

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE-ALGER

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة - الجزائر

MEMOIRE DE MAGISTERE EN SCIENCES VETERINAIRES

OPTION : CONTROLE QUALITE ET ANALYSES ALIMENTAIRES

### Thème

**Contribution à l'étude de la prévalence et de la sensibilité aux antibiotiques des *Campylobacter* thermotolérants chez le poulet de chair dans la région d'Alger**

**Présenté par : Dr MESSAD Sara.**

#### **Le jury**

**Président :** Dr BENDEDDOUCHE B (Maitre de Conférences, EPSNV)  
**Promoteur :** Dr HAMDI T-M (Maitre de Conférences, ENSV)  
**Examineurs :** Pr RAMDANI BOUGUESSA N (Professeur, CHU Mustapha Bacha)  
Dr CHAHED A (Chargée de cours, ENSV)  
Dr BOUKHORS (Maitre de Conférences, ENSV)

Année universitaire : 2010/2011

## **REMERCIEMENTS**

Pour m'avoir accueilli dans votre service de microbiologie du Centre Hospitalo-universitaire Mustapha Bacha et mis à ma disposition tout ce dont j'avais besoin, Pr TAZIR M, vous avez fait que ce travail puisse se réaliser dans les meilleurs conditions, je vous en serai éternellement reconnaissante ;

Pour votre accueil, vos orientations et conseils, votre gentillesse, amabilité et disponibilité, Pr RAMDANI N vous avez été, pour moi, plus qu'un maître, soyez ici grandement remerciée ;

Incarnant le florilège du savoir, de la bonté et de la gentillesse, les mots vous étant attribués semblent si fades Dr HAMDI T M, tant vous n'avez cessé de croire en moi, me prêtant oreille attentive, prodiguant des conseils d'une incommensurable valeur, je n'aurai pas la prétention de vouloir vous remercier pour votre aide, mais tout simplement de vous dire que sans vous, ce modeste travail n'aurait point vu le jour ;

Mes sincères REMERCIEMENTS sont adressés à :

Dr BENDEDDOUCHE B, pour nous avoir fait l'honneur et le plaisir de présider le jury d'évaluation de notre modeste travail ;

Pr RAMDANI N, Dr CHAHED A et Dr BOUKHORS K pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail ;

Je tiens à remercier vivement Dr DJENANE F pour sa collaboration et son aide ;

Ma reconnaissance va particulièrement au Dr BRAHIMI M de l'Institut Pasteur d'Alger -Kouba- qui a été d'une très grande aide, gentillesse et d'une amabilité sans faille ;

Je tiens à remercier aussi Dr CHAHED A et Mme ZENIA pour leur aide précieuse ;

Je remercie les vétérinaires des bureaux d'hygiène communaux, Docteurs BOUAYAD L, LAMALI H, BOUABDALLAH A, GUECHTOULI S et REGGUEM S, pour m'avoir prêté main forte au moment où nous en avons le plus besoin ;

Je voudrais aussi remercier Mme BOUDJELAL L et le personnel du laboratoire de microbiologie du Centre Hospitalo-universitaire Mustapha Bacha qui m'ont assistés durant les manipulations.

## DEDICACES

Avare serais-je de ne vouloir prétendre dédier à mes parents que cet humble travail en guise de reconnaissance à ce qu'ils sont à mes yeux, trouvez ici, une once de tout l'amour que je vous porte et de toute l'admiration que je vous voue ;

Aux êtres qui m'ont offert leur infaillible et inconditionnelle affection Yacine et Narimene ;

Pour leur soutien moral, leurs encouragements et leur présence dans les moments de doute et de dure labeur, Mes oncles et tantes : Messaouda, Mustapha, Nadjia, Saïd et Khalifa vous m'avez transmis le courage, la force quand j'en avais le plus besoin ;

A ma très chère Djouhar Hanine que j'affectionne beaucoup ;

A mes cousins et cousines;

A ma sœur d'arme Sara, pour le trajet parcouru, les moments de doute et de complicité, pour les années passées ensemble et qui ont forgé en nous ce qui est plus qu'une amitié ;

A tous mes amis qui m'ont soutenu un jour.

## RESUME

Cette étude a pour objectifs, l'évaluation de la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants chez le poulet de chair dans la région d'Alger, et l'étude de la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques.

Les prélèvements de fientes (100), de contenu caecal (100) et de peaux de cou (100) réalisés dans quelques fermes et abattoirs avicoles, ont été analysés par la méthode NF-ISO 10272/1995 modifiée, et selon les recommandations de l'OMS et l'OIE.

L'étude de la résistance aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion de disques en gélose selon les recommandations de la CA-SFM/2010 et selon le manuel de standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale.

Les *Campylobacter* thermotolérants ont été isolés à partir de 85%, 98% et 80% du total des échantillons de fientes, contenus caecaux et peaux de cou respectivement.

L'étude de la sensibilité des souches isolées vis-à-vis de 8 antibiotiques a montré que 100% des souches étaient résistantes à l'acide nalidixique, 84% à la ciprofloxacine, 81% aux tétracyclines, 75% à l'ampicilline, 47% à l'augmentin, et 22% à l'érythromycine et aucune résistance n'a été observée à la gentamycine et au chloramphénicol. L'étude du profil de résistance a révélé que 100% des souches présentaient une multirésistance aux antibiotiques. 15% des souches isolées présentaient une résistance associée à la ciprofloxacine et à l'érythromycine à la fois.

Les résultats montrent que les *Campylobacter* thermotolérants sont non seulement très fréquents au niveau des fermes et abattoirs avicoles, mais présentent également des taux de résistance aux antibiotiques extrêmement élevés, représentant ainsi un risque important de contamination de l'homme via l'ingestion de viande de poulet et dérivés en engendrant un danger direct lors de toxi-infections alimentaires et un danger indirect d'antibiorésistance croisée entre souches aviaires et souches humaines.

**Mots clés :** *Campylobacter* thermotolérants, poulet de chair, prévalence, antibiorésistance

## SUMMARY

The aims of our study are the evaluation of the prevalence of thermotolerant *Campylobacter* in broilers in the region of Algiers, and the study of the antibiotics sensitivity of isolated strains.

The samples of droppings (100), ceecal content (100) and neck skin (100) taken from some poultry farms and slaughterhouses, were analyzed by the NF-ISO 10272/1995 amended method, and as recommended by the WHO and OIE.

The study of the resistance to antibiotics was determined by the method of disc diffusion agar as recommended by the CA-SFM/2010 and the standardization's manual of the antibiogram in human medicine in Algeria.

The thermotolerant *Campylobacter* were isolated from 85%, 98% and 80% of droppings, ceecal content and neck skin respectively.

The study of the sensitivity of the isolated strains to 8 antibiotics showed that 100% of them were resistant to nalidixic acid, 84% to ciprofloxacin, 81% to tetracycline, 75% to ampicillin, 47% to augmentin and 22% to erythromycin, and no resistance was observed to gentamicin and chloramphenicol. The study of the resistance profile revealed that 100% of strains showed resistance to several antibiotics.

15% of the isolates showed resistance to both ciprofloxacin and erythromycin.

The results showed that the thermotolerant *Campylobacter* are not only very common in our poultry farms and slaughterhouses, but also show extremely high rates of antibiotic resistance; thus representing a significant risk of contamination for humans through the ingestion of meat broilers and derivatives, generating a direct danger at food poisoning and an indirect danger of antibiotic cross between avian and human strains.

*Keywords:* broilers, thermotolerant *Campylobacter*, prevalence, antibiotic resistance.

## ملخص:

تهدف هذه الدراسة الى تقييم مدى انتشار الكمبيلوباكتري المتحمل للحرارة عندالدجاج اللاحم في منطقة الجزائر وضواحيها ، والى دراسة حساسية السلالات المعزولة للمضادات الحيوية .

وقد تم تحليل عينات من روث (100) ، ومحتوى الأعور (100) وجلد الرقبة (100) المتحصل عليها في بعض مزارع الدواجن والمسالخ حسب الطريقة المعتمدة ايزو 1995/10272 المعدلة ، و على النحو الموصى به من قبل المنظمة العالمية للصحة والمنظمة العالمية للأوبئة .

وحددت دراسة المقاومة للمضادات الحيوية بواسطة طريقة انتشار القرص في الأجار على النحو الموصى به من قبل المؤسسة الفرنسية للميكرو بيولوجيا ( CA-SFM/2010 ) ودليل توحيددراسة المقاومة للمضادات الحيوية في الطب البشري على الصعيد الوطني .

تم عزل الكمبيلوباكتري المتحمل للحرارة من 85 ٪ ، 98 ٪ و 80 ٪ من عينات الروث ، محتويات الأعور وجلد العنق على التوالي .

دراسة حساسية السلالات المعزولة لـ 8 مضادات حيوية أظهرت أن 100 ٪ من السلالات كانت مقاومة لحامض الناليدبكسيك ، 84 ٪ للسيبروفلوكساسين ، 81 ٪ للنتراسيكلين ، 75 ٪ للأمبيسلين ، 47 ٪ للأوغمونتيا و 22 ٪ للإريثروميسين و لم تلاحظ أي مقاومة للجنتاميسينوكلورامفينيكول . وكشفت هذاالدراسة أن 100 ٪ من السلالات المعزولة متعددةالمقاومة للمضادات الحيوية .

في حين أن 15 ٪ من هذه السلالات أظهرت مقاومة للسيبروفلوكساسينو الاريثروميسين في أن واحد .

وتظهر النتائج أن الكمبيلوباكتري المتحمل للحرارة ليس فقط منتشر جدا في مزارع الدواجن والمسالخ ، لكنه أيضا يحمل معدلات عالية للغاية لمقاومة المضادات الحيوية ، وبذلك فهو يتسبب في خطر مباشر علىالبشر يتمثل في التسمم الغذائي ، وخطر غير مباشر يتمثل في انتقال المقاومة للمضادات الحيوية من الدجاج الى البشر وذلك عن طريق تناول لحم الدجاج ومشتقاته .

**الكلمات المفتاحية :** الكمبيلوباكتري المتحمل للحرارة ، الدجاج اللاحم ، مدى انتشار و المقاومة للمضادات الحيوية .

**Liste des abréviations**

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**AFNOR** : Association française de normalisation.

**AFSSA** : Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

**ARN** : Acide ribonucléique.

**ATCC** : American type culture collection.

**ATP** : Adénosine triphosphate.

**BHIB** : Brain-heart infusion broth (bouillon cœur-cerveille).

**CA-SFM** : Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

**CDT** : Cytotolethal distending toxin.

**CE** : Communauté européenne .

**CHU** : Centre hospitalier universitaire.

**EFSA** : European food safety authority (autorité européenne de sécurité des aliments).

**ENSV** : Ecole nationale supérieure vétérinaire.

**FAO** : Food and agriculture organisation (Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture).

**HIDAOA** : Hygiène et industrie des denrées alimentaire d'origine animale.

**IC** : Intervalle de confiance.

**ISO** : International organisation for standardisation.

**JORA** : Journal officiel de la république algérienne.

**Kb** : kilobase.

**Mb** : Mégabase.

**mCCDA** : Modified charcoal-cefoperazone-deoxycholate agar.

<b>MLST :</b>	Multi locus sequence typing.
<b>NaCl :</b>	Sodium chloride (chlorure de sodium).
<b>NF :</b>	Norme française.
<b>OIE :</b>	Office international des épizooties.
<b>OMS :</b>	Organisation mondiale de la santé.
<b>PCR :</b>	Polymerase chain reaction.
<b>PFGE :</b>	Pulse field gel electrophoresis.
<b>pH :</b>	Potentiel hydrogène.
<b>tet :</b>	Tetracycline resistance gene.
<b>TIA :</b>	Toxi infection alimentaire.
<b>TSI :</b>	Triple Sugar Iron (Gélose au citrate de fer et aux 3 sucres).
<b>UFC :</b>	Unité formant colonie.
<b>UI :</b>	Unité internationale.
<b>VNC :</b>	Viable non cultivable.
<b>µg :</b>	Microgramme.
<b>µl :</b>	Microlitre.
<b>µm :</b>	Micromètre.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Différentes espèces et sous-espèces du genre <i>Campylobacter</i> et leur habitat principal.....	5
Tableau 2 : Caractères d'identification des principales espèces de <i>Campylobacter</i> .....	10
Tableau 3 : Tests de confirmation pour les <i>Campylobacter</i> thermotolérants.....	15
Tableau 4 : Prévalence de <i>Campylobacter</i> dans les lots de poulets de chair dans quelques pays Européens.....	23
Tableau 5 : Taux de contamination par <i>Campylobacter</i> de quelques produits alimentaires présentés au détail.....	26
Tableau 6 : Recueil de résultats documentés de l'infection à <i>Campylobacter</i> et la contamination de quelques produits dans quelques pays arabes.....	29
Tableau 7 : Recueil de résultats documentés de l'infection à <i>Campylobacter</i> et de la contamination des aliments en Algérie.....	30
Tableau 8 : Mécanismes de résistance acquise aux antibiotiques chez <i>C jejuni</i> et <i>C coli</i> .....	37
Tableau 9 : Description des fermes avicoles testées et des échantillons récoltés.....	48
Tableau 10 : Description des établissements d'abattage testés et des échantillons récoltés....	49
Tableau 11 : Interprétation des réactions observées sur la gélose TSI.....	56
Tableau 12 : Interprétation des résultats de la sensibilité à la céfalotine.....	56
Tableau 13 : Disques d'antibiotiques testés et leurs charges.....	annexe 4
Tableau 14 : Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour <i>Campylobacter</i> spp.....	annexe 5
Tableau 15 : Prévalence globale des <i>Campylobacter</i> thermotolérants.....	59
Tableau 16 : Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans les élevages.....	61
Tableau 17 : Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans les contenus caecaux.....	63
Tableau 18 : Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans les peaux de cou.....	65

Tableau 19 : résultats de l'antibiogramme pour l'ensemble des souches isolées.....	69
Tableau 20 : taux d'antibiorésistance des différentes souches <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées à partir des fientes dans les différents élevages.....	72
Tableau 21 : taux d'antibiorésistance des différentes souches <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées à partir des contenus caecaux dans les différents établissements d'abattage.....	73
Tableau 22 : taux d'antibiorésistance des différentes souches <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées à partir des peaux du cou dans les différents établissements d'abattage..	75
Tableau 23 : Profils de résistance des souches <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées des fientes.....	77
Tableau 24 : Profils de résistance des souches isolées des contenus caecaux.....	78
Tableau 25 : Profils de résistance des souches isolées des peaux de cou.....	80

Liste des figures

Figure 1 : *Campylobacter jejuni* en microscopie électronique à balayage.....7

Figure 2 : Nombre de cas humains signalés par 100 000 habitants dus aux *Campylobacter jejuni/coli*.....20

Figure 3 : Mécanisme pathogénique de *Campylobacter* dans le tube digestif humain.....33

Figure 4 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....38

Figure 5 : Répartition des échantillons selon leur nature.....45

Figure 6 : Répartition des échantillons selon leur provenance.....45

Figure 7 : Répartition des échantillons selon le lieu de prélèvement.....45

Figure 8 : Diagramme de la répartition générale des échantillons.....46

Figure 9 : Représentation schématique de la méthode d'analyse des *Campylobacter*.....47

Figure 10 : Les différentes modalités de prélèvement.....51

Figure 11 : Différents aspects des colonies de *Campylobacter* sur gélose Butzler.....53

Figure 12 : Aspect microscopique des *Campylobacter*.....54

Figure 13 : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants par élevage.....60

Figure 14 : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caecaux.....60

Figure 15 : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux de cou.....60

Figure 16 : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants par élevage.....62

Figure 17 : Répartition des résultats positifs de fientes selon le type de l'élevage.....62

Figure 18 : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caecaux.....64

Figure 19 : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caecaux par type d'établissement d'abattage.....65

Figure 20 : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux de cou.....66

Figure 21 : Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants dans les peaux de cou par type établissement d'abattage.....	67
Figure 22 : Combinaison des résultats positifs des contenus caecaux et des peaux de cou dans chaque établissement d'abattage.....	68
Figure 23 : Taux de résistance des souches isolées à partir des fientes.....	70
Figure 24 : Taux de résistance de souches isolées à partir des peaux de cou.....	71
Figure 25 : Taux de résistance de souches isolées à partir des peaux de cou.....	71

## SOMMAIRE

<b>Introduction</b> .....	1
<b>I Partie Bibliographique</b>	
1. Historique.....	3
2. Taxonomie.....	4
3. Génome de <i>Campylobacter</i> .....	6
4. Bactériologie.....	6
4.1 Caractères morphologiques.....	6
4.2 Physiologie et survie.....	7
4.3 Caractères biochimiques.....	9
5. Isolement et identification.....	11
5.1 Prélèvement des échantillons.....	11
5.2 Culture des <i>Campylobacter</i> .....	12
5.3 Identification des <i>Campylobacter</i> .....	15
5.4 Conservation des souches.....	16
5.5 Détection médicale des <i>Campylobacter</i> .....	16
5.6 Méthode de détection des <i>Campylobacter</i> dans les aliments.....	16
6. Caractérisation phénotypique et génotypique des <i>Campylobacter</i> .....	17
6.1 Méthodes phénotypiques.....	17
6.2 Méthodes génotypiques.....	18
7. Epidémiologie des campylobactériose alimentaire.....	19
7.1 Epidémiologie descriptive de la maladie humaine digestive.....	20
7.2 Epidémiologie analytiques des campylobactérioses alimentaires.....	21
7.3 Epidémiologie synthétique.....	27
8. Pouvoir pathogène.....	31
8.1 Dose infectieuse.....	31
8.2 Colonisation du tube digestif.....	31
8.3 Adhésion aux cellules intestinales.....	32
8.4 Pénétration dans les cellules intestinales.....	32
8.5 Production de toxines.....	32
9. Manifestations cliniques et complications.....	33
9.1 Chez les animaux.....	33

---

9.2 Chez l'homme.....	34
10. Résistance des aux antibiotiques.....	35
10.1 Définition.....	35
10.2 Mécanismes de résistance aux antibiotiques décrits chez <i>Campylobacter</i> .....	36
11. Traitement.....	38
12. Maitrise et prévention.....	39
12.1. Prévention au niveau des réservoirs aviaires.....	39
12.2. Prévention des contaminations alimentaires.....	40

## II Partie Expérimentale

1. Matériel et Méthodes.....	43
1.1 Matériel.....	43
1.2 Echantillons.....	44
1.3 Méthodes.....	46
2. Résultats.....	59
2.1 Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants.....	59
2.1 Résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées.....	68
3. Discussion.....	81
3.1 Justification de l'échantillonnage.....	81
3.2 Choix de la méthodologie de recherche : prélèvement, transport et analyse.....	82
3.3 Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants.....	83
3.4 Sensibilité aux antibiotiques des <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolés.....	93
3.4 Etude du profil de résistance des souches de <i>Campylobacter</i> thermotolérants isolées .....	100
<b>Conclusion.....</b>	<b>102</b>
<b>Recommandations.....</b>	<b>104</b>

## **INTRODUCTION**

Les toxi-infections d'origine alimentaire (TIA) ont un impact important sur la santé humaine. Souvent infectieuse et accidentelle, la TIA est une maladie contractée suite à l'ingestion de nourriture ou de boisson contaminées par des agents pathogènes qu'il s'agisse de bactéries, virus, parasites ou de prions.

80% des TIA seraient dus à des virus, 13% à des bactéries et 7% à des parasites, mais les agents bactériens seraient responsables de 71,7% des mortalités. 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). *Campylobacter* a l'impact le plus important en terme de morbidité tandis que *Salmonella* cause le plus de mortalités (ADAK et al., 2005).

Selon certains auteurs, les *Campylobacter* thermotolérants sont considérés comme étant la principale cause bactérienne de gastroentérites dans le monde avec une incidence croissante dans les pays développés et en en voie de développement (BURUCOA, 2007). En 2004, 183961 cas de campylobactérioses humaines ont été confirmés dans l'Union Européenne, soit une incidence de 47,6 cas pour 100 000 habitants (COLIN, 2006).

De part leur caractère ubiquiste et l'importance de leur portage par les animaux sauvages, familiers et de rente, les *Campylobacter* persistent dans divers biotopes, et contaminent ainsi les denrées alimentaires (FEDERIGHI, 2005).

De plus, *Campylobacter* est un commensal du tube digestif de nombreux animaux, notamment des volailles. Le poulet de chair constitue le principal réservoir des *Campylobacter* thermotolérants, et la consommation de viande de poulet contaminée a été identifiée comme principal facteur de risque de l'infection humaine (GOBET, 1990).

De manière générale, les TIA à *Campylobacter* entraîneraient environ 13 000 à 17 000 cas par an en France, dont environ 2 500 à 3 500 nécessiteraient une hospitalisation et un traitement antibiotique et 13 à 18 cas conduiraient au décès du patient (SALVAT et al., 2008).

Le développement de la résistance aux antibiotiques est affiché au niveau international comme une préoccupation majeure en termes de santé humaine et animale, car il remet en question l'efficacité des médicaments. La résistance des bactéries aux antibiotiques est une

problématique sérieuse en croissance constante tant en médecine humaine que vétérinaire. Elle donne lieu à des thérapies infructueuses, une morbidité et une mortalité accrues tant chez l'homme que chez l'animal. L'accroissement de la résistance antimicrobienne de souches pathogènes est dès lors devenue une des plus grandes menaces pour la santé publique. Par ailleurs, la résistance accrue est également responsable de la hausse des dépenses pour les soins de santé, entraînant des hospitalisations plus longues et l'utilisation plus onéreuse d'antibiotiques (PEYRAT, 2008).

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

L'utilisation systématique d'antibiotiques dans les élevages a été incriminée dans l'apparition de ce phénomène (DEVIE et al 2006).

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 l'Algérie.

C'est dans ce contexte, et en l'absence de données en matière de *Campylobacter* en médecine vétérinaire dans notre pays que nous nous sommes orientés vers ce sujet qui sera traité en deux volets :

- L'estimation de la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans quelques élevages et abattoirs de poulet de chair dans la région d'Alger.
- Et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées.

## 1. Historique

Les *Campylobacter* ont probablement causé un grand nombre d'infections chez l'animal et chez l'homme pendant des siècles sans qu'ils soient soupçonnés d'exister.

*Campylobacter* a été observé et décrit pour la première fois comme bactérie non cultivable en **1886** par Escherich, et cela à partir de colons d'enfants morts de ce qu'il nommait le « cholera infantum » (BUTZLER, 2004).

En **1909**, Mc Fadyean et Stockman ont identifié et isolé une *Vibrio-like* bactérie, agent d'avortement épizootique chez les ovins à partir de fœtus avortés (BUTZLER, 2004).

En **1919**, Smith et Taylor ont découvert une bactérie spiralée à partir de fœtus avortés chez les bovins, elle fut désignée ainsi sous le nom de *Vibrio fetus* et son caractère microaérophile fut reconnu rapidement, à cause de la difficulté rencontrée pour obtenir une croissance sur des géloses exposées à l'air (SMITH et TAYLOR, 1919).

En **1931**, Jones et *al.* attribuent les épisodes de « diarrhée d'hiver » chez des bovins à une infection par un autre *Vibrio* microaérophile qu'ils nommèrent *Vibrio jejuni* en raison de la morphologie de ce germe et de son site d'isolement, le jéjunum (JONES et *al.*, 1931).

**1938**, fut l'année de la première description d'accident d'origine alimentaire du à l'infection à *Campylobacter*. Elle correspond à une épidémie de gastroentérite portant sur 350 détenus de plusieurs établissements pénitentiaires américains (LEVY, 1946).

En **1944**, Doyle a isolé un autre *Vibrio* similaire à *Vibrio jejuni* à partir de fèces de porcs présentant des diarrhées et le classa comme *Vibrio coli* (DOYLE, 1944).

En **1947**, Vinzent *et al.* ont isolé des *Vibrio fetus* à partir de sang de trois femmes enceintes admises pour hyperthermie d'origine indéterminée (VINZENT et *al.*, 1947).

En **1957**, King décrit un lien entre le *Vibrio* décrit par Jones et *al.* en 1931 et des diarrhées chez l'homme, et montre que *Vibrio fetus* cultive à 25°C et à 37°C, mais pas à 42°C. King a décrit aussi quelques cas humains d'entérites associées à des campylobactéries « thermotolérantes » dus à un *Vibrio* qui ressemble à celui décrit par Vinzent, mais avec des caractéristiques biochimiques et antigéniques différentes. King nomma cet organisme « related Vibrio » (KING, 1957 ; KING, 1962).

En **1963**, Sébald et Véron montrèrent que ces vibrions microaérophiles se distinguaient des vibrions stricto sensu, par l'absence du métabolisme fermentatif des sucres, ils proposèrent le genre *Campylobacter* avec comme espèce type *C fetus* (SEBALD et VERON, 1963).

En **1968**, un pas crucial dans l'isolement de *Campylobacter* spp a été pris à l'institut national de recherches vétérinaires en Belgique grâce à l'élaboration d'un milieu sélectif par

Dekeyser et Butzler (DEKEYSER et *al.*, 1972). Depuis, les bactéries du genre *Campylobacter* ont été reconnues comme bactéries pathogènes pour l'homme.

En 1978, fut rapporté le premier cas certifié impliquant la contamination des volailles en tant que denrées alimentaires par *Campylobacter*. En effet, un poulet cuit au barbecue a été à l'origine d'un foyer d'entérites sur cinq personnes aux USA (DOYLE, 1981).

En 1984, le nom *Campylobacter pyloridis* a été proposé pour un groupe de *Campylobacter* isolés de l'estomac des humains qui deviendra par la suite *Helicobacter pylori* ouvrant la voie à une nouvelle ère en matière de gastro-entérologie (MARSHALL, 1986).

Dans les années 80 beaucoup de nouvelles souches ont été isolées chez l'homme et l'animal comme *C concisus* de la cavité buccale d'humain et *C cryaerophila*, futur *Acrobacter* et d'autres encore (VANDAMME, 2000).

## **2. Taxonomie**

Le genre *Campylobacter* constitue le genre type de la famille des *Campylobacteraceae*, avec les genres *Arcobacter*, *Dehalospirillum* et *Sulfurospirillum*, placée dans la classe des *Epsilonproteobacteria* (phylum des "*Proteobacteria*", domaine ou empire des "*Bacteria*" ou des "*Eubacteria*"), les espèces types sont *C jejuni*, *C coli* (EUZEBY, 2010).

Le genre *Campylobacter* contient 22 espèces isolées de l'homme et des animaux, les différentes espèces et leur habitat principal sont présentés dans le tableau 1 (EUZEBY, 2010).

Au sein du genre *Campylobacter*, il est possible de classer les espèces en 3 groupes : le groupe « thermophile », le groupe « fetus » et le groupe « anaérobie ». Le groupe thermophile est le plus important sur le plan clinique avec notamment les espèces *C jejuni* et *C coli* suivis par le groupe « fetus » avec *C fetus* (MEGRAUD, 2007).

**Tableau 1:** Différentes espèces et sous-espèces du genre *Campylobacter* et leur habitat principal (EUZEBY, 2010).

<b>Espèces</b>	<b>Habitat principal</b>
<i>C avium</i>	Oiseaux
<i>C Canadensis</i>	Oiseaux
<i>C coli</i>	Porcs, oiseaux, bovins, ovins, homme
<i>C concisus</i>	Homme
<i>C cuniculorum</i>	Lapins
<i>C curvus</i>	Homme
<i>C fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	Bovins, ovins
<i>C fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	Bovins
<i>C gracilis</i>	Homme
<i>C helveticus</i>	Chiens, chats
<i>C hominis</i>	Homme
<i>C hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i> .	Porcs, bovins, hamsters, daims, homme
<i>C hyointestinalis</i> subsp. <i>lawsonii</i>	Homme
<i>C insulaenigrae</i>	Mammifères marins, homme
<i>C jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	Homme
<i>C jejuni</i> subsp. <i>doylei</i>	Oiseaux, porcs, ruminants, chiens, chats
<i>C lanienae</i>	Homme, bovins, porcs
<i>C lari</i> subsp. <i>concheus</i>	Coquillages, homme
<i>C lari</i> subsp. <i>lari</i>	Oiseaux, coquillages, chiens, chats, singes
<i>C mucosalis</i>	Porcs
<i>C peloridis</i>	Coquillages, homme
<i>C rectus</i>	Homme
<i>C showae</i>	Homme
<i>C sputorum</i> bv. <i>Fecalis</i>	Ovins, bovins
<i>C sputorum</i> bv. <i>Paraureolyticus</i>	Bovins, homme
<i>C sputorum</i> subsp. <i>Bubulus</i>	Homme, bovins, ovins, porcs
<i>C subantarcticus</i>	Oiseaux sauvages
<i>C upsaliensis</i>	Chiens, chats, homme

### 3. Génome des *Campylobacter*

*Campylobacter* possède un chromosome circulaire de 1,64 Mb, leur génome est de très petite taille. 94% du génome code pour des protéines, en faisant à l'époque le génome connu le plus dense (PARKHILL et al., 2000).

La petite taille du génome des *Campylobacter* est sans doute à relier à la nature délicate et aux exigences nutritionnelles de ce microorganisme. Cet handicap est compensé par les très grandes capacités de réarrangements génomiques. De plus, l'analyse du génome de *Campylobacter* a révélé que ce micro-organisme est démuné de la plupart des mécanismes de réparation de l'ADN présent chez les autres genres bactériens. Ces observations pourraient expliquer les taux de mutation élevés observés chez cette bactérie (PEYRET, 2008).

Récemment, quatre nouvelles souches de *Campylobacter* ont été séquencées, le séquençage de ces génomes permet d'obtenir une vue plus globale des génomes de *Campylobacter*.

Ces souches sont :

- La souche *C jejuni* RM1221, a été isolée d'une carcasse de poulet et montrée comme étant capable d'envahir des cellules épithéliales in vitro, ainsi que de coloniser les caecums et l'épiderme de poulet (MILLER et al., 2000).
- La souche *C coli* RM2228, également isolée d'une carcasse de poulet, a été sélectionnée pour ses propriétés de multirésistance aux antibiotiques. Cette espèce présente une prévalence élevée chez le porc (MILLER et al., 2000).
- La souche *C lari* RM2100 est un isolat clinique. Cette espèce est prévalente chez les oiseaux, elle est retrouvée dans l'eau de source, l'eau de mer, et chez les crustacés (ENDTZ et al., 1997).
- La souche *C upsaliensis* RM3195 est un isolat clinique provenant d'un enfant de 4 ans diagnostiqué comme porteur du syndrome Guillain Barré. Les souches de *C upsaliensis* sont souvent retrouvées associées aux chiens et aux chats (HALD et MADSEN, 1997).

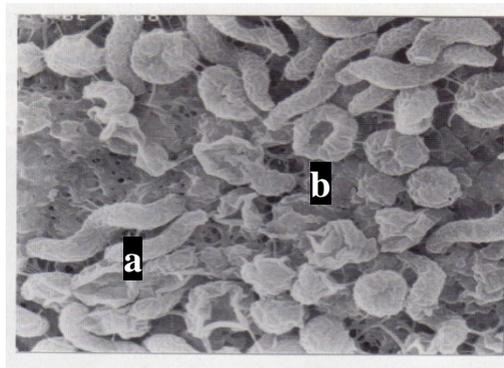
### 4. Bactériologie

#### 4.1. Caractères morphologiques

Les *Campylobacter* sont des bactéries à coloration Gram négative, asporulées, parfois capsulées. Ce sont des bacilles fins (0,2 à 0,5 micron de diamètre sur 8 micron de long), de

forme vibrioïde (incurvée en virgule, ou spiralée en « S », ou de forme hélicoïdale), sur cultures âgées apparaissent des formes coccoïdes (arrondies) non cultivables (SMIBERT, 1978). Les différentes formes de *C jejuni* sont montrées dans la figure 1.

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



a : forme vibrioïde

b : forme coccoïde

**Figure 1 :** *Campylobacter jejuni* en microscopie électronique à balayage (DROMYGNY, 1990).

Les cellules bactériennes au sein d'une colonie présentent une hétérogénéité d'âges et d'états physiologiques. Les formes spiralées sont majoritaires à la périphérie et les cellules coccoïdes sont plutôt au centre de la colonie. Cette observation suggère que les formes spiralées sont des bactéries en activité, alors que les formes coccoïdes sont des formes de vieillissement (NG *et al.*, 1985).

## **4.2. Physiologie et survie**

### **4.2.1 Température**

Toutes les espèces du genre *Campylobacter* peuvent se développer à 37°C. Ce sont des germes mésophiles. Toutefois les espèces d'intérêt en hygiène des aliments (*C jejuni*, *C coli*, *C lari* et *C upsaliensis*) sont dites thermotolérantes, ont une meilleure croissance à 42°C mais pas à 25°C. En effet la capacité de croissance de *Campylobacter* à des températures différentes constitue un caractère différentiel d'espèce important, notamment à 25° et 42°C

(FOSSE et MAGRA, 2004).

Ils survivent en atmosphère humide à + 4°C jusqu'à 21 jours en sous-vide et la congélation, si elle provoque une disparition partielle, elle n'assure pas leur élimination (survie jusqu'à 85 semaines à - 18°C) (BOURGEOIS et *al.*, 1996).

