

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA CONTAMINATION
SUPERFICIELLE DES CARCASSES DE POULETS DE CHAIR DURANT
LE RESSUAGE PAR LES CAMPYLOBACTER THERMOTOLERANTS
DANS UN ABATTOIR DE LA REGION D'ALGER.**

Présenté par :

-BOURNANE Salima.

-BOUTA Imene.

Soutenu le : 01/07/2017

Devant le jury composé de :

Président : Dr. BOUAYAD L.

Maître de Conférences A

Promoteur : Dr. BOUHAMED R.

Maître Assistante A

Examineur 1 : Dr. FERHAT L.

Maître Assistante A

Examineur 2 : Dr. MATALLAH A.

Maître Assistante A

Année universitaire : 2016/2017

REMERCIEMENTS

Avec l'aide de Dieu et notre foi en lui, nous terminons nos études par ce modeste projet, DIEU MERCI.

En cette occasion, nous remercions vivement, tous nos enseignants qui ont veillé à notre formation.

*Tout l'honneur est pour nous d'être sous la bienveillance de notre chère et gentille promotrice **Dr BOUHAMED R**, sur les plans pratiques et bibliographiques. Avec toute notre gratitude Madame; vous avez été plus d'un guide professionnel avec vos précieux conseils et instructions.*

*Nous remercions également les membres du jury **Dr FERHAT L**, **Dr MATALLAH A**, et en tête **Dr BOUAYAD L**, d'avoir accepté de mettre en valeur notre travail, Hommage respectueux.*

Sans oublier de remercier tout le personnel de notre école et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce humble mémoire.

DEDICACES

A mes deux anges gardiens:

Je vous dédie ce modeste travail qui est une fin à plusieurs années de persévérance, vous n'avez jamais manqué de m'apporter le soutien moral et matériel qui me poussait d'aller toujours plus loin que possible. Alors, je souhaite être à la hauteur de satisfaire votre confiance. Tout le mérite est pour vous chers parents.

Evidemment, je n'oublie pas de le dédier à ma sœur unique IMANE et mon frère unique ABDELHADI.

Que Dieu vous bénisse ma chère famille.

Aussi, je le dédie à tous mes proches, à toutes mes amies et à toutes les personnes qui m'ont rendu service tout le long de mes études.

SALIMA

DEDICACES

Je dédie cette œuvre à mes parents;

Certes, chaque début a une fin et ce mémoire est la finition de plusieurs années de labeur sans arrêt, avec l'aide de mes parents qui m'ont offert le courage au moment où j'en avais plus besoin, vous avez toujours éclairé ma vie et sans vous je ne serai pas là où je suis aujourd'hui.

Toute ma gratitude parents pour toutes ces années de bienveillance et de soutien.

Je n'oublie surtout pas de dédier ce travail à mes frères YACINE, ZAKARIA et SOHEIB et mes sœurs AYA et DHIKRA.

Que Dieu vous protège ma chère famille.

Sans oublier de le dédier à mes chères amies.

IMENE

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- : négatif.

%: pourcentage.

± : plus ou moins.

+ : positif.

°C : degré Celsius.

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.

ATB : Antibiotique.

a_w: activity of water (activité de l'eau).

BHIB : Brain Heart Infusion Broth.

C.: *Campylobacter*.

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

ENSV : école nationale supérieure vétérinaire.

H₂O : molécule d'eau.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

H₂S: sulfure d'hydrogène.

HACCP : Hazard Analysis Critical Control Point.

ISO: International Organization For Standardization (Organisation Internationale de Normalisation).

LOS : lipo-oligo saccharide.

LPS : lipopolysaccharide.

ml : millilitre.

N° : Numéro.

NaCl: chlorure de sodium.

O₂: oxygène.

OIE : Office International des Epizooties .

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

pH : potentiel Hydrogène.

PVP : PolyVinylPyrrolidone.

TIA : toxi-infection alimentaire.

TSI : Triple Sugar Iron.

UI : Unité Internationale.

UPTC: Urease-Positive Thermophilic *Campylobacter*.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Principales caractéristiques relatives aux conditions de croissance des <i>Campylobacter</i> thermotolérants (AFSSA, 2006).	08
Tableau 02 : Caractères phénotypiques des principaux <i>Campylobacter</i> thermotolérants (MEGRAUD, 2007).	09
Tableau 03 : Caractéristiques de la Campylobactériose humaine (ANSES, 2011).	14
Tableau 04 : Caractéristiques des lots abattus.	16
Tableau 05 : Réalisation de l'échantillonnage (DGAL, 2009).	16
Tableau 06 : Principales caractéristiques des <i>Campylobacter</i> thermotolérants (OIE, 2005).	24
Tableau 07 : Caractérisation phénotypique des <i>Campylobacter</i> thermotolérants (ISO 10272, 1995).	28
Tableau 08 : Extrait du tableau de lecture de la galerie API Campy.	29
Tableau 09 : Prévalence globale des <i>Campylobacter</i> spp.	32
Tableau 10 : Prévalence détaillée des <i>Campylobacter</i> spp.	33
Tableau 11 : Prévalence des <i>Campylobacter</i> thermotolérants.	34
Tableau 12 : Identification de l'espèce de <i>Campylobacter</i> spp. à l'aide d'une galerie classique.	35
Tableau 13 : Prévalence globale des espèces de <i>Campylobacter</i> thermotolérants.	36
Tableau 14 : Prévalence des espèces de <i>Campylobacter</i> par lot.	37

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : <i>Campylobacter jejuni</i> en microscopie électronique à balayage (Gr x 30 000) (ANSES, 2011).	07
Figure 02 : Voies de transmission des <i>Campylobacter</i> (FRIEDMAN, 2004).	12
Figure 03 : Mécanisme pathogénique de <i>Campylobacter</i> dans le tube digestif humain.	13
Figure 04 : Les prélèvements des peaux de cou de poulet.	16
Figure 05 : Milieux et réactifs utilisés.	18
Figure 06 : Pesée des échantillons.	19
Figure 07 : Homogénéisation des échantillons.	20
Figure 08 : Enrichissement.	20
Figure 09 : Incubation des boîtesensemencées.	21
Figure 10 : Sachet générateur d'atmosphère microaérophilie.	21
Figure 11 : Aspect des colonies sur Columbia.	21
Figure 12 : Aspect des colonies sur mCCDA.	21
Figure 13 : Test de l'oxydase.	23
Figure 14 : Test d'agglutination.	25
Figure 15 : Test de production d'H ₂ S.	26
Figure 16 : Test de catalase.	27
Figure 17 : Sensibilité aux antibiotiques.	28
Figure 18 : Galerie d'API Campy.	29
Figure 19 : Conservation des souches.	31
Figure 20 : Prévalence globale des <i>Campylobacter</i> spp.	32
Figure 21 : Prévalence détaillée des <i>Campylobacter</i> spp.	33
Figure 22 : Prévalence de <i>Campylobacter</i> thermotolérant.	34
Figure 23 : Corrélation entre les tests biochimiques et les tests immunologiques.	35
Figure 24 : Identification de l'espèce de <i>Campylobacter</i> spp. à l'aide d'une galerie classique.	36
Figure 25 : Prévalence globale des espèces de <i>Campylobacter</i> thermotolérants.	37
Figure 26 : Prévalence des espèces de <i>Campylobacter</i> par lot.	38

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	01
<u>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</u>	
<u>CHAPITRE I: GENERALITES SUR LES ABATTOIRS AVICOLES</u>	02
I. DEFINITION D'UN ETABLISSEMENT D'ABATTAGE	02
II. CONCEPTION D'UN ABATTOIR AVICOLE	02
II.1.Extérieurs du site	02
II.2.Conception des locaux	02
III.TECHNIQUE D'ABATTAGE	03
III.1.Définition de l'abattage	03
III.2.Techniques d'abattage	03
III.2.1.Accrochage	03
III.2.2.Etourdissement	03
III.2.3.Saignée	04
III.2.4.Echaudage	04
III.2.5.Plumaison	04
III.2.6.Eviscération	04
III.2.7.Effilage	05
III.2.8.Lavage final	05
III.2.9.Refroïdissement	05
III.2.10.Conditionnement	05
<u>CHAPITRE II :CAMPYLOBACTER ET CAMPYLOBACTERIOSE</u>	06
I.HISTORIQUE ET TAXONOMIE	06
I.1.Historique	06
I.2.Taxonomie	06
II.ETUDE BACTERIOLOGIQUE	07
II.1.Morphologie	07
II.2.Métabolisme	08
II.3.Caractères cultureux	08
II.3.1.Conditions de croissance	08

