'échaudage. De plus, lors de la plumaison, les doigts en caoutchouc utilisés provoquent des pressions sur les carcasses et compriment la cavité intestinale et occasionnant l'excrétion des matières fécales qui contaminent aussi bien les carcasses que les machines (plumeuses) (Oosterom et al., 1993).

En effet, les plumeuses utilisées au cours de la plumaison ne sont pas en mesure de permettre une variation naturelle de la taille des carcasses (Rosenquist et al., 2006).

Les doigts des plumeuses sont en caoutchouc et au fil de leur utilisation, ils s'abîment et présentent de nombreux interstices dans lesquelles les *Campylobacter* pénètrent et peuvent se déposer sur les carcasses (Megraud et Bultel, 2004).

Dans les abattoirs visités au cours de notre étude, les mouvements rotatifs rapides des plumeuses qui sont déjà souillées entraînent une dispersion des *Campylobacter* présent dans l'eau retenue dans les plumes dans tout l'environnement de la plumeuse. Ce qui contribue sans doute dans l'augmentation de taux de contamination des carcasses.

#### ❖ Pendant l'éviscération

Dans les abattoirs visités, les carcasses étaient d'abord accrochées par les pattes, tête vers le bas, avant d'être éviscérées. Ainsi, au cours de l'extraction du tractus digestif, les viscères peuvent se rompre et le contenu intestinal se décharge, et il était fortement susceptible d'être en contact avec les carcasses des lots abattus (Posch et al., 2006).

Selon Franchin et al (2007), la rupture intestinale avec l'expulsion de son contenu est toujours possible lors de l'éviscération. Ils considèrent que cette étape est la principale phase de dissémination de *Campylobacter* dans la chaîne de production au niveau des abattoirs et par conséquent elle conduit à une sérieuse augmentation de taux de contamination par les *Campylobacter*.

Plusieurs auteurs ont également signalé une augmentation de la concentration de *Campylobacter* sur les carcasses pendant l'opération d'éviscération (Emanowicz et al., 2020 ; Rosenquist et al., 2006 ; Figueroa et al., 2009).

En effet, l'éviscération se fait majoritairement par retrait de la masse abdominale avec la main du travailleur, par conséquent il y a soit une auto-contamination des carcasses par leurs propres contenus intestinaux, soit une inter-contamination entre les carcasses par les mains du travailleur.

La rupture des viscères n'est pas rare même dans les abattoirs industriels, car les machines utilisées ne sont pas en mesure de s'adapter aux variations naturelles de la taille des carcasses en cours de transformation (Rosenquist et al., 2006). Par conséquent, Un large éventail de poids de carcasse au sein d'un même lot peut donc nuire à l'efficacité du processus d'abattage, car la machine est calibrée pour un poids moyen de carcasse (Northcutt, 2001).

Berrang et al (2004) ont montré que même de petites quantités de contenu intestinal peuvent entraîner une augmentation significative du nombre de *Campylobacter* sur les carcasses. Par conséquent, la réduction de la rupture des viscères pendant l'éviscération ou une procédure de lavage accrue pour les oiseaux avec des viscères rompus peuvent être des options de gestion potentielles pour obtenir une réduction de la concentration de *Campylobacter* sur les poulets abattus.

Dans l'abattoir traditionnel, après la plumaison, les poulets sont entassés sur un même potager ou une grande planche en bois où ils vont être éviscérés. En effet, l'éviscération s'effectuait manuellement sur un plan horizontal. Où une fois le cloaque sectionné, les viscères étaient extraits vers le bas en direction des pattes et non en direction de la tête. De ce fait, une contamination des carcasses d'origine intestinale serait illusoire et proviendrait majoritairement des plumes souillées par les fientes. Cette hypothèse se trouve renforcée par les constatations d'autres auteurs tels que Jakob-Rietsma (2000) qui rapporté au cours de ses travaux que la contamination fécale des plumes

représentait vraisemblablement une source de *Campylobacter* pour les carcasses de volailles (Jacob- Rietsma, 2000 cité par Jeffrey et al., 2001).

#### ❖ Pendant le rinçage

Au cours de certaines études, des réductions significatives du niveau de contamination par *Campylobacter* thermotolérants ont été observées après l'étapes de rinçage (Rosenquist et al., 2006; Hue et al. 2010 ; Chen et al., 2020). Cela démontre que cette étape est importante pour réduire les dénombrements de *Campylobacter* (Emanowicz et al., 2020) et aider à atteindre des dénombrements de *Campylobacter* conformes aux règlements sanitaires.

La submersion des carcasses dans une solution contenant de l'acide lactique à la suite du rinçage final est une solution adéquate pour réduire les concentrations de *Campylobacter* (Rasschaert et al., 2013).

D'autre part, nous pensons que la contamination croisée peut aussi se produire lors du rinçage des carcasses dans les abattoirs car les carcasses de poulet souillées de l'intérieur et de l'extérieur ainsi que les carcasses non souillées sont trempées ensemble dans un bac d'eau froide ou tiède et cette eau n'est pas renouvelée systématiquement.

Franchin et al. (2007) ont observé un taux de contamination des peaux de cou de 84,7% après rinçage des carcasses, indiquant que le taux de chlore contenu dans l'eau de rinçage des carcasses est insuffisant pour inactiver ce pathogène. De même, dans une étude menée au République de Tchèque, sur des échantillons provenant de détaillants dans divers supermarchés, Bardon et al (2011) ont constaté un taux de contamination des carcasses de poulet de 75%. Ce taux d'isolement élevé confirme la survie et la persistance des *Campylobacter* jusqu'à l'assiette du consommateur.

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 lors de nettoyage du sol souillé par les intestins et les contenus de jabots pendant l'étape de l'éviscération et de finition (Bouhamed, 2011).

Le taux de contamination relativement élevé au cours de notre étude indiquait clairement que le processus de décontamination des carcasses effectué dans les abattoirs algériens après éviscération n'était manifestement pas suffisamment efficace. Cette explication est renforcée par la constatation de Messad (2014) ainsi que Mouffok et Lebres (1992) en Algérie, qui ont rapporté un taux de contamination des peaux de cou de poulet de chair de (66%).

Néanmoins, Laidouci et al (2013) en Algérie ont annoncé un taux de contamination des cous de poulet de l'ordre de 15.7%, ce taux a été observé après plusieurs étapes d'enrichissement arrivant jusqu'à trois, ce qui renforcerait peut être l'hypothèse annoncé par Repérant et ces collègues (2016)

concernant le bouillon d'enrichissement qui permettait la revivification et la multiplication de la flore envahissante empêchant ainsi la poussée convenable des *Campylobacter*.

Notre taux de contamination, même encore important, il était pourtant plus faible que ceux rapportés sur des carcasses dans des abattoirs hongrois, suisses et français (Jozwiak et al., 2006 ; Schnider et al., 2010 ; Hue et al., 2011). Cela pourrait tout simplement s'expliquer par l'absence de décontamination dans ces pays européens associée à une réglementation interdisant l'utilisation de décontaminants chimiques sur les carcasses de poulets de chair.

Dans une étude réalisée par Garin et al (2012) dans cinq grandes villes situées dans quatre continents (Dakar, Yaoundé, Nouméa, Antananarivo et Ho Chi Minh Ville), une fourchette de 15,3 % à 96,7 % a été détectée, avec une moyenne de contamination par *Campylobacter* thermotolérants de 65,5 %.

En France, une étude lors au niveau de 58 abattoirs a montré une fréquence de contamination des carcasses de poulet de 87.5% (Hu et al., 2010). Les facteurs de risques identifiés au cours de cette étude étaient l'âge des poulets à l'abattage, la saison d'abattage et la température de la salle d'éviscération.

Les données d'une étude réalisée dans la région du golfe Arabo-Persique (Bahreïn et Arabie Saoudite) ont évalué la contamination par *Campylobacter* des échantillons provenant d'abattoirs de volailles à 100% avec *C. jejuni* comme principale espèce isolée (Al Amri et al., 2007).

Au cours de notre étude, tous les lots de poulet de chair étaient positifs au *Campylobacter* au niveau des élevages et aussi au niveau des abattoirs. En effet, lorsqu'un lot de poulets a un statut *Campylobacter* positif, aucun abattoir ne peut éviter la contamination des carcasses.

Lors d'une étude en Norvège, Johannessen et al. (2007) ont constaté que tous les contenus caecaux ainsi que toutes les carcasses provenant de lots positifs à *Campylobacter* sont contaminés par ce germe.

Dans une étude hongroise, menée par Rasschaert et al (2007), 93,3 % des poulets vivants étaient contaminés par *Campylobacter* à l'abattoir, le taux de contamination des carcasses était très élevé et a atteint 100% à la fin de la ligne de production.

Hue et al (2011) et Figueroa et al. (2009), ont noté que les peaux de cou étaient plus contaminés que les contenus caecaux suggérant la possibilité de contamination de carcasses non porteuses de *Campylobacter* dans leurs intestins, par l'environnement de l'abattoir ainsi que par du matériel principalement souillé par du contenu intestinal contaminé (rupture des intestins lors de l'éviscération). De même, Emanowicz et al (2020), au cours de ses études ont constaté que les caeca de certains lots étaient négatifs pour *Campylobacter* alors que les échantillons correspondants de peau du cou étaient positifs, ce qui pourrait indiquer qu'une contamination croisée a pu se produire

au cours de la transformation. Les sources de contamination croisée incriminées au cours de cette étude, comprennent l'expulsion des viscères pendant l'éviscération, les machines utilisées pendant l'étape de plumage et le traitement de lots négatifs après des lots positifs.

A la lumière de ses résultats, Hue et al. (2011) ont conclu que la contamination de lots de poulets non infectés dépend du statut de *Campylobacter* des lots précédemment abattus et de l'importance de la contamination croisée.

Johannessen et al (2007) ont en effet montré que les lots positifs à *Campylobacter* contaminent surtout les premières carcasses des lots négatifs suivants, supposant l'hypothèse suivante : plus un lot est abattu tard dans la journée, plus la probabilité qu'il soit contaminé est élevée.

Au cours de notre, dans tous les lots, le taux de contamination au niveau des contenus caecaux est toujours plus élevé que celui des peaux de cou, ce qui en accord avec la constatation de Frediani-Wolf et Stephan (2003). par contre, en Algérie, Messad (2014) a constaté que les peaux de cou étaient plus contaminées que les contenus caecaux dans certains lots (lot N° 04, le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants était de 35% au niveau de l'élevage et de 50% au niveau de l'abattoir).

En fin, il convient de signaler que le transport peut provoquer également une augmentation de l'excrétion des *Campylobacter* par les poulets. Certains travaux ont montré que les méthodes de ramassage des volailles pour le transport en cage vers l'abattoir augmentaient la probabilité de contamination, de même que l'équipement et les véhicules de transport vers l'abattoir (Whyte et al., 2001 cité par Messad, 2014).

Ce rôle a été démontré par plusieurs études belges qui ont constaté que la contamination par *Campylobacter* s'accroissait lors du transport et de l'abattage, elle passait de 72 % à 79 % (Rasschaert et al., 2007 cité par Messad, 2014).

Lors du transport aussi, il peut y avoir une sur-contamination des poulets du bas par les déjections des animaux placés dans les cages de transport du haut (les poulets sont toujours transportés de cette manière) (Messad, 2014).

En plus du danger indirecte que les *Campylobacter* l'apporte au santé publique à travers la contamination de poulet de consommation, ils constituent aussi un danger direct non négligeable, par transmission directe aux travailleurs de l'abattoir qui s'ils ne développent pas la maladie (campylobactériose digestive), ils resteront pour la plupart des porteurs asymptomatiques et continuent à excréter le germe, ce qui qualifie la campylobactériose en tant que zoonose professionnelle (Ellstrom et al., 2014).

À la lumière de ce qui est ressorti de cette discussion, nous pouvons dire que les zones hautement contaminées en abattoir de volailles sont le bac d'échaudage, les plumeuses et les machines de l'éviscération.

#### **IV.2. Chez l'Homme**

Notre étude sur la campylobactériose humaine est à notre connaissance la première à cette ampleur réalisée dans l'Est de l'Algérie.

Les infections à *Campylobacter* entéropathogènes sont maintenant reconnues comme la première cause d'infections bactériennes intestinales dans le monde, aussi bien dans les pays développés que dans les pays en voie de développement.

Il s'agit d'une anthroponose dont le réservoir est constitué par les volailles, les oiseaux sauvages, les ovins, les bovins, les porcs et les animaux de compagnie (Begue et al., 1989).

L'Homme se contamine, avant tout, par voie digestive, par l'intermédiaire d'aliments souillés : poulet, dinde, viande de bœuf, lait cru, eau contaminée.... La transmission interhumaine, surtout observée lors de contacts très proches, semble plus rare (Lacut et al., 1989 ; Winquist et al., 2001).

Le tableau clinique des entérites à *Campylobacter* étant peu spécifique, le diagnostic repose sur la coproculture. Deux possibilités existent pour cultiver préférentiellement ces germes : la filtration et surtout les milieux sélectifs comme le milieu de Karmali (Megraud, 1989).

En effet, L'incidence des infections à *Campylobacter* en Algérie, est mal connue et probablement largement sous-estimée. Ceci est attribué d'une part, au fait qu'il n'existe pas de centre national de référence des *Campylobacter* pour garantir la surveillance de cette infection en Algérie, et d'autre part au fait que, la recherche des *Campylobacter* dans les coprocultures n'était pas systématique.

En Afrique, les infections à *Campylobacter* ont été enregistrées à la fois dans les zones rurales et urbaines, en particulier chez les enfants. La prévalence varie d'un pays à l'autre.

La présence de *Campylobacter* thermotolérants a été mise en évidence dans 36 échantillons sur les 240 prélèvements analysés, soit un taux d'isolement de 15%, répartis comme suit ; 26 (21.7%) souches isolées à partir des écouvillons rectaux (26/120) et 10 (8.3%) souches par la technique de filtration passive (10/120).

Malheureusement, la quantité insuffisante d'échantillonnage, nous empêche à établir une incidence réelle de la maladie, et par conséquent, la comparaison de nos résultats avec ceux rapportés en littérature reste extrêmement relative.

Le taux d'isolement relativement élevé constaté au cours de notre étude pourrait être attribué à ; tout d'abord, l'inclusion d'échantillons de selles provenant exclusivement d'individus souffrant des

gastro-entérites. Deuxièmement, la plupart des malades échantillonnés étaient des villageois, qui n'adoptent généralement pas les normes d'hygiène et manipulent de volailles vivantes.

Nos résultats étaient cohérents avec ceux rapporté par Megraud et al, (1990), qui ont rapporté un taux d'isolement de 17,7% à partir de 411 coprocultures (73/411) dans l'Ouest de l'Algérie.

D'autre part, nos résultats sont nettement supérieurs à ceux rapportés au niveau de l'institut pasteur d'Alger par Al Amir (2008), qui a isolé 15 souches de *C. jejuni* sur un total de 927 prélèvements de selles, ce qui représente un taux d'isolement de 1,6%. Le même auteur dans une vaste étude allant de 2006 à 2009 sur un total de 2950 coprocultures, a constaté un taux d'isolement de 1,9% (55/2950).

Les taux d'isolement relativement faible enregistrés par Al Amir, ont été attribué au fait que l'auteur a inclus dans leurs études un nombre important des malades asymptomatiques (demandes de visa ou de recrutement, personnes travaillant dans un hôtel, restaurant ou usine agro-alimentaire).

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

Des taux d'isolement similaires au nôtre ont été rapportés en Éthiopie (15,4 %) (Lengerh et al., 2013), en Angola (15%) (Pelkonen et al., 2018) et en Égypte (16,6%) (Hassanain, 2011). Cependant, Des taux largement supérieurs aux nôtres ont toutefois étaient constatés dans de nombreux pays ; en Pakistan (24,8%) (Ibrahim et al., 2004), en Liberia (34,7%) (Molbak et al, 1988) et en Nigéria (55%) (Nwankwo et al., 2016).

Une étude d'Abushahba (2018) à Assiut en Égypte, située à environ 375 km au sud de la capitale le Caire, a révélé que 27,5 % des 80 échantillons de selles humaines avaient été révélés positifs pour *Campylobacter*. Parmi les participants à cette étude, 33 étaient des nourrissons de moins de 12 mois. Les principaux facteurs de risque d'infection étaient les troubles de l'immunité et les conditions résidentielles dans les villages, avec une mauvaise hygiène.

D'autre part, nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés en Jordanie (1.5%) (Youssef et al., 2000), en Égypte (8.4%) (Shimaa et al., 2015), en Mozambique (1.7%) (Mandomando et al., 2007) et en Burkina Faso (2.3%) (Sangaré et el., 2012).

Au Soudan, un taux d'isolement de 2% a été constaté dans 437 échantillons de selles d'enfants diarrhéiques prélevés de janvier à décembre 2013 dans la banlieue de Khartoum (Saeed et al, 2015).

À Zagazig, dans la partie orientale du delta du Nil, Awadallah et al (2014) ont constaté une prévalence de *Campylobacter* de 2,7% dans 110 échantillons de selles provenant de l'hôpital général d'El-Ahrar entre septembre 2012 et avril 2014.

Les écarts de taux d'infection observés dans les pays en voie de développement peuvent être attribués à la nature des milieux utilisés, à la provenance (toutes les tranches d'âge ou les enfants seulement) et la nature des prélèvements (selles diarrhéiques ou des écouvillons). En effet, dans la plupart des études où le taux d'infection est relativement faible, nous avons constaté que les auteurs utilisent le milieu de Skirrow qui se caractérise par sa faible sensibilité à la détection des *Campylobacter* thermotolérants par rapport aux autres milieux (mCCDA et Karmali).

Dans les pays développés, les taux d'infection par *Campylobacter* ont été sensiblement montés durant les 30 dernières années. Une partie de cette augmentation peut être due aux améliorations des techniques de détection des *Campylobacter*, à titre d'exemple, Karmali et al, (1986), lors de ses premiers essais d'un nouveau milieu à base de charbon pour l'isolement de *Campylobacter* ont arrivé à isoler *Campylobacter* thermotolérants à partir 35 échantillons de selles sur un total de 1227 ce qui correspond à un taux d'isolement de (2,9%). Mais à d'autre part, cette augmentation de taux d'infection par *Campylobacter* reflète une augmentation vraie de l'infection. Par exemple, l'incidence de l'infection rapportée en Nouvelle Zélande est augmentée de 14 à 120 par 100.000 entre 1981 et 1990 et extraordinairement à 363 par 100.000 en 1998 (Tauxe, 2001).

Selon le rapport de l'AFSA (2011), *Campylobacter* a continué d'être le pathogène bactérien le plus rapporté dans les infections gastro-intestinales dans l'union européen depuis 2005 avec une incidence de 45.6 par 100,000 habitants en 2009. Selon le même rapport la quasi-totalité des pays membres de l'union européenne ont constaté une augmentation de l'incidence annuelle de la campylobactériose. En revanche, quelques rares pays ont constaté une diminution de l'incidence comme l'Autriche qui a constaté une incidence de 18.1 par 100,000 en 2009 contre une incidence de 51.4 par 100,000 en 2008. Ce déclin pourrait être expliqué par les améliorations dans la maîtrise des facteurs de risque surtout la bonne désinfection des eaux de boisson.

En plus, d'autre pays ont été rapportés indemne de la campylobactériose humaine à l'instar de Lettonie.

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

En Italie, dans une étude menée en sienne entre 1981 et 1990, Figura et ses collaborateurs ont constaté un taux de contamination de 10,8% (Figura et al., 1997, cité par Calistri, 2008).

D'autre part, Albert et al, (1992) en Australie, ont constaté un taux relativement élevé (33,3%) à partir 676 prélèvements de selles provenant des malades diarrhéiques, en combinant 2 méthodes

d'isolement ; la technique de filtration passive et un milieu sélectif à base de charbon (presque comme notre protocole).

*C.jejuni* comme les autres bactéries entéropathogènes peut être incriminé dans des syndromes post-infectieux, toutefois le syndrome post-infectieux le plus important à considérer est le syndrome de Guillain Barré. En Algérie, il n'existe pas des statistiques officiels sur l'impact réel de ce syndrome, en Holland le nombre des cas de SGB est approximativement 180 cas par an (Havelaar et al, 2001).

## V. FACTEUR DE RISQUE DE *CAMPYLOBACTER* THERMOTOLERANTS

### V.1. Sources de contamination et facteurs de risque au niveau des bâtiments d'élevage

#### V.1. a.) Effet de la saison sur la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevages

Au cours de la présente étude, nous avons constaté que la colonisation par *Campylobacter* thermotolérant est augmentée en été, c'est bien que, la plus grande prévalence (100%) a été constaté durant les mois de Juin et d'Aout, au niveau des élevages E1, E2 et E14, tandis que, la plus faible prévalence (20%) a été notée pendant le mois de Décembre au niveau de l'élevage E7.

Globalement, la différence entre les taux de contamination enregistrés pendant les saisons chaudes et froides est statistiquement significative, ce qui signifie qu'il existe une recrudescence saisonnière des infections à *Campylobacter* durant la période estivale. Par conséquent, nous pouvons dire que la saison constitue un facteur de risque très important dans l'épidémiologie de la campylobactériose contrairement aux autres enteropathogènes tels que les *Salmonella* spp. où les variations climatiques ne semblent pas jouer un rôle dans la propagation de ce pathogène (Jacobs-Reitsma et al., 1994).

En effet, la nature saisonnière de la contamination des poulets de chair avec un pic estival a été rapportée par plusieurs auteurs : en Suède (Berndtson et al., 1996), en Norvège (Kapperud et al., 1993), en Danemark (Bang et al., 2003) et en Égypte (Shimaa et al., 2015).

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

Cet impact saisonnier de la prévalence de *Campylobacter* dans les échantillons de volaille durant les mois chauds était en lien probablement avec une consommation accrue d'eau potentiellement contaminée par des matières fécales animales dans les élevages.

Ces variations saisonnières peuvent être liées en plus à une variété de raisons, y compris l'apparition des réservoirs supplémentaires à certains périodes de l'année, par exemple (les mouches, les insectes), ou le changement des pratiques et du comportement en raison des conditions

climatiques, tels que, l'ouverture des portes et des fenêtres, ainsi que la réticence à porter des vêtements de protection par les agriculteurs en temps chaud (Ellis-Iversen et al., 2009).

Refregier-petton et al. (2001) rapportent que les conditions ambiantes des bâtiments sont particulièrement importantes. Ainsi la température élevée dans les bâtiments à ventilation naturelle durant la saison chaude favorise la croissance des *Campylobacter*.

Cette saisonnalité de prévalence des lots de poulet contaminés par *Campylobacter*, peut être expliquée en partie par la saisonnalité de la prévalence des campylobactérioses humaines observée par plusieurs auteurs ; (Pearson et al., 1993, cité par Skelly et al. 2003).

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

En effet, la différence saisonnière demande toutefois à être confirmée par d'autres études plus étendues dans le temps.

#### **V.1. b.) Effet de l'âge d'abattage sur la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevages**

Les lots visités au cours de notre étude sont âgés entre 34 et plus de 42 jours, après l'analyse des résultats, notre étude n'a montré aucune association entre la prévalence de *Campylobacter* thermotolérants et l'âge d'abattage des volailles ( $P > 0,05$ ). Ce résultat est conforme aux études antérieures (Näther et al., 2009). Par contre, plusieurs études ont montré que l'âge de poulet constitue un facteur de risque puisque la prévalence de la contamination augmente avec l'âge du poulet (McDowell et al., 2008; Torralb et al., 2014 ;Mageto et al., 2018).

En réalité, la colonisation naturelle par *Campylobacter* dépend de l'âge des volailles, et les poulets restent négatifs pour *Campylobacter* jusqu'à l'âge de dix jours et la plupart des lots ne deviennent positifs qu'à l'âge de 2 à 4 semaines. (Jacobs-Reitsma et al., 1995 ; Bull et al., 2006 ).

La raison pour laquelle les poulets ne sont pas contaminés avant l'âge de 10 jours n'est pas connue, mais les raisons invoquées sont l'immaturation du tube digestif, la composition de l'alimentation ou encore comme proposé Sahin et al (2003) l'activité protectrice de l'immunité maternelle.

Selon Jacob-Reitsma et al (1995), lorsque la bactérie est introduite dans un élevage, deux-tiers des animaux sont contaminés en trois jours, et la totalité dans une semaine, ce qui confirme la rapidité de la colonisation. En effet, l'excrétion fécale est probablement un facteur important de la dissémination des microorganismes dans les troupeaux de volailles (Peyrat, 2008), mais au fil de temps, le niveau de cette excrétion diminue suggérant un rôle de l'immunité, cependant la durée de

vie courte des poulets ne permet au mieux qu'une réduction de 1 facteur sur 10 de l'excrétion (Wagenaar et al., 2006).

### **V.1. c.) Effet de la taille du troupeau sur la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des bâtiments d'élevages**

Au cours de notre étude, nous avons remarqué une densité élevée de poulets de chair dans les élevages visités (4000 à 8000) pour des superficies relativement réduites. Nous avons constaté qu'il y a une augmentation de taux de contamination avec l'augmentation de la taille de troupeau. Mais cette augmentation était statistiquement non significative ( $P > 0,05$ ).

En effet, la contamination est plus fréquente dans les élevages lorsque la densité de la mise en place est supérieure à 22,5 animaux/m<sup>2</sup> (Puterflam et al., 2005). Plusieurs auteurs ont montré que le risque de contamination des lots de poulets augmentait avec la taille des lots, et ils ont attribué cette constatation au fait que la densité animale élevée favorise le contact entre les animaux, en particulier ceux porteurs de *Campylobacter* (Berndtson et al. 1996 ; Guerrin et al., 2007). D'autre part la forte densité facilite très certainement la transmission féco-orale de ce germe entre animaux

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

### **V.1. d.) Autres sources de contamination et facteurs de risque**

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

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

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

D'autre part, le rôle de la litière n'est pas sans taches, même si sa contribution est plutôt reliée au mode de transmission qu'à une source d'infection. Une étude spécifique du rôle de la litière dans

la transmission de *C. jejuni* effectuée par Montrose et al (1984) affirme que si *C. jejuni* est présent dans la litière et les poulets peuvent s'infecter en pratiquant la coprophagie (Laberge, 2003).

Neil et al (1984) rapportent que la litière mouillée est associée à un risque de contamination des poulets et la litière devient un problème si elle est contaminée et conservée pour la croissance de plus d'une cohorte de poulets, la même constatation a été rapportée par Genigeorgis et al (1986) qui ont suspecté la transmission de *Campylobacter* d'un troupeau à un autre par l'intermédiaire de la litière sans avoir arrivé à prouver ça microbiologiquement.

Par contre, plusieurs auteurs n'arrivent plus à isoler *Campylobacter* à partir des échantillons provenant de la litière parmi eux nous citons : (Berndtson et al 1996 ; Van de Giessen et al., 1992 ).

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

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

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

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

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

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

En effet, au cours de notre étude, nous avons constaté la présence des animaux de ferme (domestique et de rente) aux alentours de tous les bâtiments avicoles visités, ce qui joue sans doute

un rôle aussi bien dans l'introduction de *Campylobacter* que dans leur dissémination, expliquant ainsi le taux d'infection relativement élevé dans les élevages visités.

Parmi les autres animaux susceptibles d'être des sources d'infection par *C. jejuni*, nous citons les petits rongeurs tels que les souris et les rats. Ces derniers peuvent aussi être des porteurs sains de *C. jejuni* (Hiatt et al., 2002) et servir comme un vecteur de ce microorganisme à l'intérieur de bâtiment (Saleha, 2004). Par contre, considérant l'accès limité des rongeurs à l'intérieur des bâtiments avicoles, de même que l'efficacité des traitements rodenticides, il est très peu probable qu'il s'agisse là d'une source significative d'infection, cela a été rapporté par Evans et al., (2000).

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

La majorité des auteurs s'entendent sur le fait que les mouches peuvent servir comme vecteur mécanique de *C. jejuni* d'un animal ou d'un environnement réservoir aux troupeaux de poulets de chair (Saleha, 2004). Cela est renforcé par Hald et al (2004) qui ont mis en évidence la présence de *Campylobacter* spp. dans 8,2% des mouches capturées à l'extérieur des bâtiments d'élevages.

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

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

La plupart des auteurs s'accordent pour le fait que la transmission horizontale de *Campylobacter* était la principale voie de transmission et que la transmission verticale était peu probable (Van de Giessen et al., 1998 ; Saleha, 2004).

En revanche, même en pratiquant des mesures drastiques de contrôle des voies de transmission horizontales, les poulets de chair peuvent être contaminés par *C. jejuni*, laissant croire que la transmission verticale puisse survenir. Cela a été renforcé par Pearson et al (1996) qui ont arrivé à isoler des souches de *C. jejuni* dont les sérotypes ou les génotypes sont les mêmes chez les poulets de chair et leurs parents.

## **V.2. Facteurs de risque pour la population humaine**

### **V.2.a) effet de la saison**

Nous ne pouvons discuter de l'épidémiologie de *Campylobacter* sans mentionner son patron saisonnier. Ce phénomène semble non seulement être présent aussi bien chez la population humaine

que chez la population aviaire mais aussi avec une concordance, cette concordance de saisonnalité a été rapportée par plusieurs auteurs à l'instar de Patrick et al (2004).

Au cours de notre étude, les infections à *Campylobacter* sont rencontrées toute l'année mais il existe une augmentation importante pour les enfants comme pour les adultes durant la saison chaude estivo- automnale. Cette recrudescence concerne essentiellement *C. jejuni*, alors que la répartition saisonnière des autres espèces est moins marquée. La saisonnalité peu marquée pour *C. coli* pouvait être la conséquence du faible nombre de souches isolées.

La nature saisonnière de la campylobactériose humaine avec un pic estival a été rapportée par plusieurs auteurs : (Nylen, et al., 2002 ; Patrick et al., 2004 ; Lal et al., 2012).

Les hypothèses potentielles pour expliquer les variations saisonnières peuvent être considérées dans deux catégories ; les variations saisonnières du comportement humain, qui peuvent encourager les activités de plein air (le barbecue et le camping), ainsi que, les variations saisonnières de la prévalence du *Campylobacter* dans les réservoirs et les sources, ou la combinaison de deux (Nylen, et al., 2002). De plus, certaines études suggèrent que l'exposition aux rayons UV (lumière du soleil) peut entraîner une susceptibilité accrue aux maladies infectieuses (Norval M, 2001).

En Algérie Megraud et al, (1990) n'ont observé aucune différence concernant le taux d'isolement de *Campylobacter* après stratification des résultats par saison. Cependant, Al'Amir (2008) a rapporté des résultats un peu contradictoires, parce qu'elle a constaté un pic hivernal, c'est bien que, le plus grand nombre des souches a été isolé durant les mois s'étalant de Novembre à Février.