#### **4.2.2 Atmosphère**

*Campylobacter* a un métabolisme de type respiratoire, sa croissance nécessite la présence d'une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> (les *Campylobacter* sont dits capnophiles) et appauvrie en oxygène tout en étant oxygène- dépendant, c'est-à-dire qu'ils requièrent une concentration en oxygène entre 3 et 15 % (Les *Campylobacter* sont dits microaérophiles), ils utilisent toujours l'oxygène comme accepteur final d'électrons même si certaines souches cultivent en anaérobiose, tandis que d'autres supportent des concentrations atteignant 20% (FOSSE, 2004 ; GHAFIR et DAUBE, 2007).

#### **4.2.3 Sensibilité**

Les *Campylobacter* sont sensibles à la chaleur et la cuisson les détruit, de même que la pasteurisation. Ces bacilles sont plus sensibles aux conditions défavorables, telles que la dessiccation, la chaleur, les pH inférieurs à 5, les désinfectants ou l'irradiation, que la plupart des autres bactéries pathogènes intestinales ( GHAFIR et DAUBE, 2007). Ils ne cultivent pas en présence de 3,5% de NaCl (BOURGEOIS et *al.*, 1996).

#### **4.2.4 Les formes viables non cultivables (VNC)**

La première description de forme VNC pour *Campylobacter* a été rapportée par ROLLINS et COLWELL (1986). Un nombre croissant de travaux développés depuis une vingtaine d'années par différents microbiologistes ayant conduit de manière empirique, à l'émergence du concept de la forme Viable Non Cultivable des bactéries. Il était alors admis que la disproportion importante, constatée entre le nombre de bactéries observées au microscope (important) et les comptages d'UFC (faibles voire nuls), était constituée de bactéries entériques mortes. Ceci persista jusqu'à ce que l'on mette en évidence la persistance d'une « activité métabolique » chez une certaine proportion de ces bactéries « mortes », faisant apparaître le concept de bactéries VNC comme un problème de santé publique car :

- Le passage en forme VNC se fait lorsque les conditions environnementales deviennent

défavorables surtout la privation en nutriments, ou suite à des stress identiques à ceux rencontrés dans la production d'aliments (MURPHY *et al.*, 2006) ;

- Les cellules en état VNC échappent à l'investigation microbiologique traditionnelle y compris les méthodes incluant une étape de revivification ;
- Les cellules peuvent redevenir cultivables, donc pathogènes à la faveur d'un passage dans un « incubateur » complexe à savoir, le tube digestif d'un animal à sang chaud ou l'homme (FEDERIGHI, 2005) ;
- L'état VNC joue probablement un rôle important dans la survie de *Campylobacter* dans l'environnement et dans la contamination des volailles (PARK, 2002 ; MEGRAUD et BULTEL, 2004).

#### **4.2.5 Formation de biofilm**

Les *Campylobacter* sont capables de former des biofilms dans les environnements aquatiques. L'environnement créé au sein du biofilm peut les protéger de l'oxygène de l'air. Dans les biofilms, *Campylobacter* peut passer sous la forme VNC (MURPHY *et al.*, 2006).

Les biofilms jouent probablement un rôle important dans la persistance de *Campylobacter* en dehors de son hôte notamment *C jejuni* et *C fetus*, ainsi ils peuvent survivre dans les environnements agroalimentaires (GUNTHER et CHEN, 2009).

### **4.3 Caractères biochimiques**

Les *Campylobacter* ne sont capables de fermenter ni les sucres ni les composés azotés ; cette absence du métabolisme fermentatif sépare nettement le genre *Campylobacter* du genre *Vibrio*, et sont positifs au test de l'oxydase (LEMINOR L et VERON M, 1989). Ils ont un métabolisme énergétique oxydatif strict. Leurs substrats énergétiques sont essentiellement les métabolites du cycle de Krebs ou des acides aminés (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

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

**Tableau 2** : Caractères d'identification des principales espèces de *Campylobacter* (BURUCOA, 2007).

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

Ind Acet : indoxyl acétate esterase, Céf : céfalotine, Nal : acide nalidixique, Nit : nitrate réductase, H<sub>2</sub>S TSI : production d'H<sub>2</sub>S en milieu TSI, S : sensible, R : résistant, v : variable, nd : non déterminé, f : faible, \* : 30% des souches sont résistantes à l'acide nalidixique.

## **5. Isolement et identification**

Les différentes caractéristiques de *Campylobacter* ont pour conséquence que des méthodes d'analyse spécifiques, doivent être utilisées pour leur recherche et leur dénombrement.

Une des raisons qui explique la longue durée écoulée entre la première observation de *Campylobacter* et sa culture au laboratoire est certainement liée aux nombreuses exigences que ces microorganismes présentent (OIE, 2008).

### **5.1 Prélèvement des échantillons**

#### **5.1.1 Volailles**

Les *Campylobacter* peuvent être isolés de fientes fraîches ou d'écouvillons cloacaux, ces échantillons doivent être protégés de la dessiccation. Quand des écouvillons sont utilisés, un milieu de transport (tel que Cary Blair ou Stuart) doit être utilisé.

La culture de *Campylobacter* est réputée difficile et l'isolement à partir de matériel fécal ou des intestins peut être réalisé (OIE, 2008) :

- En exploitant la mobilité rapide et la petite taille des *Campylobacter* par rapport aux autres bactéries de la flore intestinale, en permettant leur translocation au travers de membranes filtrantes vers une gélose nutritive,
- En utilisant des géloses contenant des antibiotiques sélectifs, incluant d'ordinaire diverses combinaisons de céfoperazone, amphotéricine B, triméthoprime, vancomycine, etc.
- L'isolement des *Campylobacter* thermotolérants par les méthodes normatives (ISO 17025), combinées à une culture sélective à la température optimale de croissance de 42°C, qui permet d'inhiber la croissance de bactéries contaminantes.

#### **5.1.2 Bovins, moutons et porcs**

Des échantillons frais doivent être collectés (échantillons rectaux si possible) et doivent être protégés du dessèchement (OIE, 2008).

#### **5.1.3 Organes internes (cœur, rate, foie ou contenu stomacal)**

Lors de l'autopsie, les organes sont prélevés dans des conditions aseptiques et envoyés au laboratoire le jour même (OIE, 2008).

#### 5.1.4 Prélèvements d'abattoir

Pour déterminer le statut d'un lot en bout de chaîne d'abattage, des échantillons de peau (peau du cou ou du bréchet) peuvent être prélevés. Les eaux de rinçage de la carcasse entière peuvent être collectées aussi (OIE, 2008 ; BOURGEOIS et *al.*, 1996).

Pour les bovins, moutons ou porcs, des échantillons peuvent être collectés à partir des intestins en ouvrant aseptiquement la paroi intestinale ou en réalisant des écouvillonnages rectaux. Des échantillons de viande peuvent être prélevés et transportés au laboratoire dans des sacs stériles (JACOBS-REITSMA, 2000).

### 5.2 Culture des *Campylobacter*

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

#### 5.2.1 Conditions et difficultés de culture

La culture des *Campylobacter* ne peut être obtenue qu'avec des méthodes particulières, adaptées à leurs exigences nutritives et à leur caractère microaérophile.

- Microaérophilie

Exceptée l'espèce *C cryaerophila*, les *Campylobacter* ne peuvent habituellement pas pousser sur des milieux gélosés exposés à l'air. Ceci s'explique par l'accumulation de peroxydes au sein de la cellule entraînant une importante oxydation conduisant la mort de la cellule (THOMAS, 2009).

Des concentrations optimales d'oxygène, permettant la croissance de la majorité des espèces ont été choisies, le mélange gazeux le plus souvent utilisé est celui préconisé par KIGGINS et PLASTRIDGE (1956) à savoir  $O_2 = 5\%$  ;  $CO_2 = 8 \text{ à } 10\%$  ;  $N_2 = 85\%$ . Actuellement, ces conditions atmosphériques sont facilement obtenues soit dans des jarres étanches avec des sachets générateurs d'atmosphère microaérophile, soit dans des étuves réglables, par l'utilisation directe du mélange gazeux stocké dans des bouteilles.

- Notion de compétitivité

Dans le cas d'infestation du tube digestif humain, de même que la contamination des

aliments, *Campylobacter* va entrer en compétition avec différents types de bactéries, de plus, il s'avère être un très mauvais compétiteur biologique (THOMAS, 2009).

Afin d'isoler *Campylobacter*, il faudra soit utiliser un système de filtration ou utiliser des antibiotiques afin de contrôler les flores bactériennes compétitives.

- **Température d'incubation**

En fonction de la nature des prélèvements et des conditions de repiquage, la durée d'incubation est de 24 à 48 h à une température comprise entre 37 et 42°C. Dans certains cas (primoculture de souches congelées) cette durée doit être prolongée (FOSSE et MAGRAS, 2004).

- **pH**

Plusieurs expériences ont permis à Doyle de montrer que la zone optimale de croissance pour les *Campylobacter* se situait aux abords du pH neutre compris entre pH 6 et 8 (DROMIGNY, 2007).

## **5.2.2 Enrichissement**

L'enrichissement consiste à incuber les prélèvements dans des bouillons sélectifs pendant 24 à 48h à 37°C, ces bouillons dérivent pour la plupart des milieux solides les plus connus.

L'enrichissement permet d'obtenir une culture positive beaucoup plus souvent que l'isolement direct sur gélose, en particulier à partir d'aliments ou de selles maintenus en température ambiante, ils doivent être ensemencés largement (par exemple 25 g d'aliments pour 100 ml de milieu) (LEMINOR et VERON, 1989).

## **5.2.3 Isolement des *Campylobacter***

Selon que les échantillons sont supposés mono ou poly-microbiens, des milieux sélectifs ou non sont utilisés. Ces milieux seront ensemencés directement avec l'échantillon ou après une pré culture faite dans un milieu d'enrichissement.

### **5.2.3.1 Isolement non sélectif**

A partir de produits supposés mono microbiens (hémoculture, par exemple) on pourra obtenir en atmosphère microaérophile, des isollements en surface de toutes les espèces de

*Campylobacter* sur des milieux solides tel que Mueller Hinton, Brucella agar, *Campylobacter* agar base additionnés au sang (LEMINOR et VERON, 1989).

### **5.2.3.2 Isolement sélectif pour *C jejuni* et *C coli***

- Technique de filtration

La première technique d'isolement sélectif proposée a été celle de la filtration différentielle sur membrane, en utilisant une membrane avec des pores de 0,65 µm de diamètre (BUTZLER et *al.*, 1973 ; SPEEGLE et *al.*, 2009), cette membrane est traversée uniquement par les *Campylobacter* et quelques autres petites bactéries.

Les techniques de filtration sont particulièrement convenables pour l'isolement de certaines espèces moins souvent responsables de diarrhée tel que *C upsaliensis*, car cette espèce est sensible à la plupart des antibiotiques utilisés dans les milieux d'isolement des autres *Campylobacter* (GOOSSENS et *al.*, 1990). Cette technique fastidieuse permet d'isoler les espèces fragiles mais nécessite que les prélèvements soient très riches en *Campylobacter* (OMS, 2003).

- Milieux sélectifs

Dans la plupart des cas, les milieux sélectifs sont nécessaires pour permettre l'isolement des *Campylobacter* à croissance lente relativement dans les échantillons avec une flore microbiologique compétitive (BUTZLER et SKIRROW, 1979).

Les milieux sélectifs sont des géloses ou des bouillons au sang, additionnées de plusieurs antibiotiques qui vont inhiber la flore saprophyte et contaminante des prélèvements. Les *Campylobacter* étant sensibles au stress oxydatif, la plupart de ces milieux contiennent des ingrédients qui les protègent des effets toxiques des oxydants. Les plus utilisés sont le sang et le charbon de bois (CORY et *al.*, 1995).

Deux types de milieux ont été développés pour l'isolement sélectif des *Campylobacter*. Des milieux à base de sang tels que celui de Butzler (BUTZLER et SKIRROW, 1979), de Skirrow (SKIRROW, 1977), de Campy-BAP (BLASER et *al.*, 1979) et le milieu Preston (BOLTON et ROBERTSON, 1982), et des milieux à base de charbon de bois, dont la gélose Karmali (KARMALI et *al.*, 1986) et la gélose mCCDA (HUTCHINSON et BOLTON, 1984).

### 5.3 Identification des *Campylobacter*

#### 5.3.1 Aspect des cultures

Les colonies typiques apparaissent généralement au bout de 48 à 72 h, elles sont petites, plates, arrondies, grisâtres ou translucides, étalées, et ont tendance à diffuser le long des trains laissés par le fil de platine utilisé pour l'ensemencement, lorsqu'elles sont bien espacées elles évoquent des gouttelettes qui auraient éclaboussé la gélose (DROMIGNY, 2007).

#### 5.3.2 Identification au microscope

L'examen microscopique peut avoir un intérêt à l'état frais, on observe un aspect en vol de moucheron. Un frottis coloré permet de noter la présence de bactéries incurvées de petite taille (MEGRAUD, 2000).

#### 5.3.3 Confirmation

Les tests de confirmation de la présence de *Campylobacter* thermotolérants et leur interprétation sont donnés dans le tableau 3.

**Tableau 3** : Tests de confirmation pour les *Campylobacter* thermotolérants (OMS, 2003).

Test de confirmation	Résultats pour les <i>Campylobacter</i> thermotolérants
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)	_(trace de noircissement possible pour <i>C coli</i> )
Culture à 25°C	-

TSI = Gélose au citrate de fer et aux 3 sucres, + : positif, \_ : négatif.

### 5.3.4 Identification de l'espèce

Parmi les *Campylobacter* poussant à 42°C, les espèces les plus fréquemment rencontrées à partir d'échantillons d'origine animale ou alimentaire sont *C jejuni* et *C coli*. *C jejuni* peut être différencié des autres espèces sur la base de l'hydrolyse de l'hippurate car c'est la seule espèce positive à ce test, cependant 5% de souches de s'avèrent négatives (OIE, 2008).

La sensibilité à l'acide nalidixique était une des caractéristiques les plus utilisées pour la confirmation du genre *Campylobacter* et l'identification de l'espèce, mais elle risque de poser des difficultés d'interprétation du fait des résistances acquises, maintenant très fréquentes chez *C jejuni* et encore plus chez *C coli* (MEGRAUD, 2000 ; OMS, 2003 ; OIE, 2008).

L'identification biochimique peut être complétée ou même remplacée par des méthodes moléculaires, divers tests détectent et différencient toutes les espèces thermophiles (FERMER et ENGVALL, 1999). La PCR du gène de l'hippuricase identifie *C jejuni* avec une plus haute sensibilité que l'épreuve classique de l'hydrolyse de l'hippurate (BONJOCH et al., 2010).

### 5.4 Conservation des souches

Pour une période de quelques jours les souches peuvent être conservées sur boîtes de culture à 4°C. Pour une longue période, les souches sont congelées à - 70°C en bouillon glycérolé à 20% pendant de nombreuses années (FRENEY, 2007).

### 5.5 Détection médicale des *Campylobacter*

Une recherche de *Campylobacter* devra avoir lieu dès qu'il existe des symptômes digestifs associant diarrhée, douleurs abdominales et/ou présence de sang dans les selles.

La recherche de *Campylobacter* se fera essentiellement à partir de matières fécales que ce soit un échantillon de selles ou un écouvillonnage rectal. L'écouvillonnage représentant un meilleur milieu d'analyse du fait que l'on va racler la muqueuse du côlon, lieu de prédilection des *Campylobacter* (THOMAS, 2009).

### 5.6 Méthode de détection des *Campylobacter* dans les aliments

En raison du grand nombre de milieux d'enrichissement et d'isolement 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 (AFNOR, 2004).

## **6. Caractérisation phénotypique et génotypique des *Campylobacter***

Différents systèmes de typage ont été développés pour l'étude de l'épidémiologie des infections à *Campylobacter*, ces méthodes varient dans leur complexité et leur capacité à différencier entre les différents groupes, elles incluent les méthodes phénotypiques et les méthodes génotypiques et chaque méthode a ses avantages et ses inconvénients.

### **6.1 Méthodes phénotypiques**

Les méthodes de typage phénotypique sont les premières méthodes qui ont été développées, elles permettent une première approche de l'étude de la population bactérienne et sont le plus souvent des méthodes rapides et faciles à mettre en œuvre (LUKINMAA et *al.*, 2004).

Mais en général, ces méthodes sont moins discriminantes, moins répétables et moins reproductibles que les méthodes de typage génétique.

#### **6.1.1 Biotypage**

Cette technique de typage consiste à déterminer les caractères biochimiques des isolats étudiés. Ces tests peuvent être complétés par l'étude de la croissance à différentes températures ou la résistance à certains antibiotiques. Il existe également une galerie API CAMPY® commercialisée par les laboratoires bioMérieux permettant l'identification en 24h des *Campylobacter* et dont le principe repose sur l'analyse du biotype (PEYRAT, 2008).

#### **6.1.2 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*, deux schémas de typage sont reconnus : le schéma de Penner (PENNER et *al.*, 1983) basé sur l'utilisation des antigènes thermostables et le schéma de Lior (LIOR et *al.*, 1982) basé sur les antigènes protéiques thermolabiles.

#### **6.1.3 Lysotypage**

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* (THOMAS, 2009).

## **6.2 Méthodes génotypiques**

Ces méthodes reposent sur une mesure des séquences génétiques ; elles peuvent être directes (techniques utilisant le séquençage des nucléotides) ou indirecte (techniques utilisant les séparations par électrophorèse). Les méthodes réalisant une mesure indirecte des séquences d'ADN peuvent porter sur l'ensemble du chromosome bactérien.

### **6.2.1 Electrophorèse en champ pulsé (PFGE)**

Cette technique repose sur une digestion de l'ensemble du chromosome bactérien par des enzymes de restriction. Elle permet d'observer des fragments d'ADN dont la taille varie de quelques kb à plus de 10 000 kb. Les fragments d'ADN sont ensuite soumis à des champs électriques alternatifs.

C'est une méthode dont le pouvoir discriminant est important parce que l'ensemble du génome est analysé, mais un certain nombre de souches ne sont pas typables en raison de la production d'ADNase. Cette technique de typage est cependant actuellement la plus utilisée pour *Campylobacter* (LUKINMAA et al. 2004).

### **6.2.2 Méthodes basées sur la technique de la PCR**

Différents protocoles de mise en évidence de *Campylobacter* par PCR ont été décrits, telles que la PCR du gène codant pour une protéine d'attachement, la flagelline, ou les gènes codant pour les ARN ribosomiaux. L'utilisation de ces techniques a généralement montré une capacité satisfaisante à détecter la présence de *Campylobacter* et à identifier genre et espèce bactériens. Les méthodes de PCR ont été démontrées aussi sensibles et spécifiques que la culture classique avec l'avantage d'un diagnostic rapide et ainsi un traitement rapide des cas aigus (SCOTT et al., 2010).

### **6.2.3 Ribotypage**

Après digestion de l'ADN génomique, une hybridation en Southern Blot (technique de transfert des fragments d'ADN sur une membrane filtrante et ces fragments seront identifiés par sonde) est réalisée avec des sondes spécifiques de gènes de l'ARN. Cette méthode présente surtout un intérêt pour la détermination de l'espèce quand l'analyse phénotypique est difficile car le pouvoir discriminant est faible, ce qui est lié à la stabilité du gène étudié (WASSENAAR et NEWELL, 2000).

#### **6.2.4 Séquençage nucléotidique**

Le séquençage nucléotidique direct (avec ou sans amplification par PCR) devient de plus en plus automatisé et par conséquent devient une méthode alternative raisonnable pour le typage des *Campylobacter*. Le séquençage portant sur le locus de la flagelline a été utilisé dans différentes études, cette technique est très reproductible (MEINERSMANN *et al.*, 1997).

#### **6.2.5 Technique de séquence des loci multiples (MLST)**

Le séquençage du génome complet de la souche de *C jejuni* NTCC 11168 a permis d'améliorer la compréhension de la biologie moléculaire de ce pathogène. L'analyse du génome complet doit permettre à terme d'identifier des gènes qui codent pour des facteurs à l'origine des différentes formes cliniques observées, des gènes responsables des séquelles post-infectieuses ou encore des gènes témoins de l'adaptation à certaines hôtes (RAGIMBEAU *et al.*, 2008).

### **7. Epidémiologie des campylobactérioses alimentaires**

*Campylobacter* est considéré comme un des agents zoonotiques majeurs à coté de *Salmonella* par le règlement européen 2160/2003 (règlement CE n° 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003 sur le contrôle des Salmonelles et d'autres agents zoonotiques spécifiques présents dans la chaîne alimentaire : journal officiel de l'Union européenne n° L 325 du 12/12/2003). En Algérie il n'existe aucun texte législatif qui spécifie la recherche des *Campylobacter* dans les denrées alimentaires notamment dans l'arrêté interministérielle du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 Janvier 1998 du JORA N°35, fixant les critères microbiologiques relatifs aux denrées alimentaires.

Les *Campylobacter*, longtemps mis de côté, sont désormais considérés comme la principale cause bactérienne de gastroentérites dans le monde aussi bien dans les pays en voie de développement que dans les pays développés (BOLLA et GARNOTEL, 2008). Ce récent regain d'intérêt s'explique notamment par l'augmentation importante d'infections entériques à *Campylobacter* recensées mais aussi par l'augmentation des résistances de *Campylobacter* aux antibiotiques et enfin par la découverte de conséquences graves telles que le syndrome de Guillain Barré (THOMAS, 2009).

## 7.1 Epidémiologie descriptive de la maladie humaine digestive

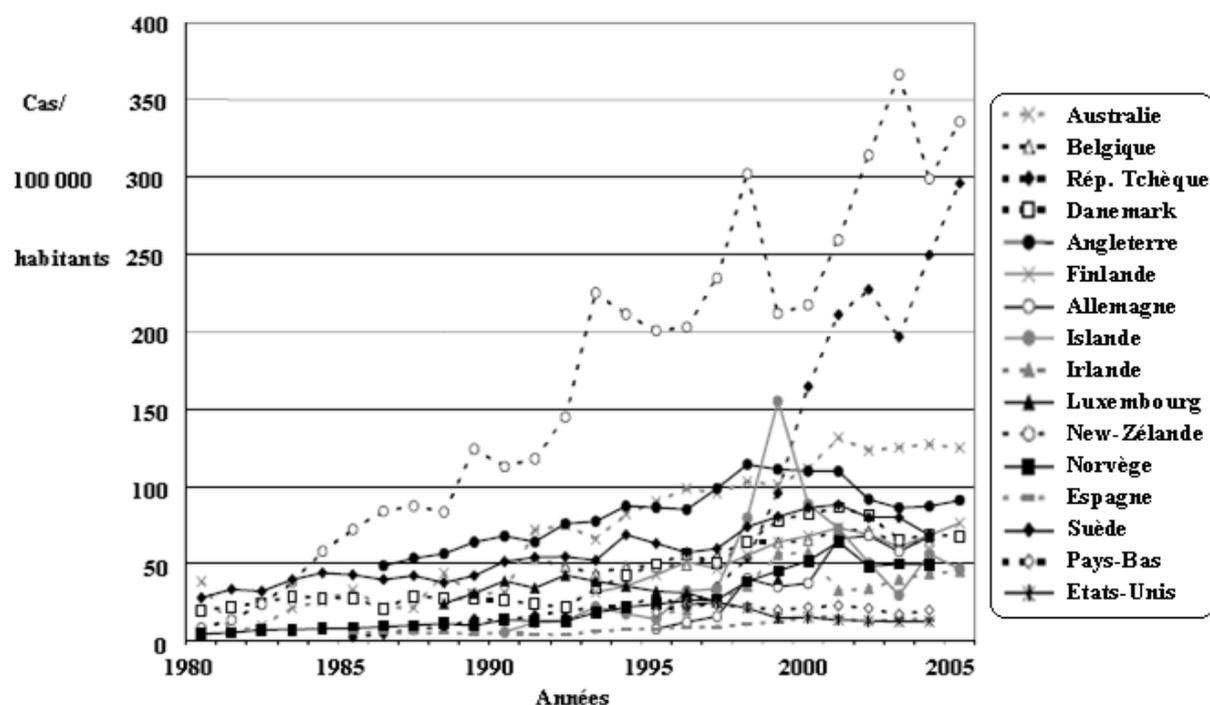
Les intoxications alimentaires à *Campylobacter* (campylobactérioses digestives) surviennent soit de façon sporadique, en affectant un individu ou un petit groupe d'individus tel qu'une famille, soit une plus large communauté lors d'épidémie (OMS, 2003).

Les différentes formes de la campylobactériose digestive sont :

### 7.1.1 Forme sporadique

Les cas sporadiques sont la principale forme d'expression des infections à *Campylobacter* contrairement aux véritables foyers alimentaires qui sont relativement rares. Pour les cas sporadiques, de nombreuses études cas/témoins ont identifié les produits à base de viandes de volailles comme principal facteur de risque (COLIN, 2006). Plusieurs cas sporadiques dus à la consommation de coquillages (huitres et clams) ont été signalés (FEDERIGHI, 2005)

La figure 2 montre l'évolution dans le temps du nombre de cas humains signalés dus au *Campylobacter* dans quelques pays.



**Figure 2** : Nombre de cas humains signalés par 100 000 habitants dus aux *Campylobacter jejuni/coli* (HARTNETT et al., 2009).

### 7.1.2 Forme épidémique

Les formes collectives de campylobactérioses sont le plus souvent alimentaires, principalement associés à la consommation de viande de volaille, lait et produits laitiers, salades et coquillages, mais d'autres foyers ont été identifiés ayant pour origine des baignades ou la consommation d'eau contaminée (DRONIGNY, 2007).

*Campylobacter* est une cause courante de foyers de toxi-infection alimentaire en Europe, 29 foyers de toxi-infection alimentaire à *Campylobacter* ont été confirmés et ont affecté 244 personnes et ont abouti à 19 hospitalisations. La chair de poulet a été signalée comme étant la plus fréquemment impliquée dans ces foyers (EFSA, 2009).

Bien que plusieurs espèces de *Campylobacter* (*C jejuni*, *C coli*, *C upsaliensis*, *C lari*, *C concisus*, *C hyointestinalis*.) et *Arcobacter butzleri* aient été incriminées dans des épisodes diarrhéiques, *C jejuni* est de loin l'espèce la plus fréquemment isolée de l'homme. Elle représente une cause fréquente de morbidité dans les pays industrialisés, ainsi que dans les pays en voie de développement, et présente un impact considérable tant sur le plan économique que sur la santé publique (BUTZLER, 2004).

L'infection peut toucher les gens de différents âges mais surtout les enfants moins de 2ans (pays en voie de développement) et les jeunes adultes (pays développés) (HARTNETT et al., 2009).

L'oscillation saisonnière de l'incidence de la campylobactériose est une caractéristique frappante observée dans tous les pays développés. Chez ces pays, on retrouve un maximum de cas durant la saison chaude (été et début automne). En effet, plus de 40 % des cas humains ont pour origine la volaille, et 20 % une origine non alimentaire (GHAFIR et DAUBE, 2007).

Par contre, dans les pays en voie de développement la prévalence de *Campylobacter* ne semble pas avoir de préférence saisonnière. Certains auteurs croient que l'absence de variations extrêmes de température serait une explication possible (LABERGE, 2003).

## 7.2 Epidémiologie analytique des campylobactérioses alimentaires

Considérant que *Campylobacter* se reproduit principalement à l'intérieur du système digestif de plusieurs espèces animales, son excrétion dans l'environnement, via les fèces d'animaux porteurs et d'animaux infectés, définit son écologie (LABERGE, 2003).

### **7.2.1 Hôtes réservoirs**

Le principal réservoir à *Campylobacter* est constitué par l'espèce animale, que ce soit des animaux domestiques, d'élevage ou sauvages.

On trouve communément *C jejuni* dans le poulet, mais la bactérie a été également isolée chez les bovins, les ovins, les caprins, les chiens et les chats. *C coli* contamine principalement les porcins, mais a été aussi isolé chez les volailles, les bovins et les ovins (HARTNETT et al., 2009).

#### **7.2.1.1 Oiseaux**

Les oiseaux en général, sauvages et domestiques, particulièrement le poulet peuvent être considérés comme le réservoir naturel de *C jejuni* et, dans une moindre mesure de *C coli*.

Cette bactérie vit dans le cloaque où elle est présente à de fortes concentrations. Cette colonisation est sans conséquences pathologiques chez les oiseaux bien que la prévalence de *Campylobacter* au niveau du tube digestif est 8 à 20 fois plus élevée que celle de *Salmonella* (DROMIGNY, 2007).

Les volailles sont trouvées porteuses majoritairement de *C jejuni* (65 à 95 %), moins souvent de *C coli* et rarement d'autres espèces (OIE, 2008).

Toutes les études s'accordent pour considérer que les volailles constituent le réservoir principal de *C jejuni*. Deux caractères sont à considérer d'une part le portage digestif des volailles et donc leur sensibilité à l'infection par *Campylobacter*, d'autre part le portage des carcasses de volailles et leurs abats ce qui permet d'évaluer le risque potentiel pour les consommateurs (GOBET, 1990).

La prévalence de *Campylobacter* dans les lots de poulets de chair dans quelques pays européens est représentée dans le tableau 4.

**Tableau 4** : Prévalence de *Campylobacter* dans les lots de poulets de chair dans quelques pays européens (EFSA, 2010a).

Pays	Nombre d'échantillons	Taux de portage intestinal (%)	Taux de contamination des carcasses (%)
Allemagne	432	48.9	60.8
Australie	408	47.84	80.6
Belgique	337	31.0	52.7
Bulgarie	275	29.6	45.2
Espagne	389	88.0	92.6
Estonie	102	2.01	4.9
Finlande	411	3.9	5.5
France	422	76.1	88.7
Irlande	394	83.1	98.3
Italie	393	63.3	49.6
Luxemburg	12	100	100
Pologne	419	78.9	80.4
Portugal	421	82.0	70.2
Royaume-Uni	401	75.3	86.3
Suède	410	13.2	14.6
Union Européenne	9,224	71.2	75.8

### 7.2.1.2 Autres animaux

D'autres réservoirs de *Campylobacter* spp. ont été décrits : les bovins, les porcins et les petits ruminants, mais aussi les animaux de compagnie. Ces bactéries ont un tropisme particulier pour le tube digestif des animaux (OIE, 2008). En effet, les bovins et les ovins sont colonisés principalement par *C jejuni*, *C coli*, *C hyointestinalis* et *C fetus*, alors que les porcs sont contaminés de façon prédominante par *C coli*.

Les chiens et les chats sont fréquemment colonisés par *C upsaliensis* (chiens) et par *C helveticus* (chats) (HALD et MADSEN, 1997).

Les animaux sauvages ont fait partie de certaines études afin de déterminer leur contribution à la contamination des cours d'eau. Parmi ceux-ci, les canards et les oies sauvages auraient un rôle significatif dans la contamination de l'eau par *C jejuni* (LABERGE, 2003).

### **7.2.1.3 Réservoir humain**

Le réservoir humain n'a pas de rôle de réservoir significatif, bien que certaines transmissions d'origine humaine, et notamment par les manipulateurs de denrées alimentaires ont été détectées.

La fréquence d'isolement varie beaucoup en fonction des lieux géographiques, cependant, elle est plus élevée dans les pays en voie de développement (BUTZLER et *al.*, 1973 ; DROMIGNY, 2007).

### **7.2.1.4 Réservoir hydrotellurique**

En raison de la faible résistance de *Campylobacter* dans l'environnement, le réservoir hydrotellurique est souvent considéré comme négligeable (DROMIGNY, 2007).

Les excréments contaminés agissent comme principal mécanisme de dispersion du microorganisme dans l'environnement, les déjections peuvent également contaminer les sols et les rivières (LABERGE, 2003).

Il semblerait que puisque *C jejuni* est un microorganisme microaérophile et incapable de croître à des températures inférieures à 31°C, sa présence dans les ruisseaux, les rivières et l'eau potable ne serait que le signe d'une contamination récente par les fèces du bétail ou des oiseaux sauvages (SAHIN et *al.*, 2002). Cependant, l'existence de formes viables non cultivables de *C jejuni* peut éventuellement contredire ces connaissances.

## **7.2.2 Vecteurs**

### **7.2.2.1 Vecteurs de la contamination aux volailles**

Parmi les animaux susceptibles d'être des vecteurs d'infection de *C jejuni*, nous pouvons citer les petits rongeurs tels que les souris et les rats. Ces derniers peuvent aussi être des porteurs sains de *C jejuni* et servir de réservoir pour les poulets de chair (SAHIN et *al.*, 2002). En effet, les souris sont très communes dans l'environnement des fermes avicoles et peuvent être colonisées par *C jejuni* pour de longues périodes.

Les insectes de ferme comme source de transmission ont aussi fait l'objet d'études, la majorité des auteurs s'entendent sur le fait que les mouches peuvent servir de vecteur mécanique et peuvent transmettre *C jejuni* d'un animal ou d'un environnement réservoir aux troupeaux de poulets de chair. Par contre comme le mentionnent SAHIN et *al.*, (2002), les insectes étudiés étant contaminés par *C jejuni* le sont devenus après que le microorganisme fut isolé des poulets à l'étude. Il est donc peu probable que les insectes soient à l'origine de l'infection d'une ferme avicole, mais leur rôle dans la transmission du microorganisme d'une ferme à l'autre est à considérer (LABERGE, 2003).