III.3.2.Aspect des cultures	09
II.4.Caractères biochimiques	09
III.CAMPYLOBACTERIOSE	10
III.1.Habitat	10
III.2. <i>Campylobacter</i> dans les denrées alimentaires d'origine avicole	10
III.2.1.Elevage	10
III.2.2.Abattoir	10
III.2.3.Viande	10
III.3. <i>Campylobacter</i> chez l'homme	11
III.3.1.Généralités	11
III.3.2.Mode de transmission	11
III.3.3.Pathogénie	12
III.3.3.1.Dose minimale infectieuse	12
III.3.3.2.Toxi-infection intestinale	13
III.3.3.3.Signes cliniques	14

PARTIE EXPERIMENTALE

<u>CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES</u>	15
OBJECTIFS	
I. MATERIEL ET METHODES	15
I.1. Matériel	15
I.1.1.Présentation de l'abattoir	15
I.1.2. Echantillonnage	15
I.1.3. Matériel de laboratoire	17
I.1.4.Milieus et réactifs utilisés	17
I.2. Méthodes	19
I.2.1.Méthodes d'analyses bactériologiques	19
I.2.1.1. Préparation des échantillons	19
I.2.1.1.1.Pesée	19
I.2.1.1.2.Homogénéisation	20
I.2.1.2.Enrichissement	20
I.2.1.3.Isolement	21
I.2.1.4.Identification biochimique	22

a. Identification des <i>Campylobacter</i> thermotolerants	22
a.1. Tests biochimiques classiques	22
a.2. Test immunologique d'agglutination	24
b. Identification de l'espèce	25
b.1. Galerie biochimique classique	25
b.2. Galerie API Campy	27
I.2.1.5. Conservation des souches	29
<u>CHAPITRE II : RESULTATS</u>	30
I. ISOLEMENT DES CAMPYLOBACTER SPP.	30
I.1. Prévalence globale	30
I.2. Prévalence détaillée	30
II. IDENTIFICATION DES CAMPYLOBACTER THERMOTOLERANTS	32
II.1. Tests biochimiques classiques	32
II.2. Tests immunologiques d'agglutination	32
II.3. Relation entre les résultats des tests biochimiques classiques et les tests d'immuno- agglutination	33
III. IDENTIFICATION DE L'ESPECE	34
III.1. Identification des espèces de <i>Campylobacter</i> spp. à l'aide de galeries classiques	34
III.2. Identification des espèces de <i>Campylobacter</i> spp. à l'aide de galeries API Campy	36
III.1.1. Prévalence globale	36
III.1.2. Prévalence par lot	37
<u>CHAPITRE III : DISCUSSION</u>	38
I. ISOLEMENT DES CAMPYLOBACTER SPP.	38
II. IDENTIFICATION DES CAMPYLOBACTER THERMOTOLERANTS	38
III. IDENTIFICATION DE L'ESPECE	39
CONCLUSION	41
RECOMENDATIONS	42
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La majorité des infections humaines zoonotiques ont une transmission alimentaire et dans le cas des *Campylobacter*, bactérie responsable de la majorité des TIA dans le monde, les toxi-infections sont rarement collectives et résultent le plus souvent de la contamination croisée ou du manque de cuisson d'un produit initialement et suffisamment contaminé.

La forte prévalence des *Campylobacter* dans la filière volaille et l'affinité particulière de ce microorganisme pour le microbiote digestif des oiseaux rendent toute éradication illusoire (BULL, 2012).

L'absence de la multiplication des *Campylobacter* dans les aliments laisse donc penser que toute stratégie visant soit à limiter la contamination des caeca des volailles en élevage, soit à diminuer la contamination des carcasses à l'abattoir pourrait avoir des conséquences positives sur le nombre potentiel de TIA en réduisant l'exposition des consommateurs.

En raison de l'importance du portage intestinal de la volaille par les *Campylobacter* thermotolérants, nous avons décidé de contribuer, par cette présente étude, à enrichir les informations émanant des différentes recherches effectuées dans ce domaine, que ce soit dans le monde, en général ou bien en Algérie, en particulier .

Notre travail est divisé en deux parties :

- Une partie bibliographique comprenant une description des abattoirs avicoles dans le chapitre I, et l'importance des *Campylobacter* et des Campylobactérioses dans le chapitre II.
- Une partie expérimentale regroupant le matériel et méthodes de notre travail, nos résultats et discussion ainsi qu'une conclusion et des recommandations.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : ABATTOIR AVICOLE

I. DEFINITION D'UN ETABLISSEMENT D'ABATTAGE :

Les abattoirs sont des locaux enregistrés par l'autorité compétente représentant le siège d'activités dont le but principal est l'abattage et l'habillage d'animaux spécifiques destinés à la consommation humaine (CODEX ALIMENTARIUS, 2005).

II. CONCEPTION D'UN ABATTOIR AVICOLE :

II.1. Extérieurs du site :

Les alentours des bâtiments (voies d'accès et aires desservant les bâtiments) doivent être réalisés « en dur » de manière à être carrossables. Ils doivent être munis d'un système de drainage approprié et toujours être propres et entretenus (ANSES, 2009).

II.2. Conception des locaux :

Pour un établissement agréé il est nécessaire de disposer les points suivants (JO, 2010) :

- Un emplacement couvert pour la réception des animaux et l'inspection ante-mortem.
- Au minimum un local muni d'un lavabo commande non manuelle et d'un stérilisateur pour les opérations d'anesthésie, de saignée, d'échaudage et de plumaison.
- Un local d'éviscération et de troussage muni d'un lavabo.
- Une chambre froide de ressuyage.
- Une salle de conditionnement (si nécessaire pour l'emballage).
- Une chambre froide de stockage. La température finale des produits doit être de 4°C minimum lorsqu'ils quittent l'établissement.
- Dans une des chambres réfrigérées, deux emplacements distincts, fermant à clé, doivent être réservés aux viandes consignées et aux viandes impropres à la consommation humaine.
- Des équipements de transport tels que les caisses.
- Un local sanitaire équipé de lavabos, de toilettes et de vestiaires.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

- Un emplacement pour le rangement approprié des produits de nettoyage et de désinfection.
- Un emplacement pour le stockage des sous-produits.
- Un emplacement permettant le lavage et la désinfection des équipements et des moyens de transport (camions et caisses).
- Une installation fermant à clé destinée à usage exclusif des services vétérinaires.

III. TECHNIQUE D'ABATTAGE :

III.1. Définition de l'abattage :

L'abattage est une opération qui permet d'obtenir des carcasses, des abats (cœurs, foies, gésiers) et des cous pouvant être commercialisés en état ou destinés à une transformation ultérieure (JOUVE, 1996).

Les étapes de l'abattage sont décrites dans les points suivants :

III.2. Techniques d'abattage :

III.2.1. Accrochage:

L'accrochage représente l'arrivée des animaux dans des caisses de transport plus ou moins automatisée. L'accrochage est réalisé manuellement et les oiseaux sont accrochés par les pattes dans des étriers en métal, la tête en bas (LEHURAUX, 1997).

III.2.2. Etourdissement :

L'étourdissement consiste à tromper les têtes des volailles dans un bain électrique avec l'électronarcose. Un grand nombre d'études montrent que la saignée directe est la méthode la plus bénéfique pour la qualité de la viande et de la santé humaine (TALL, 2003; REGGUEM, 2012).

III.2.3. Saignée :

La saignée s'effectue en sectionnant simultanément les artères carotides et les veines. C'est une étape qui est obligatoire et constitue un facteur important de la conservation des viandes (BACCAR et *al.*, 2006; ANONYME, 2007).

III.2.4. Echaudage :

L'échaudage a pour but de faciliter la plumaison. Les volailles après avoir été saignées sont plongées dans un bac d'échaudage dans lequel la température de l'eau varie entre 50 et 60°C, en fonction de l'espèce de volaille et de la destination ultérieure des carcasses. Le plus souvent, la température du bac d'échaudage se situe entre 50 et 53°C. Dans certains cas, une température plus élevée (58 à 60°C) peut être utilisée lorsque les carcasses sont destinées à être vendues congelées et l'apparence de la peau a moins d'importance. Par ailleurs, il a été démontré que les *Campylobacter* peuvent survivre dans l'eau d'échaudage jusqu'à une température de 53°C (CORRY et *al.*, 2001).

III.2.5. Plumaison :

Le principe des plumeuses est la rotation de doigts en caoutchouc venant frapper la carcasse et arracher les plumes. Une succession de plumeuses d'action de plus en plus douce permet d'obtenir une carcasse nette et non déchirée. Pendant la plumaison, les carcasses sont aspergées d'eau pour faciliter et améliorer l'action des doigts des plumeuses (LEHURAUX, 1997).