En ce qui concerne le monde industrialisé, la prévalence de *Campylobacter* variait aussi selon la saison, avec un apogée en été et au début de l'automne. Le pic estival survenant entre les semaines 23 et 35 de l'année (Mølbak, 2001).

Les voyages à l'étranger jouent un rôle important dans l'explication des pics estivaux de campylobactériose (Neal et Slack, 1995).

Cependant des études en Nouvelle Zélande et en Australie ont montré que cette saisonnalité n'est pas évidente (Jore et al., 2010). En réalité le caractère saisonnier semble être prononcé davantage en augmentant la latitude (Tauxe, 2001).

Dans les pays en voie de développement la prévalence de *C. jejuni* ne semble pas avoir des variations saisonnières. Certains croient que l'absence des variations extrêmes de température serait une explication possible, mais d'autres croient plutôt que l'absence des systèmes adéquats de surveillance des épidémies à *Campylobacter* fait en sorte que le phénomène n'est pas observé (Coker, 2001).

### V.2.b) effet de l'âge

Comme le rapporte Blaser, les personnes de tout âge peuvent être infectées par *Campylobacter*, mais les enfants en bas âge et les personnes ayant 65 ans et plus jeunes adultes ayant entre quinze et trente ans sont plus souvent affligés par la campylobactériose, que le reste de la population.

La prévalence de la campylobactériose semble diminuer avec l'âge, comme indiqué dans notre étude, où la prévalence de l'infection à *Campylobacter* est passée de 22.5% dans le groupe d'âge de moins de 5 ans à 5% dans le groupe d'âge des 21 à 49 ans, avec une légère augmentation de la prévalence dans le groupe d'âge des plus de 50 ans. La même constatation a été signalé par plusieurs auteurs (Ewnetu and mihret., 2010 ; Blaser, 1997). Une mauvaise hygiène, une proximité avec les animaux, une malnutrition et une faible immunité sont probablement les facteurs possibles qui pourraient contribuer à des taux d'infection élevés chez les jeunes individus (Ewnetu and mihret, 2010).

En effet, l'hypothèse communément acceptée, concernant le taux d'incidence élevé des très jeunes enfants est que les parents ont tendance à s'inquiéter davantage pour les symptômes digestifs de leur enfant et à plus souvent consulter un médecin et par conséquent, la demande d'une coproculture est plus fréquente (Allos et Blaser, 1995). En ce qui concerne les jeunes adultes, il a été rapporté que les fréquents voyages à l'étranger pouvaient en partie expliquer le taux d'incidence élevé de ce groupe d'âge (Friedman et al., 2000). Les voyageurs effectués dans les pays en voie de développement semblent d'autant plus à risque, puisque la diarrhée contractée lors de tels voyages est souvent sévère et associée à des souches résistantes aux antibiotiques (Akitoye et al., 2002).

La décroissance de taux d'infection en fonction de l'âge renforce l'impression qu'une exposition excessive d'individus à *Campylobacter* au cours de la vie pourrait entraîner le développement d'une immunité protectrice (Ewnetu and mihret., 2010). Cependant, d'autres études ont indiqué une prévalence plus élevée chez les adultes que chez les enfants (El-Gohary A., 1998).

Dans les pays développés, la campylobactériose affecte tous les âges, mais surtout les enfants ayant moins de 5 ans suivent par les jeunes adultes entre 15 et 44 ans (Tauxe, 2001).

En France, selon King et al (2008), l'âge médian des personnes infectées par *Campylobacter* était de 23 ans (extrêmes : 4 jours- 100 ans). Par ailleurs, 31,2% des souches de *Campylobacter* ont été isolées chez des enfants âgés de moins de 10 et 14,5% chez des personnes âgées de plus de 65 ans. En revanche, dans les pays en voie de développement, la campylobactériose sévit surtout chez les enfants moins de 2 ans avec des diarrhées, et la maladie ne semble pas être importante chez les adultes (Coker et al., 2002).

La situation est différente dans les pays en voie de développement où l'exposition aux *Campylobacters* est beaucoup plus importante. Les nourrissons sont presque tous contaminés très

tôt après la naissance, mais sont protégés de l'expression clinique de la maladie par des anticorps présents dans le lait maternel. Les symptômes apparaissent au moment du sevrage. *C. jejuni* participe ainsi à la mortalité et à la morbidité importante des maladies diarrhéiques de l'enfant dans ces pays. Une immunité s'installe ensuite progressivement. Les enfants continuent à être contaminés mais deviennent porteurs sains de cette bactérie (Megraud et al., 1990).

En Algérie (Megraud et al., 1990 ; Al Amir, 2008) n'ont observé aucune différence concernant le taux d'isolement de *C.* après stratification des résultats par âge.

En dehors des infections intestinales, des infections systémiques sont décrites et des complications d'ordre neuro-immunologique comme le syndrome de Guillain-Barre (SGB), quoi que moins fréquentes chez l'enfant, peuvent exister (Lehours et al., 2012).

L'infection des nouveau-nés est rare. Il s'agit d'une contamination lors de la traversée de la filière génitale chez une mère qui est porteuse de *Campylobacter*, le plus souvent *C. jejuni*. (Lehours et al., 2012).

Les caractéristiques de la transmission des *Campylobacters* aux enfants et adolescents sont comparables à celles des adultes avec quelques spécificités. Le principal réservoir des *Campylobacters* thermotolérants et notamment *C. jejuni* est constitué par les oiseaux et en particulier la volaille dont les fientes contiennent cette bactérie. Elle peut également être présente dans les selles des animaux d'élevage (bovins, ovins...) et de compagnie (chiens, chats...).

La contamination à partir de l'environnement est possible en particulier chez les jeunes enfants. Elle peut avoir lieu dans les parcs, à partir de déjections d'animaux (chiens, oiseaux...) qui auraient souillé l'environnement (Bolton et al., 1999)

Une voie de transmission plus importante est sans doute la contamination croisée de mets qui seront mangés crus (salade...) à partir de la volaille lors du stockage ou de la préparation des repas

En fin, il faut signaler que la contamination interhumaine est possible mais rare (Lehours et al., 2012).

### **V.2.c) effet de sexe**

Le sexe a aussi été démontré comme étant un facteur de risque, selon l'AFSSA (2003), le Sex-ratio des malades indique que l'infection est plus fréquente chez l'homme que chez la femme, sans qu'une raison précise n'ait pu être invoquée. Ceci est en accord avec d'autres études (Adekunle et al., 2009 ; Laroche et Magras, 2013 ; Lehours et al., 2012). De plus, selon Tauxe (2001), l'incidence de l'infection par *C. jejuni* est 2,1 à 2,5 fois plus élevée chez les mâles que chez les femelles.

Thomas (2009) a noté une nette prédominance des infections à *Campylobacter* chez les personnes du sexe masculin avec près de 60% d'infection contre seulement 40% chez les personnes du sexe féminin.

Selon Rizzetto et al (2018), il existe un certain nombre de possibilités qui ont été postulées concernant les rôles potentiels des facteurs culturels, comportementaux, génétiques et hormonaux.

Le rôle des facteurs culturels n'est pas évident, bien qu'il existe des preuves que les femmes utilisent davantage les services de santé que les hommes (Bertakis et al., 2000).

Il est peu probable que les différences d'exposition au *Campylobacter* entre les deux sexes dues à des facteurs comportementaux jouent un rôle chez les nourrissons et les très jeunes enfants (Kaakoush et al., 2015). Alors que, le rôle est peut-être plus prononcé chez les femmes, car elles passent plus de temps à s'occuper des jeunes enfants, ce qui pourrait augmenter leur risque d'infection.

Chez les personnes plus âgées, les Hommes peuvent être plus susceptibles d'être exposés au *Campylobacter* à la suite de la consommation d'aliments mal cuits en dehors de la maison (Kearney et al., 2001).

En ce qui concerne les facteurs génétiques, les réponses immunitaires humorales et à médiation cellulaire semblent être plus fortes chez les femmes et comme les chromosomes X contiennent des gènes associés au système immunitaire, cela pourrait être un facteur important dans la réponse immunitaire à l'infection par *Campylobacter* (Pinheiro et al., 2011).

Les hormones sexuelles pourraient jouer un rôle important, L'œstradiol favorise les voies de signalisation immunitaires innées et peut augmenter la production de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires en réponse à la stimulation (Trigunaite et al., 2015). Cela pourrait expliquer en partie la réponse immunitaire plus efficace chez les femmes. De plus, la testostérone peut déprimer la réponse immunitaire innée et adaptative, augmentant la sensibilité des hommes aux maladies cliniques (Trigunaite et al., 2015).

Au cours de notre étude, nous avons trouvé que la prévalence des infections à *Campylobacter* n'était pas influencée par le sexe du patient. Nos résultats corroborent ceux avancés par différentes études, parmi lesquelles celle de Bhadra et al (1992) et celle de Samie et al (2007).

#### **V.2.d) effet des autres facteurs de risque**

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

Kapperud et ses collaborateurs (Kapperud et al, 1992), ainsi que Deming et ses collaborateurs (Deming et al., 1987) rapportent une association étroite entre la consommation de poulet et la campylobactériose. Lors de leurs études, le risque associé à la consommation de poulet était en parti

dû à de mauvaises manipulations et cuissons de viande, de même qu'à la contamination croisée d'autres aliments par la viande de poulet non cuit.

D'autres facteurs de risqué ont été rapportés dans la littérature comme ; le contact direct avec les animaux de compagnie (Kapperud et al, 1992), la séropositivité au HIV (Tauxe, 2001).

## **VI. ÉVALUATION DU RENDEMENT DES DIFFÉRENTES TECHNIQUES DU PRÉLÈVEMENT ET D'ISOLEMENT**

### **VI.1. Évaluation du rendement des différentes techniques du prélèvement**

Pour les échantillons aviaires, nous avons utilisé au niveau des bâtiments d'élevage deux techniques de prélèvement (l'écouvillonnage cloacal et fientes fraîches à partir du sol) pour essayer de déterminer les techniques les plus fiables pour l'isolement des *Campylobacter*. La différence entre les taux d'isolement obtenu à la suite de ces deux techniques de prélèvement est statistiquement non significative ( $p > 0,05$ ) suggérant ainsi que la technique de prélèvement n'a pas une grande influence sur le taux d'isolement. Cependant, de notre part, nous préconisons l'utilisation de la technique d'écouvillonnage cloacal en raison de sa facilité d'emploi, étant donné qu'elle nécessite peu de temps. De plus, la fraîcheur de l'échantillon est assurée étant donné que l'écouvillon est directement émergé dans le milieu de transport.

En ce qui concerne les échantillons humains, de façon similaire nous avons utilisé deux techniques de prélèvement (l'écouvillonnage rectal et les selles diarrhéiques), selon nos résultats, il semble que l'écouvillonnage rectal donne un taux d'isolement plus élevé que celui obtenu à partir des selles diarrhéiques ( $p < 0,05$ ). Notre constatation est supportée par Kaplan et ses collaborateurs (1982) qui ont montré que l'écouvillonnage donne des meilleurs résultats parce qu'elle permet le raclage de la muqueuse rectale où se trouvent les *Campylobacter*.

### **VI.2. Évaluation du rendement des différentes techniques d'isolement**

Pour comparer le rendement de récupération des souches de *Campylobacter* thermotolérants à partir des échantillons fécaux d'origine aviaire entre deux milieux, un à base du sang et un autre à base du charbon, nous avons fait recours à deux milieux, celui de Preston et celui de Karmali.

Nos résultats montrent que différence entre les deux taux d'isolement était statistiquement non significative ( $P > 0.05$ ). Sans négliger que le milieu de Preston, même il possède un rendement de récupération presque superposable à celui de Karmali, il montre l'inconvénient de permettre la poussée d'un grand nombre de contaminant, cela contrairement aux résultats de Bolton et al (1983) ainsi que Chon et al (2011) qui ont déclaré que le milieu de Preston est le milieu le plus sélectif.

Nos résultats étaient en accord avec les résultats de Chon et al (2011) qui ont montré que les trois milieux de Karmali, Preston et mCCDA présentait des taux de récupération et de sélectivité similaires. Par contre, Rodgers et al (2010) ont constaté que l'ensemencement directe sans

enrichissement sur mCCDA a montré un taux d'isolement plus élevé que pour les géloses Karmali ou Preston, mais un taux d'isolement similaire après l'enrichissement.

Le milieu sélectif de Preston est basé sur la formule décrite par Bolton et Robertson (Bolton et Robertson 1982). Il est particulièrement adapté à l'isolement des *Campylobacter* sp. à partir de tous les types d'échantillons humains, animaux et de l'environnement. De plus, le milieu Preston modifiée contient de l'Amphotéricine, idéal pour un échantillon de volaille, riche en levures, d'où notre choix (Larpent, 1997 ; Dromigny, 2007).

Au cours d'études comparatives (Bolton et al., 1983) des milieux sélectifs de Skirrow, Butzler, Blaser et Preston, ce dernier a été trouvé comme étant le milieu permettant l'isolement maximum de *Campylobacter* à partir de tous les types d'échantillons testés, ainsi que le plus sélectif.

De même, dans une autre étude comparative menée par Chon et al (2012) des milieux sélectifs de mCCDA, Karmali et Campy-Cefex et Preston, ce dernier a été trouvé comme étant le milieu permettant l'isolement maximum de *Campylobacter* à partir de tous les types d'échantillons testés, ainsi que le plus sélectif. En effet, la gélose de Preston contient 3 agents antibiotiques sélectifs pour inhiber la croissance bactérienne concurrente, alors que la gélose mCCDA et la gélose Campy-Cefex ne contiennent qu'un seul antibiotique, la céfopérazone.

Dans une étude menée par Chon et al. (2011), la combinaison d'antibiotiques présente dans la gélose Preston s'est avérée plus efficace pour inhiber la flore concurrente que l'antibiotique unique présent dans d'autres géloses sélectives.

Peterz (1991) a comparé la sensibilité et la sélectivité de la gélose de Preston et de la mCCDA en utilisant des échantillons de foie de poulet. Dans cette étude, les deux géloses sélectives présentaient des taux de récupération similaires, mais la mCCDA était plus sélective que la gélose de Preston.

D'autre part, Charrat (2017) ainsi que Repérant et ces collègues (2016) ont montré que le milieu de Butzler est plus sélectif et permet une meilleure détection de *Campylobacter* que les milieux de mCCDA, Karmali et CampyFood agar (CFA).

À partir des échantillons de selles diarrhéiques, nous avons comparé entre deux techniques d'isolement de *Campylobacter* thermotolérants, celle de la filtration passive et celle d'isolement direct en utilisant le milieu sélectif de Karmali. Nos résultats montrent que différence entre les deux taux d'isolement de *Campylobacter* était statistiquement non significative ( $P > 0.05$ ).

Malgré la sensibilité relativement basse de technique de la filtration passive (Goossens et al., 1986), la durée son exécution relativement longue, nous préconisons l'utilisation de cette dernière, parce qu'elle ne nécessite pas des antibiotiques spécifiques, ce qui la rend sur le plan économique

moins chère, et sur le plan bactériologique apte à isoler des espèces plus sensibles aux antibiotiques et qui semblent être associées à la diarrhée (Goossens et al., 1986).

En réalité, des travaux plus récents ont indiqué que d'autres espèces de *Campylobacter* d'importance dans les gastro-entérites comme *C. upsaliensis* ne seront pas isolées par les milieux sélectifs habituels en raison de leur susceptibilité aux antibiotiques utilisés dans la plupart des milieux (Walmsley et Karmali, 1989). En plus, cette méthode est capable d'isoler des colonies pures de *Campylobacter*, contrairement aux milieux sélectifs, avec lesquels un procédé de purification doit souvent être employé pour obtenir une culture pure. (Megraud, 1987).

En outre, Albert et al (1992) ont trouvé que l'utilisation d'un milieu sélectif simple ne soit pas satisfaisante pour l'isolement optimal des espèces de *Campylobacter*, et par conséquent une combinaison de 2 milieux en particulier d'un milieu sélectif et d'un milieu non sélectif utilisant une technique de filtration est nécessaire.

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

## VII. RÉPARTITION DES DIFFÉRENTES ESPÈCES DE *CAMPYLOBACTER*

### VII.1. Chez les volailles

Bien que *C. coli* soit moins répandu que *C. jejuni*, il pourrait représenter 25 % des gastro-entérites liées au groupe *Campylobacter*. Les infections à *C. jejuni* ou *coli* sont cliniquement superposables aussi bien chez l'Homme que chez les volailles (Munier et Leflon-Guibout, 2016).

Au cours de présente étude, la caractérisation phénotypique des isolats de *Campylobacter* a montré que les volailles sont principalement colonisées par *C. jejuni*, suivi par *C. coli*, et rarement par d'autres espèces. Ces résultats sont en accord avec des études précédentes menées aux Pays-Bas (Schets et al., 2017), au Tunisie (Gharbi et al., 2018) et en Irlande (Emanowic et al., 2020).

Une étude menée au Kumasi (Ghana) sur la prévalence de *Campylobacter* dans des lots de poulets de chair a révélé la distribution suivante des souches de *Campylobacter* : 104 (79%) souches *C. jejuni*, 18 (14,3%) *C. coli* et 4 (3%) souches *C. lari*. Les taux d'isolement des trois espèces se rapprochent aux nôtres (Karikar et., 2017).

En Algérie, Messaoudi et al (2013) ainsi que Laidouci et al (2013) ont rapporté que l'espèce dominante lors de contamination des carcasses de poulet de chair est *C. jejuni* avec des taux d'isolement de (85%) et (98%) respectivement.

L'étude de Wangroongsab et al (2021) menée au Thaïlande a révélé que les carcasses de poulet de chair en abattoir étaient majoritairement contaminées par *C. jejuni* (114/168) 67.9%, alors que *C. coli* était présent dans 41.1% des échantillons (69/168), le *C. lari* n'a été plus isolé. Cette répartition inégale des espèces serait liée à leur présence ainsi que leur habitat naturel à savoir l'intestin de l'hôte, mais aussi à la résistance au sein de l'espèce elle-même. En effet, *C. jejuni* s'avère plus résistante au stress rencontré au cours des opérations d'abattage. Il a été démontré que cette espèce adhère mieux aux surfaces inertes et possède ainsi de meilleures capacités de formation de biofilms (Sulaeman et al., 2010).

En revanche, plusieurs études à l'instar de celle de Awadallah et al (2014) en Égypte et celle de Vinueza-Burgos et al (2017) à l'Équateur ont montré que le *C. coli* est l'espèce la plus dominante.

MACKIW et al (2012) en Pologne, rapportent que *C. coli* était l'espèce la plus commune parmi les souches isolées des poulets de chair avec un taux d'isolement de 75,5%, quant à *C. jejuni*, elle a été isolée à partir du reste des échantillons (24,5%).

La prévalence globale des *Campylobacter* rapportés par Hariharan et al. (2009) à Grenade est supérieure au nôtre (79%), avec des taux d'isolement des différentes espèces différents aux nôtres, ainsi, les mêmes espèces ont été isolées mais avec des pourcentages différents, l'espèce dominante était *Campylobacter coli* isolée dans 61% de l'ensemble des souches isolées, suivi de l'espèce *C. jejuni* avec 32,8%, et enfin *C. lari* (6,2%).

Les milieux sélectifs et les températures d'incubation utilisés au cours de la présente étude sont plus efficaces pour l'isolement de *C. jejuni* et *C. coli* que pour les autres espèces, ce qui soulève des questions sur la validité de nos résultats sur les autres souches (*C. lari* et *C. upsaliensis*) et indique la nécessité d'une confirmation moléculaire supplémentaire (Tazumi et al., 2009).

## **VII.2. Chez l'Homme**

*Campylobacte. jejuni*, *C. coli* et *C. fetus* sont les espèces les plus fréquemment isolées pendant les campylobactérioses humaine, mais d'autres espèces plus récemment caractérisées sont maintenant reconnues comme pathogènes et sont à l'origine d'infections variées telles les que gastroentérites (Leflon-Guibout et Munier, 2016).

Sur l'ensemble des cas étudiés au cours de notre étude, *C. jejuni* est de loin l'espèce la plus fréquemment rencontrée (75% des isollements). *C. coli* est quant à lui responsable de 16.7% des cas isolés et dans 8.3% des cas nous rencontrerons *C. upsaliensis*. Nos résultats corroborent ceux

avancés par différentes études, parmi lesquelles celle de Thomas (2009) et celle de Chereau et al (2019).

Une étude menée au Kampala (Ouganda) sur la prévalence de *Campylobacter* chez des enfants diarrhéique a révélé un taux de contamination de 9.3% avec une distribution des espèces de *Campylobacter* rapprochant au nôtre : (80.9%) *C. jejuni*, (4,5%) *C. coli* (Mshana et al., 2009).

Les travaux de Vaishnavi et al (2015) menés en Iran sur des enfants et adultes souffrant de campylobactériose, ont révélé que c'est toujours les deux mêmes espèces prédominantes qui sont isolées que ce soit des prélèvements de volailles ou chez l'Homme. 90% des souches isolées étaient des *C. jejuni* alors que les 10% restantes étaient des *C. coli*.

Une étude éthiopienne réalisée par Tafa (2014) sur des enfants atteints de diarrhée a révélé un taux d'infection par les *Campylobacter* similaire au nôtre (16,7%), ainsi 38 souches ont été isolées durant quatre mois, avec isolement de trois espèces thermotolérantes à savoir *C. jejuni*, *C. coli*, and *C. lari*, avec des taux de 71.1%, 21.1%, et 7.9% respectivement. Les taux d'isolement des deux premières espèces dominantes se rapprochent aux nôtres. La consommation de lait cru, l'eau non traitée ou poulet et dérivés a été identifiée comme facteur de risque de cette infection (Tafa et al., 2014).

## **VIII. SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE *CAMPYLOBACTER* THERMOTOLÉRANTS ISOLÉES**

### **VIII.1. Sensibilité aux antibiotiques des souches de *C. thermotolérants* isolées chez les volailles**

La surveillance de la résistance aux antibiotiques des bactéries commensales ou zoonotiques est essentielle pour évaluer les niveaux de résistance et leurs évolutions dans le temps. Elle permet également de détecter l'émergence de nouveaux mécanismes de résistance, de préciser les sources de bactéries résistantes et de fournir des données nécessaires à l'évaluation du risque pour la santé publique, associé à l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire. Cette surveillance permet aussi d'observer l'impact de certaines pratiques de prescription des antibiotiques ou des recommandations visant à une utilisation prudente de ces substances.

La résistance des *Campylobacter* aux antibiotiques est un problème majeur et mondial de santé publique. Cette résistance est bien documentée et porte principalement sur les macrolides et les fluoroquinolones.

Compte tenu du risque de la campylobactériose engendré essentiellement par la consommation de volailles, une surveillance de la résistance aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* isolées chez les volailles est devenue obligatoire notamment pour *C. jejuni* et *C. coli* (Peyrat, 2008).

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

Une étude récente menée par Luangtongkum et ses collaborateurs (2007) pour évaluer la sensibilité des souches de *Campylobacter* à une gamme d’antibiotiques par la méthode récemment standardisée de dilution en milieu gélosé et par la méthode des disques a montré qu’il existait une corrélation élevée entre les deux méthodes.

En effet, la surveillance de l’antibiorésistance repose sur la détermination, en milieu liquide, de la CMI des différents antibiotiques, mais l’étude Luangtongkum et ses collaborateurs (2007) suggère également que la méthode de diffusion de disque puisse être employée comme une méthode alternative fiable pour l’essai de la susceptibilité des *Campylobacter* thermotolérants à plusieurs classes d’antibiotiques, en particulier les aminosides et les quinolones.

Bien que la méthode de diffusion en milieu gélosé ne soit pas encore standardisée, et pour des raisons d’ordre matériel, l’étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées au cours de notre étude, a été réalisée par cette dernière.

Différents types d’études (réalisées en conditions réelles ou essais cliniques) ont mis en évidence la relation entre l’usage des antibiotiques dans les élevages et la résistance aux antibiotiques chez les *Campylobacter* isolés chez la volaille. Cependant, cette relation n’est pas toujours aussi simple à établir, de nombreux facteurs influencent la sélection et la diffusion de l’antibiorésistance, et en particulier (Peyrat, 2008).

Certaines études ont montré que l’utilisation des antibiotiques chez la volaille sélectionne des souches de *Campylobacter* résistantes à ces antibiotiques (Mc Dermott et al., 2002). Cette sélection peut se produire pendant ou après un traitement antimicrobien (Mc Dowell, 2004).

De nombreux facteurs influencent la sélection et la diffusion de l’antibiorésistance, et en particulier :

- ❖ La population bactérienne concernée (les *Campylobacter* commensaux du tube digestif des volailles ont une plus grande capacité à acquérir des plasmides porteurs de gènes de résistance).
- ❖ Les effets liés aux traitements de la volaille (les doses utilisées et la durée du traitement, le nombre d’animaux traités et les pratiques d’élevage) (Sanders, 1999).

Plusieurs auteurs s’accordent pour dire que l’utilisation des antibiotiques chez l’animal comme agents thérapeutiques, prophylactiques ou comme promoteurs de croissance peut entraîner une réduction de l’efficacité de ces produits en médecine vétérinaire comme en médecine humaine, par suite du développement de souches résistantes. Chaque exposition aux

antibiotiques exerce une pression de sélection qui élimine les bactéries sensibles, et favorise la croissance des lignées résistantes (Avrain et al., 2003). Cependant, l'environnement pour sa part peut aussi jouer un rôle dans le phénomène de résistance aux antibiotiques.

Les stress environnementaux (température, pH, pression osmotique, oxygène) rencontrés par les bactéries au cours de procédés d'abattage peuvent être également suspectés de moduler la résistance aux antibiotiques, et une fois augmentée, cette résistance perdure malgré le retrait du stress (le stress appliqué entraîne une augmentation stable de la résistance) (Mc mahon et al., 2007).

Une autre hypothèse posée par différents auteurs suggérant une relation entre la résistance aux antibiotiques et l'utilisation des désinfectants, qui reposerait soit sur des mécanismes de résistance communs entre les molécules (Russell, 2002), soit sur la co-sélection de gènes de résistance aux antibiotiques lors de la pression de sélection exercée par les désinfectants (Sidhu et al., 2002). Cette hypothèse a été renforcée par un avis de l'EFSA (2010) qui conclue que l'utilisation de biocides (y compris les désinfectants, les antiseptiques et les agents conservateurs) peut également jouer un rôle dans ce phénomène de résistance aux antimicrobiens.

Cependant, les résultats d'une étude réalisée par Peyrat (2008) indiquent que les procédures de nettoyage et de désinfection, ainsi que les procédés d'abattage dans les abattoirs de volailles ne semblent pas avoir d'influence sur les niveaux de résistance de *C. jejuni* et *C. coli*.

Au cours de notre étude, la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* thermotolérants a révélé l'existence de souches sensibles et d'autres résistantes aux différents antibiotiques testés, les taux de résistance observés variaient de 0 à 100%.

De manière générale, nous retrouvons chez *Campylobacter* un lipooligosaccharide de surface (LOS) et une capsule, ce qui rend la bactérie hydrophile. Ceci réduit la diffusion des antibiotiques hydrophobes à travers la membrane bactérienne (Jeon et al., 2009). Les porines du pathogène sont également non permissives à certains antibiotiques, notamment ceux de la classe des  $\beta$ -lactamines (Tajada et al., 1996).

Un autre mécanisme pour protéger *Campylobacter* de l'action des antibiotiques est la modification de la cible de ces antibiotiques, ce qui inhibe leur liaison et du même coup leur action. Finalement, la bactérie peut aussi inactiver l'antibiotique avant qu'il n'atteigne sa cible grâce à des enzymes (Jeon et al., 2010).

Au cours de notre étude, aucun des isolats s'est montré résistant à la **gentamicine**, cela renforce les résultats obtenus en Algérie par Messad (2014), qui a aussi constaté un taux de résistance de 0%, cela serait dû à la non utilisation de cet antibiotique dans le traitement dans les élevages avicoles, car cet antibiotique a été suspendu de l'homologation en Algérie depuis l'année 2006 (OMS, 2008).

Une autre explication raisonnable de cette constatation est le fait que la gentamicine est rarement utilisée à des fins thérapeutiques en raison de sa voie d'administration intramusculaire ou sous-cutanée, ce qui est impraticable dans l'industrie avicole (Rodrigo et al., 2007). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés en France par Mourand et al (2018), au Grenade par Hariharan et al (2009) et au Danemark par Andrsen et al (2006). Cependant, Guessoum (2011) en Algérie a rapporté un taux de résistance à la gentamicine de 47,54%, cela peut être consécutif à l'utilisation de cet antibiotique de façon frauduleuse par les vétérinaires ainsi que par les éleveurs.

D'autre part, des taux de résistance faible ont été enregistrés par plusieurs auteurs : 1,3% (Wieczorek et al., 2020), 1,8% (Wangroongsarb et al., 2021) et 5.4% (Rodrigo et al., (2007).

L'étude de Wangroongsarb et al (2021) a démontré la première détection des souches de *Campylobacter* résistant à la gentamicine chez des poulets de chair en Thaïlande. L'auteur et ses collaborateurs ont constaté que tous les isolats résistants à la gentamicine ont été classés comme des souches multirésistantes (MDR) avec une résistance aux 5 classes d'antimicrobiens testées, suggérant que la résistance peut se produire par altération des systèmes cellulaires, tels que la pompe d'efflux, qui élimine activement un large éventail de médicaments.

Les aminoglycosides y compris la gentamicine sont des antibiotiques bactéricides qui se lient au ribosome et qui inhibent la synthèse des protéines. Cette classe d'antibiotique cause des erreurs de traduction ou de translocation (Aarestrup, 2006). Chez *Campylobacter*, la résistance aux aminoglycosides est possible grâce à la présence d'enzyme inactivant l'antibiotique. Ces enzymes viennent modifier le domaine actif de l'antibiotique, ce qui l'empêche de se lier à sa cible. Pour les aminoglycosides, il existe trois modes d'inactivation possible de l'antibiotique : l'acétylation, la phosphorylation et la nucléotidation

De multiples enzymes modifiant les aminoglycosides, notamment les aminoglycosides phosphotransférases de types I, III, IV et VII, les aminoglycosides adényltransférases et les 6-aminoglycosides adényltransférases, ont été décrites chez *Campylobacter* (Zhang et Plummer, 2008). Chaque enzyme ayant ses propres sites de modification et substrats caractéristiques (Engberg et al., 2006). Cependant, ces enzymes agissent via un mécanisme similaire : la production d'une 30-O-aminoglycoside phosphotransférase (Aarestrup et al., 2001). Cette protéine est l'enzyme la plus courante chez *C. jejuni* et *C. coli* (Tenover et al., 1992). Les gènes codant pour ces enzymes sont aussi retrouvés chez des bactéries Gram positives et chez quelques *Enterobacteriaceae*. Ceci pourrait indiquer que *Campylobacter* aurait pu les acquérir par transfert horizontal de gènes par le biais des bactéries Gram positives (Aarestrup et Engberg, 2001).