#### **7.2.2.2 Vecteurs de la contamination à l'homme**

Le principal réservoir à *Campylobacter* est donc constitué par les animaux ; les principales denrées alimentaires que l'homme consomme, sont d'origine animale.

Parmi les principales sources, nous citons :

- Les viandes et abats de ruminants et de porc : Il est vrai que même si le portage intestinal de *Campylobacter* par les ruminants ou le porc est très fréquent, il n'en demeure pas moins que la consommation de viandes rouges ne joue qu'un petit rôle dans la contamination humaine. Ce sont surtout les abats (notamment le foie) qui contiennent des *Campylobacter* au stade de la commercialisation (GHAFIR et DAUBE, 2007).
- Viandes et abats de volailles : ils sont quant à eux majoritairement responsables dans la contamination de l'homme et peuvent être à l'origine de véritables épidémies (DROMIGNY, 2007).
- Eaux de boissons : l'eau a permis à plusieurs reprises la contamination à grande échelle et constitue un vecteur de campylobactériose humaine quand elle n'est pas ou insuffisamment traitée. Ainsi on a pu constater aux Etats Unis à deux reprises l'atteinte de plusieurs centaines de personnes par une campylobactériose véhiculée par l'eau infestée du réseau municipal (WAGENAAR et *al.*, 2006).
- Lait et produits laitiers non pasteurisés : ces produits ont été également mis en cause notamment chez les jeunes enfants. Le lait se retrouve majoritairement contaminé lors de la traite par la présence de matières fécales. Il représente un excellent milieu de

conservation pour *Campylobacter*, en lui assurant une survie pouvant atteindre une année dans le cadre d'une conservation au réfrigérateur (HARTNETT et *al.*, 2009 ; THOMAS, 2009).

Les taux de contamination de quelques produits alimentaires présentés au détail sont notés dans le tableau 5.

**Tableau 5** : Taux de contamination par *Campylobacter* de quelques produits alimentaires présentés au détail (FREDERICK et HUDA, 2011; DROMIGGNY, 2007 ; GHAFIR et DAUBE, 2007 ; THOMAS, 2009).

Aliments	Types de produit	Taux de contamination (%)
Poulet frais	Carcasses entières	56,9
	Portions	56,6
	Foies	31
	Cœurs	40
	Gésiers	45
Poulet congelé	Carcasses entières	30
	Portions	16,2
	Foies	16
Dinde	Ailes	64
Bœuf	Morceaux	5,1
	Viande hachée	1
Mouton	Viande cru	11,8
	Foies	66,2
Porc	Viande hachée	0,3
	Foies	26
Lait	Lait cru	5,99
Légumes	Pommes de terre, persil, oignons, épinards	1,6 à 3,3
Champignons	Morceaux	1,5
Huitres		14

## 7.3 Epidémiologie synthétique

### 7.3.1 Modes de transmission

Deux grands modes de transmission de *Campylobacter* sont identifiés : la transmission directe et la transmission indirecte (FEDERIGHI, 2005).

- **Transmission directe**

Les espèces de *Campylobacter* peuvent être transférées aux hommes par contact direct avec des animaux ou des carcasses d'animaux contaminées. La transmission par contact direct est relativement rare touchant principalement les agriculteurs, les vétérinaires et les ouvriers d'abattoirs (maladies professionnelles). Toutefois la transmission par contact avec les animaux de compagnie, des eaux de baignade contaminées est possible (FAO/OMS, 2002).

Dans les pays développés, la transmission de personne à personne n'est pas considérée comme un phénomène fréquent. Elle pourrait par contre jouer un rôle plus important dans la transmission de l'infection dans les pays en développement. En effet, le contact direct avec les animaux et la contamination provenant de sources environnementales sont considérés comme les principales voies de transmission de l'infection à l'homme (HARTNETT et *al.*, 2009).

- **Transmission indirecte**

La transmission indirecte est le mode observé dans les formes épidémiques et sporadiques de la campylobactériose. Les principaux aliments incriminés sont par ordre de fréquence décroissante : les produits d'origine aviaire (exceptés les œufs et les ovoproduits), les viandes et abats rouges de boucherie. Parmi les sources de contamination, citons l'ingestion de viande crue ou insuffisamment cuite, dont la viande de volaille qui constitue un réservoir régulier de *Campylobacter* (PUTERFLAM et *al.*, 2007). D'autres denrées ont été impliquées dans des toxi-infections à *Campylobacter*. Nonobstant le rôle de l'eau de distribution contaminée par des fèces d'animaux dans plusieurs épidémies. La contamination de lait de vache non pasteurisé est une importante source d'infection de l'homme par *Campylobacter* (FEDERIGHI, 2005).

### **7.3.2 Sources d'infection**

La contamination d'une viande peut avoir lieu aux différentes étapes de la chaîne alimentaire : dans l'élevage, lors de l'abattage, la préparation des carcasses ou dans les cuisines (LABERGE, 2003).

Un recueil de résultats documentés de l'infection à *Campylobacter* et de la contamination de quelques produits dans quelques pays arabes et en Algérie est présenté dans les tableaux 6 et 7 respectivement.

*Partie Bibliographique*

**Tableau 6** : Recueil de résultats documentés de l'infection à *Campylobacter* et de la contamination de quelques produits dans quelques pays arabes.

Région	Type de prélèvement	Résultats	Informations supplémentaires	Références
Maroc (Casablanca)	Selles diarrhéiques	11% ( <i>C jejuni</i> )	isolés pour la première fois	BENBACHIR et al., 1984
Tunisie	Selles diarrhéiques : Malades hospitalisés (512) Malades externes (216)	Rares cas 2-5 %	→ enfants et adultes → bébés et enfants	FENDRI et al., 1989
Tunisie (Tunis)	Selles diarrhéiques	19 cas ( <i>C jejuni</i> , <i>C coli</i> )		FENDRI et al., 1991
Egypte (Le Caire)	Selles diarrhéiques (143) Selles normales (132)	25,9 % 15,2 %	Surtout les enfants moins de 1 an	PAZZAGLIA et al., 1991
Égypte (Alexandria)	Selles diarrhéiques (880) Selles normales (1079)	17,2 % 6,4 %	Surtout en saison humide La cause la plus fréquente de diarrhées infantiles	PAZZAGLIA et al., 1995
Liban	Selles diarrhéique (281) Caecum de poulet (150) Carcasse de poulet (31)	0,7 % ( <i>C thermotolérants</i> ) 22 % ( <i>C thermotolérants</i> ) 10 % ( <i>C thermotolérants</i> )	Des résistances à tous les antibiotiques testés	TALHOUK et al., 1998
Liban	Sang humain	<i>C fetus</i>	Péricardite	KANJ et al., 2001
Liban	Bile humaine	<i>C jejuni</i>	Cholécystite aigue	DAKDOUKI et al., 2003
Syrie	Ecouvillons fécales d'hamsters (400)	135 souches <i>C fetus</i> spp. <i>jejuni</i>	Inflammation proliférative de l'iléon	LENTSCH et al., 1982
Bahreïn	Selles	96 de souches : <i>C jejuni</i> Productrice de CDT	1 <sup>ère</sup> étude moléculaire	Al-MAHMEED et al., 2006
Jordanie	Ecouvillon de coquille d'œuf (1000)	100%		KARLSSON, 2010

*Partie Bibliographique*

**Tableau 7** : Recueil de résultats documentés de l'infection à *Campylobacter* et de la contamination des aliments en Algérie.

Type de prélèvement	Résultats	Symptômes Associés	Références
Selles diarrhéiques (1166)	147 cas positifs (12,6%)	Diarrhée infantile	GHECHI, 1984
Selles normales (306)	46 cas positifs (15%)		
Selles	. 110 souches ( <i>C jejuni/C coli</i> ) . 66% productrices d'entérotoxine	Diarrhée infantile	BELBOURIA et MEGRAUD,1988
Selles	+ <i>C jejuni</i> + <i>C coli</i>	Diarrhée intense et douleurs abdominales	DRIOUECHE, 1989
Selles diarrhéiques (441)	17,1 %	Diarrhée infantile intense	MEGRAUD et al., 1990
Selles normales (247)	14,9 %		
Peau du cou	66 %		MOUFFOK et LEBRES, 1992
Fientes	12 %		
Lait cru	0		
Selles : jour1	+	Gastro-entérites infantile	LOUCIF et MELZI, 1998
Selles : jours suivants	↘ *		
Prélèvements alimentaires (346)	62 souches (18%)		AL AMIR et al., 2010
Selles (166)	5 souches ( <i>C jejuni</i> )	Douleurs abdominales et/ou diarrhée	ABDELLAHI et MOKRANI, 2010

Selles : signifie selles humaines

+ : présence mais pas de chiffres

↘ \* : diminution du taux de *Campylobacter* après administration de Bifidobacterium en association avec le lait

CDT : Cytotolethal Distending Toxin.

## **8. Pouvoir pathogène**

Les mécanismes de virulence de *Campylobacter* ne sont pas encore bien connus. Ils auraient comme composantes des toxines, l'adhérence, la mobilité, la capacité de capter le fer et l'invasion bactérienne. Les *Campylobacter* peuvent vivre dans le mucus intestinal et adhérer à la muqueuse (GHAFIR ET DAUBE, 2007).

### **8.1 Dose infectieuse**

La dose infectieuse est très variable mais peut être très basse, puisque quelques centaines de cellules (moins de 500 cellules) peuvent déclencher la maladie expérimentalement ou naturellement (VANDELAPS *et al.*, 2008).

Cette variabilité est attribuée à trois facteurs principaux :

- L'hôte : En particulier son âge (pic de la maladie chez les 18-35 ans et les moins de 4ans), son sexe (incidence supérieure chez les hommes), son état immunitaire (infection préalable), son état thérapeutique (traitements divers en cours).

- La souche bactérienne : Il semble admis aujourd'hui que toutes les souches ne sont pas de virulence équivalente. Par exemple, il est à noter la plus grande implication du sérotype Penner 19 dans les syndromes de Guillain-Barré (THOMAS, 2009).

### **8.2 Colonisation du tube digestif par *Campylobacter***

*Campylobacter* a la faculté de se multiplier à l'intérieur du tube digestif comme le montrent les analyses de selles lors de diarrhée, où l'excrétion du germe peut atteindre  $10^6$  à  $10^9$  cellules de *C. jejuni* et *C. coli* par gramme de selles. 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 biliaries, sa morphologie et sa grande mobilité, son chimiotactisme positif pour le mucus (BURUCOA, 2007).

### **8.3 Adhésion de *Campylobacter* aux cellules intestinales**

La cible privilégiée de *Campylobacter* pour son adhésion semble être la partie distale de l'iléon, mais des colonisations du colon et du jéjunum ont également été décrites. L'adhésion se fait soit au niveau de la bordure en brosse des entérocytes ou bien au niveau des cellules à mucus des cryptes glandulaires. Il semble établi que *C jejuni* utilise plusieurs mécanismes d'adhésion spécifiques ou non (FEDERIGHI, 2005).

### **8.4 Pénétration de *Campylobacter* dans les cellules intestinales**

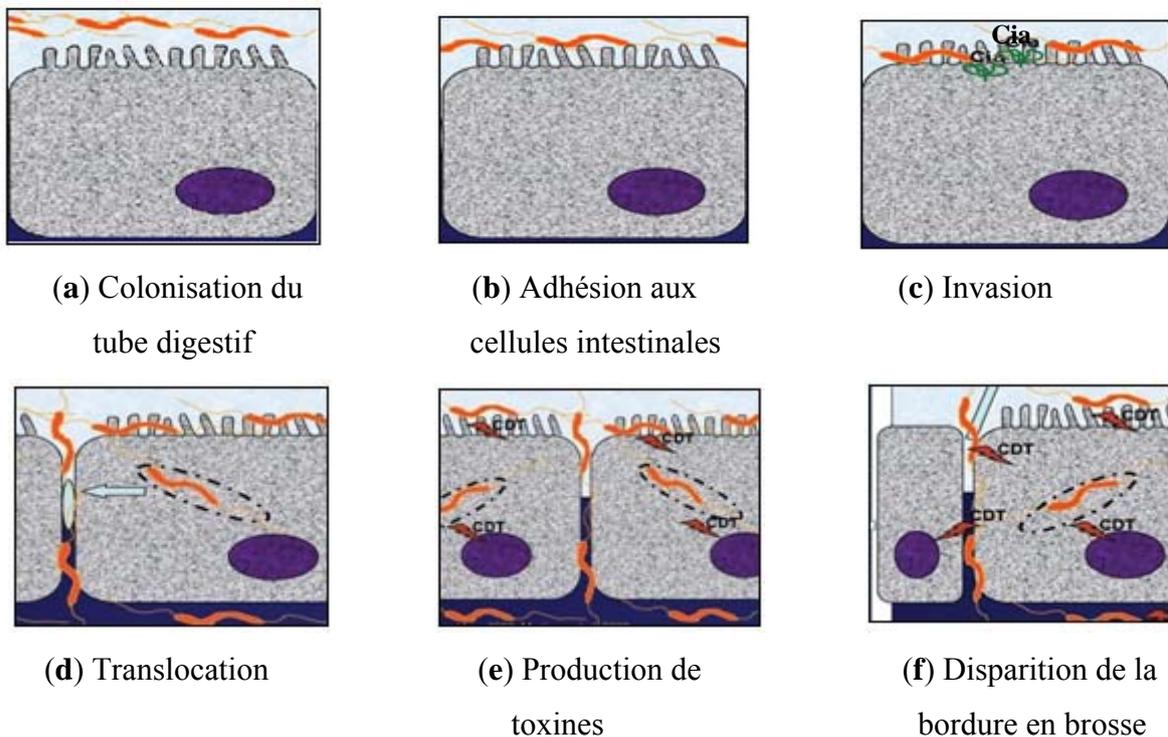
De nombreux auteurs émettent l'hypothèse d'un mécanisme d'entéro-invasivité, il y a translocation de *C. jejuni* à travers (voie transcellulaire) et entre (voie paracellulaire) les cellules épithéliales. Il a été montré une réorganisation du cytosquelette des cellules intestinales en réponse, vraisemblablement, à un signal des *C jejuni* adhérents (FEDERIGHI, 2005).

### **8.5 Production de toxines**

Il est admis que deux catégories de toxines sont produites par *Campylobacter* :

- La CDT (Cytoléthale Distending Toxin), elle est codée par trois gènes adjacents *cdt A*, *B* et *C*, les produits de ces gènes forment une holotoxine impliquée dans l'effet observé. Les gènes sont présents chez pratiquement toutes les souches de *C jejuni*, cette toxine contribue à l'apoptose, mais son rôle dans la virulence reste à évaluer précisément.
- Les « non CDT », la littérature scientifique regorge de descriptions de toxines diverses produites par certaines souches de *C jejuni*, mais sans que l'on puisse estimer leur implication réelle dans le processus pathogène (ASAKURA et al., 2008).

Les différentes étapes du pouvoir pathogène de *Campylobacter* sont résumées dans la figure 3.



Cia : *Campylobacter* Invasion Antigens

CDT : Cytotolethal Distending Toxin.

**Figure 3** : Mécanisme pathogénique de *Campylobacter* dans le tube digestif humain  
([http://www.nsa.univ-cezanne.fr/UE22\\_files/Bolla2.pdf](http://www.nsa.univ-cezanne.fr/UE22_files/Bolla2.pdf)).

## 9. Manifestations cliniques et complications

Le caractère pathogène du genre *Campylobacter* peut se manifester par des entérites aiguës chez les chiens, chats, singes et humains ; par des avortements chez les ovins, mais surtout ce germe s'avère une des principales cause de toxi-infection alimentaire (LABERGE, 2003).

### 9.1 Chez les animaux

La plupart des *Campylobacter* sont assez peu pathogènes pour les animaux, qui les hébergent généralement de manière asymptomatique, principalement au niveau du tractus digestif (COLIN, 2006). Cependant ils ont aussi été associés à certaines maladies chez diverses espèces. Chez les chats et les chiens, en particulier les animaux jeunes soumis à un stress, *C. jejuni* est associé à une diarrhée.

Des cas groupés d'entérites associées à *Campylobacter* ont été rapportés chez certains animaux dont des groupes de primates non humains et même de petits mammifères élevés en laboratoire.

De grands nombres de *Campylobacter* ont été isolés d'animaux d'élevage, incluant des porcelets, des agneaux et des veaux, avec entérite (WALDENSTROM et al., 2002).

Chez les oiseaux, en particulier les volailles, la maladie est rare, sinon inexistante. Des cas groupés d'hépatite aviaire ont été rapportés, mais le rôle pathogène de *Campylobacter* n'y est pas clair. Une exception possible est constituée par les autruches pour lesquelles des mortalités et des entérites liées à *Campylobacter* sont rencontrées chez les jeunes oiseaux (WALDENSTROM et al., 2002).

*C jejuni*, *C coli*, *C hyointestinalis* et *C sputorum*, de même que *C fetus* peuvent également être associés à des infections de l'appareil reproducteur. Chez les bovins, toutes ces espèces peuvent être associées à des avortements, chez les ovins, jusqu'à 20 % des avortements dus à *Campylobacter* sont liés à *C jejuni* ou *C coli*. De telles infections sont présumées être la conséquence d'une translocation à partir du tractus intestinal ou surviennent par voie ascendante (OIE, 2008).

## **9.2 Chez les humains**

Chez l'homme, les cas sont habituellement causés par *C jejuni* ou par *C coli* à un degré moindre. Les informations sur la charge en morbidité de campylobactériose humaine dans les pays en développement sont plus limitées (FAO/OMS, 2002).

Généralement, trois formes cliniques de campylobactériose humaine sont distinguées :

- Une forme septicémique pure ;
- Une forme localisée (arthrites septiques, méningites, méningo-encéphalites, avortements, endocardites), le plus souvent associée à une septicémie ;
- Une forme dysentérique qui se traduit, après 2 à 5 jours d'incubation, par un tableau clinique compris entre l'excrétion asymptomatique et la maladie grave, avec fièvre, diarrhée profuse, sanguinolente en fin d'évolution, parfois accompagnée de vomissements. Des douleurs abdominales aiguës précèdent souvent la diarrhée (HADDAD et al., 2008).

Les symptômes cliniques des infections à *Campylobacter* diffèrent en outre entre les pays développés et les pays en développement, que ce soit sur le plan de l'âge des personnes affectées que de la gravité de la maladie. Dans les pays développés, l'entérite à

*Campylobacter* peut être grave et se manifeste généralement par de la fièvre, des douleurs abdominales et de la diarrhée, souvent accompagnée de sang dans les fèces et nécessitant parfois un traitement antimicrobien. En revanche, les infections à *Campylobacter* dans les pays en développement sont souvent plus légères. Les différences de souches pourraient être une explication des différences épidémiologiques observées: les infections sont moins nombreuses, mais plus graves dans les pays développés alors qu'elles sont plus nombreuses, mais plus légères chez les jeunes enfants dans les pays en développement (HARTNETT et *al.*, 2009).

La guérison a généralement lieu sans traitement, après 2 à 6 jours. Des infections extra-intestinales sont décrites dans 1,5 cas/1.000 infections intestinales (COLIN, 2006).

Les conséquences peuvent en être le syndrome de Guillain-Barré (une Polyneuropathie inflammatoire aigüe résultant en une paralysie neuromusculaire), en effet, 1/1000cas se traduit par une complication de ce genre, et le syndrome de Reiter (une arthropathologie impliquant de multiples articulations) (BUTZLER, 2004).

## **10. Résistance aux antibiotiques**

### **10.1 Définition**

Depuis l'introduction des antibiotiques en thérapeutique, on assiste à l'émergence très rapide de nombreuses souches bactériennes devenues insensibles à un ou plusieurs antibiotiques. Cette résistance est l'un des problèmes rencontrés les plus aigus de la thérapeutique. Le nombre de molécules efficaces se restreint, ce qui constitue un réel problème de sante publique.

La résistance est un terme fréquemment employé dont la définition fait l'objet de nombreuses discussions. La résistance des bactéries aux antibiotiques se définit par rapport à:

- Une population de référence, c'est à dire l'espèce bactérienne à laquelle appartient la souche étudiée.
- Un stress qui est la molécule antibiotique étudiée à une concentration fixée dans le milieu.
- Un contexte qui correspond à la méthode d'étude de la résistance.

- Une valeur seuil qui est fonction de la méthode d'étude (succès thérapeutique, concentrations d'antibiotiques, diminution de la population bactérienne) (PYRET, 2008).

## **10.2 Mécanismes de résistance aux antibiotiques décrits chez *Campylobacter***

### **10.2.1 Résistances intrinsèques**

Lors de résistance intrinsèque, toutes les souches d'une même espèce sont résistantes.

Les *Campylobacter* sont naturellement résistants aux : vancomycine, bacitracine, novobiocine, colimycine, streptogramine B, et triméthoprime.

*C jejuni* et *C coli* sont également résistants à la céfalotine et à la rifampicine. Ces antibiotiques sont utilisés dans divers milieux sélectifs d'isolement. Les mécanismes de ces résistances naturelles ne sont pas très claires mais pouvant être dus à l'incapacité de ces antibiotiques à traverser la membrane externe (LUANGTONGKUM *et al.*, 2009).

### **10.2.2 Résistances acquises**

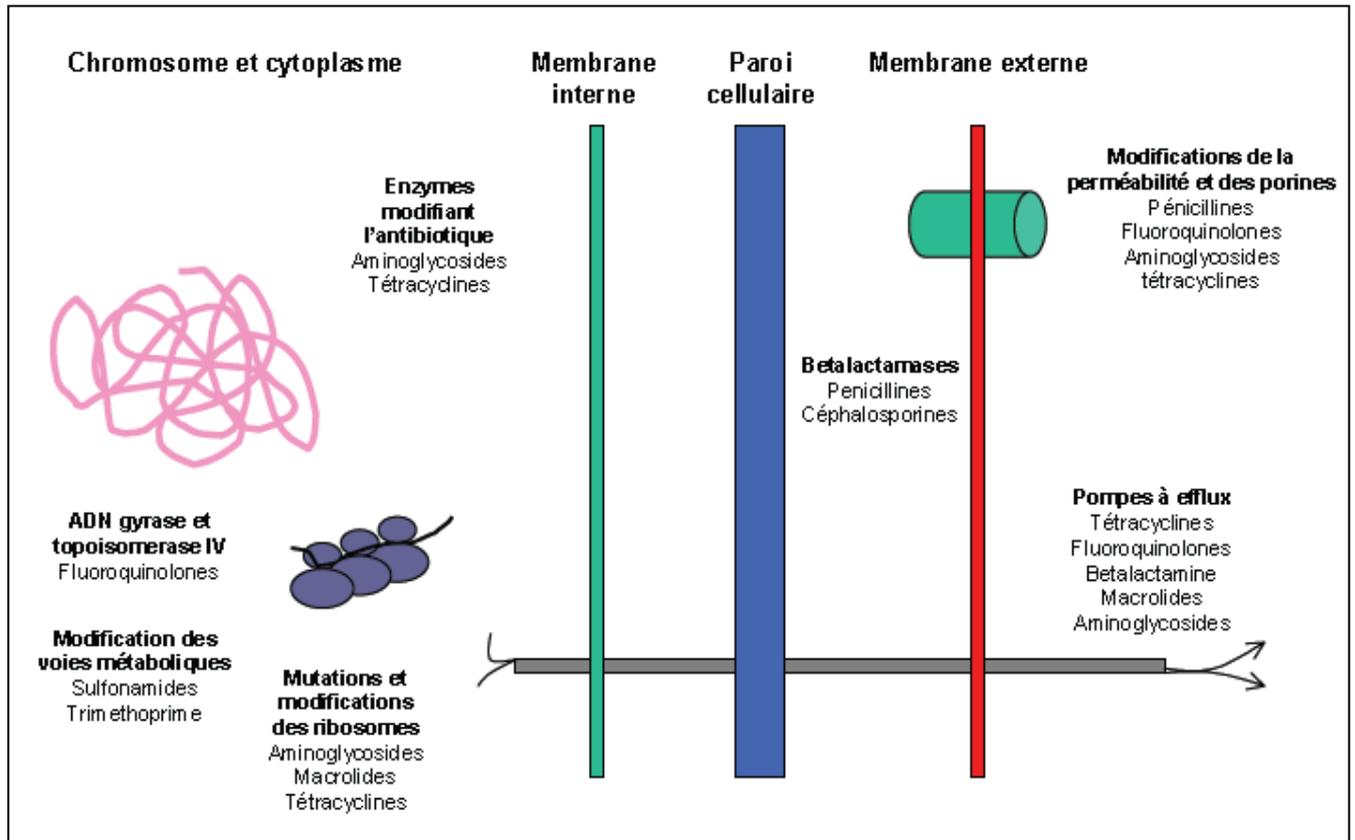
Les résistances acquises résultent de l'acquisition de nouveaux mécanismes par la bactérie qui la rendent résistante à l'antibiotique considéré. L'acquisition de ces mécanismes repose soit sur des mutations ponctuelles soit sur l'acquisition de matériel génétique exogène (plasmides de conjugaison, transposons, intégrons). 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.

Les mécanismes de résistance acquise chez *Campylobacter* sont résumés dans le tableau 8 et la figure 4.

**Tableau 8** : Mécanismes de résistance acquise aux antibiotiques chez *C jejuni* et *C coli*  
(PYRET, 2008).

<b>Famille d'antibiotique</b>	<b>Mécanisme d'action</b>	<b>Mécanisme de résistance</b>	<b>Support biochimique</b>	<b>Support génétique</b>
β-lactamines	Inhibition de la synthèse du peptidoglycane bactérien	Dégradation enzymatique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• β-lactamases</li> <li>• diminution de la perméabilité membranaire</li> </ul>	Gène porté par le Chromosome bactérien
Tétracycline	Inhibition de la synthèse protéique par liaison aux ribosomes	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Protection du site de fixation sur le ribosome</li> <li>• Efflux actif</li> <li>• Dégradation de la tétracycline</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Protéine de protection du ribosome</li> <li>• pompe CmeABC</li> </ul>	Gènes portés par un plasmide Tet (0)
Macrolides	Inhibition de la synthèse protéique par liaison aux ribosomes	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Modification du site de fixation sur le ribosome</li> <li>• Efflux actif</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pompe CmeABC</li> </ul>	Mutation sur le gène 23S ARNr
Aminoglycosides	Inhibition de la synthèse protéique par liaison aux ribosomes	Dégradation enzymatique	Aminoglycosides Phosphotranferases <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aminoglycosides adényltransferases</li> <li>• Aminoglycosides acétyltransferases</li> </ul>	Gènes portés par <ul style="list-style-type: none"> <li>• le chromosome</li> <li>• un plasmide</li> <li>• un intégron sur le chromosome</li> </ul>
Fluoroquinolones	Interaction avec le complexe ADN-ADN gyrase et la topoisomérase IV	Modification du site de fixation sur l'ADN Gyrase <ul style="list-style-type: none"> <li>• Efflux actif</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CmeABC</li> </ul>	Mutation sur les gènes <ul style="list-style-type: none"> <li>• gyrA, gyrB</li> <li>• parC</li> </ul>



**Figure 4** : Mécanismes de résistance aux antibiotiques (SUNDSFJORD *et al.*, 2004).

Une autre manifestation qui se produit souvent avec les micro-organismes pathogènes résistants aux antibiotiques, est une plus grande sévérité des symptômes dans l'infection. La sévérité accrue peut être associée à la co-sélection des caractères de virulence quand les gènes de résistance aux antibiotiques sont sélectionnés (DROMIGNY, 2007).

## 11. Traitement des campylobactérioses humaines

Dans la plupart des cas, l'infection intestinale rétrocede spontanément en moins d'une semaine. Le traitement des infections à *Campylobacter* spp. consiste principalement en la réhydratation des patients (BOLLA et GARNOTEL 2008), le recours aux antibiotiques n'est pas recommandé dans le cas d'entérites modérées, mais peut être une solution pour les cas graves (diarrhée sanguinolentes, symptômes de bactériémie) ou prolongés ou pour les personnes « à risques » telles que les patients immunodéprimés ou ayant une maladie sous-jacente, ou pour les femmes enceintes. Le traitement antibiotique réduit la durée de la diarrhée

et la durée d'excrétion des *Campylobacter* dans les selles. Les antibiotiques de choix sont les macrolides avec l'érythromycine en tête de file grâce à leur résorption intestinale rapide ainsi qu'à leur spectre étroit qui perturbe peu la flore intestinale et les fluoroquinolones (ciprofloxacine et norfloxacine) (GIBREEL et TAYLOR, 2006). Les aminoglycosides peuvent également être administrés par voie intraveineuse lors d'infection très sévère ou de septicémie (AARESTRUP et ENGBERG, 2001).

## **12. Prévention des campylobactérioses alimentaires**

Comme la source majeure de campylobactériose humaine est représentée par l'alimentation, la prévention devrait viser la réduction de l'infection à toutes les étapes de la chaîne alimentaire (BUTZLER, 2004).

### **12.1. Prévention au niveau des réservoirs aviaires**

Il est beaucoup plus difficile d'éradiquer *Campylobacter* au sein d'une population de volailles que cela ne l'est pour les Salmonelles. Ainsi des mesures qui suffisent à éliminer les Salmonelles seront inefficaces face aux *Campylobacter*.

De plus, selon Doyle et Erickson cités par THOMAS (2009), il semble exister une relation linéaire entre le nombre de *Campylobacter* présents chez l'animal et la probabilité de développer la maladie chez l'homme, ce qui signifie que si l'on parvient à réduire de X fois la prévalence de *Campylobacter* sur l'animal, on parviendra ainsi à réduire de X fois la probabilité de contamination chez l'homme (THOMAS, 2009).

#### **12.2.1. Mesures d'hygiène générale**

Les mesures de contrôle anti-*Campylobacter* les plus importantes seront des mesures de biosécurité visant à réduire l'introduction de la bactérie dans les bâtiments d'élevage (WAGENAAR et al., 2006).

Dans les pays scandinaves (Norvège et Suède) où ces mesures de biosécurité sont appliquées, la prévalence de *Campylobacter* est de 7% (HUMPHREY et al. 2007).

### **12.2.2. Eradication de l'infection chez l'animal**

Plusieurs techniques ont notamment été mises en avant afin d'éradiquer la maladie et traiter les animaux infestés comme la production de vaccins dirigés contre des cibles particulières de *Campylobacter* : les protéines de flagelline qui permettent de réduire de manière considérable le nombre de *Campylobacter* présents au sein du tube digestif des volailles.

La vaccination avec les cellules tuées, ou le traitement avec des anticorps, assurent une certaine protection (THOMAS, 2009).

Il est à noter l'apparition d'un nouveau concept, appelé « compétition-exclusion » ou « concept de Nurmi » qui permettrait à long terme de développer des races de poulet qui ne pourront plus être colonisées par des bactéries, ce concept prévoit en fait d'ensemencer le tube digestif de jeunes poussins (encore non contaminés par *Campylobacter*) par une espèce de Lactobacille : *Lactobacillus reuteri* qui va entrer en compétition au niveau de la colonisation par *Campylobacter* de l'intestin. Cette bactérie va en plus produire de la reutéline, un métabolite intermédiaire ayant une activité antimicrobienne agissant en même temps contre les Salmonelles, les *Escherichia coli* et les *Campylobacter* (DROMIGNY, 2007).

## **12.2 Prévention des contaminations alimentaires**

Après avoir vu les mesures qui peuvent être mises en œuvre afin de réduire l'incidence des *Campylobacter* chez l'animal, nous présentons les moyens à mettre en œuvre afin d'éviter la contamination des aliments d'origine animale.

### **12.2.1 Hygiène à l'abattoir**

La prévention des contaminations alimentaires repose essentiellement sur les règles classiques de prévention des souillures fécales et ne sont pas différentes des mesures prises pour les autres micro-organismes : hygiène des locaux, de l'équipement et du matériel, hygiène du personnel et hygiène de la préparation.

Différentes techniques basées sur la sensibilité des *Campylobacter* ont permis la mise en œuvre de méthodes pour traiter les carcasses qui arrivent à l'abattoir.

On pourra ainsi avoir recours à :

- L'immersion des carcasses dans des bains contenant des dérivés chlorés ou encore organiques (essentiellement acides).

- L'utilisation de produits tels que des ammoniums quaternaires, du glutaraldéhyde.
- Ou encore l'utilisation de radiations ionisantes, traitement à l'heure actuelle le plus efficace mais soulevant de nombreuses réticences de la part des consommateurs.

Néanmoins ces techniques présentent plusieurs types d'inconvénients à la fois technologiques (corrosion), sanitaires (résidus toxiques ou carcinogènes sur les carcasses), organoleptiques (goût et couleur peuvent s'en trouver modifiés) mais également économiques (PUTERFLAM *et al.*, 2007).

### **12.2.2 Traitement et recueil du lait**

L'importance de l'hygiène de recueil du lait est primordiale dans la prévention des contaminations par celui-ci. En plus des mesures de prévention des contaminations fécales, une bonne hygiène de la traite permet le recueil du lait sans aucun risque (FEDERIGHI *et al.*, 2005).