III.2.6. Eviscération :

A la différence des autres espèces animales de rente, les volailles sont éviscérées sans ouvrir entièrement la carcasse et la peau n'est en général pas retirée (LEHURAUX, 1997).

III.2.7. Effilage :

L'effilage est une opération basée sur l'ablation du tube digestif par l'orifice cloacal (JOUVE, 1996).

III.2.8. Lavage final :

Le lavage final des carcasses est réalisé par aspersion d'eau potable sous pression. Le pré-ressuyage est de plus en plus utilisé à ce stade. Il permet, par le transfert des carcasses sur une chaîne de pré-refroidissement, de les sécher et de descendre leurs températures internes à +8 C° (JOUVE, 1996).

III.2.9. Refroidissement :

Le ressuage est l'étape de refroidissement des carcasses. La température des carcasses doit être amenée à 4°C le plus rapidement possible (Règlement européen n°853/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale) (LEHURAUX , 1997).

III.2.10. Conditionnement :

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

Les différents types de conditionnement, sous atmosphère modifiée (teneur en O₂ ou CO₂ contrôlée) ou sous vide, dont le but est de prolonger la durée de vie des produits de volailles, entraînent une diminution du nombre des *Campylobacter* dans les premiers jours, mais ne contribuent pas à leur élimination totale, étant donné la forte contamination initiale (HARRISON *et al.*, 2001).

CHAPITRE II : CAMPYLOBACTER ET CAMPYLOBACTERIOSE

I. HISTORIQUE ET TAXONOMIE :

I.1. Historique :

La bactérie a été découverte pour la première fois par Escherich en 1886 dans des selles d'enfants diarrhéiques (ESCHERICH , 1886), et le premier isolement a été effectué en 1913 par Mac Fadyean et Stockman dans le produit d'avortement de brebis (MCFADYEAN et STOCKMAN, 1913).

Peu après, le germe a été dénommé *Vibrio fetus* par Smith et Taylor en 1919 (SMITH et TAYLOR , 1919) et en raison de sa morphologie et de son site d'isolement qui est le jéjunum, on le baptisa *Vibrio jejuni* (JONES et *al.*, 1931). En 1944, Doyle décrit un germe qui lui est très proche, responsable de la dysenterie chez le porc, il le nomma, alors, *Vibrio coli* (DOYLE, 1944).

Jusqu'en 1963, ces vibrions microaérophiles étaient inclus dans le genre *Vibrio*. Durant cette même époque Sebald et Veron proposèrent la création du genre *Campylobacter* (Kampulos=incurvé, Bacter=bâtonnet) avec comme espèce type *Campylobacter fetus* (FEDERIGHI, 2005).

I.2.Taxonomie :

Les *Campylobacter* appartiennent avec les genres *Arcobacter*, *Sulfurospirillum*, *Helicobacter* et *Wolinella* à la branche epsilon(ϵ) des protéobactéries, également appelée superfamille 6 des bacilles à gram négatif et à la famille des *Campylobacteraceae* (FEDERIGHI, 2005).

Aujourd'hui, le genre *Campylobacter* constitue un groupe hétérogène où cohabitent des espèces différentes parmi eux celles qui habitent préférentiellement dans la cavité buccale de l'homme, d'autres dans la cavité prépucciale du taureau, en plus des espèces impliquées dans les Toxi-Infections Alimentaires(TIA) à savoir *C.jejuni*, *C.coli*, *C.lari* et *C.upsaliensis* (FEDERIGHI, 2005).

II. ETUDE BACTERIOLOGIQUE :

II.1.Morphologie :

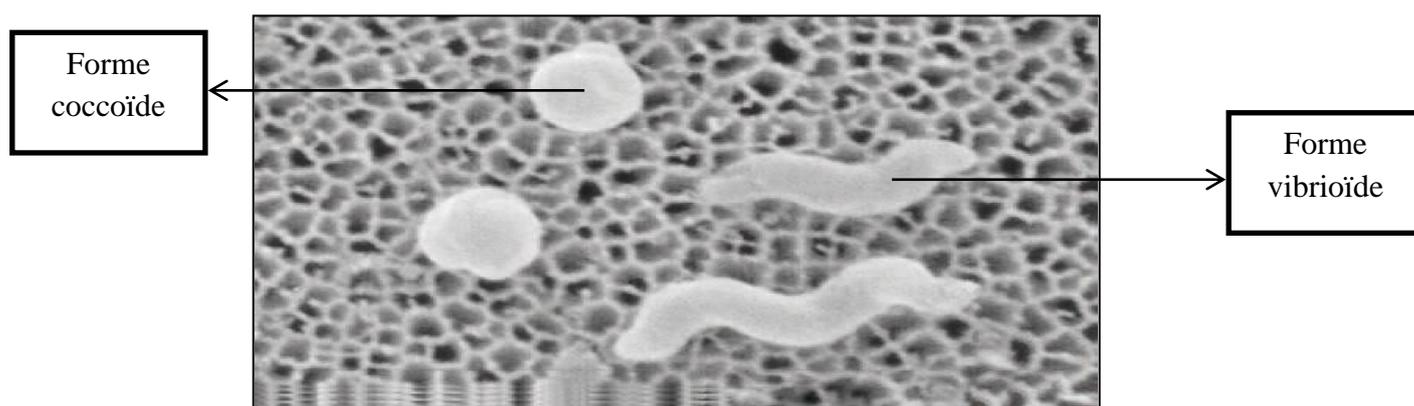
Le caractère morphologique des *Campylobacter* se résume comme suit :

- Les *Campylobacter* spp. sont des bactéries à coloration de Gram négative, en forme de spirale élancée, appelées aussi « corkscrew-like » (tire-bouchon). Cette forme est essentiellement retrouvée chez les *Campylobacter* thermotolérants qui sont : *C.jejuni*, *C.coli*, *C.lari* et *C.upsaliensis* (MENTOR, 2012).

- Les *Campylobacter* spp. font 0,5 à 5 µm de long et 0,2 à 0,9 µm de large. Ils sont fortement mobiles grâce à un flagelle polaire qui se situe à l'une ou à leurs deux extrémités (FEDERIGHI et al., 2005).

- Dans de vieilles cultures, la morphologie est parfois de type coccoïde (EUZEBY, 1992). Cette forme est décrite traditionnellement chez *Campylobacter jejuni/coli* alors que la forme vibrioïde est classiquement observée à la coloration de Gram dans des cultures récentes (DROMINGNY, 1994) (figure 01).

- Les *Campylobacter* spp. possèdent les mêmes composants de surface que la plupart des bactéries à Gram négatif (DROMINGNY, 2007).



**Figure 01 : *Campylobacter jejuni* en microscopie électronique à balayage (Gr x 30 000)
(ANSES, 2011).**

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

II.2.Métabolisme :

Les *Campylobacter* ont un métabolisme de type respiratoire microaérophile. Leurs exigences en oxygène peuvent s'étendre tout aussi bien de l'anaérobiose à la tolérance en oxygène ; quoique la grande majorité des espèces soit des microaérophiles requérant moins de 5% d'O₂ (MENTOR, 2012). En plus d'une concentration en oxygène faible, *C.jejuni* exige des niveaux élevés en anhydride carbonique pour sa croissance (5 à 10%) (KELLY, 2001).

En outre, ils peuvent mobiliser les acides aminés, les utilisant comme source d'énergie. Leur préférence en termes d'acides aminés va vers la sérine, l'aspartate, le glutamate et la proline (MENTOR, 2012).

II.3.Caractères cultureux :

II.3.1.Conditions de croissance :

Les caractères cultureux des *Campylobacter* sont reportés dans le tableau suivant :

Tableau 01 : Principales caractéristiques relatives aux conditions de croissance des *Campylobacter* thermotolérants (AFSSA, 2006).

Paramètres physico-chimiques	Optimum de croissance	Inhibition de croissance
Température	40-42°C	< 30 °C - > 45 °C
pH	6,5-7,5	<4,7- >8,2
O ₂	3-5%	0 ou 15 à 19%
CO ₂	10%	-
a _w	0,997	< 0,987
NaCl	0,5%	>2%

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

II.3.2. Aspect des cultures :

Les colonies typiques des *Campylobacter* spp. 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 stries laissées par l'anse de platine utilisée pour l'ensemencement. Lorsqu'elles sont bien espacées elles évoquent des gouttelettes (DROMIGNY, 2007).

II.4. Caractères biochimiques :

Les principales sources énergétiques utilisables par les *Campylobacter* spp. pour leur croissance sont des hydrates de carbones et/ou des acides aminés (DROMIGNY, 2007). Ces bactéries sont incapables de fermenter les sucres et les composés azotés ; ce qui permet de les séparer du genre *Vibrio* (LEMINOR, 1989).