Nous avons constaté que le taux de résistance à l'**érythromycine** était de 83.3%, un taux de résistance très élevé, et surtout inquiétant pour la santé public, car l'érythromycine est considéré

comme l'antibiotique de choix dans le traitement des infections à *Campylobacter* (Engberg et al., 2001). Par contre en France, Mourand et ses collaborateurs (2018) ainsi que Bertholom (2020) ont signalé qu'aucune souche de *Campylobacter jejuni* n'est trouvée résistante à l'érythromycine.

Plusieurs études ont rapporté des taux de résistance à l'érythromycine largement inférieur au nôtre surtout dans les pays industrialisés ; 0,8% (Andersen et al., 2006), 3,1% (Hariharan et al., 2009), 11,6% (Salihu et al., 2012). Dans l'union européenne, le taux de résistance à l'érythromycine est varié de 0 à 8% : Lettonie (0%) et la Belgique (8%) (EFSA, 2010).

En revanche plusieurs études ont rapporté un taux de résistance à l'érythromycine de 100 % (Gharbi et al., 2009 ; Karikari et al., 2017).

En Algérie, plusieurs études menées ont rapporté des taux de résistance à l'érythromycine variable, celui de Guessoum (2016) (88.5%) corrobore avec notre taux, alors que celui de Messad (2014) (21.8%) est largement inférieur au nôtre. Messad (2014) a attribué le taux relativement faible au fait que l'érythromycine n'a pas été utilisée dans tous les élevages testés au cours de leur étude, sous prétexte que c'est l'un des antibiotiques les plus onéreux.

Les mécanismes de résistance aux macrolides chez les *Campylobacter* décrits à ce jour sont de deux types : des mutations ponctuelles de la cible (l'ARN 23S) et des systèmes d'efflux. Aucune résistance par modification enzymatique de ces antibiotiques n'a été rapportée (Corcoran et al., 2006), les mutations conduisent à une mutation de haut niveau et concernent les positions 2074 et 2075 de l'ARNr 23S. Plus rarement, des mutations affectant les protéines structurales L4 et L22 du ribosome ont aussi été décrites mais dans ce cas le niveau de résistance est plus faible (Corcoran et al., 2006).

Un second type de résistance a été rapporté et concerne les mécanismes d'efflux dont la pompe Cme ABC, le rôle de ce type de résistance a été mis en évidence par l'utilisation d'un inhibiteur d'efflux : phénylalanine - arginine  $\beta$  - naphthylamide, qui peut augmenter de manière significative la susceptibilité de la souche de référence NCTC 11168 à l'érythromycine (Mamelli et al., 2003).

La résistance aux macrolides chez *Campylobacter* a jusqu'à peu été associée uniquement à des mutations chromosomiques dans les gènes cibles (ARNr 23S ou protéines L4 ou L22) ainsi que des systèmes d'efflux. Malheureusement des publications chinoises (Qin et al., 2014 ; Wang et al., 2014) ont récemment rapporté l'émergence, chez *Campylobacter*, du gène erm(B) déjà connu chez différentes espèces bactériennes à Gram positif et codant pour une ARNr-méthylase.

Chez les souches chinoises de *Campylobacter* analysées, le gène erm(B) est situé soit sur un îlot génomique comportant d'autres gènes de résistance, soit sur un plasmide transférable. La résistance est transférable par transformation naturelle, et le gène confère le plus souvent une

résistance de haut niveau aux macrolides. En Chine, le gène a été détecté dans des souches de *C. coli* ou plus rarement de *C. jejuni*, d'origine animale (poulets) ou cliniques humaines.

Liu et ses collaborateurs ont montré que la prévalence des souches de *Campylobacter* hébergeant erm(B) avait fortement augmenté dans certaines régions en Chine (Liu et al., 2017). Ces souches sont également résistantes aux différentes familles d'antibiotiques testées (macrolides, fluoroquinolones, aminosides, tétracyclines), ce qui risque de compromettre les éventuels traitements antibiotiques en cas d'infection humaine. En Europe, à l'heure actuelle le gène erm(B) n'a été détecté que sur trois souches de *C. coli* d'origine animale (poulet et dindes) en Espagne (Florez-Cuadrado et al., 2017).

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

En réalité, la plupart des éleveurs et les vétérinaires gérant les bâtiments avicoles visités au cours de notre étude utilisent les macrolides surtout la tylosine de façon abusive pour contrôler les affections respiratoires, ce qui entraîne sans doute des résistances croisées à l'érythromycine. De plus, Lin et al (2007) ont montré que l'utilisation d'érythromycine à faible dose sur une longue période sélectionne des souches résistantes de *Campylobacter*.

Au cours de la présente étude, le taux de résistance à la **ciprofloxacine** a été estimé à 46,7 %. Ceci est en accord avec les résultats de Lutful-Kabir et al (2014) au Bangladesh (45,4%) et Goualie (2012) en Côte d'Ivoire (43.2%), mais inférieur aux taux de 99.2%, 88.1% et 100% rapportés respectivement en Tunisie, en Chine et en Lettonie (Gharbi et al., 2009 ; Han et al., 2016 ; Kovalenko et al., 2014).

Par contre, plusieurs études ont rapporté des taux de résistance à la ciprofloxacine largement inférieur au nôtre, comme celle de Bester (2008) dans l'Afrique du Sud (8.9%) et celle de Hariharan et al (2009) au Grenade (12%).

En Algérie, des taux de résistance très élevés (83,7%) et (91.6%) ont également été signalé par Messad et al (2014) et Guessoum et al (2016) respectivement. Ces taux de résistance très élevés de *Campylobacter* peuvent être attribués à l'utilisation généralisée des fluoroquinolones dans la prévention et le contrôle des maladies des volailles.

En fait, les pays qui ont interdit l'emploi de ces antibiotiques chez les animaux d'élevage (Australie) ou qui les utilisent avec parcimonie (suède) présentent de très faible niveau de résistance aux fluoroquinolones (Messad, 2014). A l'opposé, dans les pays où la fréquence d'utilisation de ces antibiotiques en aviculture est beaucoup plus élevée (Espagne, Chine et États-Unis), nous observons

une résistance très élevée de *Campylobacter* sur des isolements d'origine humaine et animale (Wieczorek et Osek, 2013).

Selon Mourand (2020), les taux de résistance à la ciprofloxacine diffèrent parfois très fortement entre les pays : par exemple, les proportions de souches de poulets résistantes à la ciprofloxacine varient de 8,4% en Finlande à plus de 90% en Hongrie, Lituanie, Pologne et Portugal.

La résistance aux quinolones a fortement augmenté depuis la fin des années 1980 en Asie, en Europe et en Amérique latine et depuis 1995, aux États-Unis, cette résistance apparemment liée à l'introduction de ces antibiotiques dans la pratique vétérinaire (principalement en aviculture) (Luangtongkum et al., 2009). En fait, les mutants *Campylobacter* résistants à la ciprofloxacine émergent au moment où les *Campylobacter* sont exposés aux fluoroquinolones, ainsi démontré in vivo et in vitro par HAN et al (2008).

Chez *Campylobacter*, différents mécanismes peuvent être responsables de la résistance aux fluoroquinolones, Le premier est une mutation ponctuelle au niveau du gène GyrA. Ceci a pour résultat de rendre l'enzyme gyrase insensible à l'action de l'antibiotique (Zhang et al., 2003). Cette mutation a lieu dans l'ADN aux positions Thr-86, Asp-90 et Ala-70 qui se retrouvent dans la région déterminante de résistance aux quinolones (aussi appelée QRDR).

La mutation dans Thr-86- est quant à elle associée à de hauts niveaux de résistance aux fluoroquinolones chez des isolats cliniques de *Campylobacter* (Zhang et al., 2003), alors que, les mutations dans les régions Asp-90 et Thr-86 sont quant à elles associées à des niveaux intermédiaires de résistance (Zhang et al., 2003).

Le second mécanisme de résistance aux fluoroquinolones chez *Campylobacter* est une pompe à efflux récemment caractérisée, soit CmeABC (Lin et al., 2002). Les gènes codant pour cette pompe à efflux, respectivement cmeA, cmeB et cmeC, sont situés sur le chromosome de *Campylobacter* et codent respectivement pour une protéine de fusion membranaire (CmeA), la pompe à efflux elle-même (CmeB) et une protéine canal dans la membrane externe (CmeC) (Lin et al., 2002).

La pompe fonctionnerait de façon énergie-dépendante et contribuerait à la résistance intrinsèque de la bactérie aux fluoroquinolones et aux sels biliaires en pompant les composés à l'extérieur de la cellule (Zhang et al., 2003).

Le dernier mécanisme de résistance aux antibiotiques connu chez *Campylobacter* est une porine codée par le gène porA qui est une protéine majeure de la membrane externe PorA est une protéine-canal de 45 kilo-daltons appartenant à la famille des porines trimériques. Chez *Campylobacter*, PorA serait impliquée principalement dans les phénotypes de résistance intrinsèque aux fluoroquinolones (Pumbwe et al., 2004).

Plusieurs études ont démontré le développement rapide de mutants résistants aux fluoroquinolones chez des poulets initialement infectés par des *Campylobacter* sensibles aux fluoroquinolones, mais traités avec l'enrofloxacin. En effet, le traitement des poulets infectés par *Campylobacter* n'éradique pas le germe mais convertit la population de *Campylobacter* initialement sensible aux fluoroquinolones en population résistante et les germes résistants apparaissent aussitôt après 24h du début de traitement (Mc Dermott et al., 2002 ; Luo et al., 2003).

Aux États-Unis, la consommation de viande de volaille a été identifiée comme facteur de risque pour l'infection de l'Homme par des espèces fluoroquinolone-résistantes de *Campylobacter* (Dromigny, 2007).

Des études menées en France, rapportées par l'AFSSA (2004) ont noté que les *Campylobacter* isolés à partir de volailles dans les années 1990, début de l'utilisation des fluoroquinolones en médecine vétérinaire, étaient majoritairement sensibles aux fluoroquinolones. Plus tard, en 2000, les souches de *Campylobacter* présentaient 38% de résistance à la ciprofloxacine (développement de résistances acquises).

Au cours de notre expérimentation, le taux de résistance noté à la **tétracycline** était notable soit 66.2%, cette constatation est cohérente avec d'autres études réalisées dans les autres pays tels que l'Afrique du Sud, la France et le Canada (Reddy et al., 2017 ; Bertholom, 2020 ; Guévremont et al., 2006). Cependant, des taux supérieurs au nôtre ont toutefois été rapportés par plusieurs auteurs : 79,4% (Han et al., 2016), 83.8% (Messad et al., 2014), et 78.6% (Adiguzel et al., 2018).

D'autre part, nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés au Grenade par Hariharan et al (2009) 50% et en Algérie par Guessoum et al (2016) (44.7%).

Gharbi et al (2018) en Tunisie ont constaté que toutes les souches de *Campylobacter* isolées étaient résistantes à la tétracycline.

Quatre principaux mécanismes sont associés à la résistance à la tétracycline, soit les pompes à efflux, une modification de l'antibiotique lui-même, la protection du site de liaison au ribosome spécifique à la tétracycline de même que des mutations dans l'ARNr 16S (Salyers et al., 2002).

Toutefois, il semble que *Campylobacter* présente plutôt une résistance causée par un plasmide auto-transférable. Les gènes codant pour cette résistance ont été décrits comme des gènes de protection du ribosome, et sont nommés tet(O) (Avrain et al., 2004) . La protéine codée par ce gène agit par ailleurs comme un facteur d'élongation et inhibe la synthèse protéique en entraînant le relargage de l'antibiotique de son site de liaison sur le ribosome et ce, d'une façon GTP dépendante (Connell et al., 2003).

Tet(O) fait en outre partie d'un groupe de protéines appelées les protéines de protection ribosomales (RPPs), ils font aussi partie les protéines Tet(M), (S), (Q), (W), et (T). Ces protéines

partagent des homologies de séquence avec les protéines de liaison au ribosome impliquées dans la synthèse protéique (Connell et al., 2003).

Chez *Campylobacter*, le gène tet(O) est très répandu, et a aussi été découvert chez les bactéries positives à la coloration de Gram comme les entérocoques et les streptocoques, ce qui suggère qu'il puisse y tirer son origine (Connell et al., 2003).

Guévremont et ces collaborateurs (2006), ont montré que le gène tet O est présent chez toutes les souches résistantes aux tétracyclines.

Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés au Koweït en 2009, avec un taux de résistance des souches de *C jejuni* à la tétracycline de 40%. Cette résistance a été liée à la présence du gène tet O pour 88% des souches, et pour les 12% des souches restantes, la résistance était due au transfert de plasmide de bactéries résistantes aux tétracyclines à d'autres bactéries sensibles par conjugaison (Albert et al., 2009).

Tambur et al. (2010) ont lié la résistance aux tétracyclines à leur utilisation abusive et incontrôlée en pratique vétérinaire dans un but curatif ou même prophylactique. Au cours de notre étude, nous avons noté que tous les élevages échantillonnés étaient constamment traités par la tétracycline.

FROST (1991), a rapporté que la résistance aux tétracyclines n'est pas due seulement à leur utilisation abusive en pratique vétérinaire mais aussi à leur utilisation comme promoteur de croissance dans l'industrie avicole.

Nos constatations concernant les niveaux très élevés de résistance à l'érythromycine et à la tétracycline sont très préoccupants et doivent être soulignés étant donné que ces deux antibiotiques sont considérés comme des agents thérapeutiques de première et de deuxième intention dans le traitement de la campylobactériose humaine, et que les souches résistantes aux antimicrobiens peuvent facilement être transmises à l'Homme par la chaîne alimentaire, augmentant potentiellement le fardeau de la campylobactériose.

Bien que la résistance au **chloramphénicol** soit très rare chez *Campylobacter* et malgré la prohibition de leur utilisation en Algérie depuis l'année 2006, nous avons constaté un taux de résistance de 52,6%, un taux largement supérieur à ceux annoncés en Algérie par Guessoum et al (2016) et en Iran par Zendeabad et al (2015), qui ont constaté des taux de résistance de 10.4% et 5.3% respectivement. Cela peut être imputable à l'utilisation de cet antibiotique de façon frauduleuse par les vétérinaires.

Plusieurs études ont rapporté des taux de résistance au chloramphénicol largement supérieurs au nôtre, comme celle de Gharbi et al (2018) en Tunisie (88.6%), et celle de Tang et al (2009) en Malaisie (84%). Par contre, d'autres auteurs ont montré qu'aucun des isolats de *Campylobacter*

s'est montré résistant au chloramphénicol (Hariharan et al., 2009 ; Messad, 2014 ; Guévremont et al., 2006 ; Ge et al., 2003).

La résistance au chloramphénicol est principalement due à la production d'enzymes ajoutant un groupement acétyl à la molécule initiale, inactivant ainsi le composé (Murray et al., 2003). Ces enzymes portent le nom de chloramphénicol-acétyl-transférases (ou CAI), et sont souvent codés par un plasmide. Toutefois, cette résistance n'est que très peu répandue au niveau du genre *Campylobacter* (Murray et al., 2003).

La résistance à l'**ampicilline** observée chez les isolats de *Campylobacter* de la présente étude est de 100%. Ces résultats sont identiques au ceux mentionnés par Bardou et al (2011) ainsi que Fernández (2001).

En Algérie, des taux relativement élevés (75% et 82,25%) ont été rapportés par Messad (2014) et Guessoum et al (2016) respectivement. Par contre, Mouffok et Lebrès (1992) ont rapportés des taux de résistance de 0% vis-à-vis l'ampicilline, ce qui reflète une augmentation accrue de la résistance à cet antibiotique au fil des vingt dernières années.

Zendeabad et al (2015) en Iran, et Hariharan et al (2009) au Grenade ont enregistré des taux relativement faibles 7 % et 9.4 % respectivement.

Szygalski et al (2010), ont rapporté au Brésil, un taux de résistance nul de 0% à l'ampicilline, à l'association amoxicilline/acide clavulanique et au chloramphénicol.

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

La majorité des souches de *C. jejuni* et *C. coli* sont résistantes aux  $\beta$ -lactamines, de façon plus spécifique aux pénicillines. Le phénotype de résistance à cette classe d'antibiotique est habituellement dû à la présence de  $\beta$  - lactamases qui ont comme effet de cliver l'anneau  $\beta$  -lactame de l'antibiotique (Aarestrup et Engberg, 2001).

Un autre mécanisme de résistance régulièrement observé est l'absence de protéines de liaison à la pénicilline, ou une incapacité de l'antibiotique à pénétrer à l'intérieur de la cellule bactérienne (Aarestrup et Engberg, 2001).

L'ampicilline n'a par ailleurs pas été administrée aux oiseaux ayant été échantillonnés au cours de la présente étude. Il est donc impossible d'établir une association que ce soit entre son utilisation à la ferme et la présence de résistance.

La résistance à l'action associée **amoxicilline/acide clavulanique**, antibiotique très rarement utilisé en élevage aviaire, était surprenant, soit 100%, un taux cohérent avec celui annoncé par Noor

mohamed et Fakhr (2014) à Oklahoma. En revanche, des taux inférieurs étaient auparavant obtenus en Algérie, variant de 27% à 47% (Al Amir et al., 2013 ; Messad, 2014).

Globalement, nos résultats sont différents de ceux rapportés en Algérie par Mouffok et Lebres (1992), Messad (2014) et Guessoum et al (2016), dont les souches isolées à partir des fientes, des contenus caecaux et des peaux du cou de poulet de chair dans les wilayas d'Alger, Boumerdès et Bouira, présentaient des taux de résistance très significativement différents au nôtre, notamment aux antibiotiques suivants : l'ampicilline, amoxicilline/acide clavulanique et le chloramphénicol.

La différence notée par rapport à ces études, s'expliquerait par les différences en matière de prescription de traitements entre les vétérinaires, la méthodologie adoptée, ainsi les dates et lieux de réalisation de ces expérimentations.

Nos résultats globaux sont significativement supérieurs à ceux rapportés par l'EFSA en 2015, avec des moyennes de résistance de l'espèce *Campylobacter jejuni* de l'ordre de 4% à l'érythromycine, 41,4 à la tétracycline, et 52,3% à l'acide nalidixique. L'Islande s'avère le pays dans lequel aucune résistance n'a été enregistrée mis à part la tétracycline avec un taux de résistance relativement bas de l'ordre de 6,3% (EFSA, 2015).

Gharbi et ces collaborateurs (2018) ont rapporté dans une étude menée en Tunisie, que les souches de *Campylobacter* isolées présentaient des résistances très élevées à presque tous les antibiotiques testés : 100% à l'érythromycine et à la tétracycline, 99.2% à la ciprofloxacine, et 88.6% au chloramphénicol. De même, En Malaisie (2009), Tang et al ont mentionné des taux de résistances alarmants et supérieurs aux nôtres, ainsi un taux de résistance de 86% a été enregistré à l'ampicilline, 82% à la ciprofloxacine, 92% à la tétracycline et 99% à l'érythromycine. Des résistances ont été notées même à la gentamicine (35%), et au chloramphénicol (84%).

Ces taux très élevés seraient dus à l'utilisation massive de ces antibiotiques comme des médicaments de première ligne dans les élevages de poulets de chair pour combattre les infections bactériennes, ainsi que pour des buts prophylactiques et comme des promoteurs de croissance.

Par contre, Abraham et al (1990) ont rapporté dans une étude menée au Ghana, que les souches de *C. jejuni* isolées étaient sensibles à presque tous les antibiotiques testés (ampicilline, érythromycine, gentamicine et chloramphénicol), et seulement 8,3% des souches étaient résistantes à l'acide nalidixique. Ces résultats sont différents par rapport à la plupart des autres études publiées, selon ces auteurs, cette différence est probablement due aux variations géographiques et/ou les techniques d'investigations utilisées.

Tous les auteurs s'accordent pour dire que l'utilisation intensive des antibiotiques en élevage de poulet constitue le facteur principal dans la sélection de souches résistantes aux antibiotiques, c'est dans ce sens que Perez-boto et al (2013) mènent une étude sur des lots de poulet dont le traitement

antibiotique a été contrôlé durant toute la période d'élevage. En effet, les souches de *C. jejuni* et *C. coli* s'avèrent résistantes aux quinolones et à la tétracycline, elles étaient cependant, toutes sensibles à l'association amoxicilline/acide clavulanique ainsi qu'au chloramphénicol et à la gentamicine. Les taux de résistance sont plus élevés chez l'espèce *C. coli*, cette étude montre que même en absence de pression exercée par les antibiotiques, la résistance est présente, mais selon les auteurs les taux enregistrés restent plus bas que ceux rencontrés lors d'études similaires dans le pays (Espagne) mais en absence de contrôle d'administration d'antibiotiques.

Le taux de résistance élevé à l'acide nalidixique, observé au cours de notre expérimentation ainsi que dans d'autres études, confirment l'avis des auteurs qui pensent que le critère de la sensibilité à cet antibiotique ne doit plus être utilisé comme test de confirmation de présence de *Campylobacter* thermotolérants (augmentation des taux de résistance acquises à cet antibiotique pour toutes les espèces *Campylobacter* thermotolérants).

Enfin et d'une manière générale, Vandeplass et al (2008) pensent que les variations des taux de résistance aux antibiotiques entre les différents pays reflètent différents protocoles d'utilisation des antibiotiques en traitement et en prévention en médecine vétérinaire.

### VIII.2. Taux de résistance aux antibiotiques en fonction de la nature des prélèvements

La comparaison des résultats de l'antibiogramme pour les souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des fientes, des contenus caecaux et des peaux a de cou a montré qu'il n'y avait aucune différence significative entre les pourcentages de résistance des isolats issus des trois types de prélèvements. Cette constatation nous laisse supposer que les opérations d'abattage ne seraient pas intervenues dans la sélection de souches de *Campylobacter* thermotolérants résistantes aux antibiotiques, tel que décrit par Peyrat (2008).

### VIII.3. Étude du profil de résistance des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées

De plus en plus, des études portent sur la résistance aux antibiotiques chez *Campylobacter*. Il est possible de constater par ces études l'importance de la résistance aux antibiotiques, et ce à l'échelle mondiale. Par ailleurs, comme certaines de ces résistances touchent des antibiotiques utilisés pour le traitement de gastro-entérites chez l'humain, des problèmes de santé publique importants pourraient être engendrés dans les années à venir.

Chez le poulet de chair, pas moins de 11 antibiotiques différents sont associés à des résistances chez *Campylobacter* (Picra, 2003). Les résistances à ces composés varient en importance, la tétracycline, l'érythromycine, l'acide nalidixique, l'ampicilline et amoxicilline/acide clavulanique étant les antibiotiques touchés par les plus hauts taux de résistance.

Le phénomène de résistance à plus d'un antibiotique est lui aussi présent, certaines souches pouvant être résistantes à 6 antibiotiques à la fois.

Par définition, les souches de *Campylobacter* thermotolérants résistants à trois classes d'antibiotiques ou plus ont été définis comme des souches multi résistants (MDR) (ISO, 2006).

L'étude des profils de résistance des souches isolées au cours de la présente étude, a montré qu'aucune souche de *Campylobacter* thermotolérants ne s'est révélée sensible à tous les antibiotiques testés. De plus, toutes les souches testées étaient résistantes à au moins deux antibiotiques (l'ampicilline et amoxicilline/acide clavulanique), et 610 isolats étaient résistants à au moins trois antibiotiques, ce qui signifie que 99.7% des souches isolées étaient multi résistantes, ces résultats sont comparables à ceux montrés par d'autres études réalisées en chine (93.7%), en Thaïlande (97 %) et en Nigeria (82.1 %) (Han et al., 2016 ; Mansouri-najand et al., 2012 ; Salihu et al 2012).

Gharbi et al (2016) en Tunisie et Karikari et al (2016) en Ghana, ont signalé que toutes les souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées au cours de leurs études sont multirésistantes. Par contre, au cours de leurs expérimentations, Mourand et al (2018) ainsi que Varga et al (2019) n'ayant pas trouvé aucune souche résistante à plus de deux familles d'antibiotiques.

Au cours de la présente étude, nous avons noté 16 profils de résistance différents. Le plus commun a été constaté 127 fois, et incluait les Cinq antibiotiques suivants : amoxicilline/acide clavulanique, l'ampicilline, amoxicilline/acide clavulanique, l'érythromycine, la tétracycline et le chloramphénicol. La pression de sélection engendrée par l'utilisation de différents antibiotiques dans les élevages de poulet 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.

Nous avons observé que 230 souches (37,6%) de *Campylobacter* thermotolérants isolées présentaient une résistance associée à la ciprofloxacine et à l'érythromycine. Ces souches présentent ainsi des profils critiques et très alarmant, du fait que ces deux antibiotiques constituent le traitement de choix des infections à *Campylobacter* chez l'Homme (Engberg et al., 2001 ; Luangtongkum et al., 2009). Cela a été confirmé par Hakanen et al (2003) qui ont rapporté que des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez l'Homme présentaient également des multirésistances intéressant à la ciprofloxacine et l'érythromycine.

Les bactéries zoonotiques résistantes aux antimicrobiens constituent une source d'inquiétude car elles pourraient compromettre le traitement efficace des maladies chez les humains. En effet, l'autorité européenne de sécurité des aliments, a publié le 27 avril 2010 un rapport qui indique que le phénomène de résistance aux antimicrobiens se produit chez les bactéries zoonotiques les plus

communes provenant des animaux et des aliments en UE, principalement *Campylobacter* (EFSA, 2010).

Messad (2014) au cours de son étude a essayé de travailler sur cinq lots, en faisant des échantillons de fientes dans l'élevage, puis suivi le même lot pour faire des échantillons de peaux du cou. Ensuite, la combinaison des profils de résistance des souches isolées des fientes et des peaux du cou appartenant au même lot pour les cinq lots étudiés, a révélé l'existence de quelques profils de résistance communs entre les souches isolées des fientes et celles des peaux du cou, et d'autres profils différents. Les souches présentant des profils de résistance différents étaient majoritaires. Ces résultats ont conduit Messad à penser à plusieurs modalités de contaminations des carcasses par les *Campylobacter* thermotolérants, d'une part par les bactéries présentes sur les volailles vivantes, ayant pour origine l'élevage et contaminant les carcasses lors de l'éviscération principalement, et d'autre part les bactéries apportées par l'intermédiaire de l'air, de l'eau, du matériel, des biofilms présents sur les surfaces et du personnel.

En conclusion, nous pensons que les hauts niveaux de résistances observés au cours de notre étude, reflètent principalement la situation anarchique qui prévaut depuis des décennies dans les circuits de distribution des médicaments vétérinaires (tétracyclines, macrolides et quinolones), particulièrement dans la filière avicole.

#### **VIII.4. Sensibilité aux antibiotiques des souches de *C. thermotolérants* isolées chez l'Homme**

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

En Algérie, la résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique.

En effet ces dernières décennies, nous avons constaté une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques en particulier chez les bacilles à Gram négatif y compris les *Campylobacter*.

Comme toutes les bactéries, les *Campylobacter* thermotolérants sont sujettes à des résistances aux antibiotiques. Si elles ne sont pas comparables aux bactéries hautement résistantes émergentes comme les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes, les *Campylobacter* peuvent exprimer de nombreuses résistances, naturelles ou acquises.

L'étude de la sensibilité des *Campylobacter* aux antibiotiques testés permet de dégager plusieurs points :

1) Un niveau de résistance relativement élevé vis-à-vis les bêta-lactamines, et l'érythromycine, une efficacité maximale de la gentamicine et du chloramphénicol.

2) La comparaison de la résistance à la ciprofloxacine des souches humaines et des souches isolées de volailles montre un niveau de résistance équivalent, et surtout préoccupant dans la mesure où les fluoroquinolones sont avec les macrolides des antibiotiques pouvant être prescrits dans les infections digestives à *Campylobacter*.

Au cours de la présente étude, aucun des isolats ne s'est montré résistant au chloramphénicol et à la gentamicine. Cette constatation est cohérente avec d'autres études réalisées dans les autres pays tels que l'Égypte, le Canada et la Suède (Abd El-Baky et al., 2004 ; Guévremont et al., 2006 ; Ronner et al., 2004). Cela peut être dû au fait que ces antibiotiques sont moins fréquemment prescrits dans le traitement des cas de diarrhée.

La résistance à la **gentamicine** est un phénomène nouveau chez les isolats de *Campylobacter* (Shin et al., 2013). L'émergence de cette résistance a été rapportée par plusieurs auteurs et avec des taux qui se diffèrent parfois très fortement entre les pays : par exemple, les proportions de souches humaines résistantes à la gentamicine varient de 0.25% en France (Bertholom, 2015) à plus de 28,8 % en Chine (Shin et al., 2013).

En effet, la résistance aux aminosides est rare (y compris la gentamicine), elle est comme nous l'avons déjà dit de nature plasmidique. L'enzyme inactivatrice des aminosides est généralement un aminoglycoside phosphotransférase 3' de type III (Gibreel et Taylor, 2004).

Nous avons constaté que le taux de résistance à l'**érythromycine** était de 5.5%, un taux de résistance relativement faible, signifiant que cet antibiotique présente encore une efficacité contre la campylobactériose humaine. Notre constatation était en accord avec les résultats de Wagner et al (2003) en Allemagne (4,2%) et Duarte et al (2014) au Portugal (5.1%).

Plusieurs auteurs ont signalé qu'aucune souche de *Campylobacter* n'est trouvée résistante à l'érythromycine (Yamada et al., 2019 ; Ronner et al., 2004).

Selon Bertholom (2015), en France, la résistance acquise aux macrolides est stable depuis les années 90 et est < 5 % pour toutes les espèces confondues.

Par contre, Hassanain et al (2011) en Égypte et Shobo et al (2016) en Afrique du Sud ont constaté des taux de résistance à l'érythromycine de 50% et 38.9 % respectivement, témoignant que le taux de résistance à l'érythromycine ne cesse d'augmenter dans les pays en voie de développement, atteignant des niveaux très alarmants étant donné que cet antibiotique est considéré comme le médicament de choix pour traiter la plupart des patients infectés par *C. jejuni*/ *C. coli*.

Selon Lehours (2005), La résistance croisée entre macrolides est de 3,7 %. Elle est plus élevée chez *C. coli* que chez *C. jejuni*. Cette différence s'explique par le fait que *C. coli* est une espèce

essentiellement rencontrée chez les porcins qui recevaient dans le passé un macrolide, la tylosine comme facteur de croissance, ayant pu exercer une pression de sélection. Le mécanisme de la résistance est majoritairement comme nous l'avons déjà dit dû à des mutations (ponctuelles) au niveau du gène codant pour l'ARNr 23S. Ces mutations entraînent une diminution de l'affinité du ribosome pour les macrolides.