### **12.2.3 Traitement thermique des aliments**

- Pasteurisation industrielle des aliments

La pasteurisation représente une véritable méthode de destruction des *Campylobacter* au sein des aliments étant donné sa faible résistance à la chaleur.

- Cuisson suffisante en cuisine

Il faudra veiller à ce que la viande soit bien cuite. Il serait bon d'utiliser un thermomètre pour cuire les aliments afin d'en vérifier la température à cœur du produit (THOMAS, 2009).

## **OBJECTIFS**

- L'objet de notre étude est l'isolement des souches de *Campylobacter* thermotolérants chez le poulet de chair à partir :
  - De fientes de poulets de chair fraîchement émises en fin de période d'élevage dans quelques fermes avicoles dans les wilayas d'Alger et Boumerdes, dans des élevages en serre et en béton.
  - De contenu de caecums et peaux de cou de poulet juste après éviscération dans quelques établissements d'abattages (abattoirs industriels et tueries traditionnelles) dans les wilayas d'Alger et Boumerdes.
  - Et l'étude de la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques.
  
- Le but recherché par cette étude est d'apporter quelques données qui pourraient être utilisées dans le cadre d'éventuelles enquêtes épidémiologiques sur les campylobactérioses humaines :
  - L'appréciation de la prévalence de ces germes dans les différentes matrices étudiées.
  - L'établissement des profils de résistance de souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées.

## **1. MATERIEL ET METHODES**

### **1.1 Matériel**

#### **1.1.1 Matériel de prélèvement**

- Gants stériles.
- Pincés, ciseaux et bistouris stériles.
- Spatules (cuillères) stériles.
- Pots et sachets de prélèvement stériles.
- Boîtes de Pétri stériles.
- Glacière et Ice-box.

#### **1.1.2 Matériel d'analyse**

- Matériel usuel de bactériologie (cité en annexe 1).
- Jarres d'anaérobiose.
- Sachets générateurs d'atmosphère microaérophile : GENbox microaer.
- Milieux de culture et réactifs :
  - Milieu Columbia.
  - Gélose Mueller Hinton.
  - Gélose au citrate de fer et aux trois sucres (TSI).
  - Bouillon de Preston.
  - Galeries API Campy.
  - Supplément d'antibiotique Butzler.
  - Sang de cheval défibriné et sang de cheval lysé.
  - Disques d'antibiotiques.
  - Eau physiologique stérile et eau distillée stérile.
  - Ethanol.
  - BHIB et glycérol.
  - Réactifs pour la coloration de Gram.
  - Huile à immersion.
  - Réactif pour la recherche de l'oxydase.
  - Réactif pour la recherche de la catalase (Peroxyde d'hydrogène).

## **1.2 Echantillons**

Notre étude effectuée dans la région d'Alger (communes des wilayas d'Alger et Boumerdes), s'est déroulée durant la période allant du mois de Janvier 2010 jusqu'au mois de décembre 2010. L'analyse des échantillons a été réalisée dans le laboratoire central de microbiologie du CHU Mustapha Bacha d'Alger et du laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV d'Alger. Elle a porté sur 300 prélèvements au total, répartis comme suit :

### Répartition des échantillons selon la nature

- 100 soit 33.3% étaient des fientes de poulet de chair,
- 100 soit 33.3% étaient des contenus de caecums de poulet de chair,
- 100 soit 33.3% étaient des peaux de cou de poulet de chair.

### Répartition des échantillons selon la provenance

- 125 soit 41.6% provenaient de la wilaya d'Alger,
- 175 soit 58.3% provenaient de la wilaya de Boumerdes.

### Répartition des échantillons selon le lieu de prélèvement

- 100 soit 33.3% provenaient de fermes avicoles,
  - 35 soit 11,6% provenaient de bâtiments en béton,
  - 65 soit 21,6% provenaient d'élevage en serre.
- 200 soit 66.6% provenaient d'établissements d'abattage avicoles.
  - 120 soit 40% provenaient d'abattoirs industriels,
  - 80 soit 26,6% provenaient de tueries traditionnelles.

Les répartitions des échantillons sont schématisées par les figures 5, 6, 7 et 8.

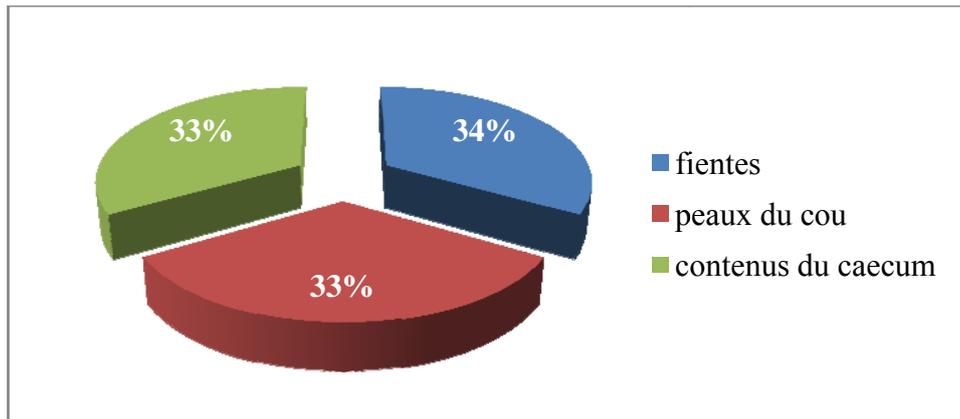


Figure 5 : Répartition des échantillons selon leur nature.

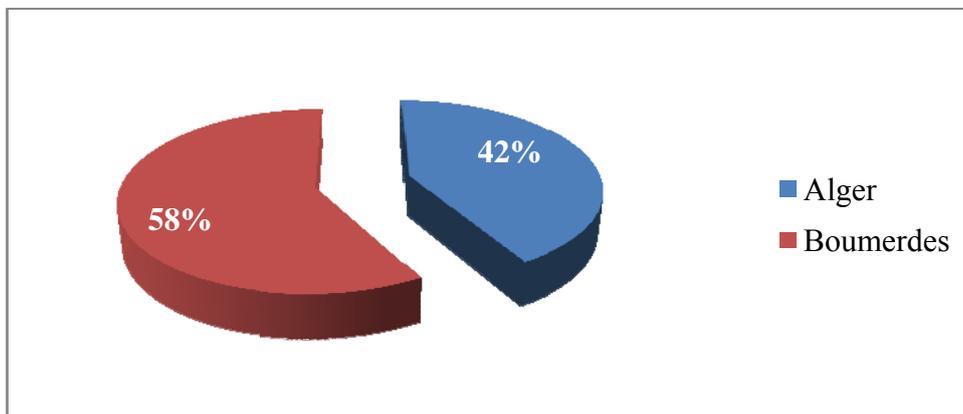


Figure 6 : Répartition des échantillons selon leur provenance.

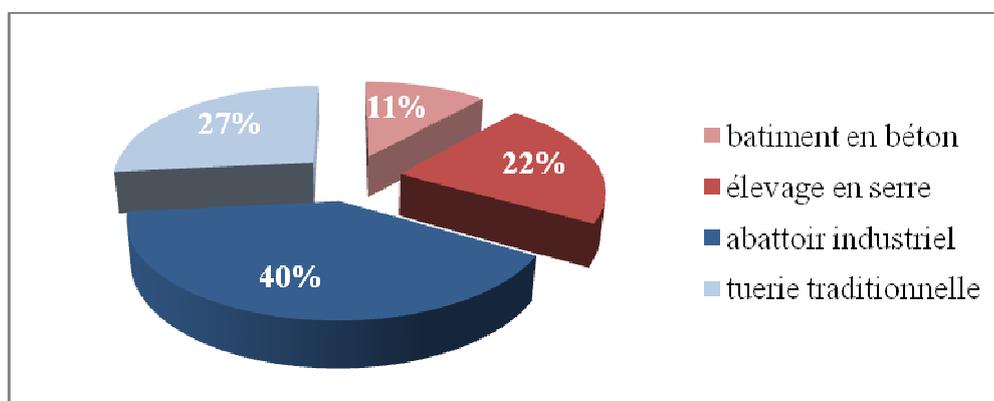
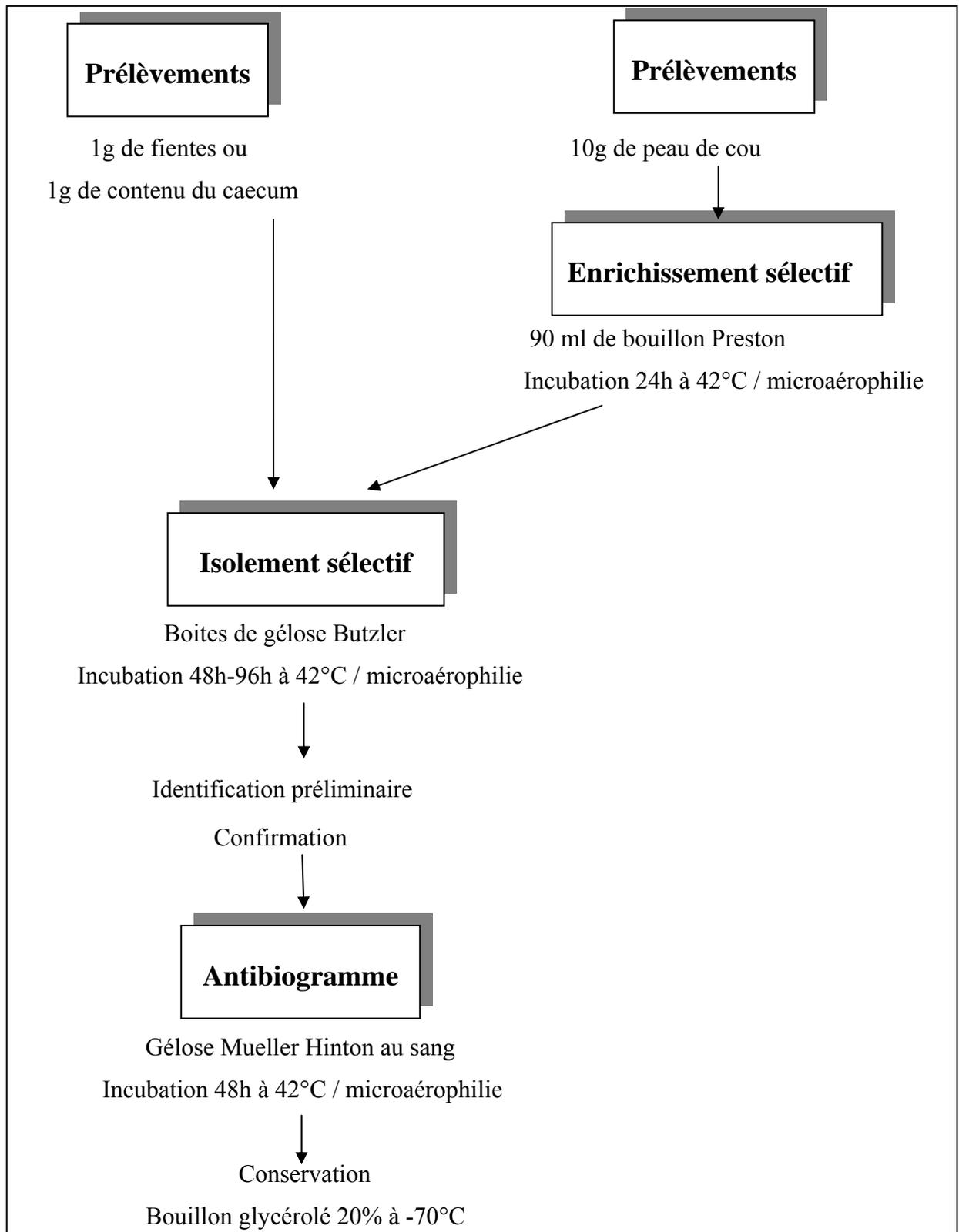


Figure 7 : Répartition des échantillons selon le lieu de prélèvement.

### 1.3 méthodes

Les méthodes d'analyse utilisées sont schématisées par la figure 9.



**Figure 9** : Représentation schématique de la méthode d'analyse des *Campylobacter*.

### **1.3.1 Préparation des milieux de culture**

Les différents milieux de culture ont été préparés à partir de milieux de base déshydratés, de suppléments d'antibiotiques et de sang de cheval.

- Milieu Butzler

Gélose Columbia (64674, BIORAD, France) plus le sang de cheval défibriné (IPA) plus le supplément sélectif Butzler (SR0085E, OXOID, France).

- Bouillon de Preston

Bouillon nutritif n°2 (IPA) plus le sang de cheval lysé (IPA) plus le supplément sélectif Butzler.

- Gélose Columbia au sang frais

Gélose Columbia plus le sang de cheval défibriné.

- Gélose Muller Hinton au sang frais

Gélose Muller Hinton (IPA) plus le sang de cheval défibriné.

Les techniques de préparation des différents milieux de culture sont détaillées en annexe 2.

### **1.3.2 Méthode de prélèvement**

Les échantillons ont été récoltés aléatoirement selon la disponibilité des différents réactifs d'analyse et la coopération des éleveurs et des propriétaires des établissements d'abattage de poulet de chair.

#### **1.3.2.1 Echantillons de fientes**

100 échantillons de fientes ont été récoltés à partir de six élevages de poulets de chair, deux bâtiments en béton et quatre élevages en serre, situés dans différentes communes des wilayas d'Alger et Boumerdes, un seul passage a été effectué en début de journée pour chaque élevage.

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

**Tableau 9** : Description des fermes avicoles testées et des échantillons récoltés.

<b>Elevages</b>	<b>Localisation</b>	<b>Type</b>	<b>Age des sujets</b>	<b>Nombre total des sujets</b>	<b>Nombre d'échantillons</b>
Elevage 1	Boumerdes	Béton	52 jours	7000	15 fientes
Elevage 2	Boumerdes	Béton	57 jours	3000	20 fientes
Elevage 3	Alger	Serre	70 jours	4000	15 fientes
Elevage 4	Boumerdes	Serre	47 jours	4000	20 fientes
Elevage 5	Alger	Serre	45 jours	4000	15 fientes
Elevage 6	Alger	Serre	51 jours	4000	15 fientes

Des fientes de poulet de chair fraîchement émises ont été récoltées par terre à différents endroits du bâtiment d'élevage afin de balayer toute la surface. Les échantillons étaient prélevés le plus proche possible de l'abattage c'est-à-dire en fin de période d'élevage.

Les prélèvements sont récoltés à l'aide de spatules stériles et déposés dans des pots stériles et identifiés.

### **1.3.2.2 Echantillons de volailles abattues**

200 échantillons (100 de caecums et 100 de peau de cou) ont été récoltés à partir de cinq établissements d'abattage de poulets de chair : trois abattoirs industriels et deux tueries traditionnelles, situés dans différentes communes des wilayas d'Alger et Boumerdes. Un seul passage a été effectué en début de journée pour chaque établissement d'abattage.

Il a été effectué systématiquement dans chaque abattoir visité sur un même lot abattu, 20 prélèvements de caecums et 20 prélèvements de peaux de cou.

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

**Tableau 10** : Description des établissements d'abattage testés et des échantillons récoltés.

<b>Abattoirs</b>	<b>Localisation</b>	<b>Type</b>	<b>Espèces abattues</b>	<b>Cadence</b>	<b>Nombre d'échantillons</b>	<b>Provenance</b>
Abattoir 1	Boumerdes	Industriel	Poulet de chair Dinde	1500/ h	20 caecums 20 peaux du cou	Tizi-Ouzou
Abattoir 2	Alger	Industriel	Poulet de chair	500/ h	20 caecums 20 peaux du cou	Bejaia
Abattoir 3	Boumerdes	Industriel	Poulet de chair Dinde	1200/ h	20 caecums 20 peaux du cou	Tizi-Ouzou
Abattoir 4	Alger	Traditionnel	Poulet de chair	600/ h	20 caecums 20 peaux du cou	Bord-Bou- Arreridj
Abattoir 5	Boumerdes	Traditionnel	Poulet de chair	350/ h	20 caecums 20 peaux du cou	Boumerdes

- Peaux de cou

Des peaux de cou ont été prélevées 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 douchage des carcasses).

Les prélèvements ont été effectués à l'aide de pinces et bistouris stériles puis déposés dans des sacs de prélèvement stériles et identifiés.

- Contenus des caecums

Les prélèvements ont été effectués par incision d'un morceau du caecum ou du caecum entier au moment de l'éviscération des poulets.

Les prélèvements ont été récoltés en utilisant des pinces et des ciseaux stériles puis déposés dans des boîtes de Pétri stériles et identifiées.

Les différentes modalités de prélèvement sont représentées dans la figure 10.



a : fientes

b : peau de cou

c : caecum

**Figure 10** : les différentes modalités de prélèvement.

### 1.3.3 Transport des échantillons

Les différents types d'échantillons ont été transportés dans une glacière à 4°C le plus rapidement possible au laboratoire d'analyse pour éviter la dessiccation, l'analyse des échantillons a été réalisée le jour même.

### 1.3.4 Méthode d'analyse

Pour toutes les étapes du protocole d'analyse des échantillons, les incubations des cultures se font dans des jarres étanches avec des sachets générateurs d'atmosphère particulière microaérophiile (GENbox microaer, bioMérieux, France). L'atmosphère microaérophiile signifie un mélange gazeux de 5% d'O<sub>2</sub>, 10% de CO<sub>2</sub> et 85% d'N<sub>2</sub>.

Les différents échantillons ont été analysés selon :

- La norme NF ISO 10272 : 1995 modifiée (AFNOR, 2004) ;
- Les recommandations de l'OMS (2003) ;
- Le manuel terrestre de l'OIE (2008).

#### 1.3.4.1 Réalisation des primo cultures

- Les fientes

Pour les produits suspectés contenir une quantité importante de *Campylobacter* thermotolérants, nous avons procédé à un isolement direct.

- Préparation des suspensions mères par dilution de 1g de fientes dans 10 ml d'eau physiologique stérile.
  - Isolement direct sur milieu sélectif : par ensemencement de 10 $\mu$ l de la suspension mère sur le milieu gélosé Butzler.
  - Incubation des géloses ensemencées à 42°C pendant 48h en atmosphère microaéroophile.
- 
- Les caecums
    - Préparation de la prise d'essai par ouverture aseptique du caecum et prélèvement d'environ 1g du contenu intestinal.
    - Préparation des suspensions mères par dilution de 1g du contenu intestinal dans 10 ml d'eau physiologique stérile.
    - Isolement direct sur milieu sélectif par ensemencement de 10 $\mu$ l de la suspension mère sur le milieu gélosé Butzler.
    - Incubation des géloses ensemencées à 42°C pendant 48h en atmosphère microaéroophile.
  
  - Les peaux 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 phase d'enrichissement dans un bouillon sélectif et l'analyse complète de ces échantillons peut aller jusqu'à 12 jours.

- Enrichissement

Il est réalisé par ensemencement de l'échantillon à tester dans un bouillon d'enrichissement sélectif conçu pour ralentir ou inhiber la multiplication de micro-organismes rivaux tout en favorisant celle de micro-organismes du genre *Campylobacter*.

L'enrichissement se fait par transfert de 10g de peau de cou prélevée dans un flacon contenant 90ml du bouillon d'enrichissement Preston.

Incubation des bouillons ensemencés à 42°C pendant 24h en atmosphère microaéroophile.

- Isolement

L'isolement est réalisé par ensemencement des boîtes de gélose Butzler par 10µl du bouillon d'enrichissement précédemment incubé.

Incubation des géloses ensemencées à 42°C pendant 48h et jusqu'à 5 jours en atmosphère microaérophile.

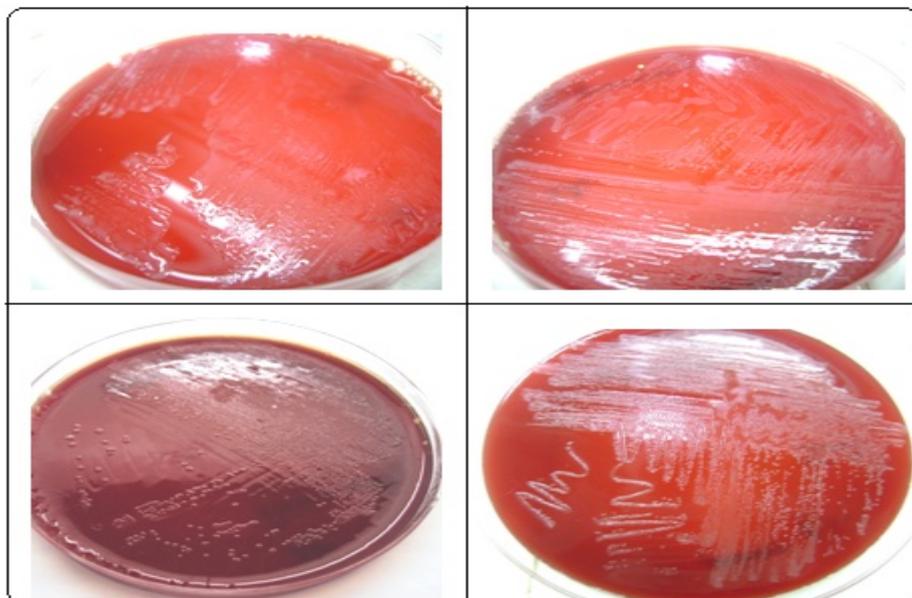
### 1.3.4.2 Identification préliminaire

L'identification présomptive des *Campylobacter* est basée sur leur morphologie typique lors de la coloration de Gram, un état frais et les tests biochimiques rapides (recherche de l'activité oxydase et catalase).

- Aspect des cultures

Sur milieu Butzler, les colonies typiques sont petites, plates, arrondies, grises ou brunâtres, étalées en gouttes d'eau ou en taches de bougie, et peuvent être de différentes tailles sur une même boîte de culture.

Les colonies apparaissent généralement au bout de 48 h lors de l'isolement à partir des fientes et de contenu caecal, et les primo-cultures sont généralement pures. Pour les peaux de cou c'est jusqu'à 72 h d'incubation et les primo-cultures sont souvent envahies de contaminants.



**Figure 11** : Différents aspects des colonies de *Campylobacter* sur gélose Butzler.

(Photo personnelle)

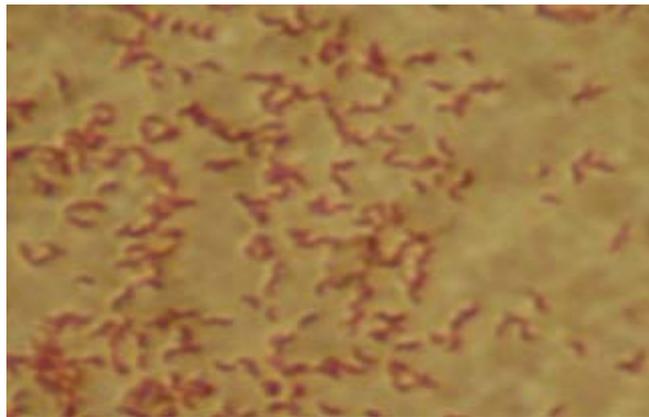
- Examen de la morphologie sur frottis coloré

L'examen de la morphologie est réalisé par coloration de Gram d'un frottis préparé à partir d'une colonie bien isolée, suspecte être *Campylobacter* thermotolérant.

La technique de la préparation du frottis ainsi que la coloration de Gram sont décrits en annexe 3.

L'aspect des *Campylobacter* lors de la coloration de Gram est très caractéristique, les bactéries ainsi isolées étaient des bacilles à Gram négatif très fins présentant différentes formes, souvent incurvées en virgule ou spiralées en S, ou parfois de formes hélicoïdale. Lors d'incubations prolongées, des formes coccoïdes ont été obtenues.

L'aspect microscopique des *Campylobacter* est représenté dans la figure 12.



**Figure 12** : Aspect microscopique des *Campylobacter* (G\*100).  
(Photo personnelle)

- Examen de mobilité

Une préparation à l'état frais permet d'examiner la mobilité des bactéries et d'en déceler la forme. Pour observer la mobilité, on doit prendre garde à ne pas détruire les flagelles bactériens lors du prélèvement et de la préparation de la lame.

L'examen à l'état frais permet d'observer des *Campylobacter* dont le mouvement de déplacement en vrille est caractéristique.

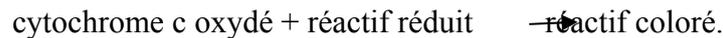
La technique de la réalisation de l'examen à l'état frais est décrite en annexe 3.

- Recherche de l'oxydase

### **Principe**

Le test de l'oxydase met en évidence la présence d'une cytochrome-oxydase qui oxyde le cytochrome c réduit. Ce test met en évidence la présence de cytochrome c dans les chaînes respiratoires grâce à des réactifs ayant le même potentiel d'oxydo-réduction que le cytochrome c.

La réaction est schématiquement la suivante :



### **Technique**

Prélever à l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur une colonie caractéristique et la transférer sur un papier buvard imbibé par le réactif de l'oxydase.

### **Lecture**

La présence d'une cytochrome-oxydase se traduit, en 20 à 60 secondes, par l'apparition d'une coloration bleue violacée.

Les cultures présentant l'aspect macroscopique et microscopique des *Campylobacter* sont oxydase positive.

- Recherche de la catalase

### **Principe**

En présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation d'eau oxygénée. La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et oxygène.

### **Technique**

Déposer sur une lame de verre une ou deux gouttes d'eau oxygénée à 10 volumes.

Prélever à l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur un fragment de colonie et dissocier la culture dans l'eau oxygénée.

### **Lecture**

La présence d'une catalase se traduit, en quelques secondes, par la formation de bulles d'oxygène.

Les cultures présentant l'aspect macroscopique et microscopique des *Campylobacter* étaient catalase positive.

### **1.3.4.3 Isolement des souches et confirmation**

- Préparation des subcultures

Les colonies présentant les caractéristiques morphologiques et biochimiques des *Campylobacter* sont repiquées sur gélose Columbia au sang de cheval afin d'isoler la souche en ayant une culture pure.

Les géloses ensemencées sont incubées à 42°C pendant 18h à 24h en microaérophilie.

- Ensemencement des géloses TSI

#### **Principe**

A partir de la culture pure précédemment obtenue sur la gélose Columbia au sang, prélever quelques colonies isolées.

Ensemencer en stries longitudinales la pente du milieu et ensemencer le culot par piqûre centrale jusqu'au fond de la gélose.

Incubation des géloses ensemencées à 42°C pendant 24h et jusqu'à 5 jours en atmosphère microaérophile.

#### **Lecture**

L'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu se traduit par une acidification (virage au jaune du rouge de phénol). Une alcalinisation se révèle par une coloration rouge foncé. La production de sulfure d'hydrogène à partir du thiosulfate est mise en évidence par la formation d'une coloration noire au fond de la gélose.

Les règles d'interprétation des résultats observés lors de la lecture de la gélose TSI sont résumées dans le tableau 11.

Les *Campylobacter* thermotolérants ne fermentent pas les sucres et ne produisent pas de gaz à partir de glucose.

**Tableau 11** : Interprétation des réactions observées 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)

- Test de sensibilité à la céfalotine (céfazoline)

Vu l'indisponibilité de la céfalotine, nous l'avons remplacé par la céfazoline, molécule la plus proche (les deux molécules sont des céphalosporines de première génération inactives par voie orale).

L'étude de la sensibilité à la céfazoline a été étudiée selon la même méthode que les autres antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.

Les modalités d'interprétation des résultats sont représentées dans le tableau 12.

**Tableau 12** : Interprétation des résultats de la sensibilité à la céfalotine (AFNOR, 2004).

Antibiotiques	<i>C jejuni</i>	<i>C coli</i>	<i>C lari</i>	<i>C upsaliensis</i>
Céfalotine	résistant	Résistant	Résistant	sensible

L'identification des différentes espèces de *Campylobacter* thermotolérants n'a pas été effectuée du fait de l'indisponibilité du matériel (Hippurate de sodium et galeries Api *Campylobacter*). Seules 8 souches ont été identifiées par moyens de galeries Api.

### **1.3.5 Réalisation des antibiogrammes des souches isolées**

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées est réalisée selon les recommandations de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2010) et selon les recommandations de l'OMS (2008a) donnée dans le fascicule de la standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine en Algérie.

**Antibiotiques testés :** Les antibiotiques utilisés sont

L'ampicilline, la gentamicine, la ciprofloxacine, l'acide nalidixique (bioMérieux).

L'amoxicilline/acide clavulanique, la tétracycline, l'érythromycine, le chloramphénicol, et la céfazoline (Biorad).

Les différents antibiotiques utilisés sont cités dans le tableau 13 (Annexe 4).

#### **Procédure**

L'antibiogramme se fait sur deux boîtes de gélose Mueller Hinton additionnée de 5% de sang de cheval défibriné par la méthode de diffusion de disques en gélose.

- Standardisation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h, préparer une suspension inoculum en eau physiologique stérile et l'ajuster pour obtenir une densité optique de 0.5 McFarland.

- Plonger un écouvillon en coton stérile dans l'inoculum et presser doucement en tournant sur la paroi interne du tube au dessus du niveau de l'eau afin d'éliminer le liquide en excès retenu dans l'écouvillon.

• Etaler l'écouvillon à travers la surface entière de la boîte de la gélose Mueller Hinton au sang, tourner la boîte d'environ 60° et recommencer l'étalement deux fois. Compléter l'étalement en tournant l'écouvillon sur le bord de l'agar.

- Application des disques

Déposer les disques sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince. Ne pas bouger les disques après leur application et s'assurer du contact complet avec la gélose.

- Incubation des gélosesensemencées à 42°C pendant 24 à 48h en microaérophilie.

## **Lecture des boîtes et interprétation des résultats**

- Vérifier la pureté, vérifier que la croissance forme une surface confluyente.
- Vérifier que la zone d'inhibition est ronde et non ovale.
- Mesurer le diamètre de la zone d'inhibition (jusqu'à la croissance complète).

L'interprétation des résultats est réalisée selon les normes de références utilisées.

Les concentrations des disques d'antibiotiques utilisés, les diamètres critiques et les règles de lecture interprétative pour *Campylobacter* spp. sont représentés dans le tableau 14 (Annexe 5).

Des souches de références (contrôles positifs) ont été testées dans les mêmes conditions d'analyse à savoir *C jejuni* (ATCC 968), *C coli* (ATCC 0321) et *C fetus* (ATCC 443) pour tester l'efficacité des différents milieux de culture ainsi que les disques d'antibiotiques utilisés, en plus des contrôles négatifs.

### **1.3.6 Conservation des souches**

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 à -70°C.

### **1.3.7 Etude statistique (page 61)**

Les résultats ont été analysés à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2007.

Les tests utilisés sont :

- Le calcul des intervalles de confiance (IC : 95 %);
- Le test de comparaison : Khi-deux ( $\chi^2$ ).

La différence est considérée comme significative si la probabilité (p) est inférieure au risque  $\alpha$  ( $p < 0.05$ ).

## 2. RESULTATS

Les 8 souches identifiées par galeries Api appartenait à l'espèce *C jejuni*.

### 2.1 Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants

Dans cette partie nous présenterons dans un premier temps, la fréquence globale d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants dans l'ensemble des échantillons réalisés puis nous détaillerons les prévalences observées dans chaque type de prélèvement, au niveau des élevages ainsi que les établissements d'abattage avicoles testés.

#### 2.1.1 Prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants

Sur les 300 échantillons testés, des *Campylobacter* thermotolérants ont été isolées dans :

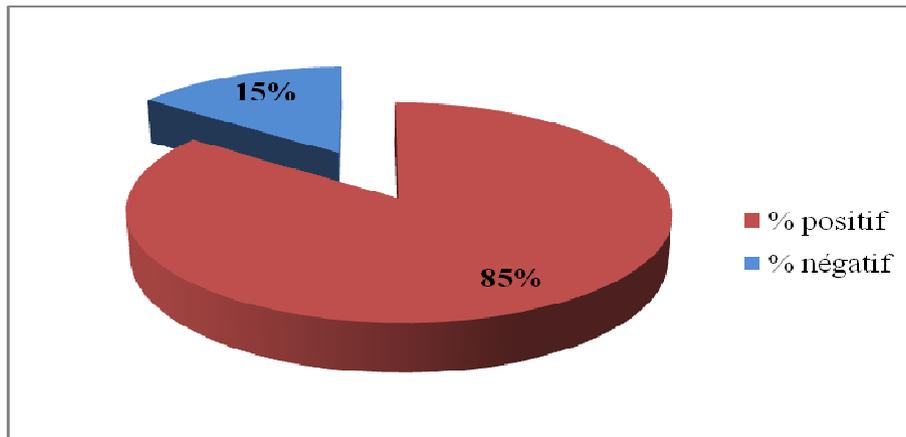
- 85 sur 100 (85%) des échantillons de fientes de poulet de chair.
- 98 sur 100 (98%) des échantillons de contenus de caecums de poulet de chair.
- 80 sur 100 (80%) des échantillons de peaux de cou de poulet de chair.

Nous avons noté que 15% des échantillons de fientes, 2% des échantillons de contenus caecaux et 20% des échantillons de peaux de cou étaient négatifs pour *Campylobacter*.