Le tableau suivant (tableau 02) regroupe les caractères phénotypiques des principaux *Campylobacter* thermotolérants.

Tableau 02 : Caractères phénotypiques des principaux *Campylobacter* thermotolérants (MEGRAUD, 2007).

Groupes	Développement		Cat	Ind Acet	Ure	Hip	Nali	Céf	Nit	H ₂ S (TSI)
	Air	25°C 42°C								
<i>C.jejunispp.jejuni</i>	-	- +	+	+	-	+	S**	R	+	-
<i>C.jejunispp.doylei</i>	-	- -	+f/-	v	-	+	S	S	-	-
<i>C.coli</i>	-	- +	+	+	-	-	-	S**	R	+f
<i>C.lari</i>	-	- +	+	-	-	-	R	R	+	-
<i>C.lari</i> <i>Biovar UPTC</i>	-	- +	+	-	+	-	S	R	+	-
<i>C.upsaliensis</i>	-	- +	+f/-	+	-	-	S	R	+	-

UPTC : Urease-Positive Thermophilic *Campylobacter*,* : oxydase négative, ** : quelques souches sont résistantes, f : faible, v : variable, R : résistant, S : sensible, nf : non fait, Cat : catalase, IndAcet : indoxyl acétate estérase, Ure : uréase, Hip : Hippuricase, Nali : acide nalidixique, Céf : céfalotine, Nit : nitrate réductase, H₂ S en milieu TSI.

III. CAMPYLOBACTERIOSE :

III.1. Habitat :

En général, le tube digestif des oiseaux est considéré comme le réservoir naturel de *C. jejuni* (SEYE, 2009). Par ailleurs, les *Campylobacter jejuni* peuvent élaborer des biofilms qui leur confèrent une protection contre le stress environnemental ; et donc une persistance en dehors de son hôte (JOSHUA et al., 2006). Cependant, *C. coli* est essentiellement rencontré chez le porc, *C. upsaliensis* chez le chien et *C. lari* chez la mouette. Ces espèces peuvent toutefois être retrouvées chez d'autres animaux qui interviennent dans la chaîne épidémiologique, notamment les animaux d'élevage (SEYE, 2009).

III.2. *Campylobacter* dans les denrées alimentaires d'origine avicole :

III.2.1. Elevage :

Les volailles vivantes sont fréquemment porteuses de manière asymptomatique de *Campylobacter* spp. La prévention contre ces bactéries ne doit pas se limiter à la seule réduction de leur prévalence au sein des lots ou bandes, mais elle doit permettre, également, la diminution du transfert de ces micro-organismes vers les produits alimentaires remis aux consommateurs, car 80% des infections à *Campylobacter* sont contractées via l'alimentation (LEHOURS, 2014).

III.2.2. Abattoir :

L'introduction d'animaux contaminés à l'abattoir constitue le premier facteur de risque de contamination des carcasses de volailles. Les différentes étapes de l'abattage interviennent ensuite pour augmenter ou diminuer la charge microbienne (HUMPHREY et al., 2007).

Cependant, la transmission verticale vraie n'est pas considérée comme une source majeure de colonisation des animaux même si cette hypothèse a été suggérée (PEARSON et al., 1996). De même, le passage des *Campylobacter* à travers la coquille ne paraît pas être une source majeure de contamination des poussins (MAGRAS et al., 2005).

III.2.3. Viande :

Certains gestes effectués lors de la préparation des denrées alimentaires en cuisine sont fréquemment à l'origine de contaminations croisées, notamment, l'utilisation pour la découpe de la volaille rôtie ou pour la découpe des légumes, de la planche sur laquelle a été découpée ou éviscérée la volaille crue. Il a été démontré que *Campylobacter* était capable de survivre plusieurs heures sur des surfaces et ustensiles en inox et que les éponges servant au nettoyage des surfaces pouvaient également être des sources de contamination (KUSUMANINGRUM *et al.*, 2003).

III.3. *Campylobacter* chez l'homme :

III.3.1. Généralités :

Les *Campylobacter* sont considérés comme la principale cause mondiale d'entérite d'origine bactérienne chez l'homme (PEYRAT, 2008). *C.jejuni* et *C.coli* causent plus de 95% des Campylobactérioses (GHAFIR, 2007). Cependant, les infections à *Campylobacter* sont le plus souvent sporadiques et les épidémies sont rares (PEYRAT, 2008).

III.3.2. Mode de transmission :

Les voies de transmission des *Campylobacter* sont multiples et la principale transmission de ces bactéries semble se faire par ingestion d'aliments contaminés insuffisamment cuits, notamment la volaille ou d'autres aliments (légumes) contaminés lors de leur préparation (contaminations croisées). Par ailleurs, l'eau et le lait cru représentent les principales sources de contamination des grandes épidémies aux Etats-Unis et dans les pays d'Europe du Nord (AFSSA, 2001).

Dans la figure 02 sont résumées les principales voies de transmission des *Campylobacter* thermotolérants à l'homme.

Campylobacter

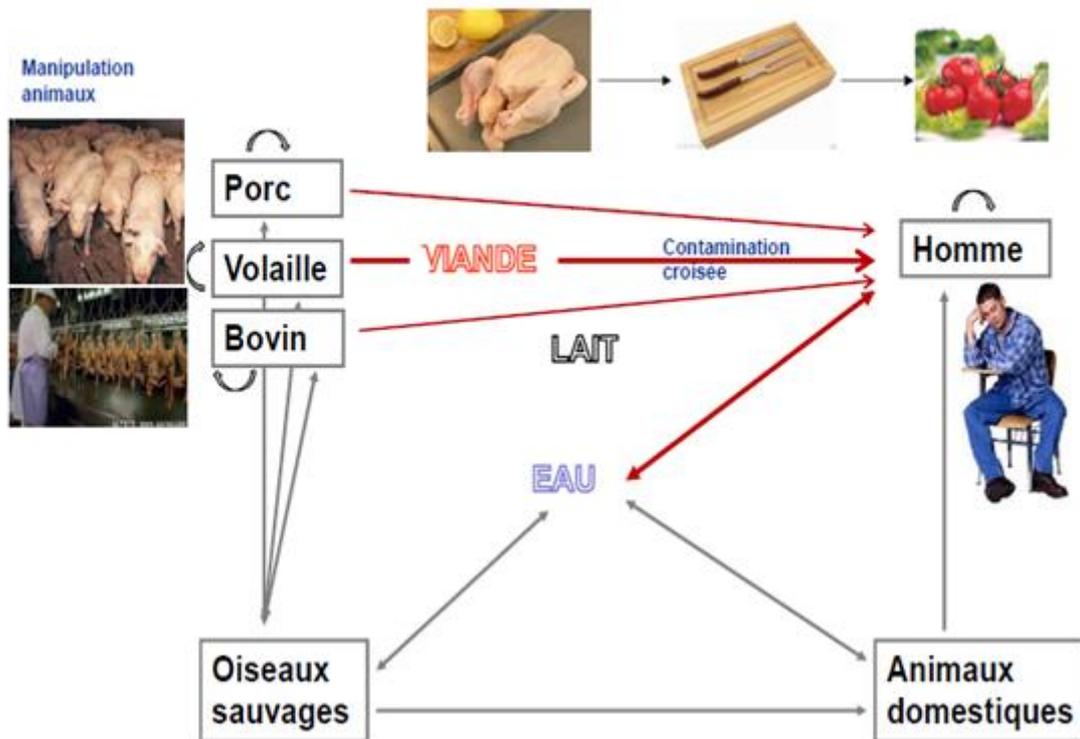


Figure 02 : Voies de transmission des *Campylobacter* (FRIEDMAN, 2004).

III.3.3. Pathogénie :

III.3.3.1. Dose minimale infectieuse :

L'existence d'une DMI (Dose Minimale Infectieuse) est due à l'action de la barrière gastrique censée détruire un certain pourcentage de bactéries (DROMINGY, 2007). Elle est déterminée par des études d'ingestion volontaire, par des études chez l'animal ou par des études épidémiologiques. Elle est très variable en fonction de l'hôte, la souche bactérienne et le vecteur permettant l'absorption de la souche. Cependant, l'ingestion de moins de 500 bactéries peut causer la maladie (PEYRAT, 2008).

III.3.3.2. Toxi-infection intestinale :

La toxi-infection intestinale à *Campylobacter* suit un processus avec plusieurs phases successives (DROMIGNY, 2007) :

- Une mobilité qui lui permet de se rapprocher des cellules intestinales (flagelle, chimiotactisme).
- Une adhésion aux cellules intestinales (adhésines, flagelle).
- Une invasion des cellules intestinales (protéines d'invasion).
- Une production de toxines (cytotoxines et entérotoxines) ou de composés entraînant les formes secondaires (LOS ou LPS).