Au cours de la présente étude, le taux de résistance à la **ciprofloxacine** a été estimé à 41,7 %. Ceci est en accord avec les résultats de Wagner et al (2014) en Allemagne (45,1%) ainsi que Yamada et ces collaborateurs (2019) au Japon (41.9%). En revanche, notre taux est largement inférieur aux taux de 77.4%, 91.1% et 100% rapportés respectivement au Pérou, au Portugal et au chine (Schiaffino et al., 2019 ; Duarte et al.2014 ; Zhang et al., 2010).

En Algérie, des taux de résistance très élevés (60%) et (88%) ont également été signalé par Laced et Slimani (2018) et Bensarsa et al (2016) respectivement. ces taux de résistance très élevés enregistré en Algérie sont très probablement corrélés à l'utilisation des fluoroquinolones dans les élevages notamment de volailles. Cette hypothèse est étayée par la très faible fréquence (2%) d'isolats cliniques de *C. jejuni* résistants à la ciprofloxacine observée en Australie, où l'utilisation de fluoroquinolones chez les animaux destinés à la consommation est interdite (Unicomb et al., 2006).

Selon Guévremont (2004), aux États-Unis, lors d'une étude basée sur l'analyse de 474 isolats de *Campylobacter* d'origine humaine pendant la période de 1982-1992, aucune résistance aux quinolones parmi les *Campylobacter* n'a été détectée. Une autre étude menée au Minnesota a démontré que la résistance était passée de 1.3% en 1992 à 10.2% en 1998 (Jacobs-Reitsma, 2000). La cause probable de cette augmentation pourrait être les voyages à l'étranger puisque 75% de patients avaient voyagé avant d'être malades (Guévremont, 2004).

En effet, la plupart des pays européens ont maintenant banni l'usage de quinolones en production animale comme facteur de croissance, mais ce sont les prochaines années qui permettront d'analyser si cette action a eu un effet positif sur la diminution ou la stabilisation des niveaux de résistance aux quinolones à l'instar à ce qui s'est passé en Australie.

À la lumière de ce que nous avons dit, le statut de la ciprofloxacine comme médicament de premier choix dans le traitement de la gastro-entérite aiguë dans les cas où l'identité de l'agent causal n'a pas été établie est discutable. L'érythromycine devrait être le premier choix pour le traitement des patients avec des infections causées par *C. jejuni* de sensibilité inconnue.

Paradoxalement, des taux de résistance faible à l'ordre de 11% et 5% ont toutefois été constaté dans plusieurs pays africains comme le Mozambique et l'Ouganda (Mandomando et al 2007 ; Mshan et al 2009).

En fin et comme nous l'avons déjà dit, la résistance à la ciprofloxacine est principalement due à une mutation dans le gène *gyrA* ainsi qu'à d'autres mécanismes tels que des mutations dans le gène *gyrB* ou *parC* ou l'implication de pompes à efflux. En effet, la fréquence d'émergence de mutants résistants aux fluoroquinolones évaluée en milieu de culture est élevée (environ  $10^{-6}$  à  $10^{-8}$ / cellule/génération) et est augmentée en cas de surexpression de la pompe d'efflux CmeABC (Luangtongkum et al., 2009). Contrairement aux entérobactéries chez qui un haut niveau de résistance aux fluoroquinolones nécessite l'accumulation de mutations ponctuelles dans la DNA gyrase (*gyrA*) et la topoisomérase IV (*parC*), chez *Campylobacter*, où le gène *parC* est absent, une mutation unique dans *gyrA* (Thr-86-Ile) suffit à conférer d'une résistance de haut niveau aux fluoroquinolones (Luangtongkum et al., 2009).

Les tétracyclines grâce à leur activité bactériostatique et sa bonne diffusion, à la fois tissulaire et intracellulaire peuvent être utilisées pour le traitement d'infections entériques à *Campylobacter* en cas de résistance à d'autres antibiotiques (Bertholom, 2015).

Au cours de la présente étude, le taux de résistance noté à la tétracycline était notable soit 50%, cette constatation est cohérente avec d'autres études réalisées dans les autres pays tels que la France, la Grèce et le Canada (Bertholom, 2015 ; Papavasileiou et al., 2007 ; Gibreel et al., 2004).

Cependant, des taux supérieurs au nôtre ont toutefois été rapportés par plusieurs auteurs : 84% (Zhang et al., 2010), 87.3% (Pan et al., 2016), et 93.3% (Karikari et al., 2017).

Laceb et Slimani (2018) en Algérie ainsi que Du et al (2018) en Chine ont constaté que toutes les souches humaines de *Campylobacter* isolées étaient résistantes à la tétracycline.

La progression continue de la résistance aux tétracyclines qui pourrait être liée en partie à l'augmentation du recours à cette classe d'antibiotique dans les élevages notamment les volailles. De plus, l'automédication et la prise des antibiotiques s'ajoutent aux facteurs potentiels incriminés dans l'augmentation des taux de résistance aux antibiotiques y compris les tétracyclines.

Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés en Australie ; 5,1% (Devi et al., 2019) et en Burkina Faso ; 10.3% (Sangaré et al., 2012).

La résistance bactérienne acquise aux tétracyclines est le plus souvent d'origine plasmidique, toutefois, les gènes codant pour cette résistance ont été décrits comme des gènes de protection du ribosome, et sont nommés tet(O) (Avrain et al., 2004).

Wardak et ces collaborateurs (2007) en Pologne ainsi que Zhao et al (2016) aux États-Unis ont montré que le gène tet(O) est présent chez toutes les souches humaines de *Campylobacter* résistantes aux tétracyclines.

La résistance à l'**ampicilline** observée chez les isolats de *Campylobacter* de la présente étude est de 66.7%, ce qui est cohérent avec ceux rapportés en Algérie (68%) par Bensersa et al (2016).

Le taux de résistance à l'ampicilline varie énormément entre les pays : 1.9% en Chine, 4% en Grèce et 80% en Algérie (Shin et al., 2013 ; de Papavasileiou et al., 2007 ; Lacey et Slimani, 2018).

En effet, les  $\beta$ -lactamines constituent la classe d'antibiotique la plus utilisée dans le monde, représentant plus de 50% du marché total mondial des antibiotiques (Fabre, 2016). L'émergence de résistances a beaucoup compromis l'efficacité clinique de ces médicaments, ainsi les mécanismes de résistance acquis les plus fréquents incluent la production de  $\beta$ -lactamases, l'expression de nouvelles protéines de liaison aux pénicillines (PLPs), la mutation des porines et la production de pompes d'efflux (Fabre, 2016).

La production de  $\beta$ -lactamases de type OXA-61 est associée à la résistance aux pénicillines A chez *Campylobacter* (Griggs et al., 2009). Elle est portée par le chromosome bactérien et confère une résistance à l'ampicilline et à l'amoxicilline mais reste sensible aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases comme l'acide clavulanique. La présence du gène bla<sub>OXA-61</sub> ne suffit pas à elle seule pour expliquer la résistance. En effet, environ 50% des souches sensibles à l'ampicilline (AmpS) possèdent ce gène (Griggs et al., 2009).

Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés en Australie en 2019, par Devi et al (2019), qui ont constaté un taux de résistance à l'ampicilline de 15.4%. Cette résistance a été liée à la présence du gène bla<sub>OXA-61</sub> pour 98% des souches (Devi et al., 2019).

L'ampicilline est par ailleurs rarement utilisée pour le traitement des campylobactérioses. Il est donc très difficile d'établir une explication raisonnable pour le taux de résistance relativement élevé enregistré au cours de notre étude.

De manière surprenante, la résistance à l'action associée amoxicilline/acide clavulanique était 58.3%, un taux cohérent avec celui annoncé par Duarte et al (2014) au Portugal (57%), montrant que la résistance à amoxicilline /acide clavulanique après son émergence est sans cesse grandissante arrivant à des taux alarmants, impliquant un mécanisme de résistance alternatif, autre que la production de  $\beta$ -lactamases (Schiaffino et al., 2019).

À travers des revues consultées, la fréquence de résistance à l'action associée amoxicilline /acide clavulanique était faible (4%) (Papavasileiou et al., 2007) ou carrément nulle (Wardak et al., 2007).

Par conséquent, plusieurs auteurs ont proposé cette association comme traitement de choix des gastro-entérites associées à *Campylobacter* lorsque les isolats ne sont pas sensibles aux fluoroquinolones et aux macrolides (Schiaffino et al., 2019 ; Fabre, 2016).

---

## Conclusion générale et perspectives

---

### Conclusion générale et perspectives

On l'aura bien compris, parler de zoonose implique à la fois une lutte intéressante aussi bien l'Homme que l'animal. Bien comprendre une zoonose implique souvent de connaître à la fois le réservoir de l'agent en cause, les différents hôtes que l'on peut rencontrer mais surtout les modes de transmission. Connaître les caractéristiques et la structure de l'agent en cause des zoonoses contribuent également au fait de pouvoir mettre en œuvre une stratégie de lutte.

Si les *Campylobacters* s'avèrent être peu pathogène dans l'espèce animale, il n'en est pas de même avec l'espèce humaine où *Campylobacter* induit un grand nombre de syndromes divers.

Même si l'on ne sait pas réellement encore pourquoi *Campylobacter* n'affecte que si peu l'animal, *Campylobacter* est responsable de la majeure partie des diarrhées d'origine bactérienne chez l'Homme bien devant les *Salmonelles*.

L'objectif de la présente étude était d'apporter - d'une part- notre contribution quant à l'estimation de la contamination de nos élevages et abattoirs de poulets de chair par les *Campylobacter* thermotolérants, ceci par l'évaluation de leur prévalence, la distribution des souches isolées par espèces ainsi que l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques, et l'établissement des profils de résistance qui en découle. D'autre part, nous avons essayé d'estimer la fréquence d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants chez des malades présentant des problèmes digestifs, et d'étudier l'effet de certains facteurs tels que le sexe, l'âge et la saison.

De plus, nous avons essayé de donner une teinture bactériologique au sujet, d'une part, par la comparaison entre deux méthodes d'isolement de *Campylobacter* thermotolérants (la filtration passive et l'isolement direct en utilisant le milieu sélectif de Karmali), et d'autre part, par la comparaison entre deux milieux sélectifs, en matière de récupération des *Campylobacter* thermotolérants, l'un à base de charbon (Karmali) et l'autre à base de sang (Preston).

La partie animale de l'étude, nous a permis d'évaluer une prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants chez le poulet de chair de l'ordre de 63.7%, soit un taux de contamination de 65% ,55% et 70% dans les fientes, les peaux du cou et les cæca respectivement. Les taux de contamination étaient élevés dans les trois matrices étudiées, le taux de contamination des peaux de cou en fin de chaîne d'abattage témoignant de la survie des *Campylobacter* dans les abattoirs, et ce quel que soit le type et la nature des opérations d'abattage dans tous les lots testés. Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par Messad (2014), Cependant ils restent nettement supérieurs à ceux rapportés par Laidouci et al (2013).

Au niveau des élevages, le taux de contamination relativement élevé (65%) présente des variations saisonnières avec un pic estival de 100%. En revanche, la taille du troupeau, l'âge des sujets ainsi que la technique du prélèvement ne semblent pas avoir un effet sur le taux de contamination.

## Conclusion générale et perspectives

---

Les résultats que nous avons obtenu montrent que les *Campylobacter* thermotolérants sont bien présents dans nos élevages de poulet de chair, survivent dans les abattoirs et sur les carcasses, et arriveront certainement au consommateur.

À la différence des autres pathogènes alimentaires, les *Campylobacter* sont incapables de croître en présence d'air, de se multiplier en dehors de leurs hôtes et ils sont très sensibles aux conditions environnementales (PARK, 2002). Malgré ces contraintes, les *Campylobacter* survivent de la volaille jusqu'à l'assiette du consommateur.

L'étude des profils de résistance des souches animales isolées au cours de la présente étude, révèle qu'aucune souche de *Campylobacter* thermotolérants ne s'est révélée sensible à tous les antibiotiques testés. De plus, toutes les souches testées étaient résistantes à au moins deux antibiotiques (l'ampicilline et amoxicilline/acide clavulanique), et 99.7% des souches isolées présentaient des multirésistances.

Les résistances enregistrées au cours de notre étude, ainsi que celles rapportées par Mesaad (2013) en Algérie, reflètent une situation alarmante vis-à-vis du phénomène d'antibiorésistance, témoignant le plus souvent, d'une utilisation anarchique et incontrôlée des antibiotiques en élevage avicole à des doses sub-thérapeutiques généralement, l'érythromycine et les quinolones en particulier.

La partie humaine de l'étude nous a permis de constater une fréquence d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants de 15% chez des malades présentant un contexte épidémiologique assez évocateur d'une campylobactériose.

À l'instar de la campylobactériose aviaire, la campylobactériose humaine présente une recrudescence saisonnière avec un pic durant la saison chaude estivo- automnale.

Ce phénomène de saisonnalité semble non seulement être présent aussi bien chez la population humaine que chez la population aviaire mais aussi avec une concordance, comme la mentionner Patrick et al (2004).

D'autre part, le taux d'isolement était plus élevé chez les enfants âgés de moins de 5 ans, et la prévalence de la campylobactériose semble diminuer avec l'âge.

Le sexe a aussi été démontré comme étant un facteur de risque, selon l'AFSSA (2003), et la plupart des auteurs, le Sex-ratio des malades indique que l'infection est plus fréquente chez l'Homme que chez la femme, sans qu'une raison précise n'ait pu être invoquée. Cependant au cours de la présente étude, nous avons trouvé que la prévalence des infections à *Campylobacter* n'était pas influencée par le sexe du patient, ce qui est corroboré avec les résultats de Bhadra et al (1992).

Des résistances acquises aux antibiotiques se sont développées, sauf à la gentamicine et le chloramphénicol. Si la résistance à l'érythromycine, antibiotique de choix utilisé dans le traitement

## Conclusion générale et perspectives

---

des infections intestinales à *Campylobacter*, est restée faible (5.5%), il est important de surveiller la résistance à la ciprofloxacine qui est en augmentation (41.7%). La cause de cette augmentation est controversée et peut être la conséquence soit de l'utilisation de fluoroquinolones en médecine humaine, soit de l'introduction d'une fluoroquinolone (enrofloxacin) en médecine vétérinaire surtout dans la filière avicole.

Les souches isolées chez l'Homme mériteraient d'être comparées à celles isolées chez le poulet de chair sur le plan génétique pour essayer de déterminer l'origine de ces souches, et les mécanismes de transmission des résistances.

Suite à l'évaluation du rendement des différentes techniques du prélèvement, nous avons constaté que la technique de prélèvement n'a pas une grande influence sur le taux d'isolement chez les volailles. Alors que, chez les êtres humains, il semble que l'écouvillonnage rectal donne un taux d'isolement plus élevé que celui obtenu à partir des selles diarrhéiques, étant donné que l'écouvillonnage permet le raclage de la muqueuse rectale où se trouvent les *Campylobacter*.

D'autre part, nous avons trouvé que le milieu de Karmali (à base de charbon) et Preston (à base de sang) présentaient des taux de récupération et de sélectivité similaires.

De façon similaire, au cours de la comparaison entre les deux techniques d'isolement (celle de la filtration passive et celle d'isolement direct en utilisant le milieu sélectif de Karmali), nos résultats montrent que la différence entre les deux était statistiquement non significative. Cependant, nous préconisons l'utilisation de techniques de la filtration passive, parce qu'elle ne nécessite pas des antibiotiques spécifiques, ce qui la rend sur le plan économique moins chère, et sur le plan bactériologique apte à isoler des espèces plus sensibles aux antibiotiques et qui semblent être associées à la diarrhée (*C. upsaliensis*).

La caractérisation phénotypique des isolats de *Campylobacter* aussi bien chez l'Homme que chez la volaille a montré que le *C. jejuni* est de loin l'espèce la plus fréquemment rencontrée suivi par *C. coli*. Alors que, les autres espèces sont rarement isolées.

L'analyse bactériologique alimentaire faisant appel aux méthodes microbiologiques classiques, conventionnelles ou de référence, nécessite, en règle générale, plusieurs étapes comprenant : l'échantillonnage, la préparation de l'échantillon, l'enrichissement, l'isolement et le dénombrement et, enfin, la confirmation des microorganismes pouvant être responsables des contaminations, quel qu'en soit l'origine, des denrées alimentaires. Ces méthodes bactériologiques, sont fastidieuses, et nécessitent un certain temps d'analyses pouvant aller de 3 jours à une semaine.

Aussi, l'intérêt de développer et d'adopter des méthodes faisant appel à la biologie moléculaire s'avère-t-il de plus en plus judicieux pour le diagnostic étiologique des maladies infectieuses.

## Conclusion générale et perspectives

---

En effet, bon nombre de sociétés spécialisées mettent sur le marché des dispositifs de diagnostic, par biologie moléculaire, offrant la possibilité d'identifier et, parfois, de quantifier les agents biologiques contaminants, directement dans l'aliment suspect en seulement quelques heures.

Dans le futur, l'élargissement du plan d'échantillonnage qui pourra être étendu à d'autres régions du pays, ainsi que d'autres études avec un plus grand nombre de souches incluant celles d'origine humaine, sur une longue période du temps, pourront fournir plus de données sur l'épidémiologie des *Campylobacter* en Algérie. Mais cela n'aurait pu voir le jour sans l'installation des réseaux de surveillance des infections à *Campylobacter* à l'échelle nationale.

les résultats obtenus doivent être affinés, par d'autres études qui visent à identifier les modalités de contamination des carcasses dans les abattoirs en effectuant des prélèvements de carcasses à différents points de la chaîne d'abattage, des prélèvements de l'eau des bacs d'échaudage et sur le matériel et les équipements.

De même, l'utilisation des antibiotiques comme des promoteurs de croissances dans la filière aviaire devrait être limitée ou carrément supprimée afin d'éviter la sélection des souches résistantes.

### Recommandations

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

Les recommandations visent à réduire la prévalence des *Campylobacter* à tous les niveaux et aussi essayer de réduire les taux d'antibiorésistance qui représentent un vrai fléau.

#### **1. Réduire la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants**

##### **1.1. Prévenir l'introduction et la dissémination de *Campylobacter* au niveau des élevages :**

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

- Choisir une bonne implantation des bâtiments d'élevage par rapport au voisinage (éviter les bruits) et les garnissent par des clôtures de protection.
- Éviter la présence d'autres animaux sur l'élevage.
- Équiper les bâtiments par de sas sanitaires comprenant une partie extérieure et une partie intérieure, avec vestiaires, lavabo ou douche.
- Utiliser des locaux, équipements et circuits accessibles au nettoyage et à la désinfection.
- Mettre en place des programmes efficaces de lutte contre les nuisibles (mouches, poux, ténébrions, rongeurs, insectes, oiseaux sauvages, etc.).
- Vérifier et maîtriser la qualité de la litière et de l'ambiance
- Obliger les opérateurs et les visiteurs professionnels à utiliser les sas sanitaires, où le lavage des mains et le changement de tenue sont systématiques.
- la qualité de l'eau de boisson doit être contrôlée par analyses de laboratoire. Si besoin, des systèmes de traitement de l'eau peuvent être mis en place.
- Entre deux bandes de poulets de chair, les mesures de nettoyage et de désinfection doivent être appliquées, et la durée du vide sanitaire doit être respectée.

##### **1.2. Mesure de contrôle pendant le transport à l'abattoir**

###### **➤ Mise à jeun des animaux**

La mise à jeun des oiseaux 8 à 12 heures avant le transport diminue le contenu intestinal. Cette mesure permet de réduire la contamination extérieure du plumage par des *Campylobacter* pendant le transport. Cependant, la mise à jeun et le transport sont des stress pour les volailles qui peuvent entraîner une augmentation de l'excrétion fécale en *Campylobacter*.

###### **➤ Nettoyage et désinfection des caisses de transport**

## Recommandations

---

En théorie, les caisses utilisées pour transporter les volailles sont nettoyées et désinfectées à chaque utilisation. Mais en raison de difficulté pour nettoyer les caisses, les produits désinfectants ne sont pas appliqués sur des surfaces propres et des études ont montré que le nettoyage et la désinfection des caisses de transport n'avaient que peu ou pas d'effet sur la présence de *Campylobacter* dans ces caisses (Newell, 2001 ; Hansson, et al. 2005).

### 1.3. Mesures de contrôle dans les abattoirs

En présence d'un risque de contamination par les *Campylobacter* aussi élevé, il est difficile de prévenir les contaminations croisées ou de diminuer l'importance de la contamination sur le produit final des lots infectés. Plusieurs approches sont envisageables

#### - 1.3.a. Prévention de la contamination croisée :

- Respect d'une hygiène maximum pendant l'abattage particulièrement au moment de l'éviscération ;
- Utilisation d'une température d'échaudage élevée (> 53°C) ;
- Comme les *Campylobacter* sont très sensibles à la dessiccation. Le ressuage à l'air libre (statique ou dynamique) entraîne une diminution significative de la contamination de la surface des carcasses par les *Campylobacter* ;
- Respect de la marche en avant ;
- Nettoyage et désinfection des locaux et du matériel quotidiennement dans les abattoirs de volailles, en fin de journée de travail.
- Diminution de la cadence d'abattage

- 1.3.b. Décontamination des carcasses (chimique ou physique) : la décontamination de la viande de volaille est plus difficile que pour les autres espèces animales de rente à cause de la peau qui est en général conservée sur le produit final. L'irradiation représente la méthode de choix mais elle reste une méthode onéreuse et difficilement acceptée par les consommateurs.

#### - 1.3.c. Application du système HACCP qui reste la meilleure solution.

### 1.4. Mesures de contrôle dans les cuisines

Ces mesures sont recommandées autant pour des cuisines domestiques que pour les cuisines collectives ;

- Dans le réfrigérateur, éviter le contact entre la volaille crue et les autres aliments en les séparant et en couvrant la volaille d'un film alimentaire.
- Se laver les mains systématiquement à l'eau chaude savonneuse avant la préparation des repas et après chaque manipulation de la volaille crue.

## Recommandations

---

- Veiller à ce que les aliments soient suffisamment cuits et encore chauds au moment où ils sont servis.
- Éviter le lait cru et les produits à base de lait cru. Ne boire que du lait pasteurisé ou bouilli.
- Éviter la glace à moins qu'elle n'ait été préparée à partir d'une eau sans risque sanitaire.
- Lorsque la sécurité sanitaire d'une eau de boisson est sujette à caution, il faut la faire bouillir ou si cette opération est impossible, la désinfecter avec un agent désinfectant fiable à libération lente.
- Laver avec soin les fruits et légumes, en particulier s'ils sont destinés à être consommés crus. Dans la mesure du possible, les fruits et légumes doivent être pelés.

### **2. Lutte contre le phénomène d'antibiorésistance et amélioration de la réglementation :**

La résistance aux antibiotiques de *Campylobacter* constitue une menace réelle pour la santé humaine. Il faut minimiser l'apparition et le transfert aux humains de bactéries résistantes par l'intermédiaire de la chaîne alimentaire :

- Sensibiliser les éleveurs et les vétérinaires aux risques d'utilisation anarchique des antibiotiques tant pour la santé animale que publique.
- Rédaction de guides de bonnes pratiques d'antibiothérapie en élevage.
- Minimiser voire interdire l'utilisation des quinolones et les macrolides dans élevages avicoles.
- Application stricte de la décision ministérielle N°472 du 12/2006, interdisant toute utilisation des antibiotiques comme promoteurs de croissance.
- Effectuer systématiquement la recherche des *Campylobacter* thermotolérants dans les coprocultures avec l'antibiogramme dans tous les laboratoires et hôpitaux.
- Mettre en place des réseaux de surveillance des infections à *Campylobacter* répartis à l'échelle nationale.
- Utilisation des alternatives aux antibiotiques à l'instar, les acides organiques, les probiotiques, les prébiotiques et les symbiotiques.

---

# Références bibliographiques

---

Références bibliographiques

- Aarestrup F M and Engberg J., 2001:** Antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter* Vet Res. (32): 311-321.
- Abd El-Baky RM., Sakhy M. and Gad F, 2014:** Antibiotic susceptibility pattern and genotyping of *Campylobacter* species isolated from children suffering from gastroenteritis. Indian.J.Med. Microbiol., 32(3): 240-246.
- Abraham A., Agbodaze D., Nakano T., Afari A., Longmatey K., 1990:** Prevalence and antibiogram of *Campylobacter jejuni* in domestic animals in rural Ghana. Arch Environmental Health; 45 (1): 59-62.
- Abushahba M.F., (2018):** Prevalence of zoonotic species of *Campylobacter* in broiler chicken and humans in Assiut governorate. Approaches Poult. Dairy. Vet. Sci., 3(4): 260-268.
- Adak K., Meakins M., Yip H., Lopman A., O'brien J., 2005:** Disease risks from foods, England and Wales, 1996-2000. Emerg Infect Dis; 11, 365-72.
- Adekunle C., Coker A.O., Kolawole O., 2009:** Antibiotic susceptibility pattern of strains of *Campylobacter coli* isolated in Osogbo, Nigeria. Biol. Med, 1: 20–23.
- Adiguzel C., Sigirci D., Celik B., Kahraman B., Ikiz, S., Bagcigil F., Seyyal K and Ozgur Y., 2018:** Phenotypic and genotypic examination of antimicrobial resistance in thermophilic *Campylobacter* species isolated from poultry in Turkey. J. Vet. Res., 62(4): 463-468.
- AFNOR, 2004 ; ISO 10272. 1995 :** Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Campylobacter* thermo tolérants ; 15 pages.
- AFSSA., 2003 :** Appréciation des risques alimentaires liés aux *Campylobacter*. Application au couple poulet /*Campylobacter jejuni*. Agence française de sécurité sanitaire des aliments. 1-96. Disponible à <http://www.afssa.fr/Ftp/afssa/>
- Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), 2004 :** Rapport technique : Appréciation des risques alimentaires liés aux campylobacters : Application au couple poulet/*Campylobacter jejuni*. Maisons-Alfort, 96 pages.
- Akitoye C., Isokpehi D., Thomas N., Amisu O and Obi L., 2002:** Human campylobacteriosis in developing countries. Emerg. Infect. Dis 8: 237–243.
- Al Amir H., 2008 :** Rapport d'Activité 2008 de l'institut Pasteur d'Algérie. Page : 108.
- Al Amir H., MouffokF et Hellal H., 2010 :** Recherche de *Campylobacter* dans les selles et étude de sa résistance aux antibiotiques. Société Algérienne de Biologie Clinique (2ème Congrès). Palais de la Culture Moufdi Zakaria, Pages : 45- 46.
- Al Amri A., Senok A.C., Ismaeel Y., Al-Mahmeed E., Botta A., 2007 :** Multiplex PCR for direct identification of *Campylobacter* spp. in human and chicken stools. J.Med.Microbiol 56: 1350–1355.

- Albert J., Berneesh U., Haridas J., Rotimi O., 2009:** Tetracycline Resistance Is Frequent Among *Campylobacter jejuni* Isolates from Kuwait, *Microb. Drug. Resist.*, 15 (2): 115-20.
- Albert MJ., Tee W., Leach A., Asche V and Penner JL., 1992:** Comparison of a blood-free medium and a filtration technique for the isolation of *Campylobacter* spp. From diarrhoeal stools of hospitalised patients in central Australia. *J. Med. Microbiol.* (37): 176-179.
- Alderton MR., Korolik V., Dewhirst FE and Paster BJ., 1995:** *Campylobacter hyoilei* sp. nov., associated with porcine proliferative enteritis. *Int. J. Syst. Bacteriol* 45 (1): 61-6.
- Allen M., Bull A., Corry L., Domingue G., Jørgensen F., Frost J., Gonzalez N., Humphrey J., 2007:** *Campylobacter* spp. contamination of chicken carcasses during processing in relation to flock colonization. *International Journal of Food Microbiology* 113: 54-61.
- Allos BM., 1997:** Association between *Campylobacter* infection and Guillain-Barré Syndrome. *The Journal of Infectious Diseases* 176 (2): 125-128.
- Allos BM., 2001:** *Campylobacter jejuni* Infections: update on emerging issues and trends. *Clin. Infect. Dis.*, 32(8):1201-1206
- Allos M and Blaser M., 1995:** *Campylobacter jejuni* and the expanding spectrum of related infections. *Clin. Infect. Dis.*, 20(5): 1092-1099.
- Altekruse SF., Stern NJ., Field PI and Swerdlow DL., 1999:** *Campylobacter jejuni*, an emerging foodborn pathogen. *Emerging Infectious Diseases* 5(1): 28-35.
- Andersen S R., Saadbye P., shukri N M., Rosenquist H., Nielsen N L and Boel J., 2006:** Antimicrobial resistance among *Campylobacter jejuni* isolated from raw poultry meat at retail level in Denmark. *International Journal of Food Microbiology*.(107):250-255.
- Ansari-Lari M., Hosseinzadeh S., Shekarforoush S., Abdollahi M., Berizi E., (2011):** Prevalence and risk factors associated with *campylobacter* infections in broiler flocks in Shiraz, southern Iran. *Int J.Food.Microbiol.*, 144 (3): 475-479.
- Ashkenazi S., Danziger Y., Varsano Y., Peilan J., Mimouni M., 1987:** Treatment of *Campylobacter* gastroenteritis. *Archives of Disease in Childhood* ; 62: 84-85.
- Aspinall ST., Wareing DRA and Hutchinson DN., 1993:** Selective medium for thermophilic *Campylobacters* including *Campylobacterupsaliensis*. *J. Clin. Pathol.*, 46, 829–831.
- Avrain I., Humbert F, L'Hospitalier R., Sanders P., Vernozy-Rozand C., Kempfa I., 2003:** Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers: association with production type and antimicrobial use. *Veterinary Microbiology*. (96) 267–276.
- Avrain L., Vernozy-Rozand C and Kempf I., 2004:** Evidence for natural horizontal transfer of tet O gene between *C. jejuni* strains in chickens. *J Appi Microbiol* 97:134-140.