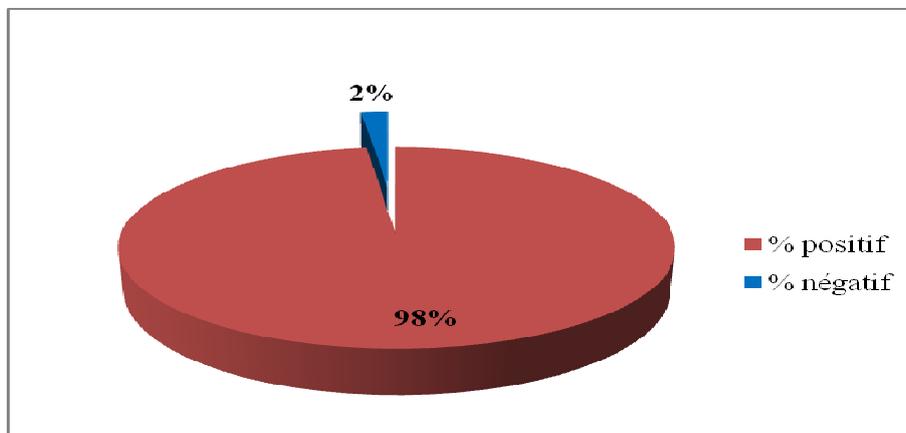
Les résultats concernant la fréquence globale d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants sont consignés dans le tableau 15 et la figure 13, 14 et 15.

**Tableau 15** : Prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants.

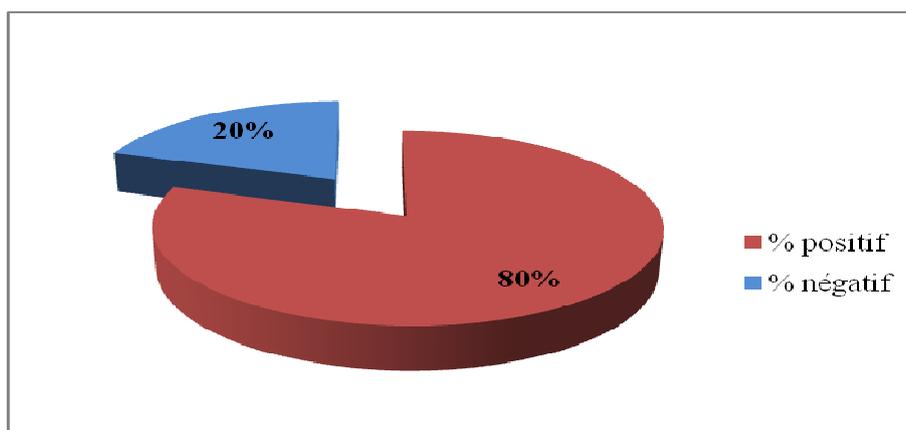
Type de Prélèvement	Nombre de prélèvement	Cas positifs		Intervalle de confiance à 95%
		nombre	%	
Fientes	100	85	85,0	[78% ; 92%]
Contenus du caecum	100	98	98,0	[95% ; 100%]
Peaux du cou	100	80	80,0	[72% ; 88%]
Total	300	263	87,7	[84% ; 91%]



**Figure 13** : Prévalence globale de *Campylobacter* thermotolérants dans les fientes.



**Figure 14** : Prévalence globale de *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caeaux.



**Figure 15** : Prévalence globale de *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux de cou.

Les différents taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants à partir des trois types de prélèvement n'étaient pas statistiquement différents ( $p > 0,05$ ).

### 2.1.2 Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les fientes au niveau des fermes

Nous avons isolé 85 souches de *Campylobacter* thermotolérants à partir de 100 prélèvements de fientes effectués au niveau de six fermes avicoles différentes de poulet de chair. La répartition des souches est répertoriée dans le tableau 16.

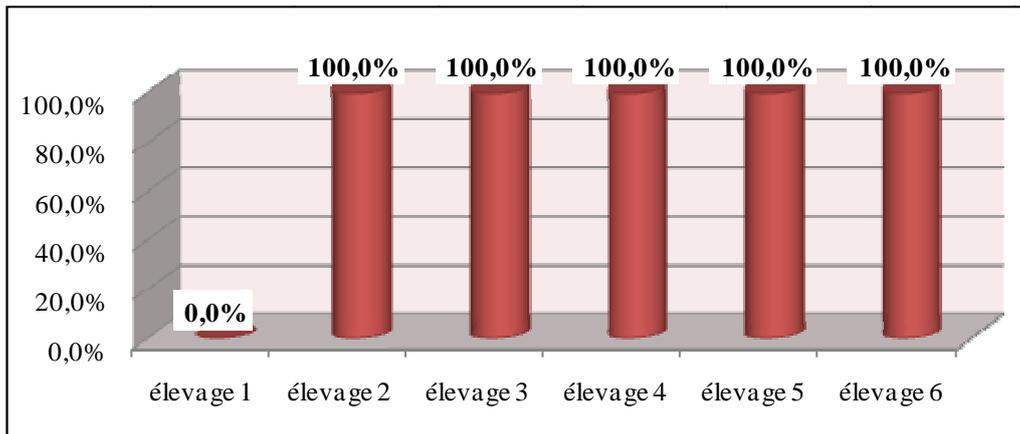
**Tableau 16** : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les élevages.

Type d'élevage	Désignation	Nombre de prélèvements	Cas positifs	
			nombre	%
<b>Béton</b>	élevage 1	15	0	0,0
	élevage 2	20	20	100,0
	<b>Elevages :1+2</b>	<b>35</b>	<b>20</b>	<b>57,1</b>
<b>Serre</b>	élevage 3	15	15	100,0
	élevage 4	20	20	100,0
	élevage 5	15	15	100,0
	élevage 6	15	15	100,0
	<b>Elevages :3+4+5+6</b>	<b>65</b>	<b>65</b>	<b>100,0</b>

#### ➤ Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants par élevage

Les 85 souches isolées étaient réparties selon les élevages comme suit (figure15) :

- 15 souches sur 15 échantillons effectués au niveau des élevages 3, 5 et 6 soit un taux d'isolement respectif de 100%.
- 20 souches sur 20 échantillons effectués au niveau des élevages 2 et 4 soit un taux d'isolement respectif de 100%.
- Par contre, dans l'élevage 1, aucune souche de *Campylobacter* thermotolérants n'a été isolée à partir de 15 échantillons effectués, soit un taux d'isolement de 0%.



**Figure 16 :** Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants par élevage.

Les *Campylobacter* thermotolérants ont été isolés dans cinq élevages parmi les six testés.

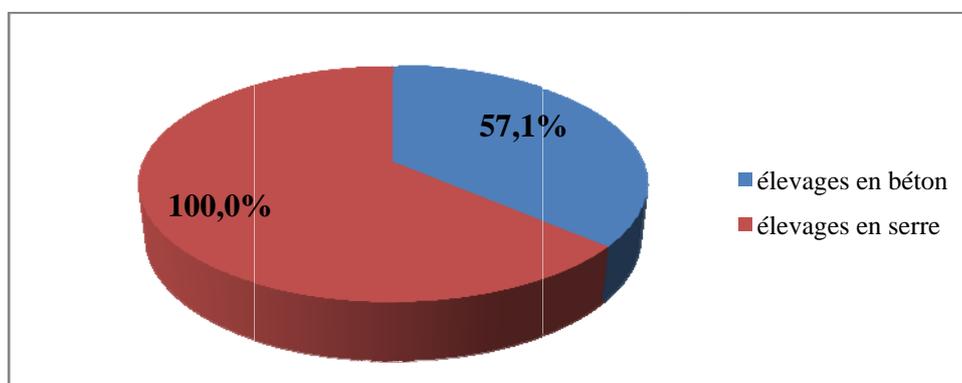
Pour cette série de résultats nous n'avons remarqué aucune différence entre les cinq derniers élevages : élevage 2, 3, 4, 5 et 6 avec des taux d'isolement identiques : 100% dans chaque élevage.

Par contre, le taux de prévalence noté dans l'élevage 1 (0%) était significativement différent ( $p < 0,05$ ) par rapport à tous les taux d'isolement notés dans les autres élevages.

➤ **Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants par type d'élevage**

Les 85 souches isolées étaient réparties selon les élevages comme suit (figure17) :

- 20 souches ont été isolées à partir de 35 échantillons effectués dans les élevages en béton (57,1%).
- 65 souches ont été isolées à partir de 65 échantillons effectués dans les élevages en serre (100%).



**Figure 17 :** Répartition des résultats positifs de fientes selon le type de l'élevage.

Une différence significative ( $p < 0,05$ ) a été constatée entre les fréquences d'isolement des *Campylobacter* à partir des fientes de poulet provenant d'élevage en béton et celles provenant d'élevage en serre.

### 2.1.3 Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants au niveau des établissements d'abattage

178 souches de *Campylobacter* thermotolérants ont été isolées dans les établissements d'abattage, réparties comme suit : 98 souches à partir de 100 échantillons de contenu caecal et 80 souches à partir de 100 prélèvements de peaux de cou testés.

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative ( $p > 0,05$ ) entre le taux d'isolement global des contenus de caecum et des peaux de cou.

#### 2.1.3.1 Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caecaux

Les 98 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des prélèvements de contenus caecaux sont reprises dans le tableau 17.

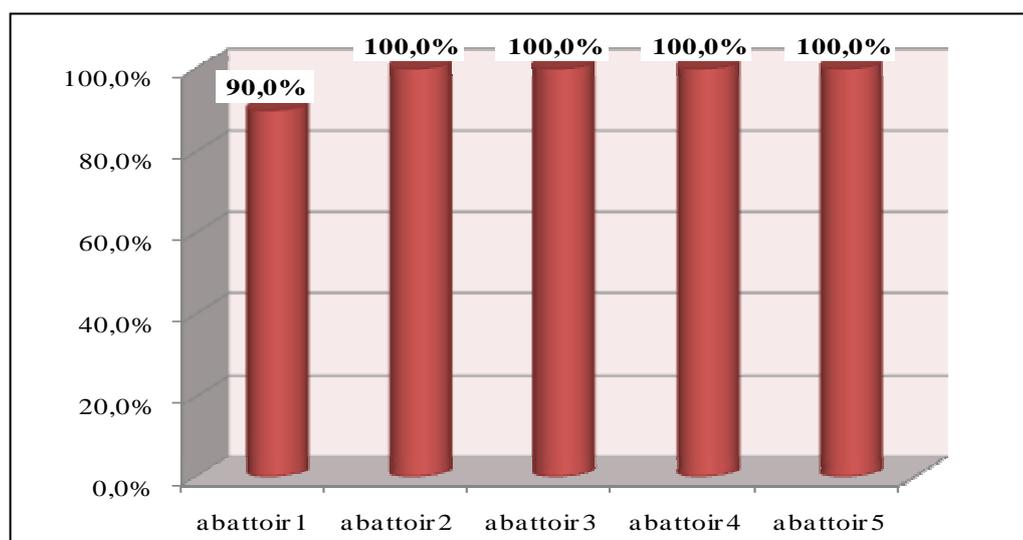
**Tableau 17** : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caecaux.

Type d'abattoir	Désignation	Nombre de prélèvements	Cas positifs	
			nombre	%
<b>Industriel</b>	abattoir 1	20	18	0,0
	abattoir 2	20	20	100,0
	abattoir 3	20	20	100,0
	<b>Abattoirs :1+2</b>	<b>60</b>	<b>58</b>	<b>96,6</b>
<b>Traditionnel</b>	abattoir 4	20	20	100,0
	abattoir 5	20	20	100,0
	<b>Abattoirs :3+4+5+6</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>100,0</b>

➤ **Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants par établissement**

Les 85 souches isolées étaient réparties selon les établissements d'abattage comme suit (figure17) :

- 18 souches ont été isolées à partir de 20 échantillons effectués au niveau de l'abattoir 1, soit un taux d'isolement de 90%.
- 20 souches ont été isolées à partir de 20 échantillons effectués au niveau des abattoirs 2, 3, 4 et 5 soit un taux d'isolement respectif de 100%.



**Figure 18** : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caeaux.

Les *Campylobacter* thermotolérants ont été isolées à partir des contenus caeaux dans tous les établissements testés.

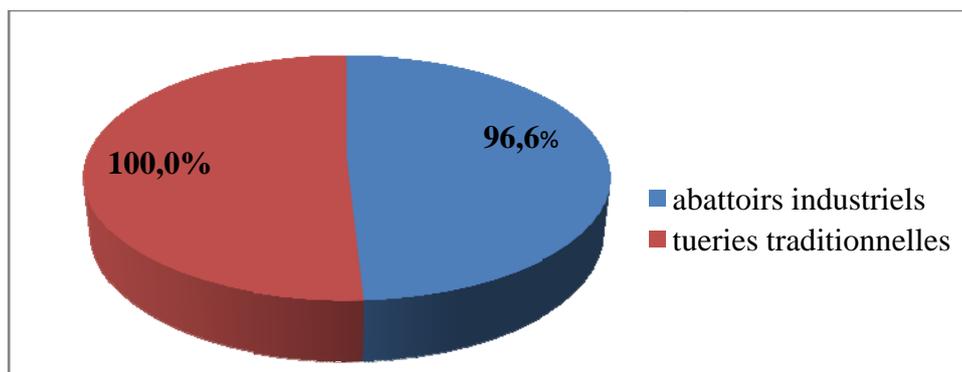
Aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'a été constatée entre les fréquences d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants à partir des contenus caeaux entre les différents établissements d'abattage testés.

➤ **Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caeaux par type d'établissement d'abattage**

98 souches de *Campylobacter* thermotolérants ont été isolées à partir de 100 échantillons de contenu caecal (figure 19) :

- 58 souches ont été isolées à partir de 60 échantillons effectués dans les abattoirs industriels soit un taux de contamination de l'ordre de 96,6%.

- 40 souches ont été isolées à partir de 40 échantillons dans les tueries traditionnelles correspondant à un taux de contamination de l'ordre de 100,0%.



**Figure 19** : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caecaux par type d'établissement d'abattage

Le taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants à partir des contenus caecaux au niveau des abattoirs n'était pas significativement différent ( $p > 0,05$ ) par rapport à celui noté dans les tueries traditionnelles.

### 2.1.3.2 Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux de cou

Les 80 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des prélèvements de peaux de cou, sont réparties dans le tableau 18.

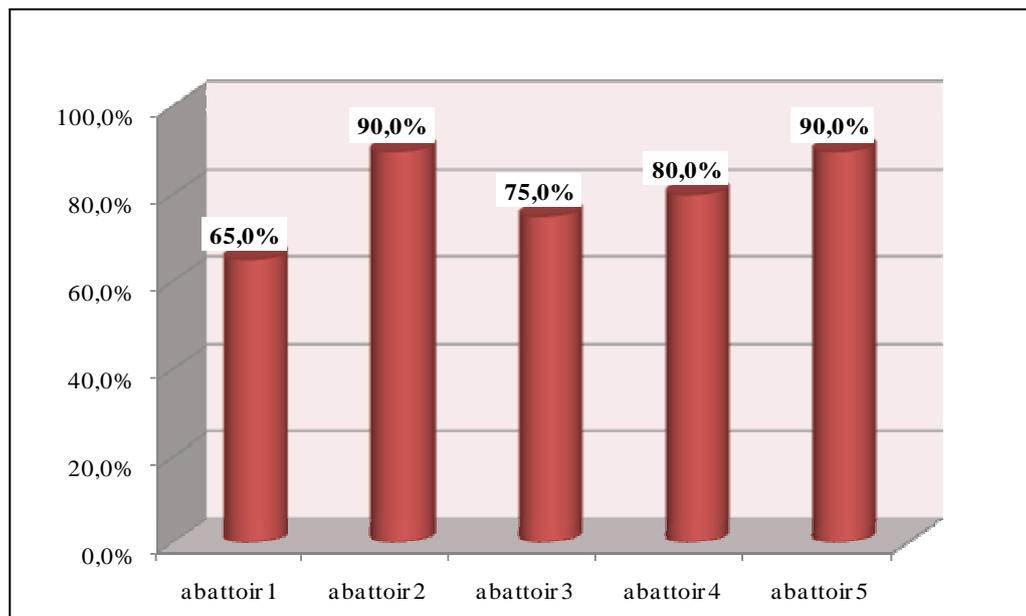
**Tableau 18** : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux de cou.

Type d'abattoir	Désignation	Nombre de prélèvements	Cas positifs	
			nombre	%
<b>Industriel</b>	abattoir 1	20	13	65,0
	abattoir 2	20	18	90,0
	abattoir 3	20	15	75,0
	<b>Abattoirs :1+2</b>	<b>60</b>	<b>46</b>	<b>76,7</b>
<b>Traditionnel</b>	abattoir 4	20	16	80,0
	abattoir 5	20	18	90,0
	<b>Abattoirs :3+4+5+6</b>	<b>40</b>	<b>34</b>	<b>85,0</b>

➤ **Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux de cou par établissement d'abattage**

Les 80 souches isolées étaient réparties selon les établissements d'abattage comme suit (figure20) :

- 13 souches sur 20 échantillons effectués au niveau de l'abattoir 1, soit un taux d'isolement de 65%.
- 15 souches sur 20 échantillons effectués au niveau de l'abattoir 3, soit un taux d'isolement de 75%.
- 16 souches sur 20 échantillons effectués au niveau de l'abattoir 4, soit un taux d'isolement de 80%.
- 18 souches sur 20 échantillons effectués au niveau des abattoirs 2 et 5, soit un taux d'isolement respectif de 90%.



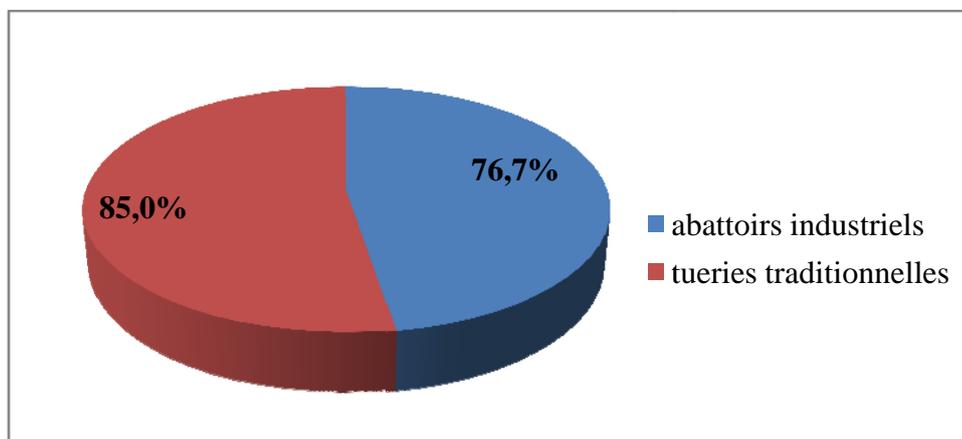
**Figure 20** : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux de cou.

Aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'a été constatée entre les fréquences d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants à partir des peaux de cou entre les différents établissements d'abattage testés.

➤ **Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux de cou par type d'établissement d'abattage**

Sur les 80 souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir de 100 échantillons de peaux de cou (figure 21) :

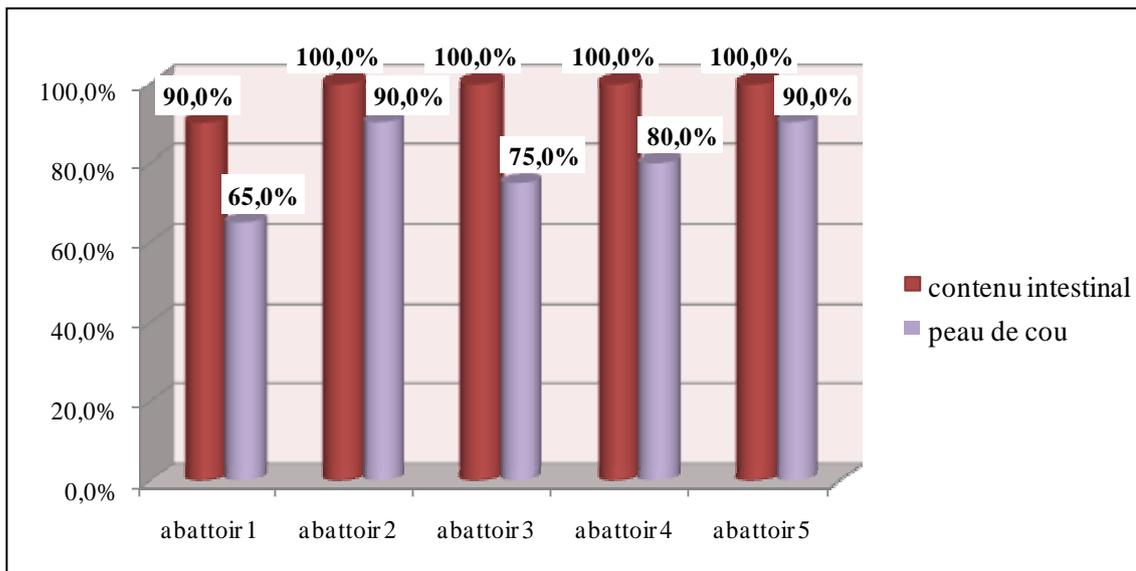
- 46 souches ont été isolées à partir de 60 échantillons effectués dans les abattoirs industriels correspondant à un taux de contamination de l'ordre de (76,7%).
- 34 souches ont été isolées à partir de 40 échantillons effectués dans les tueries traditionnelles correspondant à un taux de contamination de l'ordre de (85,0%).



**Figure 21** : Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux de cou par type établissement d'abattage

**2.1.3.3 Comparaison des taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants obtenus dans les contenus caecaux et les peaux de cou dans chaque établissement d'abattage**

Pour chaque établissement d'abattage, le taux de portage intestinal a été comparé au taux de contamination des peaux de cou provenant du même lot (figure 22).



**Figure 22 :** Combinaison des résultats positifs des contenus caecaux et des peaux de cou dans chaque établissement d'abattage.

Les résultats de la comparaison entre contenu caecaux et les peaux de cou provenant du même lot et dans le même établissement d'abatage ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative ( $p > 0,05$ ) dans quatre parmi les établissements d'abattage testés (2,3,4 et 5), sauf pour l'abattoir 1 où le taux d'isolement de *Campylobacter* thermotolérants à partir des peaux de cou était significativement inférieur ( $p < 0,05$ ) à celui des contenu caecaux du même lot.

## 2.2 Résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées de *Campylobacter* thermotolérants a révélé l'existence de souches sensibles et d'autres résistantes aux différents antibiotiques testés.

### 2.2.1 Résistance globale des *Campylobacter* thermotolérants

Les résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de l'ensemble des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des fientes, des contenus caecaux et des peaux de cou, sont rapportés dans le tableau 19.

**Tableau 19** : Résultats de l'antibiogramme pour l'ensemble des souches isolées.

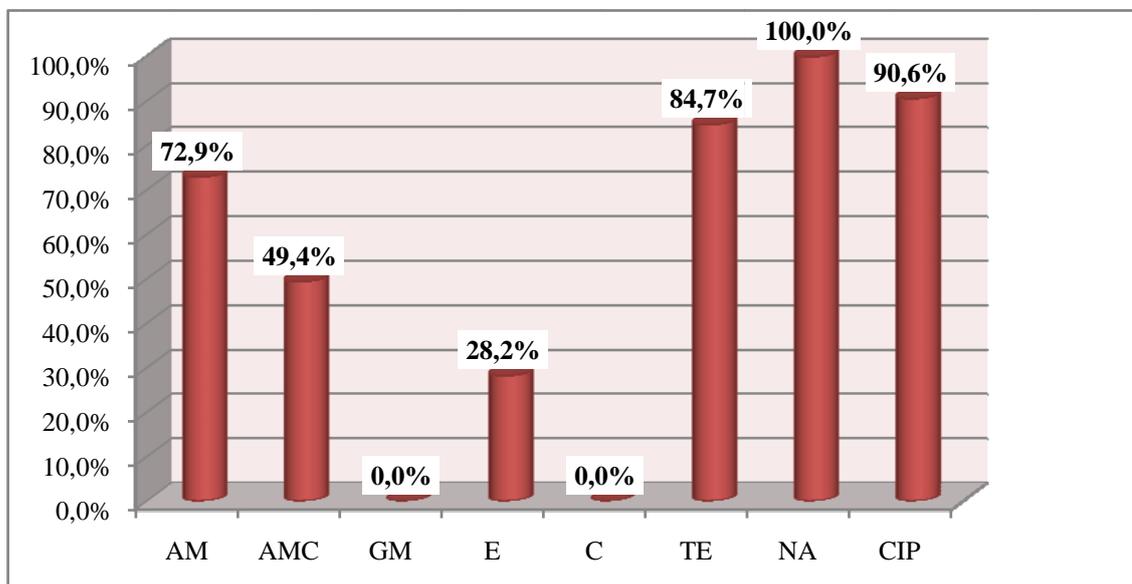
Echantillons	Profil	AM	AMC	GM	E	C	TE	NA	CIP
<b>Fientes</b> (85 souches)	Sensible	23	43	85	61	85	13	0	8
	Résistant	62	42	0	24	0	72	85	77
	% résistance	<b>72,9</b>	<b>49,4</b>	<b>0,0</b>	<b>28,2</b>	<b>0,0</b>	<b>84,7</b>	<b>100,0</b>	<b>90,6</b>
<b>Contenus caecaux</b> (98 souches)	Sensible	25	56	98	80	98	22	0	19
	Résistant	73	42	0	18	0	79	98	78
	% résistance	<b>74,5</b>	<b>42,9</b>	<b>0,0</b>	<b>18,4</b>	<b>0,0</b>	<b>80,6</b>	<b>100,0</b>	<b>79,6</b>
<b>Peaux du cou</b> (80 souches)	Sensible	17	41	80	65	80	11	0	15
	Résistant	63	39	0	15	0	69	80	65
	% résistance	<b>78,8</b>	<b>48,8</b>	<b>0,0</b>	<b>18,8</b>	<b>0,0</b>	<b>86,3</b>	<b>100,0</b>	<b>81,3</b>
<b>Total</b> (263souches)	Résistant	198	123	0	57	0	220	263	220
	% résistance	75,3	46,8	0,0	21,7	0,0	83,7	100,0	83,7

Les résultats ont montré que pour les trois types d'échantillons le taux de résistance à l'acide nalidixique de 100% (aucune souches ne s'est révélée sensible à tous les antibiotiques), par contre toutes les souches étaient sensibles à la gentamicine et au chloramphénicol, correspondant à un taux de résistance respectif de 0%.

La comparaison des différents taux de résistance globaux des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées n'a révélé aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) entre les souches isolées des fientes, des contenus caecaux et des peaux de cou pour chacun des antibiotiques testés.

✚ Pour les souches isolées à partir des **fientes**, les résultats de l'antibiogramme ont montré différents taux de résistance aux différents antibiotiques testés (figure 23).

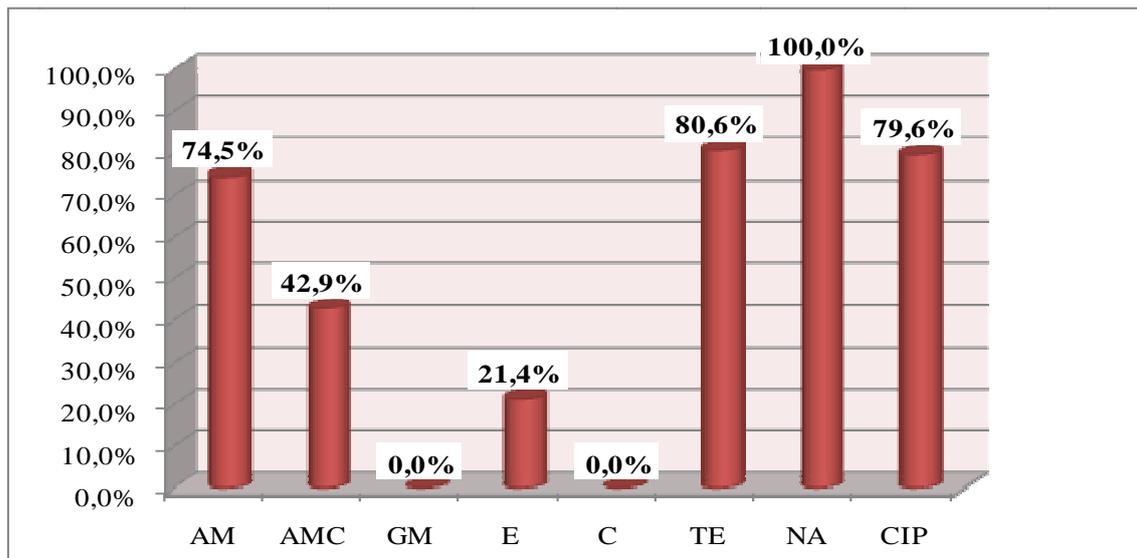
- Toutes les souches (85) étaient résistantes à l'acide nalidixique (100%).
- 77 souches étaient résistantes à la ciprofloxacine (90,6%).
- 72 souches étaient résistantes à la tétracycline (84,7%).
- 62 souches étaient résistantes à l'ampicilline (72,9%).
- 42 souches étaient résistantes à l'Augmentin (49,4%).
- Et 24 souches étaient résistantes à l'érythromycine (28,2%).



**Figure 23** : Taux de résistance des souches isolées à partir des fientes.

✚ Pour les souches isolées à partir des **contenus caecaux**, les résultats de l'antibiogramme ont montré différents taux de résistance aux différents antibiotiques testés (figure 24).

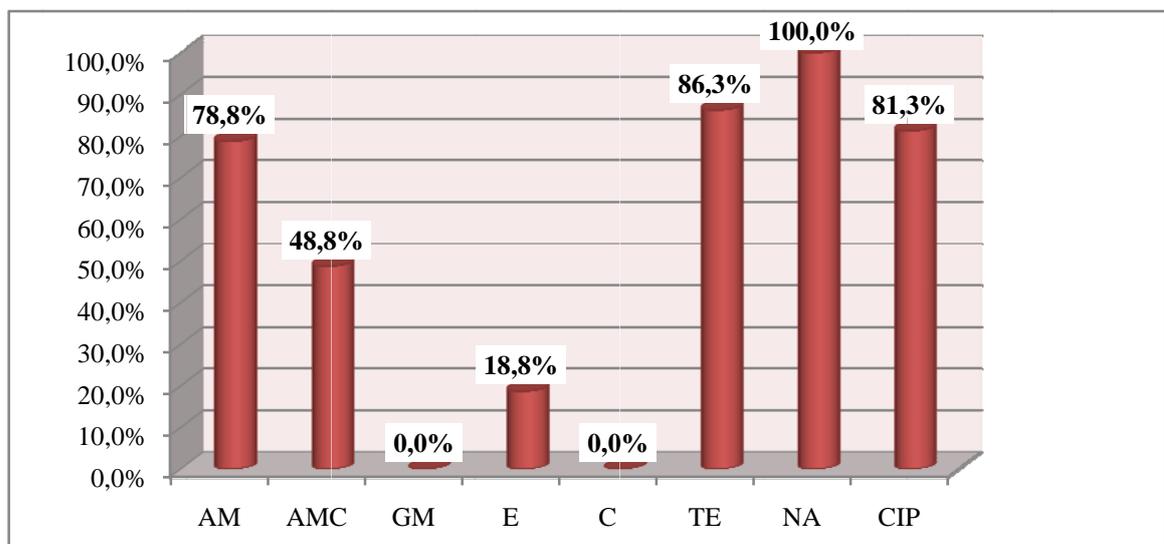
- Toutes les souches (98) étaient résistantes à l'acide nalidixique (100%),
- 79 souches étaient résistantes à la ciprofloxacine (80,6%),
- 76 souches étaient résistantes à la tétracycline (77,6%),
- 73 souches étaient résistantes à l'ampicilline (74,5%),
- 42 souches étaient résistantes à l'Augmentin (42,9%)
- Et 18 souches étaient résistantes à l'érythromycine (18,4%).



**Figure 24** : taux de résistance de souches isolées à partir des contenus caeaux.

✚ 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 25).

- Toutes les souches (80) étaient résistantes à l'acide nalidixique (100%),
- 69 souches étaient résistantes à la tétracycline (86,3%),
- 65 souches étaient résistantes à la ciprofloxacine (81,3%),
- 63 souches étaient résistantes à l'ampicilline (78,8%),
- 39 souches étaient résistantes à l'Augmentin (48,8%)
- Et 15 souches étaient résistantes à l'érythromycine (18,8%).



**Figure 25** : taux de résistance de souches isolées à partir des peaux de cou.

### 2.2.2 Résistance des *Campylobacter* thermotolérants isolés à partir des fientes dans les différents élevages

Les taux de résistance aux différents antibiotiques des différentes souches *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des fientes dans chaque élevage ainsi que le traitement antibiotique administré dans ces élevages sont représentés dans le tableau 20.

**Tableau 20** : Taux de résistance aux antibiotiques des différentes souches *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des fientes dans les différents élevages.