Les différentes étapes de la pathogénie à *Campylobacter* sont résumées dans le schéma suivant (figure 03) :

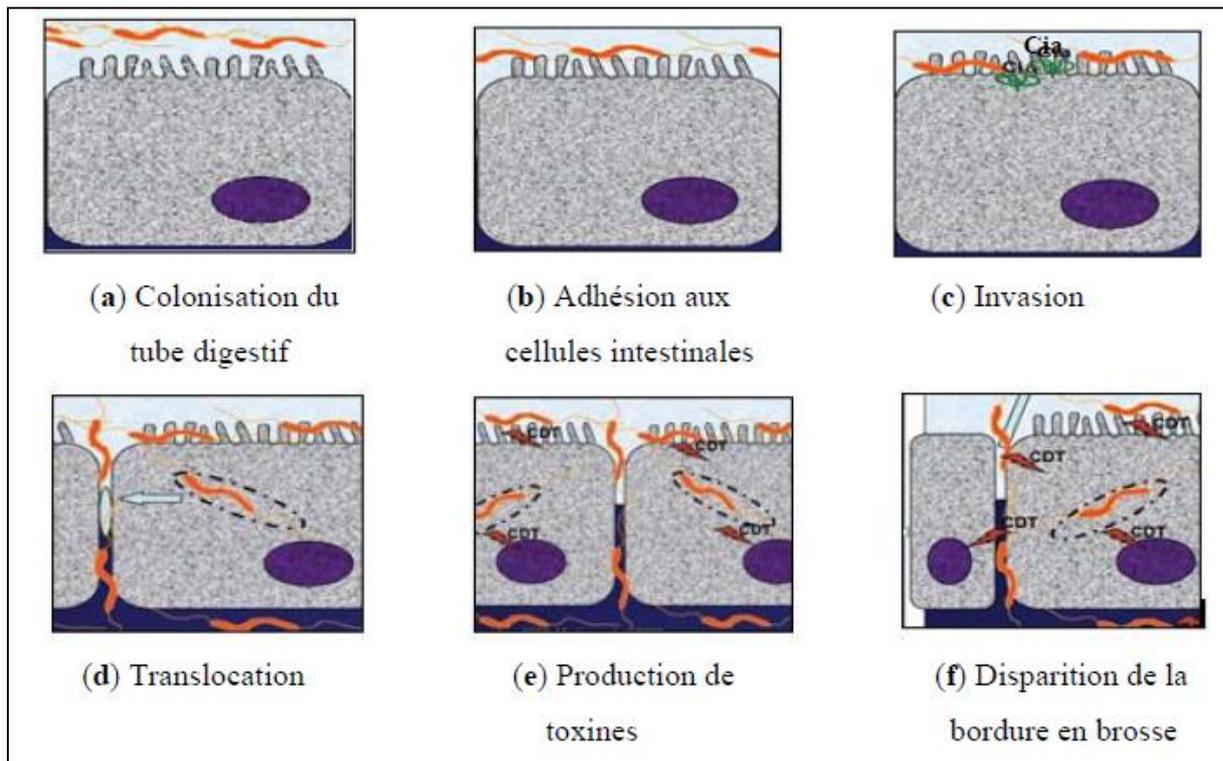


Figure 03 : Mécanisme pathogénique de *Campylobacter* dans le tube digestif humain

(<http://www.nsa.univ-cezanne.fr/UE22-files/Bolla2.pdf>).

III.3.3.3. Signes cliniques :

Les *Campylobacter* thermotolérants (*C.jejuni*, *C.coli*, *C.lari* et *C.upsaliensis*) sont désignés comme l'une des causes principales de gastro-entérites bactériennes humaines. *C.jejuni* est à l'origine de la majorité des cas de Campylobactériose (GARENAUX et al., 2005).

La maladie la plus fréquemment observée est une entérite aigue, pouvant se compliquer par une bactériémie, des localisations secondaires et un syndrome post-infectieux tel que le syndrome de Guillain-Barré (ANSES, 2011) (tableau 03).

Tableau 03 : Caractéristiques de la Campylobactériose humaine (ANSES, 2011).

Durée moyenne d'incubation	1 à 8 jours
Population cible	- Cosmopolite - Toutes classes d'âge
Principaux symptômes	- Diarrhée :85% - Douleurs abdominales :79% - Selles sanguinolentes :15% - Fièvre : 50% - Céphalées :41% - Vomissements :15% - Entérite aigue spontanément résolutive dans 80% des cas
Durée des symptômes	3-4 jours
Durée de la période contagieuse (excrétion)	38 jours en moyenne (69 jours maximum)
Complications	- Bactériémies et septicémies : < 1% - Syndrome post-infectieux : notamment le syndrome de Guillain-Barré : 0,1% - Complications exceptionnelles : Appendicites, péritonite, cholécystite - Létalité : < 0,1 % des cas
Formes asymptomatiques	- Chez certains patients ayant eu antérieurement une Campylobactériose

**PARTIE
EXPERIMENTALE**

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

OBJECTIFS

Les objectifs de notre travail sont :

- D'estimer la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants d'un abattoir avicole situé à Alger ;
- De réaliser une caractérisation phénotypique des souches de *Campylobacter* isolées.

I. MATERIEL ET METHODES :

I.1. Matériel :

I.1.1. Présentation de l'abattoir :

Tous les prélèvements analysés ont été récoltés au niveau d'un abattoir avicole de poulet de chair nommé Akfa volaille. Ce dernier se situe à El Hamiz, commune de Bordj El Kiffan, wilaya d'Alger. C'est un établissement d'abattage moderne qui fonctionne 6 jours/7, de 6h00 du matin à 14h00 de l'après-midi et il est doté d'une capacité d'abattage de 900 sujets/heure.

En plus de la chambre froide, cet abattoir comprend 4 salles supplémentaires :

- ❖ Une salle de réception, d'accrochage et de saignée.
- ❖ Une salle d'échaudage et de plumaison.
- ❖ Une salle d'éviscération et de finition.
- ❖ Une salle de pesée et d'emballage.

I.1.2. Echantillonnage :

45 prélèvements de peaux de cou de poulets de chair issus de 03 lots de poulets de chair abattus dans un abattoir situé à Bordj El Kiffan ont été récoltés durant le ressuage et analysés durant le printemps de l'an 2017 entre le mois d'avril et le mois de mai (Figure 04).

PARTIE EXPERIMENTALE



Figure 04 : Les prélèvements des peaux de cou de poulet (photo personnelle).

Les informations relatives à l'échantillonnage sont notées dans les tableaux 04 et 05.

Tableau 04 : Caractéristiques des lots abattus.

Lot	Origine des poulets de chair	Nombre de sujets abattus	Age à l'abattage /jour	Nombre de lots abattus / jour
01	Visite n°01 Rouïba	900	60	01
02	Visite n°02 Bejaïa	700	60	02
03	Visite n°03 Bejaïa	500	50	02

Tableau 05 : Réalisation de l'échantillonnage (DGAL, 2009).

Lot	Nombre de prélèvements	Modalités de prélèvement	Nombre d'échantillons
01	15 prélèvements	~10g de peau de cou/ poulet	5 échantillons de 3 peaux de cou chacun
02	15 prélèvements	~10g de peau de cou/ poulet	5 échantillons de 3 peaux de cou chacun
03	15 prélèvements	~10g de peau de cou/ poulet	5 échantillons de 3 peaux de cou chacun

g: gramme ; ~ : environ

I.1.3. Matériel de laboratoire :

Le matériel utilisé est celui qu'on utilise couramment dans les laboratoires de bactériologie :

- ❖ Matériel de pesée :
 - Balance électronique de précision.
- ❖ Matériel de découpe de la peau :
 - Une paire de ciseaux.
 - Des pinces.
- ❖ Matériel de stérilisation :
 - autoclave.
- ❖ Matériel d'incubation:
 - Deux étuves réglées à deux températures différentes : 37°C et 42°C.
 - Sachets générateurs d'atmosphère microaéroophile.
- ❖ Matériel d'homogénéisation :
 - Stomacher.
- ❖ Matériel d'analyse bactériologique:
 - Boîtes de Pétri, pipettes, tubes à essai, micropipettes.
 - Matériels divers : bec bunsen, pinces, ciseaux, marqueurs, sachets, jarres, microscope et lames.