- Awadallah I., Ahmed A., El-Gedawy A., Saad M., 2014:** Molecular identification of *C. jejuni* and *C. coli* in chicken and humans, at Zagazig, Egypt, with reference to the survival of *C. jejuni* in chicken meat at refrigeration and freezing temperatures. *Int. Food Res. J.*, 21: 1801–1812.
- Bacon J., Alm A., Burr H., Kopecko J., Ewing P., Trust J., Guerry P., 2000:** Involvement of a plasmid in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176.” *Infect.Immun.* 68: 4384 - 4390.
- Bacon D., Szymanski CM., Burr DH., Silver RP., Alm RA and Guerry p., 2001:** A phase-variable capsule is involved in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Molecular Microbiology* 40(3):769-777.
- Baillon ML., Van Vliet AHM., Ketley JM., Constantinidou C and Penn CW., 1999:** An iron-regulated alkyl hydroperoxide reductase (AhpC) confers aerotolerance and oxidative stress resistance to the microaerophilic pathogen *Campylobacter jejuni*. *Journal of Bacteriology.* 181(16): 4798- 4804.
- Bang DD., Nielsen EM., Knudsen K and Madsen M., 2003:** A one-year study of *Campylobacter* carriage by individual Danish broiler chickens as the basis for selection of *Campylobacter* spp. strains for a chicken infection model. *Epidemiology and Infection.* (130): 323-333.
- Bardon J., Kolár M., Karpísková R and Hricová K., 2011:** Prevalence of thermotolerant *Campylobacter* spp. in broilers at retail in the Czech Republic and their antibiotic resistance. *Food Control.* (22): 328-332.
- Bare J., Uyttendaele M., Habib I., Houf K., De Zutter L., 2013:** Variation in *Campylobacter* distribution on different sites of broiler carcasses. *Food Control*, 32: 279-282.
- Barrios PR., Reiersen J., Lowman R., Bisailon JR., Michel P., Fridriksdottir V., Gunnarsson E., Stern N., Berke O., Mcewen S and Martin W., 2006:** Risk factors for *Campylobacter* spp colonization in broiler flocks in Iceland. *Preventive Veterinary Medicine.* (74): 264-278.
- Bauwens L and De Meurichy W., 1981:** The occurrence of thermophilic *Campylobacter* in zoo animals. *Acta Zoologica et Pathologica Antverpiensia*(76) : 181-189.
- Begue P., Broussin B., Carros I., Vu thien H., 1989 :** Pathologie intestinale à *Campylobacter*. *med.mal.infect*, 19 (supp) : 48-54.
- Benjamin J, Leaper S, Owen RJ, Skirrow MB.,1984:** Description of *Campylobacter laridis*, a new species comprising the nalidixic acid resistant thermophilic *Campylobacter* (NARTC) group. *Curr. Microbiol.*, 8: 231-238.
- Berndtson E., Emanuelson U and Danielsson-Tham., 1996:** A1-year epidemiological study of *Campylobacters* in 18 Swedish chickens farms. *Preve. Veterinary Medicine* (26): 167-185.
- Berrang ME., Bailey S., Altekruse F., Patel B., Shaw K., Meinersman R and Fedorka-Cray J 2007:** Prevalence and numbers of *Campylobacter* on broiler carcasses collected at rehang and postchill in 20 US processing plants. *Journal of Food Protection* 70 (7): 1556-1560.

- Berrang ME and Dickens JA., 2000;** Presence and level of *Campylobacter* spp on broilere carcasses throughout the processing plant, Journal of applied Poultry Research.(9): 43-47.
- Berrang ME., Smith P., Windham R., Feldner W., (2004):** Effect of intestinal content contamination on broiler carcass *Campylobacter* counts. J Food Prot., 67(2): 235-238.
- Bertakis D., Azari R., Helms J., Callahan J., Robbins A., 2000:** Gender differences in the utilization of health care services, J. Fam. Pract, ;49 (2): 147-52.
- Bertholom F, 2015 :** Infections à *Campylobacter* : actualités diagnostiques et résistance aux antibiotiques, OptionBio, Synthèse-Formation, 523 : 13- 15.
- Bertholom F, 2020 :** Évolution de l'antibiorésistance de *Campylobacter*, OptionBio, Synthèse-Formation, 613 : 18-19
- Bester A and Essack Y., 2008:** Prevalence of antibiotic resistance in *Campylobacter* isolates from commercial poultry suppliers in KwaZulu-Natal, South Africa. J. Antimicrob. Chemother., 62: 1298–1300.
- Beumer R R, Noomen A., Marijs J A and Kampelmacher E H., (1985);** Antibacterial action of the lactoperoxidase on *Campylobacter jejuni* in cow's milk.Netherland Milk Dairy Journal. 39(2): 107-114.
- Bhadra K., Dutta P., Bhattacharya K., Dutta K., Pal C., Nair B., 1992:** *Campylobacter* species as a cause of diarrhoea in children in Calcutta. J Infect, 24 (1): 55-62.
- Black RE., Levin MM., Clements ML., Hugues TP and Blaser MJ., 1988:** Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans, Journal of infectious Diseases, 157 (3):164-167.
- Blaser M J., 1997:** Epidemiologic and Clinical Features of *Campylobacter jejuni* Infections. The Journal of Infectious Diseases .176 (2):103-105.
- Bloomfield SF., Stewart GSAB., Dodd CER., Booth IR and Power EG., 1998:** The viable but non culturable phenomenon explained. Microbiology; (144):1-3.
- Bolla JM and Garnotel E., 2008 :** les infections à *Campylobacter*. Revue francophone des laboratoires N 400 :27-35.
- Bolton FJ., 2001:** Methods for isolation of *Campylobacters* from humans, animals, food and water. Who Consultation on the increasing incidence of human campylobacteriosis. 87-93.
- Bolton F J., Coates D., Hinchliffe PM et Robertson L., 1983 :** Comparison of selective media for isolation of *Campylobacter jejuni/coli*. Journal of clinical pathology, 36(1):78-83.
- Bolton FJ, Holt AV and Hutchinson DN., 1985:** Urease-positive thermophilic *Campylobacters*. Lancet 1 (8439): 1217-1218.
- Bolton FJ., Hutchinson DN and Coates D., 1984:** Blood-free selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from faeces. Journal of Clinical Microbiology. 19(2), 169–171.
- Bolton FJ, et Robertson L., 1982:** A selective medium for isolating *Campylobacter Jejuni*

- /coli*. Journal of Clinical Pathology, 35(4), 462-467.
- Bolton J., Surman B., Martin K., Wareing R., Humphrey J., 1999: Presence of *Campylobacter* and *Salmonella* in sand from bathing beaches. Epidemiol. Infect, 122: 7-13.
- Bonnefoy C., Guillet F., Leyral G and Bourdais., 2002** : microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Sciences des aliments, Edition Doin, page 182.
- Bouhamed R., 2011** : détection et étude de la sensibilité des souches de *Campylobacter* thermotolérant isolées chez la dinde dans quelques élevages et établissement d'abattage avicoles situées dans la région d'Alger. Thèse de magister : École Nationale Supérieure Vétérinaire, 118 pages.
- Buck GE., Parshall KA and Davis CP., 1983** : Electron microscopy of the coccoid form of *Campylobacter jejuni*. Journal of Clinical Microbiology. 18 (2): 420 - 421.
- Bull SA., Allen VM., Domingue G., Jørgensen F., Frost JA., Ure R., Whyte V., Tinker D., Corry JEL., Gillard-King J and Humphrey T G., 2006**: Sources of *Campylobacter* spp. colonizing housed broiler flocks during rearing. Applied and Envir. Microbiology, 72 (1): 645 - 652.
- Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé., 1980** : Infections intestinales dues à *Campylobacter*, *Yersinia*, *Salmonella* et *Shigella*. 58 (5): 691-711.
- Buswell CM., Herlihy YM., Lawrence LM., McGuiggan JTM., Marsh D., Keeveil CW and Leach SA., 1998**: Extended survival and persistence of *Campylobacter* spp. in water and aquatic biofilms and their detection by immunofluorescent-antibody and -rRNA staining. Applied and Environmental Microbiology. 64 (2): 733-741.
- Butzler JP., 2004**: *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. Clin Microbio Infect (10): 868-876.
- Butzler JP., 2001**: Campylobacteriosis in humans (A historical overview). WHO Consultation on the Increasing Incidence of Human Campylobacteriosis: 38- 41.
- CAC/GL 50-2004** : Directives générales sur l'échantillonnage. Codex Alimentarius. 77 Pages.
- CAC/GL 78-2011** : directives pour la maîtrise de *Campylobacter* et de *Salmonella* dans la Chair de poulet. Codex Alimentarius . 27 pages.
- Calistri P and Giovannini A., 2008**: Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis related to the consumption of chicken meat in two Italian regions. International Journal of Food Microbiology, (128) : 274 –287.
- Caner V., Cokal Y., Cetin C., Sen A and Karagenc N., 2008**: The detection of hip O gene by real-time PCR in thermophilic *Campylobacter* spp. with very weak and negative reaction of hippurate hydrolysis. Antonie Van Leeuwenhoek, 94: 527-32.

- Cantet F., Magras C., Marais A., Federighi M and Mégraud F., 1999:** Helicobacter species colonizing pig stomach: molecular characterization and determination of the prevalence. Applied and Environmental Microbiology. 65(10): 4672- 4676.
- Cardinale E., Tall F., Guèye EF., Cisse M and Salvat G., 2004:** Risk factors for *Campylobacter* spp. infection in Senegalese broiler-chicken flocks. Prev. Veterinary Medicine. (64): 15-25.
- CA-SFM, 2013 :** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Recommandations 2012 ; 62 pages.  
URL : <http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM2013vjuin.pdf>
- Cawthraw SA., Wassenaar TM., Ayling R and Newell DG., 1996:** Increased colonization potential of *Campylobacter jejuni* strain 81116 after passage through chickens and its implication on the rate of transmission within flocks. Epidemiol. Infect., (117) : 213-215.
- Charrat N, 2017 :** diagnostic moléculaire et application en agroalimentaire : caractérisation des souches de *Campylobacter* isolées à partir du poulet de chair au Maroc. Thèse de doctorat. Université Mohammed V, Rabat. 193 pages.
- Chen K., Cheng I., Chen H., and Lai C., 2020:** Efficacy and safety of sitafloxacin in the treatment of acute bacterial infection: meta-analysis of randomized controlled trials. Antibiotics 9: 1-9.
- Chena X., Narena G.W., Wua C.M., Wanga Y., Daia L., Xiaa L.N., Luob P.J., Zhanga Q., Shena J-Z., 2010;** Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates in broilers from China. Vet. Microbiol, 144 (1-2) : 133-39.
- Chereau F., Bessède E., De Valk H., De Valk H., 2019 :** Bilan de la surveillance des infections à *Campylobacter* en France en 2019, Saint-Maurice : Santé Publique France, 7 pages.  
URL:<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/campylobacter/documents/bulletin-national/bilan-de-la-surveillance-des-infections-a-campylobacter-en-france-en-2019>
- ChonW., Hyeon Y., Choi S., Park K., Kim K., Heo S., Oh W., Song Y., Seo K., 2011:** Comparison of three selective media and validation of the VIDAS *Campylobacter* assay for the detection of *Campylobacter jejuni* in ground beef and fresh-cut vegetables J. Food Prot, 74: 456-460.
- Chon,W., Hyeon, Y., Yim H., Kim K., Song Y and Seo, K., 2012:** Improvement of modified charcoal-cefoperazone-deoxycholate Agar by supplementation with a high concentration of polymyxin B for detection of 225 *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in chicken carcass rinses. Appl. Environ. Microbiol, 78: 1624-6.
- Clark G and Bueschgens H., 1986:** Effect of egg storage upon the survival of *Campylobacter jejuni* in laboratory-infected fertile poultry eggs. Avian Dis., 30(1): 76-80,

- Coker AO., 2001:** Incidence, trends and sources of *Campylobacteriosis* in developing countries. WHO Consultation the increasing incidence of human campylobacteriosis: 44-48.
- Coker AO and Adefeso AO, 1994:**The changing patterns of *Campylobacter jejuni/ coli* in Lagos, Nigeria after ten years. *East Afr Med J*; 71:437-40
- Coker AO., Isokpehi RD., Thomas BN., Amisu KO and Obi CL., 2002:** Human *Campylobacteriosis* in Developing Countries. *Emerging Infect. Dis.*, 8 (3): 237-243.
- Connell SR., Trieber CA., Dinos GP., Einfeldt E., Taylor DE and Nierhaus KH., 2003:** Mechanism of Tet(O)-mediated tetracycline resistance. *The European Molecular Biology Organization Journal* 22(4): 945-953.
- Cooper R., Segal H., Lastovica AJ and Elisha BG., 2002:** Genetic basis of quinolone resistance and epidemiology of resistant and susceptible isolates of porcine *Campylobacter coli* strains. *Journal of Applied Microbiology* 93(2): 241-249.
- Corcoran D., Quinn T., Cotter L., Whyte P and Fanning S., 2006:** Antimicrobial resistance profiling and fla-typing of Irish thermophilic *Campylobacter* spp. of human and poultry origin. *Letters in Applied Microbiology*. (43): 560–565.
- Corry J.E and Atabay H.I., 2001:** Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. *Journal of Applied Microbiology* (90): 96-114.
- Corry J.E., Post D.E., Colin P and Laisney M.J., 1995:** Culture media for the isolation of *campylobacters*. *International Journal of Food microbiology*. (26): 43–76.
- Cox Jr and Popken D.A., 2006:** Quantifying potential human health impacts of animal antibiotic use: enrofloxacin and macrolides in chickens. *Risk Anal.*, 26(1): 135-46.
- Debruyne L., On SLW., De Brandt E and Vandamme P., 2009:** Novel *Campylobacter lari*-like bacteria from humans and molluscs: description of *Campylobacter peloridis* sp. nov., *Campylobacter lari* subsp. *concheus* subsp. nov. and *Campylobacter lari* subsp. *lari* subsp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (59): 1126–1132.
- Debruyne L., Broman T., Bergstrom S., Olsen B., On SLW and Vandamme P., 2010:** *Campylobacter subantarcticus* sp. nov., isolated from birds in the sub-Antarctic region. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. (60): 815–819.
- Deming S., Tauxe V., Blake A., Dixon E., Fowler S., Jones S., Lockamy A., Patton M and Sikes O., 1987:** *Campylobacter enteritis* at a university: transmission from eating chicken and from cats. *Am. J. Epidemiol*, 126(3) :526-534.
- Dep MS., Mendz G.L., Trend M.A., Fry B.N and Korolik V., 2001:** Differentiation between *Campylobacter hyoilei* and *Campylobacter coli* using genotypic and phenotypic analyses. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(3): 819-826.

- Devi A., Mahony J., Wilkinson M., Vanniasinkam T., 2019:** Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Campylobacter jejuni* from New South Wales, Australia. J. Glob Antimicrob. Resist., 16: 76-80.
- Diagana M., Khalil M., Preux PM., Dumas M and Jauberteau MO., 2003 :** Polyradiculonevrites et *C. jejuni*: Aspect cliniques et physio-pathologiques. Médecine Tropicale. 63(1): 68-74.
- Doig P., Kinsella N., Guerry P and Trust TJ., 1996:** Characterization of a post-translational modification of *Campylobacter* flagellin: identification of a sero-specific glycosyl moiety. Molecular Microbiology. 19 (2):379-387.
- Doyle MP and Roman DJ., 1982:** Response of *Campylobacter jejuni* to sodium chloride. Applied and environmental microbiology, 43(3): 561-565.
- Dromigny E., 2007 :** *Campylobacter*. Collection Monographies de microbiologie. Lavoisier, Paris, pages 282.
- Du Y., Wang C., Ye Y., Liu Y., Wang A., Li Y., Zhou X., Pan H., Zhang J., Xu X., 2018 :** Molecular Identification of Multidrug-Resistant *Campylobacter* Species From Diarrheal Patients and Poultry Meat in Shanghai, China, Front. Microbiol, 9 :1642.
- Duarte A., Santos A., Manageiro V., Martins, A., Fraqueza, M. J., Caniça, M., 2014:** Human, food and animal *Campylobacter* spp. isolated in Portugal: high genetic diversity and antibiotic resistance rates. Intern. J. Antimicrob. Agents 44: 306-313.
- Eastmond CJ and Reid TMS., 1982:** *Campylobacter enteritis* and erythema nodosum, Br Med J; (285): 1421-1422.
- EFSA., 2010:** Scientific report of EFSA. The Community Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from animals and food in the European Union in 2004-2007. EFSA ; 8 (4) :1309.
- EFSA., 2011:** Scientific report of EFSA. Scientific Opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. EFSA Journal, 9 (4): 2105.
- EFSA., 2014 :** Les zoonoses expliquées par l'EFSA : *Campylobacter*
- EFSA., 2015 :** Scientific report of EFSA AND ECDC. EU Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2013. EFSA Journal 2015; 13(2): 4036.
- El-Gohary H., 1998:** Prospective studies on campylobacteriosis in human and animals in contact. Assuit Vet. Med. J., 38: 192-202.
- Ellis-Iversen J., Jorgensen F., Bulls., Powell L., Cook A J and Humphrey T J., 2009:** Risk factors for *Campylobacter* colonisation during rearing of broiler flocks in Great Britain. Preventive Veterinary Medicine. (89): 178–184.

- Ellström P., Hansson I., Söderström C., Engvall O., Rautelin H., 2014:** A prospective follow-up study on transmission of *Campylobacter* from poultry to abattoir workers. *Foodborne Pathog. Dis.*, 11(9): 684-688.
- Emanowicz M., Meade J., Bolton D., Golden O., Gutierrez M., Byrne W and Whyte P., 2020:** The impact of key processing stages and flock variables on the prevalence and levels of *Campylobacter* on broiler carcasses. *Food Microbiology*, 1-8.
- Engberg J., Aarestrup FM., Taylor DE., Gerner-Smidt P., and Nachamkin I., 2001:** Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerging Infectious Diseases*. 7(1): 24-34.
- Engberg J., Andersen S., Skov R, Aarestrup FM and Gerner-Smidt P., 1999:** Comparison of two agar dilution methods and three agar diffusion methods, including the Etest, for antibiotic susceptibility testing of thermophilic *Campylobacter* species. *Clinical Microbiology and Infection* 5(9): 580-584.
- Engberg J., Keelan M and Taylor E., 2006:** Antimicrobial Resistance in *Campylobacter*. In: Aarestrup F (ed). *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*. Washington, DC: ASM Press, 269- 291.
- Engberg J., Neimann J., Nielsen EM., Aarestrup FM and Fussing V., 2004:** Quinolone resistant *Campylobacter* infections in Denmark: risk factors and clinical consequences. *Emerging Infectious Diseases* 10(6): 1056-1063.
- Euzeby JP., 1998:** New taxons of veterinary interest during 1997. A review. *Revue de Medecine Veterinaire (France)*.
- Euzéby JP., 2002:** Necessary corrections to the Approved Lists of Bacterial Names according to Rule 40d(formerly Rule 46). Request for an opinion. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 52(6), 2321-2322.
- Evans SJ and Sayers A R., 2000:** A longitudinal study of *Campylobacter* infection of broiler flocks in Great Britain. *Preventive Veterinary Medicine*, (46): 209-223.
- Ewnetu D and Mihret A., 2010:** Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* Isolates from Humans and Chickens in Bahir Dar, Ethiopia. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7: 667-670.
- Fabre A., 2016 :** Analyse du génome de *Campylobacter* : une alternative aux antibiogrammes classiques ?, Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Bordeaux, 134 pages
- Fernández H., 2001:** Emergence of antimicrobial resistance in *Campylobacter*: The consequences for incidence, clinical course, epidemiology and control. *WHO Consultation on the Increasing Incidence of Human Campylobacteriosis*; 67-72.

- Figueroa G., Troncoso M., Rivas P., and Toro M. 2009:** Occurrence and enumeration of *Campylobacter* spp. During the processing of Chilean broilers. B.M.C Microbiol., 9(9): 1-6.
- Florent A., 1953 :** Isolement d'un vibrion du sperme de taureau et du vagin de la vache (*Vibrio bubulus*). Comptes- rendus des séances de la Société de Biologie 147 : 2066-2069.
- Florez-Cuadrado D., Ugarte-Ruiz M., Meric G., Quesada A., Porrero M.C., Pascoe B., Saez-Llorente L., Orozco L., Dominguez L., Sheppard K., 2017 :** Genome Comparison of Erythromycin Resistant *Campylobacter* from Turkeys Identifies Hosts and Pathways for Horizontal Spread of erm(B) Genes. Front. Microbiol 8: 22-40.
- Florin I and Antillon F., 1992:** Production of enterotoxin and cytotoxin in *Campylobacter jejuni* strains isolated in Costa Rica. J. Med. Microbiol, (37): 22-29.
- Flynn OJ., Blair IS., McDowell DA., 1994:** Prevalence of *Campylobacter* species on fresh retail chicken wings in Northern Ireland. J. Food. Prot., 57:334-336.
- Foster G., Holmes B., Steigerwalt AG., Lawson PA., ThorneP., Byrer DE., Ross HM., Xerry J., Thompson PM and Collins MD., 2004:** *Campylobacter insulaenigrae* sp. nov., isolated from marine mammals. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54 (6): 2369-2373.
- Fox JG., Chilvers T., Goodwin CS., Taylor NS., Edmonds P., Sly L and Brenner D J., 1989:** *Campylobacter mustelae*, a New Species Resulting from the Elevation of *Campylobacter pylori* subsp. *mustelae* to Species Status. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 39 (3): 301-303.
- Franchin R., Ogliari P and Batista C., 2007:** Frequency of thermophilic *Campylobacter* in broiler chickens during industrial processing in a Southern Brazil slaughterhouse, British Poultry Science, 48 (2): 127-132.
- Frediani W and Stephan R., 2003:** Resistance patterns of *Campylobacter* spp. strains isolated from poultry carcasses in a big Swiss poultry slaughterhouse. J.Food Microbiol, 89 (2-3) : 233-240
- Friedman CR., Hoekstra RM., Samuel M., Marcus R., Bender J., Shiferaw B., Reddy S Ahuja S D., Helfrick DL., Hardnett F., Carter M., BAnderson M and Tauxe RV., 2004:** Risk Factors for Sporadic *Campylobacter* Infection in the United States: A Case-Control Study in FoodNet Sites. Clinical Infectious Diseases, 38(3): 285–296.
- Friedman R., Neimann J., Wegener C., Tauxe V., 2000:** Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. In: NACHAMKIN I., BLASER MJ, editors. *Campylobacter*. 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 121-138.
- Frost A., 1991:** Antibiotics and animal production. Pages 181-194 in World Animal Science. Microbiology of Animals and Animal Products. J. Woolcock, ed. Elsevier, New York, NY

- Fry BN., Korolik V., Brinke TJA., Zalm R., Teunis BJJ., Coloe PJ andvan der Zeijst BAM., 1998:** The lipopolysaccharide biosynthesis locus of *Campylobacter jejuni* 81-116. Microbiology, (144): 2049-2061.
- Garin B., Gouali M., Wouafo M., Perchec M., Ham T., Ravaonindrina N., Urbès F., Gay M., Diawara A., Leclercq A., Rocourt J and Pouillot R., 2012 :** Prevalence, quantification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. On chicken neck-skins at points of slaughter in 5 major cities located on 4 continents. Int. J. Food Microbiol., 157(1) : 102-107.
- Ghafir Y. et Daube G., 2007 ;** Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. Ann. Méd. Vét ; 151 : 79-100.
- Gharbi M., Béjaoui A., BenHamda C., Jouini A., Ghedira K., Zrelli C., Hamrouni S., Aouadhi C., Bessoussa G., Ghram A. and Maaroufi A., (2018) :** Prevalence and antibiotic resistance patterns of *Campylobacter* spp. Isolated from broiler chickens in the North of Tunisia. Biomed. Res. Int., 2018(1): 1-7.
- Ge B., White G., McDermott F., Girard W., Zhao S., Meng J., 2003:** Antimicrobial-resistant *Campylobacter* species from raw meats. Appl. Environ. Microbiol., 69, 3005-3007.
- Genigeorgis C., Hassuneh M and Collins P., 1986:** *Campylobacter jejuni* infection on poultry farms and its effect on poultry, Journal of Food Protection, 49(11): 895-903.
- Gibreel A., Sjögren E., Kaijser B, Wretling B., Sköld O., 1998:** Rapid emergence of high-level resistance to quinolones in *Campylobacter jejuni* associated with mutational changes in gyr A and parC. Antimicrob Agents Chemother. 42(12):3276-3278.
- Gibreel A and Taylor DE., 2006:** Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, (58): 243-255.
- Gibreel A., Tracz M., Nonaka L., Ngo M., Connell .R, Taylor E., 2004:** Incidence of antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* isolated in Alberta, Canada, from 1999 to 2002, with special reference to tet (O)-mediated tetracycline resistance. Antimicrob Agents Chemother., 48(9): 3442-350.
- Gillespie IA., O'Brien SJ., Penman C., Tompkins D., Cowden J and Humphrey TJ., 2008:** Demographic determinants for *Campylobacter* infection in England and Wales: implications for future epidemiological studies. Epidemiol Infect, 136: 1717-25.
- GodschalkPCR., Heikema AP., Gilbert M., Komagamine T., Wim Ang C., Glerum J., Brochu D., LiJ., YukiN., Jacobs BC., Van BelkumA andEndtz H p., 2004:** The crucial role of *Campylobacter jejuni* genes in anti-ganglioside antibody induction in Guillain-Barré syndrome. The Journal of Clinical Investigation, 114(11): 1659–1665.
- Gonzalez I., Grant KA., Richardson PT., Park SF and Collins MD., 1997:** Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using

- a PCR test based on the *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant. *Journal of Clinical Microbiology*, 35 (3): 759-63.
- Goossens H., De Boeck M., Coignau H., Vlaes L., Van Den Borre C and Butzler J P., 1986:** Modified Selective Medium for Isolation of *Campylobacter* spp. from Feces: Comparison with Preston Medium, a Blood-Free Medium, and a Filtration System. *Journal of Clinical Microbiology*, 24(5):840-843.
- Goualie B., Essoh A., Elise Solange N., Natalie G., Lamine Sebastien N., Mireille D., 2012:** Prevalence and Antimicrobial Resistance of Thermophilic *Campylobacter* Isolated from Chicken in Cote d'Ivoire. *Int. J. Microbiol*: 150612.
- Goulhen F., De E., Pages JM and Bolla JM., 2004:** Functional refolding of the *Campylobacter jejuni* MOMP (major outer membrane protein) porin by GroEL from the same species. *Biochem J*, 378 (3): 851 - 856.
- Grant KA and Park SF., 1995:** Molecular characterization of *katA* from *Campylobacter jejuni* and generation of a catalase-deficient mutant of *Campylobacter coli* by interspecific allelic exchange. *Microbiology*, (141): 1369-1376.
- Griggs DJ., Peake L., Johnson MM., Ghori S., Mott A., Piddock LJ., 2009:** Beta-lactamase-mediated beta-lactam resistance in *Campylobacter* species: prevalence of Cj0299 (*bla* OXA-61) and evidence for a novel beta-Lactamase in *C. jejuni*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 53(8): 3357-3364.
- Gruntar I., Biasizzo M., Kusar D., Pate M., Ocepek M., 2015:** *Campylobacter jejuni* contamination of broiler carcasses: population dynamics and genetic profiles at slaughterhouse level. *Food Microbiol.*, 50: 97-101.
- Guerrin MT., Martin W., Reiersen., Berke O., McEwen SA., Bisailon JR and Lowman R., 2007:** A farm-level study of risk factors associated with the colonization of broiler flocks with *Campylobacter* spp. in Iceland, 2001 – 2004. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49 (18): 1-12.
- Guerrant R., Wanke CA., Pennie RA., Lima AA M and O'Brien A D., 1987:** Production of a Unique Cytotoxin by *Campylobacter jejuni*. *Infection and immunity*, 41(1): 88-103.
- Guerry P., Ewing CP., Hickey TE., Prendergast MM and Moran AP., 2000:** Sialylation of Lipooligosaccharide Cores Affects Immunogenicity and Serum Resistance of *Campylobacter jejuni*. *Infection and Immunity*, 68 (12); 6656 - 6662.
- Guessoum M., 2011 :** Étude portage digestif de *Campylobacter* chez les principaux animaux de boucherie, caractères phénotypiques et sensibilité aux antibiotiques des souches isolées. Mémoire de magister en science vétérinaire : Thèse de magister : École Nationale Supérieure Vétérinaire, 101 pages.

- Guessoum M., Guechi Z., Aigoun F., Mahrane S. and Hachemi, A., 2016:** *Campylobacter* in sheep, calves and broiler chickens in the central region of Algeria: Phenotypic and antimicrobial resistance profiles. *Afr. J. Microbiol. Res.*,10(39): 1662-1667.
- Guévremont E., Nadeau É., Sirois M and Quessy S., 2006:** Antimicrobial susceptibilities of thermophilic *Campylobacter* from humans, swine, and chicken broilers. *Can. J. Vet. Res.*, 70(2): 81-86.
- Gun-Munro J., Rennie RP., Thornley JH., Richarson HL., Hodge D and Lynch J., 1987:** Laboratory and Clinical Evaluation of Isolation Media for *Campylobacter jejuni*. *Journal of clinical microbiology*, 25 (12): 2274-2277.
- Gupta A., Nelson JM., Barrett TJ., Tauxe RV., Rossiter SP., Friedman CR., Joyce KW and al., 2004:** Antimicrobial resistance among *Campylobacter* strains, United States, 1997-2001. *Emerging Infectious Diseases*, 10 (6): 1102-1109.
- Habib I., Berkvens D., De Zutter L., Dierick K., Speybroeck N., Geeraerd AH., Uyttendaele M., 2012:** *Campylobacter* contamination in broiler carcasses and correlation with slaughterhouses operational hygiene inspection, *Food Microbiol.*, 29 (1):105-112.
- Hakanen A., Jousimies-Somer H., Siitonen A., Huovinen P., Kotilainen P., 2003:** Fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* isolates in travelers returning to Finland: association of ciprofloxacin resistance to travel destination. *Emerg. Infect. Dis.*, 9(2): 267-70
- Hald B., Skovgård H., Bang DD., Pedersen K., Dybdahl J., Jespersen B and Madsen M., 2004:** Flies and *Campylobacter* infection of broiler flocks. *Emerging Infectious Diseases*, 10 (8): 1490- 1492.
- Hald B., Wedderkopp A and Madsen M., 2000:** Thermophilic *Campylobacter* spp. in Danish broiler production: a cross-sectional survey and a retrospective analysis of risk factors for occurrence in broiler flocks. *Avian Pathology*, (29): 123– 131.
- Han J., Sahin O., Barton W., Zhang Q., 2008:** Key role of Mfd in the development of fluoroquinolones resistance in *Campylobacter jejuni*. *PLoS Pathog* ; 4 (6): 1-12.
- Han X., Zhu D., Lai H., Zeng Z., Han G. and Liu S., 2016:** Prevalence, antimicrobial resistance profiling and genetic diversity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from broilers at slaughter in China. *Food. Control*, 69: 160-170.
- Huneau-Salaün A., Denis M., Balaine L., Salvat G., 2007:** Risk factors for *Campylobacter* spp. colonization in French free-range broiler-chicken flocks at the end of the indoor rearing period. *Prev Vet Med.*, ;80(1): 34-48.
- Hansson M., Ederoth L., Andersson I., Engvall O E., 2005:** Transmission of *Campylobacter* spp. to chickens during transport to slaughter. *J. Appl. Microbiol.* 99: 1149-57.