	Elevage 2 (20 souches)		Elevage 3 (15 souches)		Elevage 4 (20 souches)		Elevage 5 (15 souches)		Elevage 6 (15 souches)	
Résistance	n souches	%	n souches	%	n souches	%	n souches	%	n souches	%
AM	13	65,0	15	100,0	15	75,0	9	60,0	10	66,7
AMC	12	60,0	10	66,7	12	60,0	3	20,0	5	33,3
GM	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
E	10	50,0	5	33,3	0	0,0	2	13,3	7	46,7
C	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
TE	20	100,0	8	53,3	18	90,0	15	100,0	11	83,3
NA	20	100,0	15	100,0	20	100,0	15	100,0	15	100,0
CIP	20	100,0	11	73,3	16	80,0	15	100,0	15	100,0
Traitement antibiotique administré	Tétracycline Colistine Quinolone Tylosine		Tétracycline Sulfamides Amoxicilline		Tétracycline Sulfamides Néomycine Terramycine		Tétracycline		Tétracycline Sulfamides	

Les résultats obtenus montrent que pour l'ampicilline, l'augmentin, l'érythromycine et la tétracycline, il y a une différence significative entre les taux de résistance notés à ces antibiotiques dans les différents élevages. Par contre, pour la ciprofloxacine, cette différence n'est pas significative.

100% des souches isolées à partir des fientes de l'élevage 2 étaient résistantes à la tétracycline et la ciprofloxacine, en plus de l'acide nalidixique, sachant que cet élevage a reçu des tétracyclines et des quinolones et de la colistine comme traitement.

100% des souches provenant de l'élevage 3 étaient résistantes à l'ampicilline, sachant que cet élevage a reçu de l'amoxicilline, de la tétracycline et des sulfamides en traitement.

Toutes les souches isolées de l'élevage 4 étaient sensibles à l'érythromycine en plus de la gentamycine et du chloramphénicol.

Les 15 souches isolées de l'élevage 5 étaient toutes résistantes à la tétracycline et à la ciprofloxacine, sachant que cet élevage a reçu des tétracyclines en traitement.

Les souches isolées de l'élevage 6 présentaient 100% de résistance à la tétracycline, sachant que cet élevage a reçu des tétracyclines et des sulfamides en traitement.

### **2.2.3 Résistance des *Campylobacter* thermotolérants isolés dans les établissements d'abattage**

La comparaison des pourcentages de résistance observés entre les 98 souches isolées des caecums et les 80 souches des peaux de cou ne montre pas de différence significative.

#### **2.2.3.1 Résistance des *Campylobacter* thermotolérants isolées dans les contenus caecaux**

Les taux de résistance aux différents antibiotiques des différentes souches *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des contenus caecaux dans chaque établissement d'abattage sont représentés dans le tableau 21.

**Tableau 21** : Taux de résistance aux antibiotiques des différentes souches *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des contenus caecaux dans les établissements d'abattage.

	Abattoir 1 (18 souches)		Abattoir 2 (20 souches)		Abattoir 3 (20 souches)		Abattoir 4 (20 souches)		Abattoir 5 (20 souches)	
Résistance	n souches	%	n souches	%	n souches	%	n souches	%	n souches	%
<b>AM</b>	15	83,3	14	70,0	15	75,0	9	45,0	20	<b>100,0</b>
<b>AMC</b>	15	83,3	7	35,0	0	<u>0,0</u>	0	<u>0,0</u>	20	<b>100,0</b>
<b>GM</b>	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<b>E</b>	0	<u>0,0</u>	11	55,0	0	<u>0,0</u>	5	25,0	2	10,0
<b>C</b>	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<b>TE</b>	18	<b>100,0</b>	17	85,0	12	60,0	16	80,0	16	80,0
<b>NA</b>	18	100,0	20	100,0	20	100,0	20	100,0	20	100,0
<b>CIP</b>	18	<b>100,0</b>	14	70,0	20	<b>100,0</b>	12	60,0	14	70,0

Les résultats obtenus montrent que pour l'ampicilline, l'augmentin, l'érythromycine, la tétracycline ainsi que la ciprofloxacine il y a une différence significative ( $p > 0,05$ ) entre les taux de résistance notés à ces antibiotiques dans les différents établissements d'abattage. Concernant l'augmentin, nous avons noté un taux de résistance de 0% pour les souches provenant des contenus caecaux de l'abattoir 3 et 4 contre un taux de résistance de 100% observé pour les souches isolées dans l'abattoir 5.

100% des souches isolées des contenus caecaux de l'abattoir 1 étaient résistantes à la tétracycline et la ciprofloxacine, en plus de l'acide nalidixique ; le taux de résistance aux deux bêta Lactamines testées était strictement le même (75%). Cependant, toutes les souches étaient sensibles à l'érythromycine en plus de la gentamycine et du chloramphénicol.

Pour l'abattoir 3, toutes les souches isolées étaient résistantes à la ciprofloxacine. Par contre, elles étaient toutes sensibles à l'érythromycine et à l'augmentin, bien que 75% de ces mêmes souches étaient résistantes à l'ampicilline.

Les 20 souches isolées de l'abattoir 4 étaient également toutes sensibles à l'augmentin, avec 45% de résistance à l'ampicilline.

Les souches isolées de l'abattoir 5 présentaient 100% de résistance aux deux bêta Lactamines testées, mais seulement deux souches étaient sensibles à l'érythromycine.

### 2.2.3.2 Résistance des *Campylobacter* thermotolérants dans les 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 22.

**Tableau 22** : Taux de résistance aux antibiotiques des différentes souches *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des peaux de cou dans les différents établissements d'abattage.

	Abattoir 1 (13 souches)		Abattoir 2 (18 souches)		Abattoir 3 (15 souches)		Abattoir 4 (16 souches)		Abattoir 5 (18 souches)	
Résistance	n souches	%								
AM	13	100,0	12	66,7	15	100,0	5	31,3	18	100,0
AMC	13	100,0	8	44,4	0	0,0	0	0,0	18	100,0
GM	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
E	0	0,0	8	44,4	0	0,0	5	31,3	2	11,1
C	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
TE	11	84,6	15	83,3	9	60,0	16	100,0	18	100,0
NA	13	100,0	18	100,0	15	100,0	16	100,0	18	100,0
CIP	13	100,0	13	72,2	15	100,0	8	50,0	16	70,0

Les résultats obtenus montrent que pour l'ampicilline, l'augmentin, l'érythromycine, la tétracycline ainsi que la ciprofloxacine il y a une différence significative entre les taux de résistance notés à ces antibiotiques dans les différents établissements d'abattage. Cette différence est très significative pour l'augmentin, pour lequel nous avons noté un taux de résistance de 0% pour les souches provenant des contenus caecaux de l'abattoir 3 et 4 contre un taux de résistance de 100% observé pour les souches isolées dans l'abattoir 1 et 5. Concernant l'ampicilline, nous avons remarqué un taux de résistance de 31,1% pour les souches isolées de l'abattoir 4 contre un taux de résistance de 100% noté dans trois abattoirs (1, 3 et 5).

100% des souches isolées des peaux de cou de l'abattoir 1 étaient résistantes aux bêtalactamines testés et à la ciprofloxacine, en plus de l'acide nalidixique. Cependant, elles étaient toutes sensibles à l'érythromycine en plus de la gentamycine et le chloramphénicol.

Pour l'abattoir 3, toutes les souches isolées étaient résistantes à l'ampicilline et la ciprofloxacine. Par contre, elles étaient toutes sensibles à l'érythromycine et à l'augmentin.

Les 20 souches isolées de l'abattoir 4 étaient toutes sensibles à l'augmentin. En plus, toutes ces souches isolées des peaux de cou étaient résistantes à la tétracycline.

Les souches isolées de l'abattoir 5 présentaient 100% de résistance aux deux bêtalactamines testées. Deux souches seulement étaient sensibles à l'érythromycine. Toutes les souches isolées des peaux de cou dans cet abattoir étaient résistantes à la tétracycline.

#### **2.2.4 Profils de résistance des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées**

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées dans les élevages et les établissements d'abattage a révélé l'existence de souches bactériennes multirésistantes. En effet, toutes les souches isolées étaient résistantes simultanément à au moins deux des antibiotiques testés.

Cette étude a permis ainsi l'établissement de 19 profils de résistance différents pour les *Campylobacter* thermotolérants isolés.

### 2.2.4.1 Profils de résistance des souches *Campylobacter* thermotolérants isolées à partir des fientes

L'étude du profil de résistance des différentes souches isolées des fientes a montré des résistances associées à 2, 3, 4, 5 et 6 antibiotiques avec une divergence de 12 profils de résistances établis (tableau 23).

**Tableau 23** : Profils de résistance des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées des fientes

Résistances associées à :	Profil de résistance	Nombre de souches	
2 ATB	NA,CIP	4	6
	NA,AM	2	
3 ATB	NA,CIP,TE	15	17
	NA,AM,TE	2	
4 ATB	NA,CIP,AM,AMC	7	25
	NA,CIP,AM,TE	9	
	NA,CIP,AMC,TE	1	
	NA,CIP,TE,E	4	
	NA,AM,AMC,TE	4	
5 ATB	<b>NA,CIP,AM,AMC,TE</b>	<b>18</b>	27
	NA,CIP,AM,TE,E	9	
6 ATB	NA,CIP,AM,AMC,TE,E	10	10

Les profils de résistance obtenus à partir des souches isolées des fientes étaient présentés comme suit :

- 6 souches étaient résistantes à 2 antibiotiques avec établissement de 2 profils de résistance différents.
- 17 souches étaient résistantes à 3 antibiotiques avec établissement de 2 profils de résistance différents.

- 35 souches étaient résistantes à 4 antibiotiques avec établissement de 5 profils de résistance différents, c'était le nombre de souches le plus élevé.
- 27 souches étaient résistantes à 5 antibiotiques avec établissement de 2 profils de résistance différents. Parmi eux, le profil dominant : **NA,CIP,AM,AMC,TE**, recensé pour 18 souches de *Campylobacter* thermotolérants (la plupart des souches étaient résistantes à 4 antibiotiques).
- 10 souches étaient résistantes à 6 antibiotiques avec établissement du seul profil de résistance.

#### 2.2.4.2 Profils de résistance des souches isolées des contenus caecaux

L'étude du profil de résistance des différentes souches isolées des contenus caecaux a révélé des résistances associées à 2, 3, 4, 5 et 6 antibiotiques avec une divergence de 13 profils de résistances établis (tableau 24).

**Tableau 24** : Profils de résistance des souches isolées des contenus caecaux.

Résistance associée à :	Profil de résistance	Nombre de souches	
2 ATB	NA, TE	3	3
3 ATB	NA, CIP, AM NA,CIP,TE NA, CIP, E NA, AM, AMC NA, TE, E	12 11 6 4 5	38
4 ATB	NA, CIP, AM, TE NA,AM,AMC,TE NA,AM,TE,E	16 2 1	19
5 ATB	<b>NA,CIP,AM,AMC,TE</b> NA,CIP,AM,TE,E NA,AM,AMC,TE,E	<b>29</b> 2 5	36
6 ATB	NA,CIP,AM,AMC,TE,E	2	2

Les profils de résistance obtenus à partir des souches isolées des contenus caeaux étaient présentés comme suit :

- 3 souches étaient résistantes à 2 antibiotiques avec établissement d'un seul profil de résistance.
- 38 souches étaient résistantes à 3 antibiotiques avec établissement de 5 profils de résistance différents, c'était le nombre de souches le plus élevé (la plupart des souches étaient résistantes à 3 antibiotiques).
- 19 souches étaient résistantes à 4 antibiotiques avec établissement de 3 profils de résistance différents.
- 36 souches étaient résistantes à 5 antibiotiques avec établissement de 3 profils de résistance différents. Parmi eux, le profil dominant : **NA,CIP,AM,AMC,TE**, recensé pour 29 souches de *Campylobacter* thermotolérants.
- 2 souches étaient résistantes à 6 antibiotiques avec établissement du seul profil de résistance.

#### 2.2.4.3 Profils de résistance des souches isolées des peaux de cou

L'étude du profil de résistance des différentes souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées des peaux de cou a révélé des résistances associées à 2, 3, 4, 5 et 6 antibiotiques avec une divergence de 13 profils de résistances établis (tableau 25).

Les profils de résistance obtenus à partir des souches isolées des peaux de cou étaient présentés comme suit :

- 6 souches étaient résistantes à 2 antibiotiques avec établissement de 2 profils de résistance différents.
- 17 souches étaient résistantes à 3 antibiotiques avec établissement de 3 profils de résistance différents.
- 21 souches étaient résistantes à 4 antibiotiques avec établissement de 4 profils de résistance différents.
- 34 souches étaient résistantes à 5 antibiotiques avec établissement de 3 profils de résistance différents (la plupart des souches étaient résistantes à 5 antibiotiques). Parmi ces souches, nous avons recensé le profil dominant : **NA, CIP, AM, AMC, TE** pour 27 souches de *Campylobacter* thermotolérants.

- 2 souches étaient résistantes à 6 antibiotiques avec établissement du seul profil de résistance.

**Tableau 25** : Profils de résistance des souches isolées des peaux de cou.

Résistance associée à	Profil de résistance	Nombre de souches	
2 ATB	NA, CIP	3	6
	NA, TE	3	
3 ATB	NA, CIP, AM	6	17
	NA, CIP, TE	6	
	NA, TE, E	5	
4 ATB	NA, CIP, AM, AMC	2	21
	NA, CIP, AM, TE	16	
	NA, AM, AMC, TE	2	
	NA, AM, TE, E	1	
<u>5</u> ATB	<b>NA,CIP,AM,AMC,TE</b>	<b>27</b>	<u>34</u>
	NA,CIP,AM,TE,E	3	
	NA,AM,AMC,TE,E	4	
6 ATB	NA,CIP,AM,AMC,TE,E	2	2

### 3. DISCUSSION

Dans notre discussion, nous développerons dans un premier temps le Choix de l'échantillonnage et de la méthodologie de recherche, puis la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans différents élevages et abattoirs avicoles de poulet de chair dans la région d'Alger, et enfin, la sensibilité aux différents antibiotiques des souches bactériennes isolées et identifiées.

#### 3.1 Justification de l'échantillonnage

##### 3.1.1 Echantillons de poulets vivants : fientes

Concernant les échantillons de fientes de poulets vivants, 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 détecté chez le poulet de chair avant 2-3 semaines d'âge. L'âge des poulets constitue un facteur de risque puisque la prévalence de la contamination augmente avec l'âge ce qui explique la présence d'un grand nombre de micro-organismes dans les fientes au moment de l'abattage (BERNDTSON et *al.*, 1996).

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.

##### 3.1.2 Echantillons de poulets abattus

- Peau de cou

En ce qui concerne les échantillons de peaux de cous 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 (KOTULA et DAVIS, 1999; HUTCHISON et al., 2006)

- Contenu du caecum

*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).

### 3.2 Choix de la méthodologie de recherche : prélèvement, transport et analyse

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.

Le transport doit être aussi rapide que possible car les *Campylobacter* sont particulièrement sensibles aux conditions environnementales, en particulier la déshydratation, l'oxygène atmosphérique, la lumière du soleil et les températures élevées. Le transport au laboratoire et les étapes suivantes 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 conseillé (OIE, 2008).

Les prélèvements ont étéensemencés sur le milieu sélectif Butzler.

Ce milieu est préparé par addition de supplément Butzler, à de la gélose Columbia et du sang de cheval. Le supplément rajouté est spécifique à la croissance des *Campylobacter*, il est constitué de 5 antibiotiques différents qui le rendent sélectif. La novobiocine et la colistine inhibent les bactéries entériques Gram négatives tandis que la céfazoline et la bacitracine inhibent les bactéries Gram positives. Le cycloheximide quand à lui inhibe de nombreux champignons.

Le sang de cheval apporte des nutriments et fournit les enzymes catalase et superoxyde dismutase qui détruisent les radicaux et les peroxydes qui s'accumulent au contact de l'air.

Les incubations se font à + 42°C pour minimiser la croissance des contaminants, et favoriser la croissance sélective des *Campylobacter* thermotolérants par rapport à *C fetus* qui ne peut pousser à cette température (BUROCOA, 2007).

Pour les prélèvement 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).

### 3.3 Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants

Dans notre étude, nous avons remarqué que les taux d'isolement des *Campylobacter* thermotolérants étaient très élevés dans les différentes matrices testées à savoir, fientes, contenus caecaux et peaux de cou de poulet de chair soit respectivement 85%, 98% et 80%.

#### 3.3.1 Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les fientes

La présence des *Campylobacter* thermotolérants a été mise en évidence dans 85 échantillons de fientes sur 100 analysés, soit un taux de contamination de 85%. Nos résultats confirment la présence et la probable dissémination des *Campylobacter* dans les élevages de poulet de chair.

Selon l'OIE (2008), les volailles principalement le poulet sont fréquemment trouvées porteuses de *Campylobacter* thermotolérants (65 à 95 %).

Nos résultats sont nettement supérieurs à ceux rapportés par MOUFFOK et LEBRES (1992) en Algérie, qui ont noté une prévalence de 12% seulement dans les fientes de poulet de chair.

Au cours de notre étude, les *Campylobacter* thermotolérants ont été isolés dans 5 élevages parmi les 6 testés.

En Suisse, les *Campylobacter* ont été découverts dans pratiquement tous les troupeaux examinés selon un rapport suisse sur les zoonoses 2009 (LUGINBÜHL et al., 2010).

Nos résultats corroborent ceux avancés par différentes études, parmi lesquelles celle de l'Union Européenne avec une moyenne de contamination de 75% (EFSA, 2010a).

Ces résultats s'expliquent par les conditions d'élevage des poulets à savoir : La période d'élevage qui représente une étape critique d'implantation de la bactérie dans le tube digestif des animaux. Plusieurs éléments de l'environnement des fermes avicoles semblent être étroitement associés à la contamination des poulets par *Campylobacter*. Ainsi les sources telles que la litière souillée, l'eau de boisson non traitée, l'eau peut jouer aussi un rôle de vecteur de la transmission horizontale dans un même élevage (HUMPHREY et al., 2007), d'autres animaux de ferme, les oiseaux sauvages, les insectes présents dans la ferme, de même que les flux humains des travailleurs agricoles ont été associés à la transmission de *Campylobacter* aux poulets de chair, et les poulets de chair seraient responsables de la transmission du microorganisme à l'environnement (LABERGE, 2003 ; PUTERFLAM et al., 2007).

Une étude française portant sur les facteurs de risque de la contamination des poulets par les *Campylobacter* montre que des souches de *C jejuni* et *C coli* sont capables de survivre dans la terre pendant une période d'au moins 6 semaines (RIVOAL et al., 1999). Ainsi, 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 vieille litière ou de bactéries restées présentes dans le bâtiment entre deux bandes. Cependant, HERMAN et al. (2003), ont montré qu'un bon protocole de nettoyage et de désinfection effectué avant l'introduction d'un nouveau lot dans le bâtiment permet de limiter la survie des *Campylobacter* éventuellement présents.

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*, constituant donc un facteur de risque.

D'autres travaux réalisés par TALIBART et al. cités par MEGRAUD et BULTEL (2004), montrent que les formes viables non cultivables (VNC) peuvent jouer un rôle non négligeable dans la contamination des volailles vivantes par *Campylobacter*, l'expérimentation a démontré 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.

Nous avons remarqué que les 5 élevages positifs pour *Campylobacter*, présentaient un taux de contamination de 100% des sujets.

Plusieurs études ont montré que lorsque la contamination est installée dans un bâtiment d'élevage, la transmission au sein du lot de volaille est extrêmement rapide du fait de la coprophagie; jusqu'à 100 % des oiseaux d'un lot deviennent infectés en 72 h. Les poulets étant coprophages, l'excrétion fécale est probablement un facteur important de la dissémination des microorganismes dans les troupeaux de volailles (PEYRET, 2008; BERNDTSON *et al.*, 1996 ; SHREEVE *et al.*, 2000). Deux tiers des poulets sont contaminés trois jours après l'introduction de la bactérie dans un bâtiment, et la totalité en une semaine (SHANKER *et al.*, 1990).

Plusieurs études citées par MEGRAUD et BULTEL (2004) ont montré que le risque de contamination des lots de poulets augmentait avec la taille des lots. En effet, dans notre étude, nous avons remarqué une densité élevée des poulets dans les élevages visités (3000 à 7000) pour des superficies relativement réduites.

Selon l'OIE (2008), les niveaux de colonisation des poulets de chair sont liés à leur âge. La plupart des lots sont négatifs jusqu'à l'âge de 2 semaines en raison de la présence des anticorps maternels.

Comme l'âge des poulets prélevés variait de 45 à 70 jours (minimum 6 semaines), aucune différence de contamination selon l'âge n'a été observée. Généralement, les lots de poulets sont contaminés par *Campylobacter* entre la deuxième et la quatrième semaine d'élevage et parfois dès l'âge de sept jours (SHREEVE *et al.*, 2000).

Bien que la contamination des poulets par transmission horizontale de *Campylobacter* présents dans l'environnement de l'élevage semble être la voie principale, PEARSON *et al.* (1996) ont rapporté lors d'une étude, la possibilité de transmission verticale de *Campylobacter* à partir de souches parentales de sélectionneur de poulet de chair à leurs poussins.

Nous avons remarqué aussi que l'utilisation des antibiotiques dans les troupeaux de poulets testés, afin de traiter différentes maladies n'a pas diminué le taux de contamination par les *Campylobacter*. Nos résultats rejoignent ceux annoncés par BRENDSTON *et al.* (1996) qui n'ont remarqué aucune différence significative entre les lots traités aux antibiotiques et ceux non traités. Contrairement à REFREGIER-PETTON *et al.* (2001) qui ont rapporté une diminution du risque de contamination par *Campylobacter* lors d'un traitement antibiotique.

Dans l'élevage 1 nous avons noté un taux d'isolement de 0%, aucune souche de *Campylobacter* thermotolérants n'a été isolée à partir des fientes analysées. En effet, cet élevage avait la particularité d'être traité avec des acides organiques (administrés avec l'eau de boisson) pour prévenir les différentes affections.

L'utilisation des acides organiques a été préconisée par un rapport d'experts de la FAO/OMS (2001), comme moyen de maîtrise du danger de *Campylobacter* chez le poulet de chair.

CHAVEERACH et al. (2002) ont étudié l'activité des acides organiques utilisés séparément ou associés. L'activité combinée des acides organiques mélangés à l'eau de boisson administrée aux poulets, à un effet bactéricide important et meilleur que celui obtenu avec un seul acide organique.

Sachant que l'eau est un vecteur important de *Campylobacter*, CHAVEERACH et al. (2004) ont constaté lors d'une expérimentation que la supplémentation de l'eau en acides organiques pourrait contrôler déjà la contamination à ce niveau. Mais en fin de cette expérimentation, plusieurs poulets étaient contaminés par des *Campylobacter* thermotolérants démontrant ainsi le rôle des autres sources de contaminations.

Des études récentes ont montré qu'une supplémentation par l'acide caprylique réduisait considérablement la colonisation des intestins de poulet par les *Campylobacter* (SOLIS DE LOS SANTOS et al., 2008 ; SOLIS DE LOS SANTOS et al., 2009).

### **3.3.2 Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les contenus caecaux**

La présence des *Campylobacter* thermotolérants a été mise en évidence dans 98 échantillons de contenus caecaux sur 100 échantillons analysés, soit un taux de portage 98%.

En effet, les taux d'isolement étaient trop élevés dans tous les établissements (la quasi-totalité des poulets échantillonnés portaient des *Campylobacter* dans leurs intestins).

Quatre établissements testés étaient positifs pour les *Campylobacter* à 100%, et un établissement présentait un taux d'isolement de 90%.

Ce taux très élevé de portage intestinal est dû au fait que ces bactéries entériques sont adaptées à la vie dans le mucus du tractus digestif (DROMIGNY, 2007).

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).

GHAFIR et DAUBE (2007) mentionnent que la grande majorité des volailles abattues est colonisée par *Campylobacter*.

PUTERFLAM et al. (2007) rapportent que 47 à 100 % des lots de poulet de chair arrivant à l'abattoir seraient porteurs de *Campylobacter* thermotolérants.

Nos résultats sont similaires à ceux enregistrés par GUESSOUM (2011) en Algérie, qui a enregistré un taux d'isolement de *Campylobacter* thermotolérants de 96% en utilisant le milieu de culture Karmali.

Nos résultats se rapprochent de ceux rapportés par ANSARI-LARI et al. (2011), lors d'une étude récente en Iran, le taux d'isolement de *Campylobacter* thermotolérants à partir de contenu caecal de poulet de chair était de 76% (95% IC : 67–84%), il est à noter que pour cette étude, le nombre d'échantillon était strictement le même que celui retenu lors de notre étude (100).

Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par CHENA et al. 2010 en Chine, qui ont obtenu un taux d'isolement de *Campylobacter* de 36% à partir de 767 échantillons de contenu caecal de poulet de chair.

En France, lors d'une évaluation de la prévalence du portage de *Campylobacter* dans le tube digestif dans les lots de poulet abattus, il a été enregistré un taux de portage intestinal de 65,3% (MEGRAUD et BULTEL, 2004). Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus au cours de notre étude.

Dans une étude réalisée au Nigeria par SALIHU et al. (2009), le taux de portage intestinal de *Campylobacter* thermotolérants chez le poulet était de 77,6%, cette différence est peut être due au nombre d'échantillons élevé (866).

Le transport peut provoquer 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 également 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 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).

Lors du transport aussi, il peut y avoir une surcontamination 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).

### 3.3.3 Prévalence des *Campylobacter* thermotolérants dans les peaux du cou

Dans chaque abattoir, il a été effectué systématiquement sur le même lot de poulet abattu des prélèvements de contenu caecal et de peaux du cou.

Ceci a été réalisé pour essayer de mettre en évidence les modalités de contamination des carcasses.

Pour les échantillons de peaux de cou spécialement, les boîtes de primoculture contenant les colonies suspectes de *Campylobacter* thermotolérants, étaient très contaminées, il était parfois nécessaire de procéder à deux isollements pour purifier les souches. Contrairement aux échantillons positifs des fientes et des contenus caecaux où la plupart des primocultures étaient pures.

La présence des *Campylobacter* thermotolérants a été mise en évidence dans la majorité des échantillons de peaux de cou analysés, soit un taux de contamination de 80%. Les taux de contamination des carcasses étaient élevés dans tous les établissements d'abattage et ce quelque soit le type d'établissement (un taux de contamination minimum de 65%).

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 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 micro-organismes 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 O<sub>2</sub> (CHANTARAPANONT et al., 2003 ; CORRY et ATABAY, 2001).

Selon JAY (2009), la contamination des peaux de cou aux abattoirs peut être primaire ou secondaire :

- La contamination primaire se fait 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 fait par transfert du contenu digestif par l'intermédiaire d'une source secondaire comme le couteau, la planche à découper. Les contaminations secondaires peuvent se réaliser via le matériel d'abattage, le personnel, l'eau, l'air, les nuisibles etc.

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

Nous supposons que la contamination par les *Campylobacter* peut survenir dans différents points de la chaîne d'abattage que ce soit dans les abattoirs industriels ou traditionnels, principalement lors de l'échaudage, la plumaison et l'éviscération (les principales étapes de l'abattage des poulets de chair dans les abattoirs industriels ainsi que les abattoirs traditionnels sont résumées en annexe 6).

#### ❖ Dans le bac d'échaudage

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 descendre, surtout dans les abattoirs traditionnels, la température descend progressivement après trempage des poulets.

Selon NEWELL et al. (2001), les *Campylobacter* peuvent survivre dans les bacs d'échaudage quand la température est inférieure à 53°C. Toutefois, l'étape d'échaudage peut

parfois permettre d'obtenir une diminution du niveau de contamination si elle est bien faite (ONO et YAMAMOTO, 1999).

❖ Dans les plumeuses

Dans les plumeuses, les doigts en caoutchouc peuvent être salis par la contamination extérieure des volailles sortant du bac d'échaudage. De plus, lors de la plumaison, les doigts des plumeuses compriment la cavité intestinale et peuvent entraîner l'expulsion des matières fécales et contaminer les plumeuses. 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 traditionnels nous avons noté que la plumaison se fait avec une petite plumeuse qui ne permet pas que la carcasse entière entre, de ce fait les mouvements rotatifs rapides de la plumeuse entraînent une dispersion des *Campylobacter* présent dans l'eau retenue dans les plumes dans tout l'environnement de la plumeuse.

❖ Pendant l'éviscération

Au moment du retrait de la masse intestinale, les viscères peuvent se rompre et le contenu intestinal se décharge et entre en contact direct avec les carcasses (de l'intérieur et/ou de l'extérieur) et les équipements. Cette rupture accidentelle se traduit par la dissémination, sur les carcasses des *Campylobacter* présents dans le tractus intestinal des poulets (POSCH et al., 2006).

Dans les abattoirs industriels visités, l'éviscération se fait sur les poulets accrochés à la chaîne d'abattage, par retrait de la masse abdominale (viscères et intestins) avec la main du travailleur ou par des cuillères fabriquées à cet usage et ces cuillères ne sont pas nettoyées après chaque utilisation, il y a là une auto-contamination des carcasses par leurs propres contenus intestinaux ou une inter-contamination entre les carcasses par les mains du travailleur, contamination favorisée par la cadence élevée.

Selon ONO and YAMAMOTO (1999), la mécanisation des opérations d'abattage augmentent le risque de contamination croisée par les *Campylobacter* thermotolérants. Cette remarque a été confirmée lors d'une étude faite dans l'un des deux plus grands abattoirs de la Suisse, FREDIANI-WOLF et STEPHAN (2003) qui ont noté un taux de contamination de 100% des poulets analysés.

Dans l'abattoir traditionnel, l'éviscération se fait aussi manuellement. Après plumaison, les poulets sont entassés sur un même potager ou une grande planche en bois où ils vont être éviscérés, nous observons l'auto et l'inter-contamination précédemment décrites. Mais en plus il y a d'un côté, le contact entre les carcasses éviscérées souillées et non souillées et d'un autre côté, les carcasses qui vont être traitées ensuite seront en contact avec les souillures laissées par la carcasse précédente sur la planche d'éviscération (RIVOAL *et al.* 1999).

❖ Pendant le rinçage

Nous pensons que la contamination croisée peut aussi se produire lors du rinçage des carcasses dans les abattoirs traditionnels 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.

Selon LABERGE (2003), JAY (2009) et GHAFIR et DAUBE (2007), les carcasses des poulets se retrouvent contaminées lors de l'abattage soit par leurs propres matières fécales ou par du matériel d'abattage contaminé, et le fait que plusieurs poulets soient des porteurs sains de *Campylobacter* explique cette contamination. En effet, la contamination élevée est le reflet d'une prévalence élevée chez l'animal vivant mais aussi des techniques d'abattage.

En Algérie, MOUFFOK et LEBRES (1992), ont rapporté un taux de contamination des peaux de cou de poulet de chair de 66%.

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par FRANCHIN *et al.* (2007) qui 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, sachant que cette eau est potable et propre à la consommation.

Nos résultats sont supérieurs à ceux annoncés au Liban par TALHOUK *et al.* (1998), lors d'une étude faite sur des poulets abattus, le taux de portage caecal était de 23%, alors que le taux de contamination des carcasses était de 10%.

Dans la République Tchèque, une étude a montré une fréquence de contamination des carcasses de poulet de 75% (BARDON *et al.*, 2011), cette étude a été réalisée sur des échantillons provenant de détaillants dans divers supermarchés. Ce taux d'isolement élevé confirme la survie et la persistance des *Campylobacter* jusqu'à l'assiette du consommateur.

Nous rappelons que pour chaque lot testé, les prélèvements de contenus caecaux ont été effectués parallèlement avec ceux de peaux de cou ; les taux d'isolement de *Campylobacter* à partir des contenus caecaux rencontrés dans tous les lots étaient très élevés (de 90 à 100%).

En effet, lorsqu'un lot de poulets a un statut *Campylobacter* positif, aucun abattoir ne peut éviter la contamination des carcasses.

Cette contamination a été observée dans d'autres pays, comme la Hongrie où une étude a montré que 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 (RASSCHAERT *et al.*, 2007).

Nous avons remarqué que pour tous les abattoirs testés, le nombre de souches isolées à partir des peaux de cou était inférieur à celui des contenus caecaux provenant du même lot. Contrairement à HANSSON *et al.* (2005) et NEWELL *et al.* (2001), qui ont noté que les peaux de cou étaient plus contaminées 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).

Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par GOBET en France (1990), qui lors d'une étude menée avec deux milieux de culture différents, parmi lesquels le milieu Butzler, a obtenu des taux de portage intestinal et de contamination des carcasses respectifs de 73% et 56%, cette différence est peut être due à la nature du prélèvement (écouvillons cloacaux et cutanés) ou au nombre d'échantillon (770).

Les taux de prévalence enregistrés au cours de notre étude se rapprochent de ceux notés en France par HUE *et al.* (2010) lors d'une étude plus étendue réalisée dans 58 abattoirs; la contamination des lots par *Campylobacter* était de 77% pour les caecums et de 87% pour les carcasses, 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.

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, la différence avec nos résultats est peut être due au milieu de culture utilisé. En effet, dans cette étude, le milieu mCCDA a été utilisé et c'est un milieu à

base de charbon considéré comme plus rentable surtout pour les échantillons alimentaires où les *Campylobacter* sont stressés et en faible nombre.