I.1.4. Milieux et réactifs utilisés :

Les milieux et réactifs employés sont représentés par :

- ❖ Milieux de culture déshydratés.
 - Bouillon Bolton.
 - Gélose mCCDA.
 - Gélose Columbia.
 - Gélose Mueller Hinton.
- ❖ Milieux prêts à l'emploi :
 - Gélose TSI (Triple SugarIron) : Gélose au citrate de fer et aux trois sucres (TSI).
 - Bouillon B.H.I.B (Brain Heart Infusion Broth).
- ❖ Réactifs et solutions : (figure 05).
 - Suppléments Bolton et mCCDA (Modifiedcharcoal-cefoperazone-deoxycholateou ou gélose modifiée à la céfopérazone, au charbon et au désoxycholate).
 - Réactif pour la recherche de l'oxydase.

PARTIE EXPERIMENTALE

- Solution de ninhydrine.
- Réactif de la nitrate réductase I et II.
- Réactif d'extraction A et B.
- Disques antibiotiques : acide nalidixique et céfalotine.
- Galerie Api Campy.
- Kit pour coloration de Gram : violet de gentiane phéniqué, fuchsine, lugol et acétone.
- Sang frais.
- Eau physiologique à 0,9%, peroxyde d'hydrogène à 3% et eau distillée.
- Ethanol et alcool chirurgical.
- Huile à immersion et huile de vaseline.



Préparation du bouillon Bolton.



Solution de ninhydrine.



Préparation de la gélose mCCDA.



Réactif de la nitrate réductase I et II.

Figure 05 : Milieux et réactifs utilisés (photos personnelles).

I.2. Méthodes :

Après réception des échantillons à l'intérieur d'une glacière dans un délai n'excédant pas une heure, toutes les analyses microbiologiques des échantillons testés se sont déroulées au niveau du laboratoire d'hygiène alimentaire de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'El- Alia (ENSV) entre le mois d'avril et le mois de mai 2017.

I.2.1. Méthodes d'analyses bactériologiques :

Afin de rechercher les *Campylobacter* thermotolérants, nous avons appliqué la norme de l'OIE (OIE, 2005) ainsi que la norme ISO 10272-1 (2006) (ISO, 2006) relatives à la recherche et à l'identification des *Campylobacter* thermotolérants.

Cette méthode bactériologique comporte les quatre étapes suivantes:

- Préparation de l'échantillon.
- Enrichissement.
- Isolement.
- Identification biochimique.

I.2.1.1. Préparation des échantillons :

I.2.1.1.1. Pesée :

10 g de chaque échantillon de peaux de cou sont pesés à l'aide d'une balance de précision puis introduits stérilement dans un sachet stérile de type stomacher (figure 06).



Figure 06 : Pesée des échantillons (photo personnelle).

PARTIE EXPERIMENTALE

I.2.1.1.2. Homogénéisation :

Dans chaque sac stomacher, 90ml de bouillon Bolton sont rajoutés. Puis, l'échantillon est homogénéisé dans un homogénéisateur de type stomacher. Par la suite, le contenu du sac stomacher est déversé dans un pot de prélèvement stérile hermétiquement fermé (figure 07).

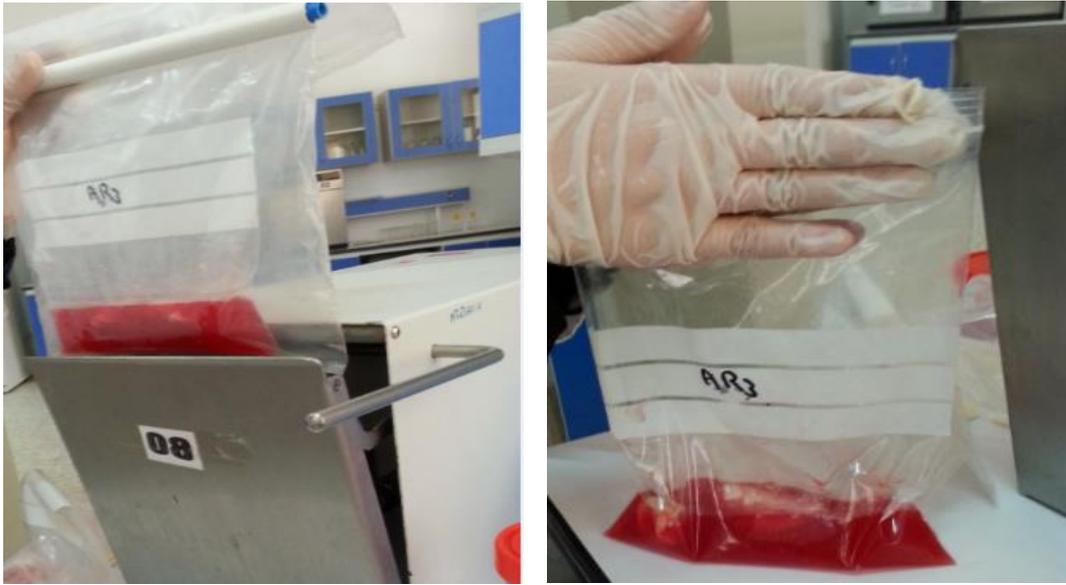


Figure 07 : Homogénéisation des échantillons (photo personnelle).

I.2.1.2.Enrichissement :

Tous les pots stériles, hermétiquement fermés, contenant la peau de cou ainsi que le bouillon sont incubés à 42°C pendant 24 heures en aérobiose (figure 08).



Figure 08 : Enrichissement (photo personnelle).

PARTIE EXPERIMENTALE

I.2.1.3. Isolement :

Chaque suspension bactérienne est ensemencée, par épuisement, sur la surface d'une gélose mCCDA. Les géloses sont, par la suite, incubées à 42°C pendant 48 heures en microaérophilie (Figure 09 et 10).

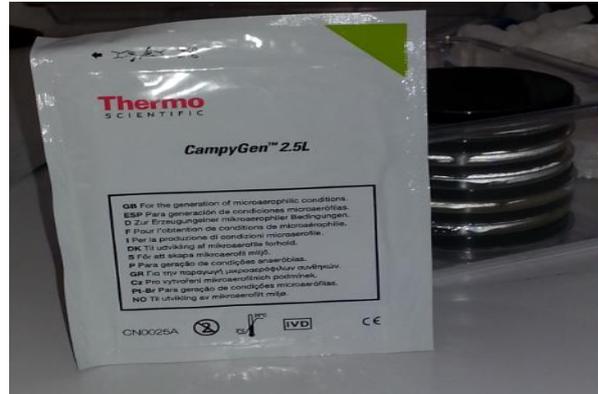


Figure09 :incubation des boîtes ensemencées . Figure10 :sachet générateur d'atmosphère microaérophilie .

(photos personnelles)

Les colonies caractéristiques de *Campylobacter* sur gélose mCCDA sont grisâtres, plates et humides avec une tendance à l'étalement, elles peuvent, également, avoir un reflet métallique.

Après isolement des *Campylobacter*, une colonie caractéristique par gélose est prélevée puis purifiée sur gélose Columbia au sang. Après repiquage, les milieux de culture sont incubés à 42°C pendant 24 heures en microaérophilie (Figure 11 et 12).



Figure11 : Aspect des colonies sur Columbia. Figure 12 : Aspect des colonies mCCDA.

(photos personnelles)

I.2.1.4. Identification biochimique :

a. Identification des *Campylobacter* thermotolérants :

a.1. Tests biochimiques classiques :

Afin d'identifier les *Campylobacter* thermotolérants, il est nécessaire de réaliser :

- Une identification microscopique.
- Une recherche de l'oxydase.
- Une recherche de la fermentation des sucres sur milieu TSI (Triple Sugar Iron)
- Une détection de la croissance à 25 °C.

❖ Identification microscopique :

➤ Principe : L'examen microscopique permet de mettre en évidence la morphologie typique des *Campylobacter* après coloration de Gram (OIE, 2005).

➤ Mode opératoire : La coloration de Gram est réalisée conformément au mode opératoire du kit Gram-Nicolle :

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

- Coloration au violet de gentiane phéniqué pendant 1 à 5 minutes.
- Rinçage à l'eau.
- Rinçage avec un jet de liquide de lugol pendant 30 secondes à 1 minute.
- Rinçage à l'eau.
- Décoloration à l'alcool / acétone puis rinçage à l'eau.
- Coloration avec la solution de fuchsine pendant 1 minute.
- Rinçage final à l'eau, séchage puis observation au microscope, à l'objectif x 100 à immersion.

➤ Lecture : La lecture est effectuée comme suit :

Coloration rose de la paroi + bacilles incurvés → *Campylobacter* spp.

Autres morphologies → Autres Bactéries

PARTIE EXPERIMENTALE

❖ Recherche de l'oxydase :

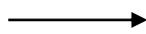
- Principe : La présence de l'oxydase est mise en évidence par le biais de la détection de l'indophénol issu de l'oxydation de certains dérivés phényle-diamine par cette enzyme (OMS, 2003).
- Mode opératoire : A partir d'une culture pure, prélever une colonie bactérienne bien isolée, puis la placer sur la partie réactionnelle de la bandelette et la frotter avec l'anse d'incubation.
- Lecture : Le résultat est lu comparativement à l'échelle colorée et doit se manifester dans les 20 à 30 secondes qui suivent l'application de la colonie (figure13).