- Hansson I., Engvall EO., Vagsholm I., Nyman A., 2010:** Risk factors associated with the presence of *Campylobacter*-positive broiler flocks in Sweden. Preventive Veterinary Medicine, (96): 114–1 Reich 21.
- Hariharan H., Sharma S., Chikweto A., Matthew V and DeAllie C., 2009:** Antimicrobial drug resistance as determined by the E-test in *Campylobacter jejuni*, *C. coli* and *C. lari* isolates from the ceca of broiler and layer chickens in Grenada. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, (32): 21–28.
- Hassanain N.A., 2011:** Antimicrobial Resistant *Campylobacter jejuni* Isolated from Humans and Animals in Egypt. Glob.Vet, 6: 195–200.
- Havelaar AH., de Wit MAS., KoningsveldRV., Kempen EV., 2001:** Health burden due to infection with thermophilic *Campylobacter* spp. WHO Consultation on the Increasing Incidence of Human Campylobacteriosis: 49- 51.
- Hazeleger WC., Wouters JA., Rombouts FM and Abee T., 1998:** Physiological activity of *Campylobacter jejuni* far below the minimal growth temperature. Applied and Environmental Microbiology, 64 (10): 3917-3922.
- Heuer OE., Pedersen K., Andersen JS and Madsen M., 2001:** Prevalence and antimicrobial susceptibility of thermophilic *Campylobacter* in organic and conventional broiler flocks. Letters in Applied Microbiology, (33): 269-274.
- Hiett KL., Stern NJ, Fedorka-Cray P., Cox PN, Musgrove MT and Ladely S., 2002:** Molecular Subtype Analyses of *Campylobacter* spp from Arkansas and California Poultry Operations Applied and Environmental Microbiology, 68(12): 6220 - 6236.
- Hook H., 2005: Thèse de doctorat - *Campylobacter* Epidemiology - Insights from Subtyping by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. Swedish University of Agricultural Sciences, 60 pages.
- Hue O., Allain V., Laisney M-J., Le Bouquin S., Petetin I., Rouxel S., Quesne S., Gloaguen P-Y., Picherot M., Santolini J., Bougeard S., Salvat G., Chemaly M., 2011:** *Campylobacter* contamination of broiler caeca and carcasses at the slaughterhouse and correlation with *Salmonella* contamination. Food Microbiology, 28 : 862-68.
- Hue O., Le Bouquin S., Laisney M.J., Lalande F., Petetin I., Rouxel S., Quesne S., Gloaguen PY., Picherot M., Santolini J., Salvat G., Bougeard S., Chemaly M., 2010:** Prevalence of and risk factors for *Campylobacter* spp. contamination of broiler chicken carcasses at the slaughterhouse. Food Microbiol., 27(8) 992-999.
- Humbel R L., 2009 :** Mise au point : infection par *Campylobacter jejuni* et syndrome de Guillain Barré. Le conseil d'administration de la SSM a décerné à l'auteur, le prix de la meilleure communication pour l'année 2009: 283-287.

- Humphrey T., Henley A and Lanning DG., 1993:** The colonization of broiler chickens with *C. jejuni*: some epidemiological investigations. *Epidemiol. Infect.* (110): 601- 607.
- Humphrey T., O'Brien S and Madsen M., 2007:** *Campylobacters* as zoonotic pathogens: A food production perspective. *International Journal of Food Microbiology*, (117): 237-257.
- Huneau-Salaun A., Denis M, Balaine L and Salvat G., 2007:** Risk factors for *Campylobacter* spp. colonization in French free-range broiler-chicken flocks at the end of the indoor rearing period. *Preventive Veterinary Medicine*, (80): 34 - 48.
- Ibrahim NG., Zafar, Hasan R., 2004:** Evaluation of Frequency of Isolation and trends in antibiotic resistance among *Campylobacter* isolates over 11 Year Period. *JPMA*, (54): 291-295.
- Iovine NM and Blaser MJ., 2004:** Antibiotics in animal feed and spread of resistant *Campylobacter* from poultry to humans. *Emerging Infectious Diseases*, 10(6): 1158-1159.
- Ishihara K., Kira T., Ogikubo K, Morioka A., Kojima A., Kijima-Tanaka M., Takahashi T and Tamura Y., 2004:** Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* isolated from food-producing animals on farms (1999–2001): results from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *International Journal of Antimicrobial Agents*, (24): 63–69.
- ISO 11133-1, 2009 :** Microbiologie des aliments : Lignes directrices.
- ISO 10272, 2006 :** Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Campylobacter* spp.
- Jacobs-Reitsma W.F., 2000:** *Campylobacter* in the food. In *Campylobacter*, Second Edition, Nachamkin I., et Blaser, Ed ASM Press, Washington DC, USA ; pages: 467-481.
- Jacobs-Reitsma WF., Bolder NM and Mulder RW., 1994:** Cecal carriage of *Campylobacter* and *Salmonella* in Dutch broiler flocks at slaughter: a 1 year study. *Poult. Sci*, 73 (8):1260 -1266.
- Jacobs-Reitsma W., Van de Giessen A., Bolder NM and Mulder R., 1995:** Epidemiology of *Campylobacter* spp. at two Dutch broiler farms. *Epidemiol Infect* 114 (3): 413- 421.
- Jay M.A., 2009 :** Élaboration d'un model expérimental d'étude de la contamination d'origine digestive de surface des viandes. Application au danger *Campylobacter*. Thèse de diplôme d'état de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes; 144 pages.
- Jeffrey JS., Tonooka KHand Lozano J., 2001 :** Prevalence of *Campylobacter* spp. from Skin, Crop, and Intestine of Commercial Broiler Chicken Carcasses at Processing. *Poultry Science*, (80): 1390 - 1392.
- Jeon B., Muraoka W., Scupham A., Zhang Q., 2009:** Roles of lipooligosaccharide and capsular polysaccharide in antimicrobial resistance and natural transformation of *Campylobacter jejuni*. *J Antimicrob Chemother.* 63: 462–468.
- Jeon B., Muraoka T and Zhang Q., 2010 :** Advances in *Campylobacter* biology and implications for biotechnological applications. *Microb Biotechnol*, 3 : 242-58.

- Johannessen S., Johnsen G., Økland M., Cudjoe S., Hofshagen M., 2007:** Enumeration of thermotolerant *Campylobacter* spp. from poultry carcasses at the end of the slaughter-line. The Society for Applied Microbiology. Lett. Appl. Microbiol., 44: 92- 97.
- Jones DM., Robinson DA and Eldridge J., 1981:** Serological studies in two outbreaks of *Campylobacter jejuni* infection. j Hyg. Cam (Lond) 87, (2): 163-170.
- Jones FS., Orcutt M., Little RB., 1931:** Vibrios (*Vibrio jejuni* n. sp.) associated with intestinal disorders of cows and calves. Journal of expérimental Medicine, (53): 853-864.
- Jones MA., Marston KL., Woodall CA., Maskell DJ., Linton L., Karlyshev AV., Dorrell N., Wren BW and Barrow PA., 2004:** Adaptation of *Campylobacter jejuni* NCTC11168 to High-Level Colonization of the Avian Gastrointestinal Tract. . Infection and Immunity, 72 (7): 3769-3776.
- JORA., 2015 :** Journal Officiel de la République Algérienne N° 37. Décret exécutif n° 15-172 du 8 Ramadhan 143 correspondant au 25 juin 2015 fixant les conditions et les modalités applicables en matière des spécifications microbiologiques des denrées alimentaires ; 3 pages.
- Jore S., Viljugrei H., Brun E., Heier BT., Borck B., Ethelberg S., Hakkinen M., Kuusi M. Reiersen J., Hansson I., Engvall O., Løfdahl M., Wagenaar J A., Pelt WV and Hofshagen M., 2010:** Trends in *Campylobacter* incidence in broilers and humans in six European countries, 1997–2007. Preventive Veterinary Medicine, (93): 33- 41.
- Jorgensen F., Bailey R., Williams S., Henderson P., Wareing DRA., Bolton FJ., Frost JA., Ward L and Humphrey TJ., 2002:** Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp on raw, whole chickens in relation to sampling methods. International Journal of Food Microbiology, (76): 151-164.
- Jozwiak A, Reichart, O., Laczay., P., 2006:** The Occurrence of *Campylobacter* Species in Hungarian Broiler Chickens from Farm to Slaughter, Journal of Veterinary Medicine, Series B, 53(6): 291-294.
- Kaakoush O., Castano-Rodriguez N., Mitchell, M., Man M., 2015: Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. Clin. Microbiol. Rev. 28: 687–720.
- Kapperud G., Skjerve E., Bean NH., Ostroff SM and Lassen J., 1992:** Risk factors for sporadic *Campylobacter* infections: Results of a case-control study in Southeastern Norway. Journal of clinical Microbiology, 30 (12): 3117-3121.
- Kapperud G., Skjerve E., Vik L., Hauge K., Lysaker A., Aalmen I., Ostroff S M and Potter M., 1993:** Epidemiology investigation of risk factors for *Campylobacter* colonization in Norwegian broiler flocks. Epidemiol Infect; (111): 245-255.

- Kaplan RL., Goodman LJ., Barrett JE, Gordon M., Trenholme VGM and Landau W., 1982:** Comparison of Rectal Swabs and Stool Cultures in Detecting *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*. *Journal of clinical microbiology*, 15 (5): 959-960.
- Karikari B., Obiri-Danso K., Frimpong H., Krogfelt A., 2017:** Multidrug resistant *Campylobacter* in faecal and carcasses of commercially produced poultry. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 11: 271–277.
- Karlyshev AV., Everest P., Linton D., Cawthraw S., Newell DG and Wren BW., 2004:** The *Campylobacter jejuni* général glycosylation system is important for attachment to human epithelial cells and in the colonization of chicks. *Microbiology* 150(6): 1957-1964.
- Karlyshev AV., WREN BW., 2001:** Detection and Initial Characterization of Novel Capsular Polysaccharide among Diverse *Campylobacter jejuni* Strains Using Alcian Blue Dye. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(1): 279–284.
- Karmali MA and Skirrow MB., 1984:** Taxonomy of the genus *Campylobacter*. In: Butzler JP. *Campylobacter* infection in Man and Animals, CRC Press Inc. pp 1-20.
- Karmali MA., Simor AE., Roscoe M, Fleming PC., Smith SS and Lane J., 1986:** Evaluation of a Blood-Free, Charcoal-Based, Selective Medium for the isolation of *Campylobacter* Organisms from Feces. *Journal of clinical microbiology*, 23 (3): 456-459.
- Kelle K., Pages JM and Bolla JM., 1998:** A putative adhesingène cloned from *Campylobacter jejuni*. *Res Microbiol*, 149 (10): 723-733.
- Kelly AF., Park S F., Bovill R and Mackey B M., 2001:** Survival of *Campylobacter jejuni* during Stationary Phase: Evidence for the Absence of a Phenotypic Stationary-Phase Response. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(5): 2248-2254.
- Kelly DJ., 2001:** The physiology and metabolism of *Campylobacter jejuni* and *Helicobacter pylori*. *Journal of Applied Microbiology*, (90): 16-24.
- Ketley JM., 1997:** Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. *Microbiology*, 143: 5-21
- KINANA AD., 2006 :** Mécanismes de résistance aux quinolones et diversité des souches de *Campylobacter* isolées au Sénégal. Thèse de docteur de troisième cycle de chimie et biochimie des produits naturels de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 39 pages.
- Kim JW., Slavik MF., Griffis L., Walker T., 1993:** Attachment of *Salmonella typhimurium* to skins of chicken scalded at various temperatures. *J. Food Prot*, 56 (8): 661-671.
- King EO., (1957):** Human infections with *Vibrio fetus* and a closely related vibrio. *Journal of Infectious Diseases*, 101: 119-128.
- King L., Lehours P et Mégraud F., 2008:** Bilan de la surveillance des infections à *Campylobacter* chez l'Homme en France en 2008. Centre National de Référence des *Campylobacters* et *Hélicobacters*. (Institut de Veille Sanitaire).1-7.

- Kist M., 1986:** Who discovered *Campylobacter jejuni/coli*? A review of hitherto disregarded literature Zentralbl Bakteriologie Mikrobiologie Hygiene (A), 261 (2): 177-186.
- Kita E., Oku D., Hamuro A., Nishikawa F., Emoto M, Yagu Y., Katsuin and Kashiba S., 1990:** Hepatotoxic activity of *Campylobacter jejuni*. J Med. Microbiol, (33):171-182.
- Konkel ME., Kim BJ., Young CR and Ziprin R., 1998:** Characterization of the thermal stress response of *Campylobacter jejuni*. Infection and immunity, 66 (8): 3666 -3672.
- Konkel ME., Kim BJ., Rivera-Amill V and Garvis SG., 1999:** Identification of proteins required for the internalization of *Campylobacter jejuni* into cultured mammalian cells. Molecular Microbiology, 32(4): 691-701.
- Kovalenko K., Roasto M., Liepin E., Maesaar M and Hörman A., 2013:** High occurrence of *Campylobacter* spp. In Latvian broiler chicken production. Food Control., 29(1) : 188-191.
- Kovalenko K., Roasto M., Berzins A and Hman A., 2014:** *Campylobacter* species and their antimicrobial resistance in Latvian broiler chicken production. Food Control, 46: 86-90.
- Laberge K., 2003 :** Épidémiologie des cas de l'infection par le *Campylobacter* en Islande, revue des voies de transmission et facteurs de risque. Rapport présenté à Pascal Michel, DMV, PhD. Université de Montréal, 1- 20.
- Laceb Z et Slimani A., 2018 :** Gastroentérites a *Campylobacter jejuni* : Diagnostic et résistance aux antibiotiques, Mémoires de Master, Université Saad Dahlab blida 1, 56 pages
- Lacut Y., Megraud F., Rogues M., Begue P., Canton P., Silsiguen M., Roche G. 1989 :** Enquête nationale sur les infections à *Campylobacter* (autres que *Campylobacter pylori*). Étude préliminaire sur 600 premières observations. Méd Mal Infect, 19 (suppl ) : 55-60.
- Laidouci Al Amir H., Mouffok F., Hellal A. 2013 :** Recherche de *Campylobacter* dans la volaille en Algérie : Etude du profil d'antibiorésistance. Revue. Méd. Vét , 164 : 307-311.
- Lal, A., Hales S, French N and Baker M., 2012:** Seasonality in Human Zoonotic Enteric Diseases: a Systematic Preview," PLoS One 7 (4): 318-383.
- Laroche M and Magras C., 2013 :** La campylobactériose digestive dans les pays industrialisés : comparaison de la situation sanitaire avec la salmonellose et appréciation de l'émission du danger, Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 32 (3): 1-41.
- Larpent JP., 1997 :** Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire. Éditions TecDoc, Paris. Pages 1073.
- Larpent JP., 2000 :** Introduction à la nouvelle classification bactérienne - Les principaux groupes bactériens. Éditions Tec & Doc, Paris. Page 280.
- Lawson AJ., Linton D., Stanley J and Owen RJ., 1997:** Polymerase chain reaction detection and speciation of *Campylobacter upsaliensis* and *C. helveticus* in human faeces and comparison with culture techniques. Journal of Applied Microbiology, 83 (3): 375-380.

- Lawson AJ., Linton D and Stanley J., 1998:** 16S rRNA gene sequences of 'Candidatus *Campylobacter hominis*', a novel uncultivated species, are found in the gas-trointestinal tract of healthy humans. *Microbiology* 144 (8): 2063-2071.
- Lee A., O'rourke J., Barrington P J and Trust TJ.1986:** Mucus Colonization as a Determinant of Pathogenicity in Intestinal Infection by *Campylobacter jejuni*: A Mouse Cecal Model. *Infection and immunity*, 51 (2) : 536-546.
- Lehours P., 2015 :** Les *Campylobacter* : diagnostic biologique et surveillance de la résistance aux antibiotiques en France, *Bull. Acad. Vét. France*, 185(4) : 363-368
- Lehours P., Aladjidi N., Sarlangue J., Mégraud F., 2012 :** Infections à *Campylobacter* chez l'enfant, *Archives de pédiatrie*, 19(6) : 629-634.
- Lehner Y., Reich F., Klein G., 2014:** Influence of process parameter on *Campylobacter* spp. counts on poultry meat in a slaughterhouse environment. *Curr. Microbiol.*, 69(3): 240-244.
- Lengerh A., Moges F, Unakal C, Anagaw B., (2013):** Prevalence, associated risk factors and antimicrobial susceptibility pattern of *Campylobacter* species among under five diarrheic children at Gondar University Hospital, Northwest Ethiopia. *B.M.C Pediatr*, 82 (13):1-9.
- Leon-Kempis Mdel R., Guccione E., Mulholland F., Williamson MP and Kelly D J., 2006:** The *Campylobacter jejuni* PEB1a adhesin is an aspartate/glutamate-binding protein of an ABC transporter essential for microaerobic growth on dicarboxylic amino acids. *Molecular Microbiology*, 60 (5): 1262-1275.
- Levy B and Fitz Gerald B., 1976:** Spread of antibiotic-resistant plasmids from chicken to chicken and from chicken to man. *Nature* 260 (5546): 40-42
- Li Z., Mehrotra M., Ghimire S., Adewoye L., 2007:**  $\beta$ -lactam resistance and  $\beta$  lactamases in bacteria of animal origin. *Vet Microbiol* ; 121 (3-4) : 197-14.
- Lin J., Michel LO and Zhang Q., 2002:** CmeABC Functions as a Multidrug Efflux System in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46 (7): 2124–2131.
- Lin, J and Yan Y., 2007:** Effect of macrolide usage on emergence of erythromycin-resistant *Campylobacter* isolates in chickens. *Antimicrob Agents Chemother* 51(5): 1678-1686.
- Lin J., Yan M., Sahin O., Pereira S., Chang YJ and Zhang Q., 2007:** Effect of macrolide usage on emergence of erythromycin-resistant *Campylobacter* isolates in chickens *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, 51(5): 1678-1686.
- Linton D., Karlyshev AV., Hitchen PG., Morris HR., Dell A., Gregson NA and Wren BW., (2000):** Multiple N-acetyl neuraminic acid synthetase (neuB) genes in *Campylobacter jejuni*: identification and characterization of the gene involved in sialylation of lipo-oligosaccharide. *Molecular Microbiology*, 35 (5): 1120 – 1134.

- Lior H., Woodward DL., Edgard J A., Laroche LJ and Gill P., 1982:** Serotyping of *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors. *Journal of Clinical Microbiology*, 15(5): 761-768.
- Liu D., Deng F., Gao Y., Yao H., Shen Z., Wu C., Wang Y., Shen J., 2017:** Dissemination of erm(B) and its associated multidrug-resistance genomic islands in *Campylobacter* from 2013 to 2015. *Vet. Microbiol.*, 204: 20-24.
- Luangtongkum T., Jeon, B., Han J., Logue C and Q Zhang., 2009:** Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence, *Future Microbiology*, 4 : 189-200.
- Luangtongkum T., Morishita T Y., El-Tayeb, A B., Ison A J and Zhang Q., 2007:** Comparison of antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter* spp. by the agar dilution and the agar disk diffusion methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 45 (2): 590–594.
- Lubeck PS., Cook N., Wagner M., Fach P and Hoorfar J., 2003:** Toward an international standard for PCR-based detection of food-borne thermotolerant *Campylobacter*s: validation in a multicenter collaborative trial. *Appl Environ Microbiol* 69 (9) : 5670-5672.
- Luginbühl A., Marthaler D., Geiser F. Lutz A., Danuser J., 2010 :** Rapport suisse sur les zoonoses 2009. La détention respectueuse des animaux favorise t'elle la propagation des agents zoonotiques, *Campylobacter*. Editeur : Office vétérinaire fédérale OVF, Berne ; 90 pages. URL : <http://www.publicationsfederales.admin.ch> (page consultée le 4/7/2019).
- Luo N., Sahin O., Lin J., Zhang Q., 2003:** *In vivo* selection of *Campylobacter* isolates with high levels of fluoroquinolone resistance associated with *gyrA* mutations and the function of the CmeABC efflux pump. *Antimicrob Agents Chemother.*, 47: 390-394.
- Lutful Kabir M., Suman H., Amin M. and Yamasaki S., 2014:** Isolation, identification and antimicrobial resistance patterns of *Campylobacter* species from broiler meat sold at KR market of Bangladesh Agricultural University Campus, Mymensingh. *J. Agric. Food Tech.*, 4(4): 1-7.
- Mackiw E., Korsak D., Rzewuska K., Tomczuk K and Rozynek E., 2012:** Antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from food in Poland. *Food Control*, (23): 297- 301.
- Mageto M., Ombui, N., Mutua K., 2018:** Prevalence and risk factors for *Campylobacter* infection of chicken in peri-urban areas of Nairobi, Kenya. *J. Dairy. Vet. Anim. Res.* 27: 22–27.
- Mamelli L., Amoros JP., Pages M and Bolla JB., 2003:** A phenylalanine - arginine  $\beta$  - naphthylamide sensitive multidrug efflux pump involved in intrinsic and acquired resistance of *Campylobacter* to macrolides. *International J. Antimicrobial Agents*, (22): 237-241.

- Mamelli L., Prouzet-Mauleon V., Pages JM., Megraud F and Bolla JM., 2005:** Molecular basis of macrolide resistance in *Campylobacter*: role of efflux pumps and target mutations. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, (56): 491- 497.
- Mandomando I., Macete E., Ruiz J, Sanz S., Valles X., Sacarlal J., Navia M., Vila J., Pedro P, 2007:** Etiology of Diarrhea in Children Younger than 5 years Of Age Admitted in A Rural Hospital of Southern Mozambique. Am. J. Trop. Med. Hyg, 76: 522-527.
- Mansouri-najand L., Saleha A, Wai S., 2012:** Prevalence of multidrug resistance *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in chickens slaughtered in selected markets, Malaysia. Trop Biomed, 29(2): 231-8.
- Manuel terrestre de l'OIE : 2005,** *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*. Chapitre 2.10.8: 1177-1187
- Marchant J., Wren B and Ketley J., 2002:** Exploiting génomeséquence: predictions for mechanisms of *Campylobacter* chemotaxis. Trends in Microbiology, 10 (4): 155-159.
- Marshall BJ and Warren JR., 1984:** Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 1 (8390): 1311-1315.
- Martin KW., Mattick KL., Harrison M and Humphrey TJ., 2002:** Evaluation of selective media for *Campylobacter* isolation when cycloheximide is replaced with amphotericin B. Letters in Applied Microbiology, (34): 124 -129.
- McDermott PF., Bodeis SM., English LL., White DG., Zhao S., Simjee S and Wagner DD., 2002:** Ciprofloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* evolves rapidly in chickens treated with fluoroquinolones. The Journal of Infectious Diseases, 185 (6): 837- 340.
- McDowell A., 2004:** Food safety assurance and veterinary public health. Volume 2: Safety assurance during food processing. Ed Wageningen Academic Publishers. The Netherlands : 243-264.
- McDowel WJ., Menzies FD., McBride SH., Oza AN., McKenna J P., Gordon A W andNeill SD., 2008:** *Campylobacter* spp. in conventional broiler flocks in Northern Ireland: Epidemiology and risk factors. Preventive Veterinary Medicine, (84): 261–276.
- McMahon S., Xu J., Moore E., Blair S., McDowell A., 2007:** Environmental stress and antibiotic resistance in food-related pathogens, Appl. Environ. Microbiol ; 73 (1): 211-17.
- Mead P.S., Slutsker L., Dietz V., Mccaig L.F., Bresee J.S., Shapiro C., Griffin P.M., Tauxe R.V., 1999 :** Foodrelated illness and death in the United States. Emerg Infect Dis ; 5 : 607-25.
- Megraud F., 1987:** Isolation of *Campylobacter* spp. from pigeon Feces by a combined enrichment-filtration technique. Applied and Envir. Microbiology, 53 (6): 1394 -1395.
- Megraud F., 1989 :** Méthodes diagnostiques pour les infections à *Campylobacter* d'origine Intestinale. Méd. Mal. Infect, 19 (suppl) : 12-17.

- Megraud F., Boudraa G., Bessaoud K., Bensid S., Dabis F., Soltana R and M. Touhami M., 1990:** Incidence of *Campylobacter* infection in infants in western Algeria and the possible protective role of breast feeding. *Epidemiol.Infect*, (105): 73-78.
- Megraud F., Bultel C., 2004 ;** Appréciation des risques alimentaires liés aux campylobacters. Application au couple poulet/*Campylobacter jejuni*, Rapport de AFSSA ; 96 pages.
- Meunier M., Guyard-Nicodeme M., Dory D., Chemaly M., 2016:** Control strategies against *Campylobacter* at the poultry production level: biosecurity measures, feed additives and vaccination. *J.Appl. Microbiol.*, 120(5):1139-73.
- Meremae K., Elias P., Tamme T., Kramarenko T., Lillenberg M., Karus A, Hänninen ML., Roasto M., 2010 :** The occurrence of *Campylobacter* spp. in Estonian broiler chicken production in 2002–2007. *Food Control*, (21) : 272 - 275.
- Messad S., 2011 :** Contribution à l'étude de la prévalence et de la sensibilité aux antibiotiques des *Campylobacter* thermotolérant chez le poulet chair dans la région d'Alger :Thèse de magister : École Nationale Supérieure Vétérinaire 106 pages.
- Messad S., 2014 :** *Campylobacter* thermotolérants dans les élevages et abattoirs de poulet de chair : caractérisation phénotypique et antibiorésistance des souches isolées : thèse de doctorat Es sciences : École Nationale Supérieure Vétérinaire 152 pages.
- Messaoudi S., Manai M., Federighi M., Dousset X., 2013 :** *Campylobacter* dans la filière poulet: étude bibliographique des stratégies de maîtrise au stade de l'élevage ; *Revue Méd. Vét* ; 164 (2) : 90-99
- Molbak K., 2001:** What can be learned from surveillance and register studies? WHO Consultation on the Increasing Incidence of Human Campylobacteriosis. 73-80.
- Molbak K., Hojlyng N., Gaarslev K., 1988:** High prevalence of campylobacter excretors among Liberian children related to environmental conditions. *Epidem. Inf*, 100:227-237.
- Montrose M.S., Shane S.M and Harrington K.S., 1984:** Role of litter in the transmission of *Campylobacter jejuni*. *Avian. Dis.*, 5: 607-625
- Moore JE., Corcoran D., Dooley JS., Fanning S., Matsuda M., McDowell DA., Mégraud F., Millar BC., O'Mahony R., O'Riordan L., O'Rourke M., Rao JR., Rooney PJ., Sails A and Whyte P., 2005:** *Campylobacter*. *Vet. Res*, 36 (3): 351-382.
- Moran AP., 1997:** Structure and conserved characteristics of *Campylobacter jejuni* Lipopolysaccharides. *The Journal of Infectious Diseases*, 176 (2): 115 -121.
- Morooka T., Umeda A and Amako K., 1985:** Motility as an Intestinal Colonization Factor for *Campylobacter jejuni*. *Journal of General Microbiology*, (131): 1973-1980.

- Mourand G., Perrin-Guyomard A., Kempf I., 2018 :** Antibiorésistance de *Campylobacter jejuni* isolés de poulets et dindes de chair en France. Bulletin épidémiologique : santé animale, alimentation, ANSES, 1-10.
- Mouffok F and Labres E., 1992:** Result of refinement of a technique for the isolation and identification of *Campylobacter* from food commodities .Arch Ins Pasteur Alger. (58): 239-246.
- Mshana E., Joloba M., Kakooza A., Kaddu-Mulindwa D., 2009:** *Campylobacter* spp among Children with acute diarrhea attending Mulago hospital in Kampala—Uganda. Afr. Health Sci., 9: 201–205.
- Munier L et Leflon-Guibout V., 2016 :** Infections à *Campylobacter*: épidémiologie, facteurs de virulence, résistance aux antibiotiques, Journal des Anti-infectieux 18 (4): 160-168.
- Murphy C., Carroll C and Jordan KN., 2006:** Environmental survival mechanisms of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni*. J. Applied Microbiology, (100): 623-632.
- Murray R., Baron J., Jorgenson H., Pfaller A and Tenover F.C., 2003:** Manual of clinical microbiology 8th edition: eds., A.S.M Press, 47(4): 625-626.
- Musgrove M., Cason A., Fletcher L., Stern J., Cox A., Bailey S., 1997:** Effect of cloacal plugging on microbial recovery from partially processed broilers, Poult. Sci., 76: 530-533.
- Nachamkin I., Engberg J., Aarestrup F., 2000:** Diagnosis and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* species, in : Nachamkin I., Blaser MJ. (Eds), *Campylobacter* ». American Society for Microbiology Press, Washington, DC : 45-66
- Nachamkin I., Fischer SH., Yang XH., Benitez O and Cravioto A., 1994:** Immunoglobulin a antibodies directed against *Campylobacter jejuni* flagellin present in breast-milk. Epidemiol Infect., (112): 359-365.
- Näther G., Alter T., Martin A., Ellerbroek L., 2009:** Analysis of risk factors for *Campylobacter* species infection in broiler flocks. Poult. Sci, 88(6):1299-305.
- Neal R., and Slack C., 1995:** The autumn peak in *Campylobacter* gastro-enteritis. Are the risk factors the same for travel- and UK-acquired *Campylobacter* infections? J. Public Health Med. 17: 98-102.
- Neill SD., Campbell JN and Greene JA., 1984:** *Campylobacter* species in broiler chickens. Avian Pathology, (13): 777-785.
- Neill SD., Campbell JN., O’brein JJ., Weatherup STC and Ellis WA., 1985:** Taxonomic Position of *Campylobacter cryaerophila* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 35 (3): 342-356.