### 3.4 Sensibilité aux antibiotiques des *Campylobacter* thermotolérants isolés

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées 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%.

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 de volailles et la résistance aux antibiotiques chez les *Campylobacter* isolés chez la volaille. La sélection de bactéries résistantes peut se produire pendant ou après un traitement antimicrobien MC DOWELL (2004). Cependant, cette relation n'est pas toujours aussi simple, 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 et échanger 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 (OMS, 2008b ; AVRAIN et *al.*, 2003). Cependant, l'environnement pour sa part peut aussi jouer un rôle dans le phénomène de résistance aux antibiotiques.

Différents auteurs ont avancé l'hypothèse d'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 (2010b) 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.

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).

Cependant, les résultats d'une étude faite 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, toutes les souches isolées étaient sensibles à la **gentamicine** et au **chloramphénicol**, cela serait dû à la non utilisation de ces antibiotiques dans le traitement dans les élevages de poulet de chair, car ces deux antibiotiques ont été suspendus de l'homologation en Algérie depuis l'année 2006 (OMS, 2008b).

La résistance à l'**érythromycine** était de 28%, ce taux de résistance était le plus faible par rapport à tous les antibiotiques ayant présenté des résistances.

Selon CAGLIERO *et al.* (2005), la résistance de *Campylobacter* à l'érythromycine semble être principalement liée à une modification du site cible du ribosome, une pompe à efflux contribue aussi à cette résistance.

Selon les éleveurs et les vétérinaires rencontrés, l'érythromycine n'a pas été utilisée dans tous les élevages testés au cours de notre étude, sous prétexte que c'est l'un des antibiotiques les plus onéreux, il est cependant remplacé par la tétracycline et l'enrofloxacin (fluoroquinolone très proche de la ciprofloxacine, réservée à l'usage vétérinaire).

Dans l'élevage 2, nous avons noté un taux de résistance de 50% à l'érythromycine, taux relativement élevé par rapport à ceux enregistrés dans les autres élevages, suggérant ainsi une résistance croisée due à l'utilisation de la tylosine pour traiter une affection respiratoire

apparue dans cet élevage. Cet antibiotique appartenant à la famille des macrolides, est réservé exclusivement à l'usage vétérinaire (KUANA *et al.*, 2008).

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

La résistance des *Campylobacter* à l'érythromycine reste faible dans les pays industrialisés, par contre des souches résistantes sont fréquemment observées dans les pays en voie de développement, notamment en Thaïlande (50%) et au Zimbabwe (14%) (OMS, 2003).

L'étude menée par LIN *et al.* (2007) a montré que l'érythromycine utilisée à faible dose pendant une longue période (ce qui correspond à l'utilisation comme facteur de croissance) sélectionne les souches de *Campylobacter* résistantes alors que la même molécule utilisée dans un but thérapeutique (à une dose plus importante et pendant une courte période) ne sélectionne pas de résistance. En effet, l'émergence des souches résistantes ne se produit qu'après une exposition prolongée (plusieurs semaines) au traitement macrolide.

Au cours de notre étude, un taux de résistance très élevée à la **ciprofloxacine** soit 83% a été enregistré.

La résistance aux fluoroquinolones a fortement augmenté depuis la fin des années 1980 en Asie, en Europe et en Amérique latine et depuis 1995, aux Etats-Unis, résistance apparemment liée à l'introduction de ces antibiotiques dans la pratique vétérinaire (principalement en aviculture) (LUANGTONGKUM *et al.*, 2009).

Selon PAYOT *et al.* (2002), la résistance aux fluoroquinolones repose essentiellement sur une mutation de l'ADN codant pour la sous-unité GyrA de l'ADN gyrase. Une seule mutation entraîne un niveau de résistance élevé.

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).

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 et FARNEL *et al.*, 2005).

D'après un rapport de l'OMS (2008c), nous assistons à une résistance accrue des *Campylobacter* aux fluoroquinolones comme la ciprofloxacine. Ces données laissent à penser que cette résistance est liée pour une grande part à l'utilisation de ces médicaments chez les animaux d'élevage. Les pays qui ont interdit l'emploi de ces antibiotiques chez les animaux d'élevage (Australie) ou qui les utilisent vraiment avec parcimonie (Suède) présentent de très faibles niveaux de résistance aux fluoroquinolones. A l'opposé, dans les pays où la fréquence d'utilisation de ces antibiotiques en aviculture est beaucoup plus élevée (Espagne, Chine et Etats-Unis), nous observons une résistance de *Campylobacter* aux fluoroquinolones sur des isolements d'origine humaine et animale.

Aux Etats-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* isolées 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 également très élevé, soit 84%.

La résistance aux **tétracyclines** est liée aux gènes tet, Elle est associée à la présence de plasmides autotransmissibles qui ne se transmettent qu'entre les espèces de *Campylobacter* et qui codent soit pour des protéines d'efflux soit pour une protection du ribosome (HABIB *et al.*, 2009).

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 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 traités par de la tétracycline. Cependant, AARESTRUP et WEGENER (1999) au Danemark, ont retrouvé des taux de résistance relativement bas pour *C jejuni* et *C coli* isolés chez le poulet, ces observations étaient expliquées par l'utilisation contrôlée des tétracyclines dans les élevages dans ce pays.

FROST (1991), a rapporté que la résistance aux tétracyclines n'est pas due seulement à leur utilisation abusive en pratique vétérinaire mais aussi du fait qu'ils survivent plus longtemps dans l'environnement.

75% des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées au cours de notre étude étaient résistantes à l'ampicilline, la résistance aux béta lactamines a été notée dans plusieurs études documentées, cette résistance a été expliquée par la capacité des *Campylobacter* de produire des béta lactamases qui inactivent la molécule antibiotique, ou carrément une impossibilité de pénétration de l'antibiotique dans sa cible (LI *et al.*, 2007).

TREIBER et TAYLOR, (2000) ont remarqué que les résistances à l'**ampicilline** et à l'amoxicilline étaient rares, elles seraient dues à l'impossibilité à ces deux molécules, de pénétrer dans la cellule bactérienne et secondairement à l'action des béta lactamases. Selon ces mêmes auteurs, la résistance est fréquente et quasi naturelle chez *Campylobacter* aux pénicillines et aux céphalosporines.

La résistance à l'**augmentin**, antibiotique rarement utilisé en élevage aviaire, était relativement élevée, soit 47%, cette résistance n'est pas bien expliquée.

Globalement, nos résultats sont significativement différents de ceux rapportés en Algérie en 1992, par MOUFFOK et LEBRES, dont les souches isolées à partir des fientes et des peaux du cou de poulet de chair dans la région d'Alger, présentaient un taux de résistance respectif de 0% aux antibiotiques suivants : l'ampicilline, l'érythromycine, la tétracycline et l'acide nalidixique.

Par contre, les résultats obtenus au cours de notre étude concordent avec ceux énoncés par GESSOUM (2011), en Algérie. Les souches isolées à partir des contenus caecaux de poulet

de chair présentait 82% de résistance à l'ampicilline, 75% à l'augmentin, 94% à la tétracycline, 11% au chloramphénicol, 97% à l'acide nalidixique et 92% à la ciprofloxacine. La différence notée pour cette étude concerne le taux de résistance à l'érythromycine qui était de 89% et celle à la gentamicine qui était de 47%, cela s'expliquerait par les différences en matière de prescription de traitements entre les vétérinaires.

Ces données en Algérie, montrent une augmentation accrue de la résistance aux antibiotiques au fil des vingt dernières années.

Nos résultats globaux se rapprochent de ceux rapportés par l'EFSA (2010b). En effet, les souches de *Campylobacter* isolées chez le poulet présentaient jusqu'à 5% de résistance à la gentamicine 21% à l'érythromycine, 77% à la tétracycline, 64% à la ciprofloxacine et 68% à l'acide nalidixique. Ces taux de résistance sont variables selon les pays. En Espagne, la résistance à la ciprofloxacine ainsi qu'à l'acide nalidixique a atteint 100%.

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.

Nos résultats sont différents de ceux rapportés au Liban par TAHLOUK *et al.*, en 1998, les souches de *Campylobacter* isolées, présentaient des résistances de 31% à l'ampicilline, 5% à l'augmentin, 3% à la gentamicine, 51% à la tétracycline, 53% à l'érythromycine, 23% au chloramphénicol et 61% à la ciprofloxacine. Cette différence est peut être due à la différence des habitudes de pratique vétérinaire ou de la technique d'étude elle-même (la sensibilité aux antibiotiques a été étudiée par le E-test).

HABIB *et al.* (2009), lors d'une étude réalisée en Belgique, ont constaté que 53.1% des *C. jejuni* isolés étaient résistants à la ciprofloxacine, et 48.2% étaient résistants à la tétracycline; 28.9% des isolats étaient résistants aux deux antibiotiques au même temps.

L'étude menée en Iran en 2009, par KENAR *et al.*, a révélé des taux de résistance plus faibles que ceux observés au cours de notre étude, sauf en ce qui concerne la gentamicine où le taux était similaire. Des taux de résistance respectifs de 5%, 12% et 23% à l'érythromycine, l'ampicilline et la tétracycline ont été observés.

Une autre étude menée en Iran, a révélé des taux de résistance plus élevés que l'étude précédente avec 78% des souches résistantes à la tétracycline, 62% à la ciprofloxacine mais seulement 58% des souches étaient résistantes à l'acide nalidixique RAHIMI et *al.* (2010).

En Malaisie (2009), les taux de résistances observées étaient très élevés, 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 une résistance très élevée au chloramphénicol (84%). Ces taux très élevés seraient dus à l'utilisation massive des antibiotiques en élevage de poulet de chair dans un but thérapeutique, prophylactique et comme promoteurs de croissance. Selon ces mêmes auteurs, ces taux de résistance élevés ont été aussi rapportés dans d'autres études faites en Malaisie (TANG et *al.*, 2009).

En Suisse, les taux de résistance des souches de *Campylobacter* sont relativement bas, comme rapporté par FREDIANI-WOLF et STEPHAN (2003); les isolats obtenus au cours de cette étude présentaient 9,2% de résistance à l'érythromycine, 3,1% à l'ampicilline et 0,5% à la ciprofloxacine, aucune résistance n'a été enregistrée vis à vis de la tétracycline.

SZYGALSKI BIASI et *al.* (2010), ont rapporté au Brésil, un taux de résistance nul de 0% à l'ampicilline, à l'augmentin et au chloramphénicol.

Le taux de résistance élevé à l'acide nalidixique, observé au cours de notre expérimentation (100%) 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 antibiotiques pour toutes les espèces *Campylobacter* thermotolérants).

Enfin et d'une manière générale, VANDEPLAS 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.

### 3.5 Etude du profil de résistance des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées

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.

Nos résultats se rapprochent de ceux rapportés par RAHIMI et al. (2010) en Iran, et TANG et al. (2009) en Malaisie, qui ont observé respectivement que 93% et 100% des souches de *Campylobacter* isolées chez le poulet présentaient une résistance à au moins un antibiotique.

En Suisse, FREDIANI-WOLF et STEPHAN (2003), ont observé que seulement 31% des souches isolées présentaient une résistance à un antibiotique ou plus, et cela en se basant sur la technique de diffusion de disques en gélose ainsi que le E test.

L'étude des profils de résistance a révélé que 100 % des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées au cours de notre étude étaient multirésistantes (résistance simultanée à aux moins deux antibiotiques); ainsi nous avons établi 19 profils de résistance différents.

En Belgique, les résultats annoncés par le laboratoire national de référence pour les toxi-infections alimentaires et pour la résistance antimicrobienne des agents zoonotiques pour l'année 2007 montrent que les pourcentages des souches de *C jejuni* et *C coli* multirésistantes étaient de 40% et 64% respectivement, et seulement 2% des souches étaient résistantes à tous les antibiotiques (DIERICK et al., 2009).

USHA et al. (2010), lors d'une étude de la sensibilité aux antibiotiques de souches de *Campylobacter* isolées des carcasses de poulet de chair, en testant 8 antibiotiques différents, ont noté aussi bien 100% de souches multirésistantes, dont 40% étaient résistantes à 6 antibiotiques, cette résistance a été expliquée par l'utilisation abusive et non contrôlée des antibiotiques à des doses sub-thérapeutiques en prophylaxie et comme facteurs de croissance.

Dans notre étude, un seul et même **profil de résistance dominant** « NA, CIP, AM, AMC, TE » a été noté pour les souches isolées des trois types de prélèvement à savoir fientes, contenus caeaux et peau de cou avec des taux respectifs de 21%, 30% et 34%. Ce profil présentant une résistance associée à 5 antibiotiques : deux bêta lactamines, deux quinolones et à la tétracycline.

En Belgique, en 2007, le profil dominant des souches isolées des poulets était « NA, CIP, TE » recensé pour 26% des souches de *C jejuni* et 13% des souches de *C coli* (DIERICK et *al.*, 2009).

Nous avons observé que 38 souches (15%) de *Campylobacter* isolées présentaient une résistance associée à la ciprofloxacine et à l'érythromycine. Ces souches présentent ainsi des profils critiques, du fait que ces deux antibiotiques constituent le traitement de choix des infections à *Campylobacter* chez l'homme (ENGBERG et *al.*, 2001 ; OMS, 2008c ; LUANGTONGKUM et *al.*, 2009).

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, 2010b).

## CONCLUSION

L'objectif de cette étude était d'apporter 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, ainsi que l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées.

La culture des *Campylobacter* est délicate et nécessite des conditions particulières telles que, une atmosphère microaérophile, une température optimum de croissance de 42°C et surtout un milieu de culture spécifique contenant une gamme d'antibiotique pouvant inhiber les autres germes.

En présence de ces conditions, la culture de *Campylobacter* est de technicité simple à partir des prélèvements de fientes ou de contenus caecaux. Cependant, elle est difficile à partir des prélèvements de peaux de cou, du fait de la présence d'une flore de contamination compétitive.

La première partie de l'étude a permis d'évaluer une prévalence globale des *Campylobacter* thermotolérants chez le poulet de chair de 87%, soit un taux de contamination de 85%, 98% et 80% dans les fientes, les contenus caecaux et les peaux du cou respectivement. Les taux de contamination étaient élevés dans les trois matrices étudiées, le taux de portage intestinal était élevé ainsi que 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 quelque soit le type et la nature des opérations d'abattage dans tous les lots testés. Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus dans plusieurs pays principalement ceux de l'Union Européenne rapportés par l'EFSA (2010).

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.

A la différence des autres pathogènes alimentaires, les *Campylobacter* sont incapables de croître en présence d'air, de se multiplier en dehors de leurs hôtes et ils sont très sensibles à de nombreuses conditions environnementales (PARK, 2002). Malgré ces contraintes, les *Campylobacter* survivent de la volaille jusqu'à l'assiette du consommateur et sont aujourd'hui

considérés comme la première cause bactérienne d'infection d'origine alimentaire chez l'homme (PEYRAT, 2008).

La deuxième partie de l'étude a permis de tester la sensibilité des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées, vis-à-vis de 8 antibiotiques différents. 100% des souches testées présentaient des multirésistances.

Les résistances enregistrés au cours de notre étude, ainsi que celles rapportées par GUESSOUM (2011) en Algérie, reflètent une situation alarmante vis-à-vis du phénomène d'antibiorésistance, témoignant le plus souvent, d'une utilisation anarchique et incontrôlée des antibiotiques en élevage avicole à des doses sub-thérapeutiques généralement, les tétracyclines et les quinolones en particulier.

Les *Campylobacter* représentent un risque important de santé publique en engendrant deux types de dangers : des dangers directs de toxi-infections alimentaires survenant après consommation de poulet contaminé et des dangers indirects d'antibiorésistance croisée entre les souches « animales » et les souches « humaines » (transfert de germes zoonotiques résistants via l'alimentation).

Ces résultats doivent être affinés par l'élargissement du plan d'échantillonnage qui pourra être étendu à d'autres régions du pays, l'identification des espèces (bien que toutes les espèces de *Campylobacter* thermotolérants sont incriminées dans les toxi-infections alimentaires), une étude en fonction de la saison, mais surtout essayer d'identifier les modalités de contamination des carcasses dans les abattoirs en effectuant des prélèvements de carcasses à différents points de la chaîne d'abattage, des prélèvements de l'eau des bacs d'échaudage et sur le matériel et les équipements.

En médecine humaine, les *Campylobacter* thermotolérants ne sont pas des germes à recherche systématique en coprologie standard. ; bien que certains laboratoires contribue à la recherche des *Campylobacter* lors de diarrhée ou de symptomatologie évocatrice,.

Les souches isolées chez l'homme mériteraient d'être comparées à celle 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.

Enfin nous pensons qu'il serait souhaitable, d'établir à l'échelle nationale, des systèmes de surveillance des infections à *Campylobacter*.

## Recommandations

### 1 Réduire la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants

La source majeure des campylobactérioses humaines, est représentée par la viande de volaille, principalement le poulet. Le contrôle doit être mis en œuvre à chaque maillon de cette filière, par les différents partenaires impliqués.

#### 1.1 Mesures de contrôle dans les élevages

- veiller à la propreté du bâtiment d'élevage (nettoyage et désinfections adéquats) ;
- minimiser le passage des éleveurs dans les bâtiments (accès limité aux personnes) ;
- utiliser des pédiluves ;
- contrôler l'alimentation et l'eau destinées aux poulets ;
- bloquer l'accès aux rongeurs et aux insectes.

#### 1.2 Mesure de contrôle pendant le transport à l'abattoir

- Mise à jeun des animaux avant le transport.
- Nettoyage et désinfection des caisses de transport après chaque utilisation.

#### 1.3 Mesures de contrôle dans les abattoirs : Deux approches sont envisageables

- Prévention de la contamination croisée :
  - respecter d'une hygiène maximum pendant l'abattage particulièrement au moment de l'éviscération
  - respecter de la marche en avant
  - limiter l'accès aux salles d'abattage et lutter contre les insectes et les rongeurs
  - nettoyage et désinfection des abattoir de volailles à la fin de la journée de travail.
  - utilisation d'une température d'échaudage élevée (> 53°C)
  - diminuer la cadence d'abattage pour que les différentes opérations d'abattage se fassent convenablement.
- décontamination des carcasses (chimique ou physique) par irradiation (méthode onéreuse et difficilement acceptée par les consommateurs ou congélation
- 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 comme pour les cuisines collectives.

- nettoyage soigné du matériel utilisé dans les cuisines (planches à découper, couteaux) ;
- cuisson correcte reste la meilleure solution pour détruire les *Campylobacter* présents dans les viandes et éviter la recontamination de cette viande par contact avec des ustensiles de cuisines souillés ou les mains du préparateur ou même par de la viande non cuite ;
- La décongélation d'une carcasse de volaille doit se faire dans l'étagère du bas du réfrigérateur pour ne pas conduire à un égouttage et une contamination croisée des autres aliments ;
- mise en place du système HACCP en restauration pour une meilleure maîtrise du risque lié à *Campylobacter*.

## **2. Minimiser la résistance aux antibiotiques :**

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 :

- usage raisonné et réfléchi des antibiotiques ;
- établissement de guides de bonnes pratiques d'antibiothérapie en élevage ;
- mise en place un programme de surveillance de la résistance aux antibiotiques à l'échelle vétérinaire ainsi qu'à l'échelle humaine (recueil et une analyse systématique et durable des données en matière d'antibiorésistance) ;
- limiter l'utilisation des quinolones, des macrolides et des tétracyclines du fait des résistances observées ;
- application stricte de la décision ministérielle N°472 du 24 Décembre 2006 interdisant toute utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance ;
- utilisation des alternatives aux antibiotiques à savoir les acides organiques, les probiotiques, les prébiotiques et les symbiotiques.

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

Aarestrup FM., Engberg J., 2001 ; Antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter*. *Vet Res* ; 32 (3-4) : 311-21.

Aarestrup MF., Wegener CH., 1999 ; The effects of antibiotic usage in food animals on the development of antimicrobial resistance of importance for humans in *Campylobacter* and *Escherichia coli*. *Microbes Infect* ; 1: 639-44.

Abdellahi M., Mokrani MR., 2010 ; Recherche des *Campylobacter* dans les selles humaines. Mémoire projet de fin d'étude. Faculté des sciences biologiques USTHB ; 33 pages.

Abraham CA., Agbodaze D., Nakano T., Afari EA., Longmatey HEK., 1990 ; Prevalence and antibiogram of *Campylobacter jejuni* in domestic animals in rural Ghana. *Arch Environmental Health* ; 45 (1) : 59-62.

Adak GK., Meakins SM., Yip H., Lopman BA., O'brien SJ ., 2005 ; Disease risks from foods, England and Wales, 1996-2000. *Emerg Infect Dis* ; 11, 365-72.

AFNOR., 2004 ; ISO 10272 : 1995 : Microbiologie des aliments –Méthode horizontale pour la recherche des *Campylobacter* thermotolérants ; 15 pages.

Al Amir H., Mouffok F., Hellal A., 2010 ; Recherche de *Campylobacter* dans la volaille : Etude du profil d'antibiorésistance. 16ème journées nationales de Microbiologie, 27 et 28 octobre 2010, Faculté des Sciences Agronomiques et des Sciences Biologiques - Université Hassiba Ben Bouali CHLEF.

Al Mahmeed A., Senok AC., Ismaeel AY., Bindayna KM., Tabbara KS., Botta GA., 2006 ; Clinical relevance of virulence genes in *Campylobacter jejuni* isolates in Bahrain. *J Med Microbio* ; 55 (7) : 839-43.

Albert M J., Berneesh E U., Shilpa Haridas T J., Rotimi V O., 2009; Tetracycline Resistance Is Frequent Among *Campylobacter jejuni* Isolates from Kuwait. *Microb Drug Resist* ; 15 (2) : 115-20.

Ansari-Lari M., Hosseinzadeh S., Shahram 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 (3-5) : 475-79.

Asschaert G., Houf K., De Zutter L., 2007 ; External contamination of *Campylobacter*-free flocks after transport in cleaned and disinfected containers. *J Food Prot* ; 70 : 40-46.

Avrain L., Humbert F., L'Hopsitalier R., Sanders P., Vernozy- Rozand C., Kempf I., 2003 ; Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers: Association with production type and antimicrobial use. *Vet Microbiol* ; 96 : 267-76.

Bardoň J., Kolář M., Karpíšková R., Hricová K., 2011 ; Prevalence of thermotolerant *Campylobacter* spp. in broilers at retail in the Czech Republic and their antibiotic resistance. *Food Control* ; 22 (2) : 328-32.

Belbouri A ., Mégraud F., 1988 ; Enterotoxin-like activity produced by *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from patients and healthy controls in Algeria. *FEMS Microbiol Lett* ; 51(1) : 25-28.

Benbachir M., El Mdaghri N., Bennani A., Tazi-Lakhsassi L., 1984 ; Etiological evaluation of acute diarrhea in children hospitalized in Casablanca. *Pathol Biol* ; 32(9) : 969-71.

Berndtson, E., Emanuelson, U., Engvall A., Danielsson-Tham M L., 1996; A 1-year epidemiological study of campylobacters in 18 Swedish chicken farm. *Prev Vet Med* ; 26 : 167-85.

Bolla JM., Garnotel É., 2008 ; Diarrhées d'origine bactérienne. Les infections à *Campylobacter*. *Revue Francophone des Laboratoires* ; 2008 (400) : 27-35.

Bolton F J., Robertson L., 1982 ; A selective medium for isolating *Campylobacter jejuni/coli*. *J Clin Pathol* ; 35(4): 462-67.

Bonjoch R., Calvo., Soler M., Ruiz-Rueda O., J Garcia-Gil L., 2010 ; A New Multiplexed Real-Time PCR Assay to Detect *Campylobacter jejuni*, *C coli*, *C lari*, and *C upsaliensis*. *Food Anal Methods* ; 3 : 40-46.

Bourgeois CM., Mescle JF., Zucca J., 1996 ; Microbiologie alimentaire, Tome 1 : Aspect microbiologiques de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed TEC & DOC ; Londres-Paris- New York ; Pages : 81-87 et 313-326.

Burucoa C., 2007 ; Bacilles à gram négatif microaérophile : *Campylobacter* in Bactériologie médicale. Ed Elsevier Masson France, Pages : 387-391.

Butzler JP., 2004 ; *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin Microbiol Infect* ; 10 : 868-76.

Butzler JP., Dekeyser P., Detrain M., Dehaen F., 1973 ; Related Vibrio in stools. *J Pediatr* ; 82 : 493-95.

Butzler JP., Skirrow MB., 1979 ; *Campylobacter* enteritis, *Clin Gastroentérol* ; 8 : 737-65.

Cagliero C., Mouline C., Payot S., Cloeckaert A., 2005 ; Involvement of the CmeABC efflux pump in the macrolide resistance of *Campylobacter coli*. *J Antimicrob Chemother* ; 56 : 948-50.

Camille D., 2007 ; Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Ed Tec Doc ; pages : 204-225.

Chantarapanont W., Berrang M., Frank JF., 2003 ; Direct microscopic observation and viability determination of campylobacter jejuni on chicken skin. *J Food Protect* ; 66 : 2222-30.

Chaveerach P., Keuzenkamp DA., Urlings HA., Lipman LJ., Knapen F., 2002 ; In vitro study on the effect of organic acids on *Campylobacter jejuni/coli* population in mixtures of water and feed. *Poult Sci* ; 81 (5) : 621-28.

Chaveerach P., Lipman LJ., Knapen F V., 2004 ; Antagonistic activities of several bacteria on in vitro growth of 10 strains of *Campylobacter jejuni/coli*. *J Food Microbiol* ; 90 : 43-50.

Chena X., Narena GW., Wua CM., Wanga Y., Daia L., Xiaa LN., Luob P J., Zhangc Q., Shena J-Z., 2010 ; Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates in broilers from China. *Vet Microbiol* ; 144 (1-2) : 133-39.

Colin M., 2006 ; Fiche de description de danger transmissible par les aliments: *Campylobacter* spp. Rapport de l' AFSSA ; 3 pages.

URL : <http://www.infectiologie.com/site/medias/documents/officiel/afssa/Campylo090207.pdf>  
(page consultée le 7/10/2010).

Corcionivoschi N., Drinceanu D., Ștef L., Julean C., 2009 ; *Campylobacter jejuni* - A MONOGRAPHIC STUDY (REVIEW). *Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii* ; vol. 42.

Corry JE., Atabay HI., 2001 ; Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms, *Symp Ser Soc Appl Microbiol* ; 30 : 96-14.

Corry JE., Post DE., Colin P., Laisney MJ., 1995 ; Culture media for the isolation of campylobacters. *Int J Food Microbiol* ; 26 (1) : 43-76.

Cunningham SA., Sloan LM., Nyre LM., Vetter EA., Mandrekar J., Patel R., 2010 ; Three-Hour Molecular Detection of *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia*, and *Shigella* Species in Feces with Accuracy as High as That of Culture. *J Clin Microbiol* ; 48 (8) : 2929-33.

Dakdouki GK., Araj GF., Hussein M., 2003 ; *Campylobacter jejuni*: unusual cause of cholecystitis with lithiasis. Case report and literature review. *Clin Microbiol Infect* ; 9 (9) : 970-82.

Dekeyser P., Detrain G M., Butzler J.P., Sternon J., 1972 ; Acute enteritis due to related vibrio: First positive stool cultures. *J Infect Dis* ; 125 : 390-92.

Devie P., LE Goaziou A., Divol A., Olivon M., Gilbert G., Petit J., Laurent S., 2006 In Bounar Kechih S., 2009 ; Prévalence des salmonelles chez l'espèce *Gallus gallus* durant la période 1996-2006 et étude de la résistance aux antibiotiques de 100 souches de salmonelles aviaires isolées dans quelques wilayas du centre du pays. Mémoire de magistère en sciences vétérinaires ; 128 pages.

Dierick K., Botteldoorn N., Denayer S., Naranjo M., 2009 ; Laboratoire National de Référence des toxi-infections alimentaires. Rapport annuel des toxi-infections alimentaires et résistance antimicrobienne des germes zoonotiques en Belgique 2007, Bruxelles : Institut Scientifique de Santé Publique. Numéro de dépôt : D/2008/2505/35.

URL : <http://www.iph.fgov.be/bacterio> (page consultée le 17/2/2010).

Doyle L., 1944 ; A vibrio associated with swine dysentery. *Am J Vet Res* ; 5: 3-5.

Doyle MP., 1981 ; *Campylobacter fetus* subsp. *Jejuni* : an old pathogen of new concern. *J Food Protect* ; 44 : 480-88.

Driouèche D., Salhi K., Chaib M., Bellout Z., Hettal D., 1989 ; Enteritis caused by enteropathogenic *Campylobacter*. Preliminary study. *Arch Inst Pasteur Alger* ; 57 : 255-66.

Dromigny E., 2007 ; *Campylobacter*. Ed Lavoisier ; pages : 25-29, 127-137, 168, 169, 196-201.

EFSA., 2009 ; The Community Summary Report on Food-borne Outbreaks in the European Union in 2007. *The EFSA Journal* (2009) ; 271 (128 pages).

EFSA., 2010a ; Scientific report of EFSA. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008. *EFSA Journal* 2010 ; 8 (3) :1503.

EFSA., 2010b. ; 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 Journal* 2010 ; 8 (4) :1309.

Endtz HP., Vliegenthart JS., Vandamme P., Weverink HW., Braak NP., Verbrugh HA., Van BA., 1997 ; Genotypic diversity of *Campylobacter lari* isolated from mussels and oysters in The Netherlands. *Int J Food Microbiol* ; 34 : 79-88.

Engberg J., Aarestrup F M., Gerner-Smidt P., Nachamkin I., 2001; Quinolone and Macrolide Resistance in *Campylobacter jejuni* and *C coli* : Resistance Mechanisms and Trends in Human Isolates. *Emerg Infect Dis* ; 7(1) : 24-34.

Euzéby JP., 2010 ; Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. Sources d'isolement et pouvoir pathogène des espèces du genre *Campylobacter*. Mise à jour le 31 mai 2010.

URL : <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/cc/tcampylo3.html> (Page consultée le 19/12/2010).

FAO/OMS., 2001 ; Identification et caractérisation des dangers et évaluation de l'exposition liés à *Campylobacter* spp. dans les poulets et à *Vibrio* spp. dans les produits de la pêche. Rapport d'experts ; 53 pages.

URL : <http://www.fao.org/ES/ESN/pagerisk/riskpage.htm> (Page consultée le 13/1/2010).

FAO/OMS., 2002 ; Evaluation des risques pour *Campylobacter* spp. dans les poulets et pour *Vibrio* spp. dans les produits de la pêche, Rapport d'experts ; 55 pages.

URL : [http://www.fao.org/es/esn/food/risk\\_mra\\_en.stm](http://www.fao.org/es/esn/food/risk_mra_en.stm) (Page consultée le 13/1/2010).

Farnell MB., Donoghue AM., Cole K., Reyes-Herrera I., Blore PJ., Donoghue DJ., 2005 ; *Campylobacter* susceptibility to ciprofloxacin and corresponding fluoroquinolone concentrations within the gastrointestinal tracts of chickens. *J Appl Microbiol* ; 99(5):1043-50.

Fauchère JL., et Avril JL., 2002 ; Bactériologie générale et médicale. Ed ellipses ; pages : 142-212.

Federighi., 2005 ; Bactériologie alimentaire. Compendium d'hygiène des aliments. *Campylobacter*. Ed ECONOMICA Paris ; pages : 145-167.

Fendri C., Rosenau A., Moyen EN., Fauchère JL., 1991 ; Prevalence of virulence markers of enteric *Campylobacter* in France and Tunisia. *Res Microbiol* ; 142 (5) : 591-96.

Fendri C., Slim A., Arrouji Z., Moallah H., Redjeb SB., 1989 ; Frequency and characteristics of *Campylobacter jejuni/coli* diarrhea in Tunisia. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* ; 82 (5) : 645-49.

Fermér C., Engvall EO., 1999 ; Specific PCR identification and differentiation of the thermophilic campylobacters, *Campylobacter jejuni*, *C coli*, *C lari*, and *C upsaliensis*. *J Clin Microbiol* ; 37 : 3370-73.

Florent A., 1959 ; Les deux Vibrioses génitales de la bête bovine: la vibriose vénérienne, due à *V fetus venerialis*, et la vibriose d'origine intestinale due à *V fetus intestinalis*. 16th Int Vet Congr.

Fosse J., Magras C., 2004 ; Dangers biologiques et consommation des viandes. Dangers bactériens avérés. *Ed Lavoisier Paris* ; Pages : 109-116.

Franchin PR., Ogliari PJ., Batista CRV., 2007 ; Frequency of thermophilic *Campylobacter* in broiler chickens during industrial processing in a Southern Brazil slaughterhouse. *British Poult Sc* ; 48 (2) : 127-13.

Frederick A., Huda N., 2011; *Campylobacter* in poultry: Incidences and possible control measures. *Res J Microbiol* ; 6 : 182-92.

Frediani W., 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) : 233-40.

Freney J., Renaud F., Leclercq R., Riegel P., 2007. Précis de bactériologie Clinique *Campylobacter*. *Ed ESKA* ; Pages: 1349-1357.