Couleur violette ou bleu-violette



Oxydase +

Couleur jaune



Oxydase –

(MERCK, 2017)

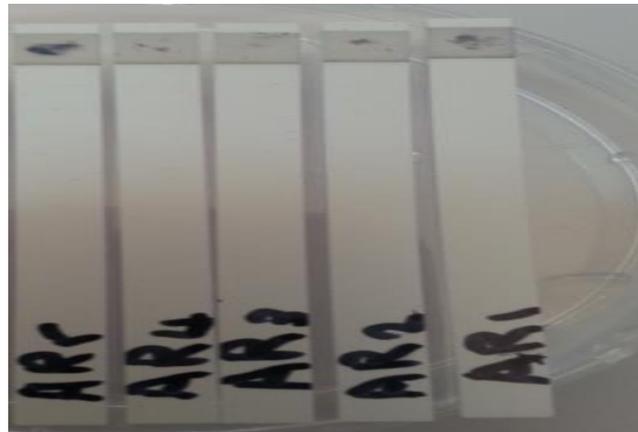


Figure13 : Test de l'oxydase positif (photo personnelle).

❖ Recherche de la fermentation des sucres :

- Principe : La recherche de la fermentation des sucres s'effectue sur de la gélose au citrate de fer et aux trois sucres communément appelée gélose TSI (Triple Sugar Iron). Cette dernière nous renseigne sur l'aptitude de production du sulfure d'hydrogène (H_2S) et d'utilisation des sucres comme source de carbone avec ou sans production de gaz par la bactérie (OIE, 2005).
- Mode opératoire : Chaque colonie présumée est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée puis ensemencée en réalisant des stries longitudinales sur la pente, suivies d'une piqûre centrale et profonde dans le culot du milieu.
- Lecture : Après incubation du milieu TSI à $42^{\circ}C$ durant 48 heures en atmosphère microaérophile, la lecture est établie comme suit:

PARTIE EXPERIMENTALE

Culot :

Couleur jaune	→	Glucose +
Couleur rouge ou inchangé	→	Glucose -
Présence de bulles ou de fissures	→	Gaz +
Absence de bulles ou de fissures	→	Gaz -

Pente :

Couleur jaune	→	Lactose et / ou saccharose +
Couleur rouge ou inchangée	→	Lactose et / ou saccharose -

(OIE, 2005).

❖ Détection de la croissance à 25°C :

- Principe : Ce test permet de confirmer le caractère thermotolérant des *Campylobacter* (OIE, 2005).
- Mode opératoire : Une colonie présumée par culture pure est repiquée sur de la gélose Columbia au sang puis incubée à 25°C pendant 48 heures en microaérophilie.
- Lecture : Après incubation, les boîtes sont examinées dans le but de voir s'il y a prolifération ou pas de la souche à tester (OIE, 2005).

Les tests de confirmation de la présence de *Campylobacter* thermotolérants ainsi que leur interprétation sont mentionnés dans le tableau 06.

Tableau 06 : Principales caractéristiques des *Campylobacter* thermotolérants (OIE, 2005).

Caractéristiques	<i>Campylobacter</i> thermotolérants
Morphologie	Petits bacilles incurvés
Mobilité	Caractéristique (forte mobilité en vrille)
Oxydase	+
Glucose	-
Lactose	-
Saccharose	-
Gaz	-
Culture à 25°C	-

a.2. Test immunologique d'agglutination :

- Principe : Le test d'agglutination au latex *Campylobacter* Dryspot consiste en des particules de latex bleu sensibilisées par des anticorps de lapin dirigés contre des antigènes de surface sélectionnés de *Campylobacter* (OXOID, 2017).
- Mode opératoire : le mode opératoire est décrit dans les points suivants (OXOID, 2017) :
 - Déposer une goutte de réactif d'extraction A dans un tube.
 - Prélever des colonies suspectes, puis les mettre en suspension dans la goutte de réactif A.
 - Ajouter 2 gouttes de réactif d'extraction B.
 - A l'aide d'une pastette, déposer 1 goutte (50 µl) de l'extrait neutralisé sur le cercle test et 1 goutte sur le cercle de contrôle.
 - Mélanger l'extrait et le réactif de contrôle déshydraté jusqu'à complète homogénéisation.
- Imprimer à la carte un mouvement de rotation pendant 3 minutes.
- Lecture : Lorsqu'un extrait de *Campylobacter* est mélangé avec le réactif test, il apparaît une agglutination due à une réaction entre le latex sensibilisé par les anticorps et les antigènes de *Campylobacter*. Si l'extrait ne contient pas les antigènes de *Campylobacter*, aucune agglutination n'apparaît et le résultat est négatif (OXOID, 2017) (figure 14).



Figure14 : Test d'agglutination positif (photo personnelle).

b. Identification de l'espèce :

b.1. Galerie biochimique classique :

L'identification biochimique des espèces de *Campylobacter* à l'aide d'une galerie classique s'est déroulée moyennant les tests suivants :

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

PARTIE EXPERIMENTALE

❖ Recherche de la production d'H₂S :

- Mode opératoire : La recherche de la production d'H₂S s'effectue sur le milieu TSI en même temps que la recherche de la fermentation des sucres précédemment décrite.
- Lecture : La lecture concerne uniquement le culot:

Couleur noire \longrightarrow H₂S +

Couleur inchangée \longrightarrow H₂S -

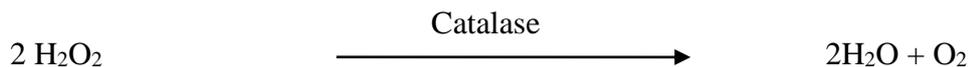
(ISO 10272, 1995) (figure 15).



Figure 15: Test de la production d'H₂S négatif (photo personnelle).

❖ Recherche de la catalase :

- Principe : La catalase est produite par la plupart des *Campylobacter*. C'est une enzyme qui scinde l'H₂O₂ (peroxyde d'hydrogène) en H₂O (eau) et en O₂ (OMS, 2003) (figure 16).



- Mode opératoire : La mise en évidence de la catalase est établie en déposant une colonie suspecte à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile sur une lame porte-objet propre contenant une goutte de peroxyde d'hydrogène à 3%.
- Lecture : Le résultat apparaît dans les 30 secondes comme suit :

Effervescence \longrightarrow Catalase +

Non effervescence \longrightarrow Catalase -

(ISO 10272, 1995)

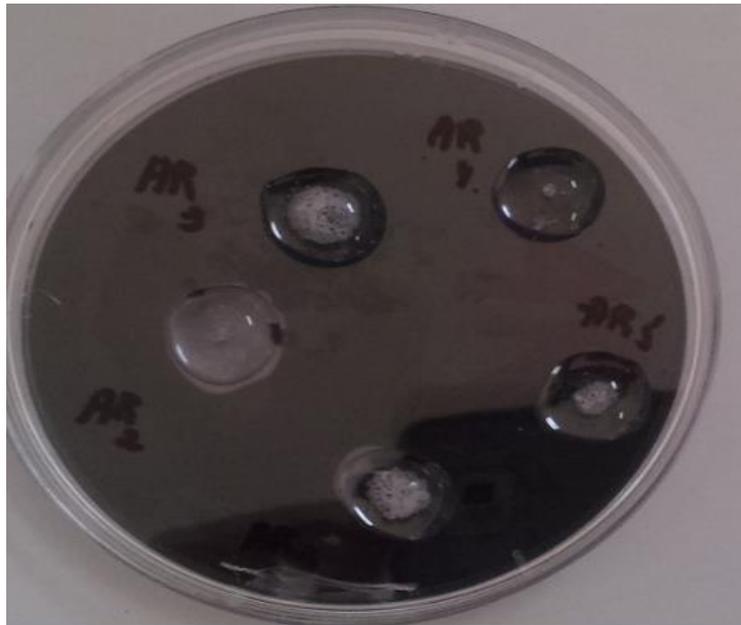


Figure 16: Test de catalase positif (photo personnelle).