- Nelson JM., Chiller TM., Angulo FJ., 2007:** Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry: a public health success story. Clin. Infect. Dis., 44 (7):977-80
- Newell DG and Fearnley C., 2003:** Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens. Applied and Environmental Microbiology, 69(8): 4343- 4351.
- Newell DG., McBride H and Pearson AD., 1984:** The identification of outer membrane proteins and flagella of *Campylobacter jejuni*. J. General Microbiology, (130): 1201-1208.
- Newell D G., Shreeve JE., Toszeghy M., Domingue G., Bull S., Humphrey T and Mead G., 2001:** Changes in the carriage of *Campylobacter* strains by poultry carcasses during processing in abattoirs. Applied and Environmental Microbiology, 67(6): 2636-2640.
- Nguyen HTT., Corry JEL and Miles CAM., 2006:** Heat Resistance and Mechanism of Heat Inactivation in Thermophilic *Campylobacters*. Applied and Environmental Microbiology, 72(1): 908 - 913.
- Noor Mohamed A. and Fakhr, K., 2015:** Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* spp. In Oklahoma conventional and organic retail poultry. Open Microbiol. J., 8: 130-137.
- Norval M., 2001:** Effects of solar radiation on the human immune system. J. Photochem. Photobiol. 63: 28-40.
- Nwankwo I.O., Faleke O., Salihu D., Magaji A., Musa U., Garba J., 2016:** Epidemiology of *Campylobacter* species in poultry and humans in the four agricultural zones of Sokoto State, Nigeria. J. Public. Health. Epidemiol. 8: 184–190.
- Nylen G., Dunstan F., Palmer S, Andersson Y., Bager F., Cowden J., Feierl G., Galloway Y., Kapperud G., Megraud F., and Molbak K., 2002:** The Seasonal Distribution of *Campylobacter* Infection in Nine European Countries and New Zealand,” Epidemiology and Infection 128(3): 383-390.
- Obi CL and Bessong PO., 2002:** Diarrhoeagenic bacterial pathogens in HIV-positive patients with diarrhoea in rural communities of Limpopo Province, South Africa, Centre for Health and Population Research, 20 (3): 230 -234.
- Obiri-Danso K., Paul N., and Jones K., 2001:** The effects of UVB and temperature on the survival of natural populations and pure cultures of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C.lari* and urease-positive thermophilic *Campylobacter* (UPTC) in surface waters. Journal of Applied Microbiology, 90: 256-267.
- OIE., 2005 :** rapport sur *C.jejuni* et *C.coli*. Chapitre 2.10.8 du manuel terrestre de l’OIE de 2005, 1201-1208

- OIE., 2008** ; Manuel terrestre de l'OIE 2008. Chapitre 2.9.3 : *Campylobacter jejuni* et *C.coli* ;  
Pages : 1299-1306. URL :  
[http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahm/Volume2\\_Manuel2008\\_fr.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/Volume2_Manuel2008_fr.pdf)  
(Page consultée le 1/9/2019).
- Olsson Engvall E., Lahti E., Lindgren G., Nyman A., Harbom B., Pudas N., Svensson L., Hansson I., 2011** : Le cahier de la référence. Le laboratoire de référence de l'Union européenne pour *Campylobacter*. National Veterinary Institute, SVA, Uppsala. ANSES: 6-9.
- OMS., 2008** ; Manuel de standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 4ème édition ; 100 pages.
- OMS. (2011)** : *Campylobacter*, Aide-mémoire N°255.
- On SL., 2001**: Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. J.Appl. Microbiol. 90 (30): 1-15.
- On SL., Bloch B., Holmes B., Hoste B and Vandamme P., 1995**: *Campylobacter hyointestinalis* subsp. *lawsonii* subsp. nov, isolated from the porcine stomach, and an emended description of *Campylobacter hyointestinalis*. Int. J. SystBacteriol45 (4): 767-74.
- Ono K and Yamamoto K., 1999**: Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. International Journal of Food Microbiology, (47): 211-219.
- Oosterom J., Banffer JR., Lauwers S and Busschbach AE., 1985**: Serotyping of and hippurate hydrolysis by *Campylobacter jejuni* isolates from human patients, poultry and pigs in the Netherlands. Antonie Van Leeuwenhoek 51 (1): 65-70.
- Oosterom J., Notermans S., Karman H., Engels GB., 1993**: Origin and prevalence of *Campylobacter jejuni* in poultry processing. J.Food. Prot, 46: 339- 344.
- Oza AN., McKenna JP., McDowell SWJ., Menzies FD and Neill SD., 2003**: Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* spp. isolated from broiler chickens in Northern Ireland. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, (52): 220 -223.
- Pacanowski J., Lalande V., Lacombe K., Boudraa C., Lesprit P., Legrand P., Trystram.D., Kassis N., Arlet G., Mansarde JL., Doucet-Populaire F., Girard PM and Meynard JL., 2008**: *Campylobacter* bacteremia clinical features and factors associated with fatal outcome. Clinical infectious diseases, 47(6): 790-796.
- Pacholewicz E., Swart A., Schipper M., Gortemaker BG., Wagenaar JA., Havelaar AH., 2015**: A comparison of fluctuations of *Campylobacter* and *Escherichia coli* concentrations on broiler chicken carcasses during processing in two slaughterhouses. Int.J.Food Microbiol., 205: 119-27.
- Pan H., Ge Y., Xu H., Zhang J., Yang X., Su X., Huang Z., Shi X., Xu X., Meng J., 2006** : Molecular Characterization, Antimicrobial Resistance and Caco-2 Cell Invasion Potential

- of *Campylobacter jejuni/coli* from Young Children with Diarrhea, The Pediatric Infectious Disease Journal, 35 (3): 330-334
- Papavasileiou E., Voyatzi A., Papavasileiou K., 2007:** Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* isolates from hospitalized children in Athens, Greece, collected during 2004–2005. *Eur .J . Epidemiol* **22**, 77
- Park SF., 2002:** The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to as their role foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 74 (3): 177-188.
- Parkhill J., Wren BW., Mungall K., Ketley JM., Churcher C., Basham D., Chillingworth Rutherford KM., van Vliet AH., Whitehead S., Barrell BG., 2000:** The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences. *Letters to Nature*, (403): 665- 668.
- Patrick M E., Christiansen LE., Wainø M., Madsen H and Wegener HC., 2004:** Effects of climate on incidence of *Campylobacter* spp. in Humans and Prevalence in Broiler Flocks in Denmark. *Applied and Environmrntal Microbiology*, 70 (12): 7474 -7480.
- Payot S., Bolla JM., Corcoran D. Fanning S., Megraud F and Zhang Q., 2002:** Mechanisms of fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter* spp. *Microbes and Infection*, (8):1967-1971.
- Pearson A D.,Greenwood M, Healing T D.,Rollins D, Shahamat M.,Donaldson J and Colwell R R., 1993:** Colonization of Broiler Chickens by Waterborne *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmrntal Microbiology*, 59 (4): 987- 996.
- Pearson AD., Greenwood MH., Kevin R., Feltham Donaldson J, Jons D M and Colwell R R., (1996):** Microbial Ecology of *Campylobacter jejuni* in a United Kingdom Chicken Supply Chain: Intermittent Common Source, vertical transmission, and amplification by flock propagation. *Applied and Environmrntal Microbiology*, 62 (12): 4614- 4620.
- Peckham MC (1958):** Avian vibronic hepatitis. *Avian Diseases* 2 (3): 349-358.
- Pelkonen T., Dos Santos D., Roine I., Dos Anjos E., Freitas C, Peltola H., Laakso S., Kirveskari J., 2018:** Potential Diarrheal Pathogens Common Also in Healthy Children in Angola. *Pediatr. Infect. Dis. J*, 37: 424–428.
- Penn CW., 2001:** Surface components of *Campylobacter* and *Helicobacter*. *Journal of Applied Microbiology*, (90): 25-35.
- Pérez-Boto D., García-Peña J., Abad-Moreno C., Echeita A., 2013:** Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains isolated from two early stages of poultry production. *Microb Drug Resist* ; 19 (4) : 323-330
- Peterz M., 1991 :** Comparison of Preston agar and a blood-free selective medium for detection of *Campylobacter jejuni* in food. *J Assoc. Off .Anal .Chem.*,74(4): 651-4.

- Peyrat MB., 2008** : Étude de l'influence du nettoyage et de la désinfection et des procédés d'abattage en abattoir de volailles sur le niveau de résistance aux antibiotiques des *Campylobacters*. Thèse de doctorat, L'Université de Rennes1, Rennes, 237 pages.
- Pezzotti G., Serafin A., Luzzi I., Mioni R., Milan M and Perin R., 2003**: Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in northeastern Italy. International Journal of Food Microbiology, (82): 281-287.
- Phillips I., Casewell M., Cox T., De Groot B., Friis C., Jones R., Nightingale C., Preston Rand Waddell J., 2004**: Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. J. Antimicrobial Chemotherapy, 53(1): 28-52.
- PICRA, 2003** : Programme intégré canadien de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (PICRA)-Rapport Annuel. Santé Canada Second Edition : 113 pages.
- Pinheiro I., Dejager L., Libert C., 2011**: X-chromosome-located microRNAs in immunity: might they explain male/female differences? The X chromosome-genomic context may affect X-located miRNAs and downstream signaling, thereby contributing to the enhanced immune response of females. BioEssays 33 (11):791–802.
- Poly F., 2005** : Etude de la diversité génétique de l'espèce *Campylobacter jejuni* par l'utilisation de puces à ADN. Thèse de Doctorat en Sciences de l'Université Louis Pasteur, 200 pages.
- Posch J., Feierl G., Wuest G., Sixl W., Schmidt S., Haas D., Reinthaler F.F. Marth A., 2006** : Transmission of *Campylobacter* spp. In a poultry slaughterhouse and genetic characterisation of the isolates by pulsed-field gel electrophoresis. British Poult. Sci, 47 (3) : 286-93.
- Prasad KN., Pradhan S and Nag VL., 2001**: Guillain-Barre Syndrome and *Campylobacter* infection. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 32 (3): 527-530.
- Prokhorova TA., Nielsen PN., Petersen J., Kofoed T., Morsczeck C., Boysen A and Schrotz-King P., 2006**: Novel surface polypeptides of *Campylobacter Jejuni* as traveller's diarrhoea vaccine candidates discovered by proteomics, Vaccine (24): 6446 - 6455.
- Pumbwe L, Piddock V., 2002**: Identification and molecular characterisation of CmeB, a *Campylobacter jejuni* multidrug efflux pump. F.E.M.S. Microbiol. Lett 206: 185–189.
- Pumbwe L., Randall P., Woodward J., Piddock V., 2004**: Expression of the efflux pump genes *cmeBcmeF* and the porin gene *porA* in multiple-antibiotic-resistant *Campylobacter jejuni*. J Antimicrob.Chemother., 54: 341-347.
- Puterflam J., Bouvarell and Drouet M., 2005** : Contamination des élevages de poulets de chair par *Campylobacter*: est-ce une fatalité ? Viandes Prod Carnés, Vol 26 (6). 193-200.
- Qin S., Wang Y., Zhang Q., Zhang M., Deng F., Shen Z., Wu C., Wang S., Zhang J., Shen J., 2014**. Report of ribosomal RNA methylase gene *erm (B)* in multidrug-resistant *Campylobacter coli*. J. Antimicrob Chemother., 69: 964-968.

- Rahimi E., Momtaz H., Ameri M., Ghasemian-Safaei H., Ali-Kasemi M., 2010 ;** Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* species isolated from chicken carcasses during processing in Iran. *Poult.Sci*, 89 : 1015-20.
- Rasschaert G., Houf K., Van Hende J., De Zutter L., 2007:** Investigation of the concurrent colonization with *Campylobacter* and *Salmonella* in poultry flocks and assessment of the sampling site for status determination at slaughter. *Veterinary Microb.*, (123) : 104 -109.
- Rasschaert G., Piessens V., Scheldeman P., Leleu S., Stals A., Herman L., 2013:** Efficacy of electrolyzed oxidizing water and lactic acid on the reduction of *Campylobacter* on naturally contaminated broiler carcasses during processing. *Poult. Sci.*, 92(4): 1077- 1084.
- Reddy S and Zishiri T., 2017:** Detection and prevalence of antimicrobial resistance genes in *Campylobacter* spp. isolated from chickens and humans, *J. Vet.Res.* 84 : 1–6.
- Refregier-Petton J., Rose N., Denis M and Salvat G., 2001:** Risk factors for *Campylobacter* spp. contamination in French Broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. *Preventive Veterinary Medicine*, (50): 89 -100.
- Reich F., Atanassova V., Haunhorst E and Klein G., 2008:** The effects of *Campylobacter* numbers in caeca on the contamination of broiler carcasses with *Campylobacter*. *International Journal of Food .microbiology*, (127): 116-120.
- Repérant E., Laisney MJ., Nagard B., Quesne S., Rouxel S., Le Gall F., Chemaly M., Denis M., 2016:** Influence of enrichment and isolation media on the detection of *Campylobacter* spp. in naturally contaminated chicken samples. *J.Microbiol.Methods*, 128:42-47.
- Ringoir D and Korolik V., 2002:** Colonization phenotype and colonization potential differences in *Campylobacter jejuni* strains in chickens before and after passage in vivo. *Veterinary microbiology*, (92): 225- 235.
- Rivoal K., Denis M., Salvat G., Colin P., Ermel G., 1999:** Molecular characterization of the diversity of *Campylobacter* spp. isolates collected from a poultry slaughterhouse: analysis of cross-contamination. *Lett Appl Microbiol ;* 29 : 370-74.
- Rivoal K., Ragimbeau C., Salvat G., Colon P and Ermel G., 2005:** Genomic diversity of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* isolates recovered from free-range broilers farms and comparison with isolates of various origins. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(10): 6216- 6227.
- Rizzetto L., Fava F., Kieran M and Selmi C., 2018:** Connecting the immune system, systemic chronic inflammation and the gut microbiome, role of sex, *J. Autoimmunity* , 92: 12-34
- Rodgers D., Clifton-Hadley A., Marin C., Vidal B., 2010:** An evaluation of survival and detection of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in broiler caecal contents using culture-based methods, *journal of Applied Microbiology*, 109 (4): 1244-1252.

- Rodrigo S., Adesiyuna A., As aralia Z and Swanston W., 2005:** Prevalence of *Campylobacter* spp. on chickens from selected retail processors in Trinidad. *Food Microbio*, (22): 125-131.
- Rodrigo S., Adesiyun A., Asgarali Z and Swanston W., 2007:** Antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated from broilers in small poultry processing operations in Trinidad. *Food Control*, (18): 321–325.
- Rollins and Colwell R., 1986:** Viable but nonculturable stage of *C. jejuni* and its role in survival in the natural aquatic environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 52 (3) : 531-538.
- Rönner AC., Engvall EO., Andersson L., Kaijser B., 2004:** Species identification by genotyping and determination of antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from humans and chickens in Sweden. *International Journal of Food Microbiology*, 96 (2): 173–179.
- Roop RM., Smibert RM., Johnson JL and Krieg NR., 1985:** DNA homology studies of the catalase-negative *Campylobacters* and "*Campylobacter fecalis*", an emended description of *Campylobacter sputorum*, and proposal of the neotype strain of *Campylobacter sputorum*. *Can J. Microbiol.*, 31 (9): 823-831.
- Rosenquist H., Sommer H M., Nielsen NL and Christensen BB., 2006:** The effect of slaughter operation on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant *Campylobacter*. *International Journal of Food microbiology*, 108(2): 226-232.
- Rossi M., Debruyne L., Zanoni RG., Manfreda G., Revez J and Vandamme P., 2009:** *Campylobacter avium* sp. nov., a hippurate-positive species isolated from poultry. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, (59): 2364-2369.
- Russell D., 2002:** Mechanisms of antimicrobial action of antiseptics and disinfectants: an increasingly important area of investigation. *J Antimicrob Chemother* ; 49 (4) : 597-599.
- Sebald M and Véron M., 1963 :** Teneur en bases de l'ADN et classification des vibrions. *Annales de l'Institut Pasteur (Paris)* 105: 897-910.
- Sacks J., Lieb S., Baldy M., Berta S., Patton M., White C., Bigler J., Witte J., 1986:** Epidemic campylobacteriosis associated with a community water supply. *Am J Public Health*, 76 (4): 424-8.
- Saeed A., Abd H., Sandstrom G., 2015:** Microbial aetiology of acute diarrhoea in children under five years of age in Khartoum, Sudan. *J. Med. Microbiol*, 64 (4): 432–437.
- Sahin O., Luo N., Huang S and Zhang Q., 2003:** Effect of *Campylobacter*-Specific Maternal Antibodies on *Campylobacter jejuni* Colonization in Young Chickens. . *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (9): 5372–5379.
- Sahin O., Kassem I., Shen Z., Lin J., Rajashekara G., Zhang Q., 2015:** *Campylobacter* in poultry: ecology and potential interventions. *Avian Dis.*, 59 (2):185-200.

- Saleha AA., 2004:** Epidemiological Study on the colonization of chickens with *Campylobacter* in Broiler Farms in Malaysia, possible risk and management factors. International Journal of Poultry Science, 3 (2): 129-134.
- Salihu, M.D.; Junaidu, A.U.; Magaji, A.A.; Yakubu, Y., 2012:** Prevalence and Antimicrobial Resistance of Thermophilic *Campylobacter* Isolates from Commercial Broiler Flocks in Sokoto, Nigeria. Res. J. Vet. Sci, 5: 51–58
- Salihu M.D., Junaidu A.U., Oboegbulem G., Egwu A., Magaji M., Ogbale A., 2009:** Prevalence of *Campylobacter* spp. in Nigerian Indigenous Chicken in Sokoto State Northwestern Nigeria. Int J.Vet. Med; 7 (1): 1-5.
- Samie A., Ramalivhana J., Obi L., 2007: Prevalence, haemolytic and haemagglutination activities and antibiotic susceptibility profiles of *Campylobacter* spp. isolated from human diarrhoeal stools in Vhembe District, South Africa. J Health Popul Nutr., 25(4): 406-413.
- Salyers A., and Whitt D., 2002:** Bacterial pathogenesis: a molecular approach, 2nd ed. A.S.M Press, Washington, D.C. 560 pages.
- Sánchez M., Fluckey W., Brashears M and McKee, R., 2002:** Microbial profile and antibiotic susceptibility of *Campylobacter* spp and *Salmonella* spp in broilers processed in air-chilled and immersion-chilled environments. Journal of Food Protection, 65 (6): 948-956.
- Sanders P., 1999:** Traitements thérapeutiques et antibiorésistance. Point Vet, 30 (198): 203-10.
- Sandstedt K., Ursing J and Walder M., 1983:** Thermotolerant *Campylobacter* with no or weak catalase activity isolated from dogs. Current Microbiology, 8(4) : 209-213.
- Sangaré L., Nikiéma K., Zimmermann S., Sanou I., Congo-Ouédraogo M., Diabaté A., Diandé S., Guissou I., 2012 :** *Campylobacter* Spp. Epidemiology and Antimicrobial Susceptibility in a Developing Country, Burkina Faso (West Africa). Afr. J. Clin. Exp. Microbiol 13:110–117.
- Schets M., Jacobs-Reitsma F., Van der Plaats J., Heer K., van Hoek A., Hamidjaja A., de Roda Husman M. and Blaak H., 2017:** Prevalence and types of *Campylobacter* on poultry farms and in their direct environment. J. Water Health, 15(6): 849-862.
- Schiaffino F., Colston M., Paredes-Olortegui M., François R., Pisanic N., Burga R., Peñataro-Yori P., Kosek MN., 2019:** Antibiotic Resistance of *Campylobacter* Species in a Pediatric Cohort Study. Antimicrob Agents Chemother, 63(2): 911-918.
- Schnider A., Overesch G., Korczak BM., Kuhnert P., 2010:** Comparison of real-time PCR assays for detection, quantification, and differentiation of *campylobacter jejuni* and *campylobacter coli* in broiler neck skin samples. J.Food. Prot, 73(6):1057-1063.
- Scott D A., 1997:** Vaccines against *Campylobacter jejuni*. The Journal of Infectious Diseases, 176 (2):183 –188.

- Seliworstow T., Bare J., Van Damme I., Uyttenele M., De Zutter L., (2015):** *Campylobacter* carcass contamination throughout the slaughter process of *Campylobacter*-positive broiler batches. *Int .J .Food. Microbiol.*, 194: 25-31.
- Shane S M., 1992:** The significance of *Campylobacter jejuni* infection in poultry: a review. *Avian Pathology*, (21): 189-213.
- Shanker S., Lee A and Sorrell T., 1990:** Horizontal transmission of *Campylobacter jejuni* amongst broiler chicks: experimental studies. *Epidemiol. Infect.*, (104):101-110.
- Shimaa O., El-Fadaly A and Barakat A., 2015:** Public health hazard of zoonotic *Campylobacter jejuni* ref- erence to Egyptian regional and seasonal variations. *Res. J. Microbiol.*, 10(8): 343-354.
- Shin E., Oh Y., Kim M., Jung J., Lee Y., 2013:** Antimicrobial resistance patterns and corresponding multilocus sequence types of the *Campylobacter jejuni* isolates from human Diarrheal samples. *Microb. Drug. Resist.* 19: 110-116.
- Simon MA., 2010 :** Facteurs de variation de la contamination des carcasses de poulets de chair par *Campylobacter* spp. à l'abattoir en lien avec la santé des bandes en élevage. Thèse pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation Nantes atlantique- ONIRIS, 95 pages.
- Sizemore DR., Warner B., Lawrence J., Jones A and Killeen K P., 2006:** Live, attenuated *Salmonella typhimurium* vectoring *Campylobacter* antigens. *Vaccine*, (24): 3793-3803.
- Skelly C and Weinstein P., 2003:** Pathogen survival trajectories: an ecoenvironmental approach to the modelling of human campylobacterioses ecology. *Environmental health perspectives*, (111):19-28.
- Skerman VBD., MacGowan V and Sneath PHA., 1980:** Approved Lists of Bacte-rial Names. *J Syst Bacteriol*30: 225- 420.
- Skirrow MB., 1977:** *Campylobacter* enteritis: a "new" disease. *British Medical J.*, (2):9-11.
- Skirrow MB., Jones DM., Sutcliffe E and Benjamin J., 1993:***Campylobacter*bacteraemia in England and Wales, 1981-1991. *Epidemiology and Infection* (110): 567-573.
- Snelling WJ., Matsuda M., Moore JE., Dooley JSG., 2005:** Under the microscope: *Campylobacter jejuni*. *Lett Appl Microbiol*, 41 (4): 297-302.
- Shobo O., Bester A., Baijnath S., Somboro M., Peer K., Essack Y., 2016:** Antibiotic resistance profiles of *Campylobacter* species in the South Africa private health care sector. *J. Infect. Dev. Ctries*, 10: 1214-1221.
- Smibert RM., 1974:** *Campylobacter*. In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (co-ed. R. E. Buchanan and N. E. ), 8th ed., p. 207. Baltimore: The Williams and Wilkins Company.

- Stanley J., Linton D., Sutherland K., Jones and, Owen RJ., 1995:** High-resolution genotyping of *Campylobacter coli* identifies clones of epidemiologic and evolutionary significance. J Infect Dis 172:1130-1134.
- Steinbrückner B., Ruberg F., Vetter-Knoll M., Kist M., 2001:** Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated in Freiburg from 1992 to 2000. [Abstract B-12] In: Hacker J, editor. Abstracts of scientific presentations of the 11th International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter* and Related Organisms, Freiburg, Germany, Sept 1-5, 2001. Int J Med Microbiol., 291 (Suppl 31): 8.
- Sulaeman S., Le Bihan G., Federighi M., Dé E., Tresse O., 2010:** Comparison between the biofilm initiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains to an inert surface using BioFilm Ring Test. J. Appl. Microbiol ; 108 : 1303- 1312.
- Suzuki H and Yamamoto S., (2009):** *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products in the world: a literature survey. J .Vet. Med .Sci, 71(3):255-261
- Svedhem A., Kaijser B., Sjogren E., 1981:** The occurrence of *Campylobacter jejuni* in fresh food and survival under different conditions. J Hyg (Lond), 87: 421 - 425.
- Swartz MN., 2002:** Human diseases caused by foodborne pathogens of animal origin. Clinical Infectious Diseases, 34 (3): 111-122.
- Szygalski Biasi R., Freitas de Macedo R., Malaquias A., Frediani-Wolf F., Stephan R., 2011 ;** Prevalence, strain identification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered pig carcasses in Brazil. Food Control ; 22 (5) : 702-07.
- Szymanski CM., Logan SM., Linton D and Wren B W., 2003:** *Campylobacter* tale of two protein glycosylation systems. Trends in Microbiology, 11 (5): 233-238.
- Tafa B., Sewunet T., Tassew, H., Asrat D., 2014.,** Isolation and Antimicrobial Susceptibility Patterns of *Campylobacter* Species among Diarrheic Children at Jimma, Ethiopia. Int. J. Bacteriol., 2014, 560617.
- Tajada P., Gomez-Graces L., Balas D., Cogollos R., 1996:** Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* to 12 beta-lactam agents and combinations with beta-lactamase inhibitors. Antimicrob Agents Chemother, 40(8):1924-5.
- Tambur Z., Miljkovic-Selimovic B., Doder R and Kulisic Z., 2010:** Susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from animals and humans to tetracycline African Journal of Microbiology Research, 4 (12): 1246-1250.
- Tang J Y H., Mohamad Ghazali F., Saleha A A., Nishibuchi M and Son R., 2009:** Comparison of thermophilic *Campylobacter* spp. occurrence in two types of retail chicken samples International Food Research Journal, (16):277-288.

- Tanner AC., Dzink JL., Ebersole JL and Socransky SS., 1987:** *Wolinella recta*, *Campylobacter concisus*, *Bacteroides gracilis*, and *Eikenella corrodens* from periodontal lesions. J Periodontal Res 22 (4): 327-30.
- Tarjaan V., 1985:** Investigation into the radiosensitivity of *Campylobacter fetus* subspecies *jejuni* in ground chicken meat. International Journal of Food Microbiology, 1(6): 321-326.
- Tauxe R V., 2001:** Incidence, trends and sources of Campylobacteriosis in developed countries: An overview. WHO Consultation on the Increasing Incidence of Human Campylobacteriosis: 42-43.
- Taylor DE and Courvalin P., 1988:** Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter* species. Antimicrobial agent and chemotherapy, 32(8): 1107-1112.
- Tazumi A., Kakinuma Y., Misawa N., Moore E., Millar, B.C. and Matsuda, M., 2009:** Identification and characterization of intervening sequences within 23S rRNA genes from more than 200 *Campylobacter* isolates from seven species including atypical Campylobacters. BMC Microbiol., 9(1): 256-266.
- Tenover C., Fennell L., Lee L., Le Blanc J., 1992:** Characterization of two plasmids from *Campylobacter jejuni* isolates that carry the aphA-7 kanamycin resistance determinant. Antimicrob. Agents Chemother, 36: 712–716.
- Thibodeau A., 2013 :** Caractérisation phénotypique et génotypique de *Campylobacter jejuni* et évaluation d'une stratégie de contrôle de la colonisation du poulet de chair par ce pathogène alimentaire, Thèse en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor en sciences vétérinaires, Université de Montréal Faculté de médecine vétérinaire, 267 pages.
- Thomas G., 2009 :** Les infections à *Campylobacter* s'agit-il d'une nouvelle zoonose ? Thèse pour obtenir le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie de l'Université de Henri Poincaré Nancy, 96 pages.
- Thompson LM., Smibert RM., Jonson JL., Krieg N R., 1988:** Phylogenetic study of the genus *Campylobacter*. International Journal of Systematic Bacteriology, 38 (2):190-200.
- Torralbo A., Borge C., Allepuz A., García-Bocanegra I., Sheppard SK., Perea A and Carbonero A., (2014):** Prevalence and risk factors of *Campylobacter* infection in broiler flocks from southern Spain. Prev.Vet. Med, 114(2):106-13.
- Trieber ÇA and Taylor DE., (2000).**Mechanisms of antibiotic résistance in *Campylobacter*.in: Nachamkin I, Blaser MJ. *Campylobacter*, 2nd édition. Washington. ASM Press: 441- 454.
- Trigunaite A., Dimo J and Jørgensen N., 2015:** Suppressive effects of androgens on the immune system. Cellular Immunology, 294 (2): 87–94.
- Trust T J., Logan SM., Gustafson CE., Romaniuk PJ., Kim NW., Chan VL., Ragan MA., Guerry P and Gutell RR., 1994:** Phylogenetic and molecular characterization of a 23S

rRNA gène positions the genus *Campylobacter* in the Epsilon subdivision of the Proteobacteria and shows that the presence of transcribed spacers is common in *Campylobacter* spp. *Journal of Bacteriology*, 176 (15):4597- 4609.

**Unicomb L., Ferguson J., Ashbolt R., Kirk D., Becker G., Patel S., Gilbert L., Valcanis M., Mickan L., 2006:** Low-level fluoroquinolone resistance among *Campylobacter jejuni* isolates in Australia. *Clin. Infect. Dis.* 42: 1368-1374.

**Vaishnavi C., Singh M., Thakur J., Thapa B., 2015:** Low Prevalence of Campylobacteriosis in the Northern Region of India. *Advances in Microbiology*, 5: 155-165.

**Vandamme P., 2000:** Taxonomy of the family *Campylobacteraceae*. A.S.M.Press. In *Campylobacter*, 3-26.

**Vandamme P and De Ley J., 1991:** Proposal for a new family, Campylobacteraceae. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 41: 451- 455.

**Vandamme P, Falsen E., Rossau R., Hoste B., Segers P., Tytgat R and De Ley J., 1991:** Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxon: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol*, 141 (1): 88-103.

**Vandamme P and Goossens H., 1992:** Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter*: a review. *Zentralbl Bakteriologie* 276 (4): 447-72.

**Vandeplas S., Dubois-Dauphin R., Palm R., Beckers Y., Thonart P., Théwis A., 2008:** Contamination of poultry flocks by the human pathogen *Campylobacter* spp. and strategies to reduce its prevalence at the farm level. *Biotechnol. Agron. Environ* ; 12 (3) : 317-34.

**Vandeplas S., Dubois-Dauphin R., Beckers Y., Thonart P and Théwis A., 2010:** Prevalence and sources of *Campylobacter* spp contamination in free-range broiler production in the southern part of Belgium. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 14 (2): 279-288.

**Van de Giessen AW., Mazurier SI., Jacobs-Reitsma W., Jansen W., Berkers P., Ritmeester W and Wernars K., 1992:** Study on the epidemiology and control of *Campylobacter jejuni* in poultry broiler flocks. *Applied and Environmental Microbiology*, 58 (6): 1913-1917.

**Van De Giessen AW., Tilburg JJHC., Ritmeester WS and Van Der Plas J., 1998:** Reduction of *campylobacter* infections in broiler flocks by application of hygiene measures. *Epidemiol. Infect.* (121): 57- 66.

**Varga C., Guerin M.T., Brash M.L., Slavic D., Boerlin P. and Susta L., 2019:** Antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from small poultry flocks in Ontario, Canada: A two-year surveillance study. *PLoS One*, 14 (8): 14-29.

**Vellinga A and Van Loock F., 2002:** The dioxin crisis as experiment to determine poultry-related *campylobacter enteritis*. *Emerg. Infect. Dis.*, 8(1):19-22.