Ghafir Y., Daube G., 2007 ; Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. *Ann Méd Vét* ; 151, 79-00.

Gibreel A., Taylor D E., 2006 ; Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J Antimicrob Chemother* ; 58 (2) : 243-55.

Gobet T R B., 1990 ; Contribution à l'étude de la contamination des carcasses de volailles par les bactéries du genre *Campylobacter*. Enquête dans deux abattoirs de la région MIDI-PYRENNES. Thèse pour le doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse ; 128 pages.

Goossens H., Vlaes L., De Boeck M., Pot B., Kersters K., Levy J., De Mol P., Butzler J P., Vandamme P., 1990 ; Is "*Campylobacter upsaliensis*" an unrecognised cause of human diarrhea. *The Lancet* ; 335 : 584-86.

Guechi Z., 1984 ; *Campylobacter jejuni*, agent étiologique de diarrhées en Algérie: résultats préliminaires. La diarrhée du jeune (Colloque). INSERMFRANCE ; 121 : 341-44.

Guessoum M., 2011 ; Etude du portage digestif de *Campylobacter* chez les principaux animaux de boucheries, caractères phénotypiques et sensibilité aux antibiotiques des souches isolées. Mémoire de magistère en science vétérinaire ; 101 pages.

Gunther NW., Chen CY., 2009 ; The biofilm forming potential of bacterial species in the genus *Campylobacter*. *Food Microb* ; 26 (1) : 44-51.

Habib I., Miller W G., Uyttendaele M., Houf K., and Zutter L D., 2009 ; Clonal Population Structure and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter jejuni* in Chicken Meat from Belgium. *Appl Environ Microbiol* ; 75 (13) : 4264-72.

Haddad N., Toma B. *et al.* Les zoonoses infectieuses, Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises, Merial (Lyon) ; 182 pages.

Hald B., Madsen M., 1997 ; Healthy puppies and kittens as carriers of *Campylobacter* spp., with special reference to *Campylobacter upsaliensis*. *J Clin Microbiol* ; 35 : 3351-52.

Han J., Sahin O., Barton YW., Zhang Q., 2008 ; Key role of Mfd in the development of fluoroquinolones resistance in *Campylobacter jejuni*. *PLoS Pathog* ; 4 (6).e1000083.

Hansson M., Ederoth L., Andersson I., Gsholm V., Engvall O E., 2005 ; Transmission of *Campylobacter* spp. to chickens during transport to slaughter. *J Appl Microbiol* ; 99 : 1149-57.

Hartnett E., Fazil A., Paoli G, Nauta M., Christensen B B., Rosenquist H., Anderson S., 2009 ; Série évaluation des risques microbiologiques11. Evaluation des risques liés à *Campylobacter* spp. dans les poulets de chair. Rapport FAO/OMS ; 33 pages.

Hendriksen RS., Jaap W., Van Bergen M., 2003; Global Salm-Surv: Isolation of thermotolerant *Campylobacter* from food. 4<sup>e</sup> Ed ; 5 pages.

Herman L., Heyndrickx M., Grijspeerdt K., Vandekerchove D., Rollier I., De Zutter L., 2003 ; Routes for *Campylobacter* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. *Epidemiol Infect* ; 131 : 1169-80.

Humphrey T., O'Brien S., Madsen M., 2007 ; *Campylobacters* as zoonotic pathogens: A food production perspective. *Int J Food Microbiol* ; 117 : 237-57.

Hutchison M.L., Walters L.D., Mead G.C., Howell M., Allen V.M., 2006 ; An assessment of sampling methods and microbiological hygiene indicators for process verification in poultry slaughterhouses. *J Food Prot* ; 69 : 145-53.

Jacobs-Reitsma W.F., 2000 ; *Campylobacter* in the food supply In *Campylobacter*, Second Edition, Nachamkin I., et Blaser., 2000. Ed ASM Press, Washington DC, USA ; pages: 467-481.

Jay MA., 2009 ; Elaboration d'un modèle 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.

Johannessen GS., Johnsen G., Økland M., Cudjoe KS., 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 FS., Orcutt M., Little RB., 1931; Vibrios (*Vibrio jejuni*) associated with intestinal disorders of cows and calves. *J Exp Med* ; 53: 853-64.

Kanj SS., Araj GF., Taher A., Reller LB., 2001 ;*Campylobacter fetus* pericarditis in a patient with beta-thalassemia: case report and review of the literature. *Clin Microbiol Infect* ; 7 (9) : 510-13.

Karlsson Å., 2010 ; Bacterial contamination of egg shells in deep litter floor systems and conventional cages in Jordan. Swedish University of Agricultural Science Uppsala. Department of Animal Nutrition and Management. *Swedish University Essays.se* ; 30 pages.  
URL : <http://www.essays.se/essay/586bf81170/> (page consultée le 5/1/2011).

Karmali M A., Simor A E., Roscoe M., Fleming P C., Smith S S., Lane J., 1986 ; Evaluation of a blood-free, charcoal-based, selective medium for the isolation of *Campylobacter* organisms from feces. *J Clin Microbiol* ; 23 (3) : 456-59.

Kenar B., Akkaya L., Birdane YO., 2009 ; Prevalence of thermotolerant *Campylobacter* in chicken livers in Turkey and antimicrobial resistance among the campylobacter strain. *J Anim Vet Adv* ; 8 (5) : 853-56.

Kiggins EM., Plastringe WN., 1956 ; Effect of gaseous environment on growth and catalase content of *Vibrio fetus* cultures of bovine origin. *J Bacteriol* ; 72 : 397-00.

King E O., 1957 ; Human infections with *Vibrio fetus* and a closely related *Vibrio* isolated from cases of human vibriosis. *J infect Dis* ; 101: 119-28.

King EO., 1962 ; The laboratory recognition of *Vibrio fetus* and a closely related *Vibrio* isolated from cases of human vibriosis. *Ann NY Acad Sci* ; 98 : 700-11.

Kotula KL., Davis ME., 1999 ; Broiler skin sampling for optimum recovery of *Salmonella* spp. *J Food Prot* ; 62, 284-86.

Kuana SL., Ruschel dos Santos L., Rodrigues LB., Borsoi A., Luis do Souza Moraes H., Salle CTP., Pinheiro do Nascimento V., 2008 ; Antimicrobial resistance in campylobacter spp isolated from broiler flocks. *Brazilian J Microbiol* ; 39 : 738-40.

Laberge., 2003 ; Épidémiologie des cas de l'infection par le *Campylobacter* en Islande, revue des voies de transmission et facteurs de risque. Rapport de stage. Université de Montréal ; 20 pages.

LeMinor L., Véron M., 1989 ; Bactériologie médicale. Chapitre 32 : *Campylobacter*. 2<sup>ème</sup> édition : Médecine-Science Flammarion Paris ; pages 694-718.

Lentsch RH., McLaughlin RM., Wagner JE., Day TJ., 1982 ; *Campylobacter fetus* subspecies *jejuni* isolated from Syrian hamsters with proliferative ileitis . *Lab Anim Sci* ; 32 : 511-14.

Levy AJ., 1946 ; A gastro-enteritis outbreak probably due to a bovine strain of *Vibrio*. *J Infect Dis* ; 18 : 243-58.

Li X-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., Yan M., Sahin O., Pereira S., Chang YJ., Zhang Q., 2007 ; Effect of macrolide usage on emergence of erythromycin-resistant campylobacter isolates in chickens. *Antimicrob Agents Chemother* ; 51 (5) : 1678-86.

Lior H., Woodward DL., Edgar JA., Laroche LJ., Gill P., 1982 ; Serotyping of *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors. *J Clin Microbiol* ; 15 : 761-68.

Loucif F., Melzi A., 1998 ; In vitro study of antagonistic activity of bifidobacteria against *Campylobacter* and *Escherichia coli* causing gastroenteritis in children. *Arch Inst Pasteur Alger* ; 62 : 63-76.

Luangtongkum T., Jeon B., Han J., Plummer P., Logue C M., Zhang Q., 2009 ; Antibiotic resistance in *Campylobacter* : emergence, transmission and persistence. *Future Microbiol* ; 4 (2) : 189–00.

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 4/5/2010).

Lukinmaa S., Eklund N M., SIITONEN A., 2004 ; Application of molecular genetic methods in diagnostics and epidemiology of food-borne bacterial pathogens. *Apmis* ; 112 (11-12) : 908-29.

Luo N., Sahin O., Lin J., Michel LO., 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 (1) : 390-94.

Marshall BJ., 1986 ; *Campylobacter pyloridis* and gastritis. *J Infect Dis* ; 153 (4) : 650-57.

McDermott PF., Bodeis SM., English LL., 2002 ; Ciprofloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* evolves rapidly in chickens treated with fluoroquinolones. *J Infect Dis* ; 185 (6) : 837-40.

McDowell DA., 2004 ; Food safety assurance and veterinary public health. Volume 2: Safety assurance during food processing. Ed Wageningen Academic Publishers. The Netherlands ; pages : 243-264.

McMahon MAS., Xu J., Moore JE., Blair IS., McDowell DA., 2007 ; Environmental stress and antibiotic resistance in food-related pathogens. *Appl Environ Microbiol* ; 73 (1), 211-17.

McTavish S., 2008 ; Comparative analysis of New Zealand *Campylobacter* isolates using MLST, PFGE and *flaA* PCR RFLP genotyping. These in School of Biological Sciences Victoria university of Wellington ; 146 pages.

Mead PS., Slutsker L., Dietz V., Mccaig LF., Bresee JS., Shapiro C., Griffin PM., Tauxe R.V., 1999 ; Foodrelated illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* ; 5 : 607-25.

Megraud F., Boudraa G., Bessaoud K., Bensid S., Dabis F., Soltana R., 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.

Meinersmann RJ., Patton CM., Evins GM., Kaye WI., Fields PI., 2002 ; Genetic diversity and relationships of *Campylobacter* species and subspecies. *Int J Syst Evol Microbiol* ; 52 (5) : 1789-97.

Miller WG., Bates AH., Horn ST., Brandl MT., Wachtel MR., Mandrell RE., 2000 ; Detection on surfaces and in Caco-2 cells of *Campylobacter jejuni* cells transformed with new gfp, yfp, and cfp marker plasmids. *Appl Environ Microbiol* ; 66 : 5426-36.

Mouffok F., Lebres E., 1992 ; Result of the refinement of a technique for the isolation and identification of *Campylobacter* from food commodities. *Arch Inst Pasteur Alger* ; 58 : 239-46.

Murphy C., Carroll C., Jordan KN., 2006 ; Environmental survival mechanisms of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni*. *J Appl Microbiol* ; 100 (4) : 623-32.

Newell DG., McBride H., Pearson AD., 1984 ; The identification of outer membrane proteins and flagella of *Campylobacter jejuni*. *J Gen Microbiol* ; 130 : 1201-08.

Newell DG., Shreeve JE., Toszeghy M., Domingue G., Bull S., Humphrey T., Mead G., 2001 ; Changes in the carriage of *Campylobacter* strains by poultry carcasses during processing in abattoirs. *Appl Environ Microbiol* ; 67 (6) : 2636-40.

Ng Lk., Sherburne R., Taylor DE., Stiles ME., 1985 ; Morphological forms and viability of *Campylobacter* species studied by electron microscopy. *J Bacteriol* ; 164 (1) : 338-43.

OIE., 2008 ; Manuel terrestre de l'OIE 2008. Chapitre 2 . 9 . 3 : *Campylobacter Jejuni* et *Campylobacter 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 1/10/2009).

OMS., 2003 ; Programme de surveillance mondiale des *Salmonella* et de soutien aux laboratoires. Techniques de laboratoire : Cours pratique de Niveau 2 Isolement, identification et détermination de la sensibilité aux antibiotiques des *Campylobacter* ; 30 page.

OMS., 2008a ; Manuel de standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 5<sup>ème</sup> édition ; 102 pages.

OMS., 2008b ; Manuel de standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 4<sup>ème</sup> édition ; 100 pages.

OMS., 2008c ; Resistance aux antimicrobiens provenant des animaux destinés a l'alimentation. Note d'information INFOSAN No. 2/2008. *Résistance aux antimicrobiens*. 6 pages.

URL : [http://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/No\\_02\\_Antimicrobial\\_Mar08\\_EN.pdf](http://www.who.int/foodsafety/fs_management/No_02_Antimicrobial_Mar08_EN.pdf)

(page consultée le 6/1/2011).

Ono K., Yamamoto K., 1999 ; Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. *Int J Food Microbiol* ; 47 : 211-19.

Park S. F., 2002 ; The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. *Int J Food Microbiol* ; 74 (3) : 177-88.

Parkhill JBW., Wren K., Mungall J M., Ketley C., Churcher D., Basham T., Chillingworth R M., Davies T., Feltwell S., Holroyd K., Jagels AV., Karlyshev S., Moule MJ., Pallen CW., Penn MA., 2000 ; The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences. *Nature* ; 403 : 665-68.

Payot S., Bolla JM., Corcoran D., Fanning S., Mégraud F., Zhang Q., 2006 ; Mechanisms of fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter* spp. *Microb Infect* ; 8 (7) : 1967-71.

Pazzaglia G., Bourgeois AL., El Diwany K., Nour N., Badran N., Hablas R., 1991 ; *Campylobacter* diarrhoea and an association of recent disease with asymptomatic shedding in Egyptian children. *Epidemiol Infect* ; 106 (1):77-82.

Pazzaglia G., Bourgeois AL., Mourad AS., Gaafar T., Diab AS., Hebert A., Churilla A., Murphy C., 1995 ; *Campylobacter* diarrhea in Alexandria, Egypt. *JRJ Egypt Public Health Assoc.* 70 (3-4) : 229-41.

Pearson AD., Greenwood MH., Feltham RKA., Healing TD., Donaldson J., Jones DM., Colwell RR., 1996 ; Microbial ecology of *campylobacter jejuni* in a United Kingdom chicken supply chain: Intermittent common source, vertical transmission, and amplification by flock propagation. *Appl Environ Microbiol* ; 62 (12) : 4614-20.

Penner J.L., Hennessy JN., CONGI RV., 1983 ; Serotyping of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* on the basis of thermostable antigens. *Eur J Clin Microbiol* ; 2 (4) : 378-83.

Peyrat M B., 2008 ; étude de l'influence du nettoyage et de la désinfection et des procedes d'abattage en abattoir de volailles sur le niveau de résistance aux antibiotiques des *Campylobacter*. These de docteur de l'universite de Rennes ; 237 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.

Protais J., Quéguiner S., Boscher E., Chidaine B., Ermel G., Gérault P., Salvat G., Federighi M., Jugiau F., 2007 ; *Campylobacter* sp. et *listeria monocytogenes* dans l'œuf entier liquide. *Septièmes Journées de la Recherche Avicole*, Tours. 28 et 29 mars 2007. Pages : 532-35.

Puterflam J., Bouvare I., Ragot O., Drouet M., 2007 ; Contamination des élevages par *Campylobacter* : est-ce une fatalité ? *Viandes Prod Carnés* ; Vol 26 (6).

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.

Refrégier-Petton J., Rose N., Denis M., Salvat G., 2001; Risk factors for *Campylobacter* spp. contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. *Prev Vet Med* ; 50 : 89-00.

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.

Rollins D M., Colwell R R., 1986 ; Viable but nonculturable stage of *Campylobacter jejuni* and its role in survival in the natural aquatic environment. *Appl Environ Microbiol* ; 52 (3) : 531-38.

Russell A D., 2002 ; Mechanisms of antimicrobial action of antiseptics and disinfectants: an increasingly important area of investigation. *J Antimicrob Chemother* ; 49 (4) : 597-99.

Sahin O., Morishita TY., Zhang Q., 2002 ; *Campylobacter* colonization in poultry : sources of infection and modes of transmission. *Anim Health Res Reviews* ; 3 (2) : 95-05.

Salihu A., Junaidu S., Oboegbulem G., Egwu A., Magaji M., Ogbola A., 2009 ; Prevalence of *Campylobacter* spp. in Nigerian Indigenous Chicken in Sokoto State Northwestern Nigeria. *Int J Vet Med* ; 7 (1).

Salvat G., Chemaly M., Denis M., Robinault C., Huneau A., Le Bouquin S., Michel V., Fravallo P., 2008 ; Evolution des risques sanitaires : *Campylobacter* et salmonelles. Les 12ème Journées sciences du muscle et technologies des viandes. INRA Tours (France) ; 11 et 12 avril 2008.

URL : <http://www.office-elevage.fr/vpc/12jsmtv/articles/14-CI-HS-01.pdf> (page consultée le 10/1/2011).

Sanders P., 1999 ; Traitements thérapeutiques et antibiorésistance. *Point Vet* ; 30 (198) : 203-10.

Sebald M., Veron M., 1963 ; Teneur en base de l'ADN et classification des vibrions. *Ann Inst Pasteur* ; 105 : 897-10.

SFM., 2010 ; Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Recommandations 2010 ; 50 pages.

URL : <http://www.sfm.asso.fr/> (page consultée le 28/3/2010).

Shanker S., Lee A., Sorrell TC., 1990 ; Horizontal transmission of *Campylobacter jejuni* amongst broiler chicks : experimental studies. *Epidemiol Infect* ; 104 : 101-10.

Shreeve JE., Toszeghy M., Pattison M., Newell DG., 2000 ; Sequential spread of *Campylobacter* infection in a multipen broiler house. *Avian Dis* ; 44 : 983-88.

Sidhu MS, Sørum H, Holck A.. (2002). Resistance to quaternary ammonium compounds in food-related bacteria. *Microb Drug Resist* ; 8 (4) : 393-99.

Skirrow MB., 1977 ; *Campylobacter enteritis* : a "new" disease. *Br Med J* ; 2 : 9-11.

Skirrow MB., 1982 ; *Campylobacter enteritis* - the first five years. *J Hyg Camb* ; 89 : 175-84.

Smith T., Taylor M., 1919 ; Some morphological and biological characters of the spirilla (*Vibrio fetus*) associated with disease of the fetal membranes in cattle. *J Exp Med* ; 30: 299-12.

Solis de los Santos F., Donoghue A M., Venkitanarayanan K., Metcalf H J., Reyes-Herrera I., Dirain M L., Aguiar V F., Blore P J., Donoghue D J., 2009 ; The natural feed additive caprylic acid decreases *Campylobacter jejuni* colonization in market-aged broiler chickens. *Poult Sci* ; 88 : 61-64.

Solis de los Santos F., Donoghue AM., Venkitanarayanan K., Reyes-Herrera I., Metcalf J H., Dirain ML., Aguiar V F., Blore PJ., Donoghue DJ., 2008 ; Therapeutic Supplementation of

Caprylic Acid in Feed Reduces *Campylobacter jejuni* Colonization in Broiler Chicks. *Appl Environ Microbiol* ; 74 (14) : 4564-66.

Speegle L., Miller ME., Backert S., Oyarzabal OA., 2009 ; Use of cellulose filters to isolate *Campylobacter* spp. From Naturally Contaminated Retail Broiler Meat. *J Food Protect* ; 72 (12) : 2592-96.

Sundsford A., Simonsen GS., Haldorsen BC., Haaheim H., Hjelmevoll SO., Littauer P., Dahl H K., 2004 ; Genetic methods for detection of antimicrobial resistance. *APMIS* ; 112 : 815-37.

Szygalski Biasi R., Freitas de Macedo ER., Malaquias MA., Frediani-Wolf PRF., 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.

Talhok RS., El-Dana RA., Araj GF., Barbour EF., 1998 ; Prevalence, antimicrobial susceptibility and molecular characterization of *Campylobacter* isolates recovered from humans and poultry in Lebanon. *J Med Liban* ; 46 (6) : 310-16.

Tambur Z., Miljkovic-Selimovic B., Doder R., Kulisic Z., 2010 ; Susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from animals and humans to tetracycline. *African J Microbiol Res Vol* ; 4 (12) : 1246-50.

Tang JYH., Mohamad Ghazali F., Saleha AA., Nishibuchi M., Son R., 2009 ; Comparison of thermophilic *Campylobacter* spp. occurrence in two types of retail chicken samples. *Int Food Res J* ; 16: 277-88.

Ternhag A., Asikainen T., Giesecke J., Ekdahl K., 2007 ; A meta-analysis on the effects of antibiotic treatment on duration of symptoms caused by infection with *Campylobacter* species. *Clin Infect Dis* ; 44 (5) : 696-00.

Thomas G., 2009 ; Les infections a *Campylobacter*. S'agit-il d'une nouvelle zoonose ? Thèse de diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université Henri Poincaré - Nancy 1. Faculté de pharmacie ; 107 pages.

Treiber CA., Taylor DE., 2000 ; Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter*. In Dromigny E., 2007 ; *Campylobacter*. Ed Lavoisier ; pages : 114.

Usha MR., Fauziah M., Tunung R., Chai L C., Cheah Y K., Farinazleen M G., Son R., 2010 ; Occurrence and antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in retail broiler chicken. *Int Food Res J* ; 17 : 247-55.

Vaillant V., DeValck H., Baron E., Ancelle T., Colin P., Delmas MC., Dufour B., Pouillot R., Le Strat Y., Weinbreck P., Jouglu E., Desenclos JC., 2005. *Foodborne Path Disease* ; 2(3) : 221-232.

Van De Giessen AW., Tilburg JJHC., Ritmeester WS., Van Derplas J., 1998 ; Reduction of *Campylobacter* infections in broiler flocks by application of hygiene measures. *Epidemiol Infect* ; 121: 57-66.

Vandamme P., 2000 ; Taxonomy of the family *Campylobacteriaceae*. In Nachamkin I., Blaser MJ., 2000 ; *Campylobacter*. 2nd Edition. ASM Press, Washington ; pages : 3-26.

Vincent R., Dumas J., Picard N., 1947 ; Septicémie grave au cours de la grossesse due à un *Vibrio*. Avortement consécutif. *Bull Acad Nat Med Paris* ; 131: 90-92.

Wagenaar J A., Mevius D J., Havelaar A H., 2006 ; *Campylobacter* in primary animal production and control strategies to reduce the burden of human campylobacteriosis. *Rev sci tech Off Int Epiz* ; 25 (2) : 581-94.

Waldenstrom J., Broman T., Carlsson I., Hasselquist D., Achterberg RP., Wagenaar JA., Olsen B., 2002 ; Prevalence of *Campylobacter jejuni*, *C. lari*, and *C. coli* in different ecological guilds and taxa of migrating birds. *Appl Environ Microbiol* ; 68, 5911-17.

Wassenaar TM., Newell DG., 2000 ; Genotyping of *Campylobacter* spp. *Appl Environ Microbiol* ; 66 (1) : 1-9.

Whyte P., Collins JD., 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.

## **ANNEXE 1**

### **Matériel usuel de bactériologie**

- **Petit matériel**
  - Anse de platine.
  - Boîtes de Pétri stériles à 90 mm de diamètre.
  - Ecouvillons stériles.
  - Eppendorfs et cryotubes.
  - Gants en latex à usage unique.
  - Lames et lamelles.
  - Papier buvard.
  - Pied à coulisse.
  - Pince et ciseaux.
  - Pipettes Pasteur stériles.
  - Portoirs pour lame et pour tubes.
  - Pots en plastique stériles.
  - Tubes à essai et flacons de 250 ml.
  
- **Equipements :**
  - Agitateur magnétique.
  - Autoclave.
  - Balance de précision.
  - Bec bunsen.
  - Congélateur : -70°C.
  - Densitomètre.
  - Etuve réglable à 42°C.
  - Hotte à flux laminaire.
  - Microscope optique à immersion.
  - Réfrigérateur : +4°C.
  - Vortex.

## ANNEXE 2

### Préparation des différents milieux de culture utilisés pendant l'étude

- **Préparation de la Gélose Columbia**

- Mettre en suspension 39 g de milieu de base déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Mettre le milieu ainsi obtenu à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.
- Répartir en flacons stériles.

- **Préparation du milieu Butzler**

- Préparation du supplément sélectif Butzler : ajouter à l'ampoule du supplément, 3ml d'une solution d'éthanol et d'eau distillé stérile (à quantité égale).
- Ajouter 5 à 10% de sang de cheval défibriné à la gélose Columbia précédemment préparée, fondue et maintenue à 44°C.
- Ajouter le supplément sélectif Butzler préparé et nécessaire à la culture des *Campylobacter* (une ampoule de supplément pour 500 ml de milieu).
- Bien homogénéiser.
- Couler le milieu obtenu en boîtes de Pétri stériles (faire une couche homogène de 4 mm d'épaisseur).
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher en boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.

- **Préparation du bouillon nutritif n°2**

- Mettre en suspension 26 g de milieu de base déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution sur un agitateur magnétique.
- Mettre le milieu ainsi obtenu à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.
- Répartir en flacons stériles.

- **Préparation du bouillon Preston**

- Ajouter 5 à 10% de sang de cheval lysé (obtenu par congélation puis décongélation du sang) au bouillon nutritif précédemment préparé, refroidi et maintenu à 44°C.
- Ajouter le supplément sélectif Butzler (une ampoule de supplément pour 500 ml de milieu).
- Bien homogénéiser.
- Répartir en flacons stériles de 250 ml.

- **Gélose Columbia au sang frais**

- **Gélose Muller Hinton au sang frais**

Ces deux types de gélose sont obtenues par addition de 5 ou 10 % de sang de cheval stérile aux géloses Columbia ou Muller Hinton, après autoclavage et refroidissement de ces derniers, les milieux ainsi obtenus sont coulés en boîtes de Pétri stériles.

### ANNEXE 3

- **Technique de la coloration de Gram**

#### Réalisation du frottis

- Déposer sur une lame propre une goutte d'eau physiologique, puis prélever à l'aide de l'anse de platine une parcelle de la culture. Mélanger afin d'obtenir une suspension homogène.
- Sécher et fixer le frottis au-dessus de la flamme du bec Bunsen.

#### Réalisation de la coloration de Gram

- Coloration du frotti : violet de gentiane durant une minute puis rincer à l'eau du robinet.
- Mordançage : recouvrir la lame de réactif de Lugol 40 secondes puis rincer à l'eau.
- Epreuve (alcool résistance) : recouvrir la lame de l'alcool 10 secondes d'alcool puis rincer à l'eau du robinet immédiatement.
- Contre coloration : recouvrir la lame de Fuchsine pendant une minute.
- Rincer à l'eau du robinet et sécher entre deux feuilles de papier absorbant.
- Observer au microscope optique à l'objectif 100 à immersion, à pleine lumière.

- **Technique de l'examen à l'état frais**

- Déposer une petite goutte d'eau physiologique stérile sur la lame.
- Prélever une fraction de colonie sur gélose, de préférence aux bords de celle-ci.
- Faire une suspension homogène dans la goutte d'eau en incorporant progressivement l'inoculum et en remuant très délicatement (afin de ne pas casser les flagelles).
- Recouvrir la lame d'une lamelle.
- Observer rapidement à l'objectif 40 en mettant la lumière au maximum mais en fermant le diaphragme, ou bien observer à l'objectif 100 en mettant une goutte de huile à immersion sur la lamelle.

Les bactéries sont considérées comme mobiles lorsque des trajets très différents sont observés, les *Campylobacter* ont une mobilité caractéristique en vol de moucheron.

## ANNEXE 4

Tableau 13 : Disques d'antibiotiques testés et leurs charges.

Famille chimique	Nom de l'antibiotique	Abréviation	Charge des disques
Bétalactamines et Céphalosporines	Ampicilline	AM	10 µg
	Amoxicilline/ Acide clavulanique (Augmentin)	AMC	20/10 µg
	Céfazoline	CZ	30 µg
Aminosides	Gentamicine	GM	10 µg
Macrolides	Erythromycine	E	15 UI
Quinolones	Acide Nalidixique	NAL	30 µg
	Ciprofloxacine	CIP	5 µg
Cyclines	Tétracycline	TE	30 µg
Phénicolés	Chloramphénicol	C	30 µg

µg : Microgramme ; UI : Unité internationale.

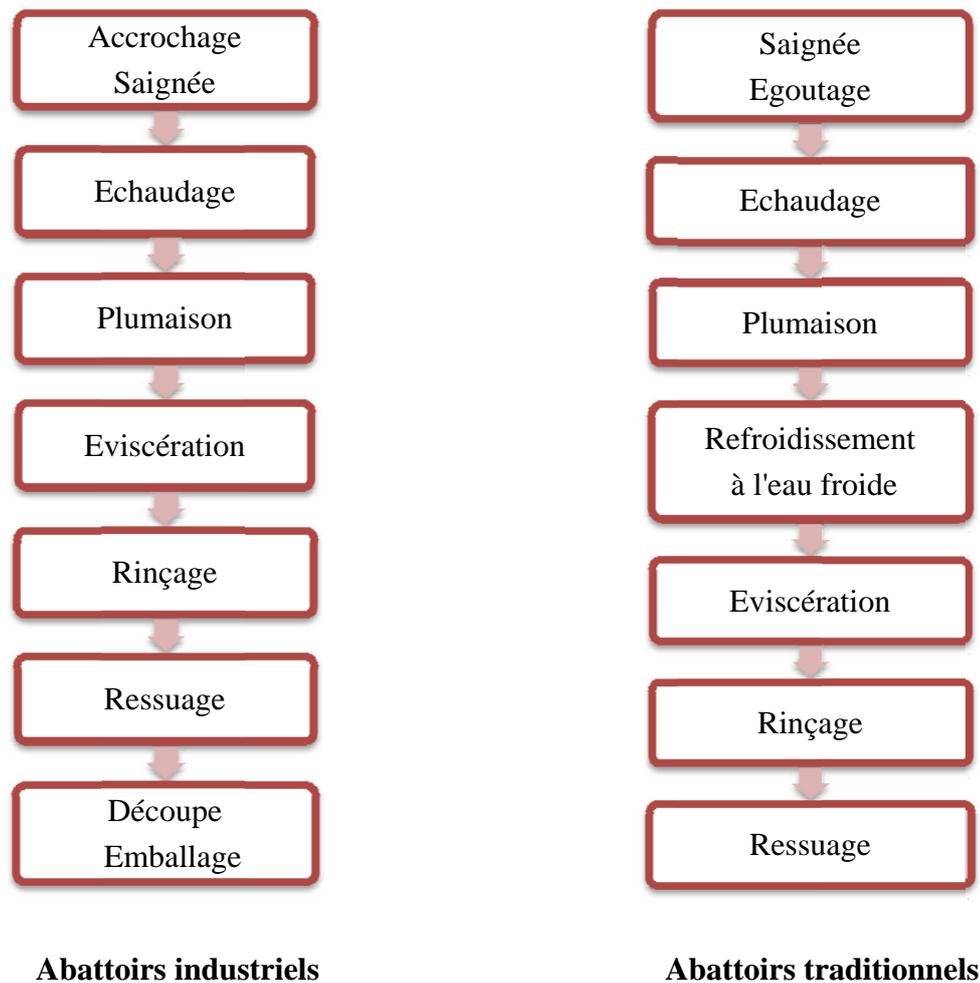
## ANNEXE 5

Tableau 14 : Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour *Campylobacter* spp. (CA-SFM, 2010).

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
<b>Ampicilline</b>	10 $\mu\text{g}$	<4	> 16	>19	<14
<b>Amoxicilline/Acide clavulanique</b>	20 $\mu\text{g}$	<4/2	> 16/2	>21	<14
<b>Céfalotine</b>	30 $\mu\text{g}$	<8	>32	>18	<12
<b>Cefotaxime</b>	30 $\mu\text{g}$	<4	>32	>21	<15
<b>Streptomycine</b>	10 UI	< 8	>16	> 15	< 13
<b>Gentamicine</b>	15 $\mu\text{g}$ (10UI)	<2	>4	>18	<16
<b>Kanamycine</b>	30 UI	< 8	>16	>17	< 15
<b>Tobramycine</b>	10 $\mu\text{g}$	<2	>4	>18	< 16
<b>Erythromycine</b>	15 UI	<1	>4	>22	<17
<b>Acide nalidixique</b>	30 $\mu\text{g}$	<8	> 16	>20	<15
<b>Ciprofloxacine</b>	5 $\mu\text{g}$	<0,5	>1	>25	<22
<b>Tetracycline</b>	30 UI	<4	>8	> 19	<17
<b>Chloramphenicol</b>	30 $\mu\text{g}$	<8	> 16	>23	<19

$\mu\text{g}$  : Microgramme ; UI : Unité internationale ; S : Sensible ; R : Résistant.

## ANNEXE 6 : Etapes d'abattage des poulets de chair dans les abattoirs industriels et les tueries



**Figure 26** : Principales étapes de l'abattage des poulets de chair

Les principales différences dans le procédé d'abattage entre les abattoirs industriels et traditionnels concernent les étapes de :

- L'éviscération :

Dans l'abattoir industriel, elle se fait sur des poulets accrochés par les pattes à la chaîne d'abattage.

Dans l'abattoir traditionnel, elle se fait sur des potagers ou sur des planches en bois (dans ce type d'abattoirs il n'existe pas de chaîne d'abattage).

- Le rinçage

Dans l'abattoir industriel, il se fait par douche individuelle des carcasses éviscérées toujours accrochés à la chaîne d'abattage.

Dans l'abattoir traditionnel, il se fait par trempage de plusieurs carcasses dans un même bac d'eau.