- Véron M and Chatelain R., 1973:** Taxonomic study of the genus *Campylobacter*, Sebald and Veron and designation of the neotype strain for the type species, *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Veron." Int. J. Syst. Bacteriol. 23: 122-134.
- Vinueza-Burgos C., Wautier M., Martiny D., Van Damme I and De Zutter L. (2017):** Prevalence, antimicrobial resistance and genetic diversity of *Campylobacter coli* and *C. jejuni* in Ecuadorian broilers at slaughter age. Poult. Sci., 96(7): 2366-2374.
- VWA., 2011:** Food and Consumer Product Safety Authority (VWA). EURL *Campylobacter*. ISO 10272 revision and further development 6th Workshop Uppsala, 3-5 October 2011.
- Wagenaar A., Mevius DJ and Havelaar AH., 2006:** *Campylobacter* in primary animal production and control strategies to reduce the burden of human campylobacteriosis. Rev Sci Tech 25 (2): 581-594.
- Wagner A., Jabbusch M., Eisenblätter M., Hahn H., Wendt C., Ignatius R., 2003:** Susceptibilities of *Campylobacter jejuni* isolates from Germany to ciprofloxacin, moxifloxacin, erythromycin, clindamycin, and tetracycline. Antimicrob Agents Chemother., 47 (7): 2358-2361.
- Walmsley SL and Karmali M A., 1989:** Direct Isolation of Atypical Thermophilic *Campylobacter* Species from Human Feces on Selective Agar Medium. Journal of Clinical Microbiolgy. 27(4): 668-670.
- Wang Y., Zhang M., Deng F., Shen Z., Wu C., Zhang J., Zhang Q., Shen J., 2014:** Emergence of multidrug-resistant *Campylobacter* species isolates with a horizontally acquired rRNA methylase. Antimicrob. Agents. Chemother. 58: 5405-5412
- Wangroongsarb P., Cheunban N., Jittaprasatsin C., Kamthalang T., Saipradit N., Chaichana P., Pulsrikarn C., Parnmen S., Sripichai O., 2021:** Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* isolated from retail chickens in Thailand. Int J. Food Microbiol., 339: 109-117.
- Wardak S., Szych J., Zasada A., Gierczynski R., 2007:** Antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* clinical isolates from Poland. Antimicrob Agents Chemother., 51(3): 1123-1125.
- Wassenaar TM 1997:** Toxin production by *Campylobacter* spp. Clinical Microbiology Review, 10 (3): 466 - 476.
- Wassenaar TM and Blaser Mj., 1999:** Pathophysiology of *Campylobacter jejuni* infections of humans. Microbes and Infection, (1): 1023-1033.
- Waterman SC., 1982:** The heat-sensitivity of *Campylobacter jejuni* in milk. J Hyg (Lond), 88 (3): 529 -533.

- Wesley V., Muraoka W.T., Trampel D.W and Hurd H.S., 2005:** Effect of Preslaughter Events on Prevalence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Market-Weight Turkeys. *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (6): 824–2831.
- Wheat P F., 2001:** History and development of antimicrobial susceptibility testing methodology. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, (48): 1- 4.
- Wheeler JG., Sethi D., Cowden JM., Wall PG and Rodrigues LC., 1999:** Study of infectious intestinal disease in England: rates in the community, presenting to general practice, and reported to national surveillance. *BMJ*, (318): 1046–1050.
- Whyte P., Collins J.D., McGill K., Monahan C., O'Mahony H., 2001:** The effect of transportation stress on excretion rates of campylobacters in market-age broilers. *Poult. Sci*, 80: 817-20.
- Wieczorek K., ŁukaszBocian., Oseka J., 2020:** Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from carcasses of chickens slaughtered in Poland a retrospective study, **Food Control**, 112: 107159.
- Wieczorek K and Osek J., 2013:** Antimicrobial resistance mechanisms among *Campylobacter*. *Biomed. Res. Int.*, 2013: 1-12.
- Willis WL and Murray C., 1997:** *Campylobacter jejuni* seasonal recovery observations of retail market broilers. *Poult. Sci.*, 76: 314-317.
- Wilson IG and Moore JE., 1996:** Presence of *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in shellfish. *Epidemiol.Infect.*, 116 (2): 147-53.
- Winquist AG., Roome A., Mshar R., Fiorentino T., Mshar P., Hadler J., 2001:** Outbreak of campylobacteriosis at a senior center. *J. Am. Geriatr Soc.*, 49(3): 304-307.
- Yamada K., Saito R., Muto S., Sasaki M., Murakami H., Aoki K., Ishii Y., Tateda K., 2019:** Long-term observation of antimicrobial susceptibility and molecular characterisation of *Campylobacter jejuni* isolated in a Japanese general hospital 2000-2017. *J. Glob Antimicrob Resist.* 18: 59-63.
- Youssef M., Shurman A., Bougnoux ME., Rawashdeh M., Bretagne S and Strockbine N., 2000:** Bacterial, viral and parasitic enteric pathogens associated with acute diarrhea in hospitalized children from northern Jordan. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, (28): 257- 263.
- Zanoni RG., DebruyneL., Rossi M., Revez J and Vandamme P., 2009:** *Campylobacter cuniculorum* sp. nov., from rabbits. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, (59): 1666 -1671.

- Zendehbad B., Khayat-zadeh J. and Alipour A., 2015:** Prevalence, seasonality and antibiotic susceptibility of *Campylobacter* spp. Isolates of retail broiler meat in Iran. *Food Control*, 53: 41-45.
- Zhang M., Gu Y., He L., Ran L., Xia S., Han X., Li H., Zhou H., Cui Z., Zhang J., 2010:** Molecular typing and antimicrobial susceptibility profiles of *Campylobacter jejuni* isolates from north China. *J. Med. Microbiol.*, 59(10): 1171-1177.
- Zhao S., Tyson H., Chen Y., 2016:** Whole-Genome Sequencing Analysis Accurately Predicts Antimicrobial Resistance Phenotypes in *Campylobacter* spp. *Appl. Environ. Microbiol.*, 82(2): 459-466.
- Zhang Q., Lin J and Pereira S., 2003:** Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* in animal reservoirs: dynamics of development, resistance mechanisms and ecological fitness. *Anim Health. Res. Rev* 4: 63–71.
- Zhang Q., Meitzler JC., Huang S and Morishita T., 2000:** Séquence polymorphism predicted secondary structures, and surface-exposed conformational epitope of *Campylobacter* Major outer membrane protein. *Infection and Immunity*, 68 (10): 5679–5689.
- Zhang Q., Plummer J, 2008:** Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni*. In: Nachamkin I., Szymanski C., Blaser M.J., editors. ASM Press., 263-276.
- Zhang Q., Sahin O., McDermott PF and Payot S., 2006:** Fitness of antimicrobial-resistant *Campylobacter* and *salmonella*. *Microbes and Infection*, 8(7): 1972-1978.
- Zimmer M., Barnhart H., Idris U and Lee MD., 2003:** Detection of *Campylobacter jejuni* Strains in the Water Lines of a Commercial Broiler House and Their Relationship to the Strains That Colonized the Chickens. *Avian Diseases*, 47(1) :101-10.

---

# Annexes

---

## Annexe : (i)

### **Matériel de prélèvement et d'analyse**

#### Milieux de culture

Milieux déshydratés

- Gélose Columbia(IPA)
- Gélose Mueller Hinton (Fluka analytical)
- Gélose Karmali(Oxoid)
- Gélose TSI (IPA)
- Bouillon glycérolé peptoné
- bouillon *Brucella*
- Gélose Preston

#### Réactifs

- Supplément de Karmali (Oxoid)
- Supplément Preston(Oxoid)
- Bandelettes pour la recherche de l'oxydase (Oxoid)
- Disques antibiotiques
- Souches de reference : *C. coli* ATCC 43478 et *C. jejuni* subsp. *jejuni* ATCC 49943

#### Solutions

- Eau physiologique à 0,9%
- Peroxyde d'hydrogène à 3%
- Eau distillée
- Ethanol à 95%
- Huile à immersion
- Les colorants de Gram

#### Matériel usuel

##### ② Matériel jetable

- Gant en latex
- Papier buvard
- Ecouvillon stériles
- Pipettes pasteur stériles
- Lames et lamelles couvre-objet

- Boites pétri stériles (90 mm)
- Boites pétri stériles (45 mm).
- Sachets de prélèvement stériles.
- Sachet générateurs d` atmosphère microaerophil Camy Gen(Oxoid).

### **Matériel stérilisable**

- Tubes à essai
- Flacon de 250 ml
- Fioles de 500 ml
- Ciseaux, scalpels et pince

### **Équipements**

- Microscope optique
- Poire
- Anse de platine
- Bec bunsen
- Etuve réglable
- Pipteur
- Balance de précision
- Vortex
- Marqueurs
- Portoir
- Bain-marie
- Plaque chauffante
- Stérilisateur
- Autoclave
- Stomacher
- Jarre de 2.5 L
- Sachet de protection stéril
- Pied à coulisse
- Réfrigérateur
- Distributeur des disques antibiotiques.

➤ Annexe : (ii)



**Écouvillonnage cloacal**



**Fientes à partir le sol**



**Prélèvements de peau de cou**

**Figure 51. Différentes modalités des prélèvements aviaires (Photos personnelles)**

## Annexe : (iii)

### Techniques de préparation des différents milieux de culture utilisés pendant l'étude

#### ① Gélose Karmali (Oxoid)

Gélose de base Karmali (CM0935, Oxoid), et le supplément sélectif karmali (SR0167, Oxoid).

##### ➔ Préparation de la gélose

Gélose de base (Karmali)

Code : CM0935

Composition	(Gramme/litre)
Gélose e base columbia	39
Charbon activé	4
Hémine	32 mg

pH=7,4 ± 0,2

500 grammes permettent de préparer 11,6 litres de milieux

##### ➔ Ajout du supplément sélectif

Code : SR0205E

Composition	(Par flacon)
Pyruvate de sodium	50mg
Cefoperazone	16 mg
Vancomycine	10 mg
Amphotericine B	50 mg

Chaque flacon permet de supplémenter 500 ml de milieux

##### ➔ Préparation de milieu

Verser 21,5 de poudre dans 500 ml d'eau distillée, porter à ébullition jusqu'à dissolution complète, stériliser 15 minutes à 121°C l'autoclave, refroidir à 50°C et ajouter stérilement un flacon de supplément (SR0205E) préalablement reconstitué avec 2 ml d'un mélange éthanol/eau à parties égales, bien mélanger .

Verser environ 15 ml du milieu complet dans des boîtes de pétri stériles, laisser se solidifier, juste avant l'emploi, sécher soigneusement les boîtes de milieu gélose, de préférence après avoir retiré les couvercles, retourner les boîtes dans une enceinte de séchage jusqu'à ce que la surface de la gélose soit exempte d'humidité visible.

Pour le contrôle positive de qualité, en raison de la l'indisponibilité des souches de référence (*Campylobacter jejuni* ATCC® 29428), on a fait recours à des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées et confirmées pendant l'étude préliminaires.

## ② Gélose columbia au sang (IPA)

Gélose Columbia (IPA) additionnée de sang de mouton défibriné.

### ➔ Milieu de base (IPA)

Composition	Gramme /litre
Peptone	23
Amidon	1
Chlorure de sodium	5
Agar-agar	8

Verser de poudre dans 500 ml d'eau distillée, porter à ébullition jusqu'à dissolution complète, stériliser 15 minutes à 121°C l'autoclave.

### ➔ Sang de mouton défibriné stérile

Le volume de sang à ajouter représente 5% de volume de milieu de base .c'est à dire le milieu complet est constitué de 500 de milieu de base et 25 ml de mouton défibriné stérile.

### ➔ Préparation de milieu complet

Ajouter le sang stérilement au milieu de base préalablement fondu puis refroidi à 47°C, et mélanger. Puis, verser environ 15 ml du milieu complet dans des boites de pétri stériles, laisser se solidifier, juste avant l'emploi, sécher soigneusement les boites de milieu gélose, de préférence après avoir retiré les couvercles, retourne les boites dans une enceinte de séchage jusqu'à ce que la surface de la gélose soit exempte d'humidité visible.

## ③ Gélose Mueller Hinton au sang (Fluka analytical)

Gélose Muller Hinton (Fluka analytical) additionnée de sang de mouton.

### ➔ Milieu de base (Fluka analytical)

Composition	Gramme /litre
Infusion de viande	2
Hydrolysate de caseine	17,5
Amidon soluble	1,5
Agar	17

PH = 7,3 ± 0,2

Verser 21,5 de poudre dans 500 ml d'eau distillée, porter à ébullition jusqu'à dissolution complète, stériliser 15 minutes à 121°C l'autoclave.

➔ **Sang de mouton stérile**

Le volume de sang à ajouter représente 5% de volume de milieu de base .c'est à dire le milieu complet est constitué de 500 de milieu de base et 25 ml de mouton stérile.

➔ **Préparation de milieu complet**

Ajouter le sang stérilement au milieu de base préalablement fondu puis refroidi à 47°C, et mélanger.

Verser environ 15 ml du milieu complet dans des boites de pétri stériles, laisser se solidifier, juste avant l'emploi, sécher soigneusement les boites de milieu gélose, de préférence après avoir retiré les couvercles, retourne les boites dans une enceinte de séchage jusqu'à ce que la surface de la gélose soit exempte d'humidité visible.

➔ **Composition de Bouillon glycérolé peptoné (milieu de conservation)**

Composition	Quantité pour 75 ml de bouillon
Peptone (Oxoid réf. L37)	1 g
NaCl	0.5 g
Glycerol (Labosi )	31.5 g
Eau distillée ou ultra-pure	75 ml

Stockage et conservation : 3 mois à +3°C ± 2°C

## Annexe : (iv)

### Technique de la coloration de Gram :

#### ➔ Réalisation de frottis

- ➔ Sur une lame, déposer une goutte d'eau physiologique stérile.
- ➔ Ajouter à l'aide d'anse de platine stérilisée une fraction de colonie bien isolée.
- ➔ Étaler et fixer à la chaleur (au-dessus de flamme de bec bunsen).
- ➔ Poser la lame séchée sur le porte-objet reposant sur un bac de coloration.

#### ➔ Réalisation de la coloration

- ➔ Voici succinctement les différentes étapes de cette coloration :
- ➔ Coloration par le violet de gentiane.
- ➔ Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Rincer à l'eau de robinet.
- ➔ Mordançage au lugol (solution d'iode iodo-iodurée): étaler le lugol et laisser agir 30 secondes ; Rincer à l'eau de robinet.
- ➔ Décoloration (rapide) à l'alcool (+acétone): verser goutte à goutte un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Rincer sous un filet d'eau de robinet.
- ➔ Recoloration à la fuchsine. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau de robinet.
- ➔ Sécher la lame et Observer au microscope optique à objectif 100 à immersion (grossissement  $\times 1000$ ).

#### ➔ Lecture

Une coloration violette \_\_\_\_\_ ➔ des bactéries à gram positifs

Une coloration rose \_\_\_\_\_ ➔ des bactéries à gram négatifs

Les *Campylobacter* sont des bactéries à gram négatifs

### Technique de l'examen à l'état frais :

- ➔ Sur une lame, déposer une goutte d'eau physiologique stérile.
- ➔ Ajouter à l'aide d'anse de platine stérilisée une fraction de colonie bien isolée.
- ➔ Étaler doucement (afin de ne pas casser les flagelles)
- ➔ Recouvrir la lame par une lamelle, et en utilisant une bougie on fait le luttage de lamelle sur la lame (pour éviter les mouvements de convection de l'air).
- ➔ Observer rapidement au microscope optique à objectif 100 à immersion.
- ➔ Les *Campylobacter* sont des bactéries qui se caractérisent par mouvement caractéristique en vol de moucheron.

**Remarque:** on doit prendre garde à ne pas détruire les flagelles bactériens lors de la préparation des lames.

### **Test de la catalase**

#### ➔ **Principe**

En présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation de l'eau oxygénée. La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et en oxygène.

#### ➔ **Mode opératoire**

À l'aide d'une anse de platine, une colonie bien isolée est déposée sur une lame porte-objet propre avec une goutte d'eau oxygénée à 3%.

#### ➔ **Lecture**

La présence de la catalase est révélée par un dégagement gazeux sous forme de bulles dans les 30 secondes (AFNOR, 1995). Le genre de *Campylobacter* est composé de deux groupes :

L'un catalase positive contenant notamment *C.jejuni*, *C.coli* et *C.lari*, l'autre catalase négative contenant à titre d'exemple *C. upsaliensis* (E. Dromigny, 2007).

### **Examen de la croissance à 25°C**

#### ➔ **Principe**

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

#### ➔ **Mode opératoire**

À partir de la gélose Columbia au sang, on prépare une suspension, en mettant une colonie dans un 5 ml d'eau physiologique, puis on ensemence la surface de la gélose Karmali par la suspension, ensuite les boîtes sont incubées à 25°C en atmosphère microaérophile pendant 2 à 5 J j.

#### ➔ **Lecture**

On examine s'il y a une croissance ou non, les *Campylobacter* thermotolérants ne poussent pas à 25°C (OIE, 2005).

## Recherche de l'oxydase

### ➔ Principe

Ce test permet la mise en évidence d'une enzyme qui est la (phénylène diamine oxydase) de la bactérie à partir de leur culture en milieu gélosé.

Cette enzyme est capable d'oxyder le réactif : N dimethyl para phénylène diamine qui est incolore, et en présence de l'enzyme, il libère un composé bleu violacé.

### ➔ Mode opératoire

À l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur, prélever une fraction de colonie de confirmation et la déposer sur une bandelette imprégnée par un réactif pour la recherche de l'oxydase (NNNN tetramethyl-p-phénylène-diamine dichlorohydrate (oxoide).

### ➔ Lecture

La présence de cette enzyme se manifeste par l'apparition d'une coloration bleu/violette intense en 5 secondes aux maximums. Toutes les espèces du genre *Campylobacter* sont oxydase positives.

## Ensemencement de lagéloseTSI (Triple Sugar Iron)

### ➔ Principe

La recherche de la fermentation des sucres s'effectue sur la gélose au citrate de fer et aux trois sucres communément appelée la gélose TSI, ce test nous renseigne sur l'aptitude de production du sulfure de hydrogène (H<sub>2</sub>S), et la capacité d'utiliser les sucres comme source de carbone avec ou sans production de gaz par les bactéries (OIE, 2005).

### ➔ Mode opératoire

En utilisant une ou deux colonies de confirmation, on ensemence en stries la pente de milieu puis le culot par une piqûre centrale jusqu'au fond de la gélose. Incuber à 42°C en atmosphère microaérophile pendant 24 heures et prolonger jusqu'à 5 jours si nécessaire.

### ➔ Lecture

La fermentation de l'un des sucres va engendrer des sous-produits qui sont généralement acides, ce qui va entraîner un changement de couleur du milieu vers le jaune (virage au jaune de la rouge phénol), la production de gaz se traduit par l'apparition des bulles de gaz, et le milieu est complètement séparé ou soulevé, les *Campylobacter* thermotolérants ne fermentent pas les sucres et ne produisent pas de gaz à partir de glucose (Vandamme et al., 1991).

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

### ➔ Principe

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

### ➔ Mode opératoire

#### ❖ Inoculum

À partir d'une culture de 18-24 heures sur le milieu d'isolement (Karmali), on prépare une suspension en solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland 0,5.

#### ❖ Milieu

Gélose de Mueller-Hinton additionnée de 5 % de sang de mouton stérile.

### ➔ Technique

La suspension (inoculum) préparée à partir des cultures de 18-24 heures sur le milieu d'isolement (Karmali) est diluée en 1/10, puisensemencée par écouvillonnage. Sécher la surface de la gélose à 37 °C pendant 10 minutes pour éliminer toute trace d'humidité qui favorise l'envahissement.

Placer à la surface de la gélose un disque de l'acide nalidixique 30 µg et un disque de la céfalotine 30 µg. Etincuber à 37 °C en atmosphère microaérophile pendant 24 heures.

### ➔ Lecture

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

Présence de croissance bactérienne \_\_\_\_\_ ➔ Bactéries résistantes

Absence de croissance bactérienne \_\_\_\_\_ ➔ Bactéries sensibles

## Réalisation de l'antibiogramme des souches isolées

### ➔ Mode opératoire

À partir d'une culture pure de 18-24 heures sur le milieu d'isolement (Karmali, Oxoide), on prépare une suspension en solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland (0,5), ensuite après une dilution 1/10 de la suspension inoculum, onensemence la surface de la gélose de Mueller-Hinton (Fluka analytical) additionnée de 5 % de sang de mouton par écouvillonnage comme suit :

- ➔ Plonger un écouvillon en coton stérile dans l'inoculum et presser doucement en tournant sur la paroi interne du tube afin d'éliminer le liquide en excès retenu dans l'écouvillon.
- ➔ Étaler l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas, en stries serrées.
- ➔ Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois.
- ➔ Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- ➔ Fermer les boîtes et laisser 5 minutes sur la paillasse, Sécher la surface des géloses pour éliminer toute trace d'humidité qui favorise l'envahissement.
- ➔ Enfin, grâce à un applicateur, les disques d'antibiotiques à tester sont appliqués sur la gélose en veillant à ce qu'ils soient espacés et bien en place, les boîtes sont par la suite incubées à 37 °C pendant 24 heures en microaérophilie.

## Annexe (v)

### **Composition du coffret DRY SPOT *Campylobacter* (Coffret de 50 tests)**

#### **a) DR0151M**

- Cartes de réaction portant le réactif déshydraté. Chaque carte comporte 1 zone test et 1 zone de contrôle, au total 50 tests.
- Zone test : particules de latex bleu sensibilisées par des anticorps de lapin dirigés contre des antigènes de surface sélectionnés de *Campylobacter*.
- Zone de contrôle : particules de latex bleu sensibilisées par des anticorps de lapin non spécifiques des *Campylobacter*.
- 10 sachets plastique scellés contenant chacun 5 cartes de réaction et un dessiccateur.

#### **b) DR0152M**

Réactif d'extraction A Solution d'acide acétique.

#### **c) DR0153M**

Réactif d'extraction B Réactif neutralisant constitué d'un tampon glycine contenant de l'azoture de sodium à 0,09 % utilisé comme conservateur.

#### **d) DR0154M**

Contrôle positif, il est constitué d'un extrait de *Campylobacter* neutralisé par l'acide dans un tampon contenant 0,09 % d'azoture de sodium utilisé comme conservateur.

**e) DR0699M** : Pastelles.

**f) DR0155M** : Sacs de conservation.

## Annexe (vi)

**Tableau 41. La lecture et l'interprétation des réactions (API Campy)  
(Prospectus du fabricant).**

TESTS	REACTIONS	RESULTATS	
		NEGATIF	POSITIF
<b>PREMIERE PARTIE DE LA GALERIE</b>			
URE	UREase	Jaune	orange/ rouge
NIT	Réduction des NITrates	incolore	Rose/ rouge
EST	ESTérase	Incolore Bleu-pate	Turquoise
HIP	HIPurate	Incolore Gris-bleuté	Violet
GGT	Gamma Glutamyl Transférase	incolore	Orange-intense
TTC	Réduction du chlorure de triphéyltétrazolium (TriphénylTétrazolium Chlorure)	Incolore Rose pate	Rose/ rouge ou dépôt au fond de la cupule
PyrA	PyrrolidonylArylamidase	incolore	orange
ArgA	L-Arginine Arylamidase	Incolore	orange
AspA	L-AspartateArylamidase	incolore	orange
PAL	Phosphatase Alcaline	incolore	pourpre
<b>DEXIEME PARTIE DE LA GALERIE</b>			
H <sub>2</sub> S	Production d'H <sub>2</sub> S	incolore	Noir
GLU	Assimilation (GLUcose)	transparence  (absence de croissance ou sensibilité)	Trouble (même très faible)  (croissance ou résistance)
SUT	Assimilation (soduimSUccinaTe)		
NAL	Inhibition de croissance (acide NALidixique)		
CFZ	Inhibition de croissance (sodium CéFazoline)		
ACE	Assimilation (soduimACEtate)		
PROF	Assimilation (PROPionate)		
MLT	Assimilation (MaLate)		
CIT	Assimilation (trisodium)		
ERO	Inhibition de croissance (ERYthrOmycine)		

**Annexe (vii)**

**Tableau 42. Concentrations, et diamètres critiques pour *Campylobacter* spp. (CA-SFM, 2013).**

Antibiotique	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)		
		S	I	R
Ampicilline	10 µg	≥ 19	15-18	≤ 14
Amoxicilline/ac. Clavulanique	20/10 µg	≥ 21	15-20	≤ 14
Céfalotine	30 µg	≥ 18	13-17	≤ 12
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≥ 18	17	≤ 16
Erythromycine	15 UI	≥ 22	16-21	≤ 17
Acide nalidixique	30 µg	≥ 20	16-19	≤ 15
Tétracycline	30 UI	≥ 19	18	≤ 17
Ciprofloxacine	5 µg	≥ 25	23-24	≤ 22
Chloramphénicol	30 µg	≥ 23	20-22	≤ 19

## Résumé

La présente étude a porté sur 1200 échantillons, dont 960 échantillons aviaires et 240 échantillons humains.

Cette étude a pour objectifs ; l'évaluation de la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants chez le poulet de chair et chez l'Homme dans l'Est de l'Algérie, la caractérisation phénotypique des souches isolées au moyen de galeries Api Campy et de test d'agglutination au latex (Dryspot *Campylobacter*), l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques, et en fin l'étude de l'effet de certains facteurs de risque sur le taux de contamination aussi bien chez l'Homme que chez la volaille. Pour les échantillons aviaires, selon la norme NF-ISO 10272/2006, l'étude a porté sur 480 échantillons fécaux, 240 cæca et 240 échantillons de peaux de cou. Alors que, pour les échantillons humains, l'étude a porté sur 120 écouvillons rectaux et 120 prélèvements de selles diarrhéiques.

Les *Campylobacter* thermotolérants ont été isolés à partir de 65%, 55% et 70% du total des échantillons fécaux, de peaux de cou et de cæca respectivement. Au niveau des élevages, il existe une recrudescence saisonnière des infections à *Campylobacter* durant la période estivale ( $p < 0.05$ ). En revanche, la taille du troupeau, l'âge des sujets ne semblent pas avoir un effet sur le taux de contamination. Les souches isolées appartenaient à quatre espèces, l'espèce la plus fréquente *C. jejuni* (73.5%) suivie par *C. coli* (24 %), *C. lari* (1.6%) et *C. upsaliensis* (0.8%). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré que toutes les souches étaient résistantes à l'ampicilline et à l'amoxicilline / ac. Clavulanique, (83.3%) à l'érythromycine, (66,3%) à la tétracycline, (46,7%) à la ciprofloxacine. En revanche, aucune résistance n'a été constatée pour la gentamicine.

L'étude du profil de résistance nous a permis d'établir 16 profils de résistance différents. Le plus commun a été constaté 127 fois, incluant cinq antibiotiques. De plus, elle a révélé que 99.7% des souches présentaient une multirésistance aux antibiotiques. 37,6% des souches isolées présentaient des profils critiques associant une résistance à la ciprofloxacine et à l'érythromycine à la fois.

La présence de *Campylobacter* thermotolérants a été mise en évidence dans 36 échantillons humains, soit un taux d'isolement de 15%. Les patients âgés moins 5 ans sont plus exposés à l'infection. La campylobactériose humaine présente une recrudescence saisonnière avec un pic durant la saison chaude estivo- automnale. En revanche, L'infection n'était pas influencée par le sexe du patient. Des résistances acquises aux antibiotiques se sont développées, sauf à la gentamicine et le chloramphénicol. Si la résistance à l'érythromycine est restée faible (5.5%), il est important de surveiller la résistance à la ciprofloxacine qui est en augmentation (41.7%). Les souches humaines isolées appartenaient à trois espèces, l'espèce la plus fréquente *C. jejuni* (75%) suivie par *C. coli* (16.7 %) et *C. upsaliensis* (8.3%).

La technique de prélèvement n'a pas une grande influence sur le taux d'isolement chez les volailles. Alors que chez les êtres humains, il semble que l'écouvillonnage rectal donne un taux d'isolement plus élevé que celui obtenu à partir des selles diarrhéiques. D'autre part, nous avons trouvé que le milieu de Karmali (à base de charbon) et Preston (à base de sang) présentaient des taux de récupération et de sélectivité similaires.

**Mots clés :** *Campylobacter* thermotolérants, poulet de chair, filtration passive, Karmali, Preston, Homme.

## Abstract

The present study involved 1200 samples, including 960 avian samples and 240 human samples.

The objectives of this study are to evaluate the prevalence of thermotolerant *Campylobacter* in broilers and humans in eastern Algeria, the phenotypic characterization of the isolated strains by means of Api Campy galleries and latex agglutination test (Dryspot *Campylobacter*), the study of their susceptibility to antibiotics, and finally the study of the effect of some risk factors on the rate of contamination in humans as well as in poultry

For the avian samples, according to the NF-ISO 10272/2006 standard, the study involved 480 fecal samples, 240 caeca and 240 neck skin samples. For human samples, 120 rectal swabs and 120 diarrheal stool samples were used.

Thermotolerant *Campylobacter*s were isolated from 65%, 55% and 70% of the total faecal, neck skin and caeca samples respectively. At farm level, there was a seasonal increase in *Campylobacter* infections during the summer period ( $p < 0.05$ ). On the other hand, the flock size and the age of the birds do not seem to have an effect on the rate of contamination.

The isolated strains belonged to four species, the most frequent species being *C. jejuni* (73.5%) followed by *C. coli* (24%), *C. lari* (1.6%) and *C. upsaliensis* (0.8%). Antibiotic susceptibility study showed that all strains were resistant to ampicillin and amoxicillin/ac. Clavulanic, (83.3%) to erythromycin, (66.3%) to tetracycline, (46.7%) to ciprofloxacin. On the other hand, no resistance was found for gentamicin.

The study of the resistance pattern allowed us to establish 16 different resistance patterns. The most common was found 127 times, including five antibiotics. Furthermore, it revealed that 99.7% of the strains were multidrug-resistant to antibiotics. 37.6% of the isolated strains showed critical profiles combining resistance to both erythromycin and ciprofloxacin.

Thermotolerant *Campylobacter* was detected in 36 human samples, representing a 15% isolation rate. Patients under 5 years of age are at greater risk of infection. Human campylobacteriosis shows a seasonal recrudescence with a peak during the warm summer and fall season. However, the infection was not influenced by the sex of the patient.

Acquired resistance to antibiotics has developed, except to gentamicin and chloramphenicol. While resistance to erythromycin remained low (5.5%), it is important to monitor resistance to ciprofloxacin, which is increasing (41.7%). The human strains isolated belonged to three species, the most frequent species *C. jejuni* (75%) followed by *C. coli* (16.7%) and *C. upsaliensis* (8.3%).

The sampling technique does not have a great influence on the isolation rate in poultry. Whereas in humans, it seems that rectal swabbing gives a higher isolation rate than that obtained from diarrheal stools. On the other hand, we found that Karmali (charcoal-based) and Preston (blood-based) media had similar recovery rates and selectivity.

**Keywords:** thermotolerant *Campylobacter*, broiler, passive filtration, Karmali, Preston, human.