❖ Recherche de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine :

- Principe : La recherche de la sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfalotine permet l'identification d'une espèce de *Campylobacter* donnée (VERON et FAUCHERE, 1989).
- Mode opératoire : Afin de tester la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées à ces deux antibiotiques, nous avons employé la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode des disques) (CA-SFM, 2013) :
 - Tout d'abord, une suspension bactérienne est préparée dans de l'eau physiologique stérile à 0,9%.
 - Ensuite, après une dilution au 1/10^{ème}, un ensemencement par écouvillonnage est réalisé sur la surface de la gélose Mueller Hinton additionnée de 5% de sang de cheval.
 - Enfin, les disques d'antibiotiques à tester sont appliqués sur la gélose en veillant à ce qu'ils soient espacés et bien en place. Les boîtes sont par la suite incubées à 37°C pendant 24 heures en microaérophilie.
- Lecture : le diamètre des zones d'inhibition des disques d'antibiotiques est mesuré au moyen d'un pied à coulisse métallique placé sur les boîtes fermées (figure17).

Présence de croissance bactérienne	—————>	Bactéries résistantes
Absence de croissance bactérienne	—————>	Bactéries sensibles

(ISO 10272, 1995).



Figure 17: Sensibilité aux antibiotiques (photo personnelle).

Une fois tous ces essais effectués, les résultats sont interprétés comme il est indiqué dans le tableau 07.

Tableau 07 : Caractérisation phénotypique des *Campylobacter* thermotolérants (ISO 10272, 1995).

Caractéristiques	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>
H ₂ S	-	(+)*	-	-
Catalase	+	+	+	- ou faible
Acide nalidixique	S*	S*	R	S
Céfalotine	R	R	R	S
Hydrolyse de l'hippurate	+	-	-	-

(+)* : Traces de noircissement possibles ; S* : Selon l'OIE (2005), certaines souches de *C. jejuni* et de *C. coli* sont résistantes à l'acide nalidixique.

b.2. Galerie API Campy :

- ❖ Principe : La galerie API Campy permettant l'identification des espèces de *Campylobacter* spp. est composée de deux entités comprenant chacune 10 tests miniaturisés munis de substrats déshydratés; les 10 premiers tests (URE à PAL) sont des tests enzymatiques et conventionnels alors que les 10 derniers tests (H₂S à ERO) représentent des tests d'assimilation ou d'inhibition. Il ne faut pas oublier le test de la catalase qui constitue le 21^{ème} test d'identification.
- ❖ Mode opératoire : Les étapes suivantes sont réalisées conformément à la notice du fabricant:

PARTIE EXPERIMENTALE

GGT	Gamma Glutamyl Transférase	Incolore	orange-intense
TTC	réduction du chlorure de triphényltétrazolium (TriphénylTétrazolium Chlorure)	Incolore rose pâle	rose / rouge ou dépôt au fond de la cupule
PyrA	PyrrolidonylArylamidase	Incolore	Orange
ArgA	L-Arginine Arylamidase	Incolore	Orange
AspA	L-AspartateArylamidase	Incolore	Orange
PAL	Phosphatase Alcaline	Incolore	Pourpre
DEUXIÈME PARTIE DE LA GALERIE			
H₂S	production d'H ₂ S	Incolore	Noir
GLU	assimilation (GLUcose)	Transparence (absence de croissance ou sensibilité)	trouble (même très faible) (croissance ou résistance)
SUT	assimilation (sodium SUccinaTe)		
NAL	inhibition de croissance (acide NALidixique)		
CFZ	inhibition de croissance (sodium CéFaZoline)		
ACE	assimilation (soduimACEtate)		
PROP	assimilation (PROPionate)		
MLT	assimilation (MaLaTe)		
CIT	assimilation (trisodiumCITrate)		
ERO	inhibition de croissance (ERYthrOmycine)		

I.2.1.5. Conservation des souches :

À l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile, un inoculum bactérien est prélevé puis inoculé dans du BHIB supplémenté de glycérol à 20% puis congelé (MEGRAUD, 2007) (figure 19).



Figure 19 : Conservation des souches (photo personnelle).

I. ISOLEMENT DES CAMPYLOBACTER SPP. :

I.1. Prévalence globale :

Sur l'ensemble des échantillons analysés (N=15), nous avons détecté 13 souches de *Campylobacter* spp. ; soit une prévalence de 86,67%.

Les résultats obtenus sont notés dans le tableau 09 et représentés par la figure 20.

Tableau 09 : Prévalence globale des *Campylobacter* spp.

Colonies suspectes		Contaminants	
N	%	N	%
13	86,67	2	13,33

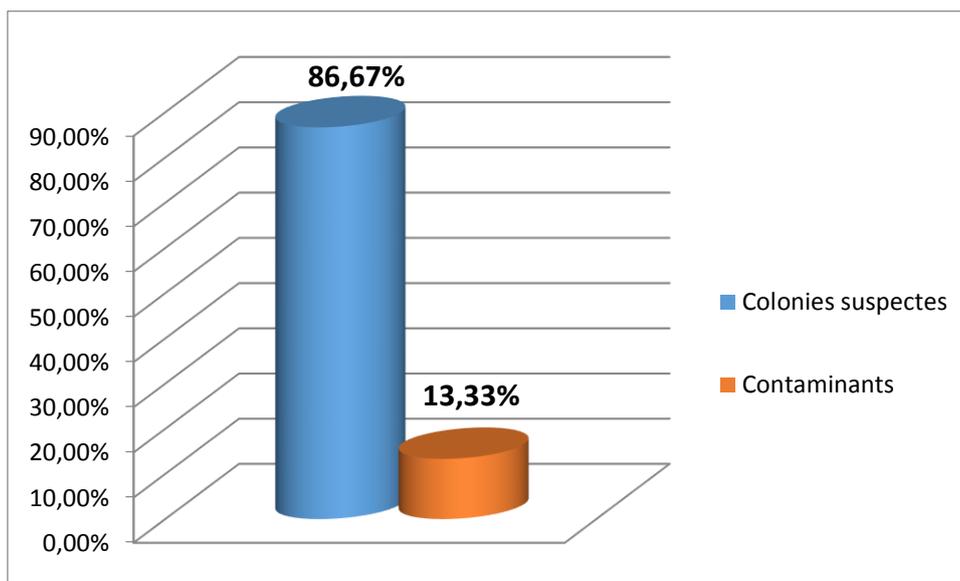


Figure 20: Prévalence globale des *Campylobacter* spp.

I.2. Prévalence détaillée :

Après 48h d'incubation à 42°C des gélosesensemencées, et en se basant sur l'aspect caractéristique des colonies de *Campylobacter* spp., nous avons obtenu les résultats suivants :

- 1^{er} lot : sur 5 échantillons analysés, 3 étaient positifs pour *Campylobacter* spp.. Ce qui représente une prévalence de 60,00 %.
- 2^{ème} et 3^{ème} lots : tous les échantillons testés étaient positifs pour *Campylobacter* spp. (100,00%).

PARTIE EXPERIMENTALE

Nos résultats sont rapportés dans le tableau 10 et la figure 21.

Tableau10 : Prévalence détaillée des *Campylobacter* spp.

Lot	Colonies suspectes		Contaminants	
	N	%	N	%
1	3	60,00	2	40,00
2	5	100,00	0	0,00
3	5	100,00	0	0,00
Total	13	86,67	2	13,33

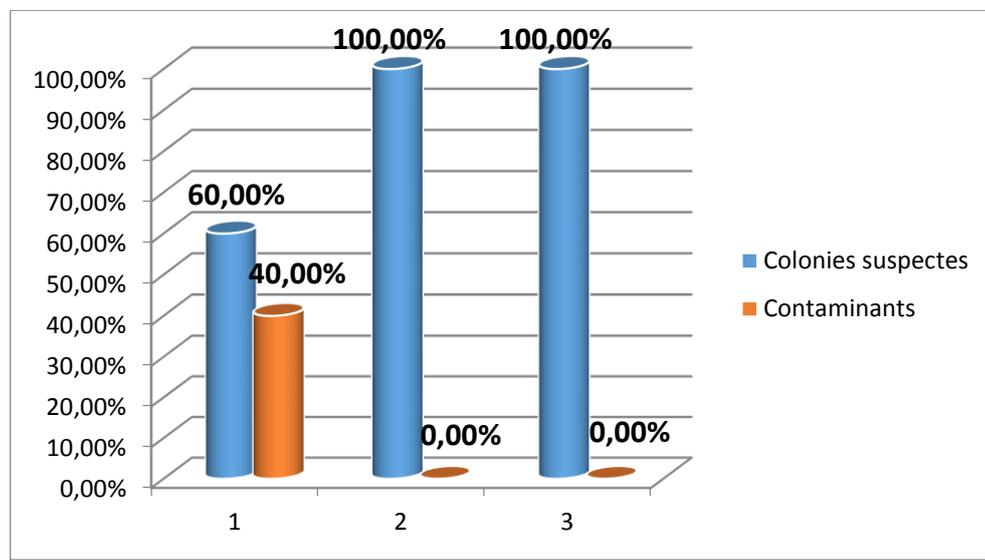


Figure 21: Prévalence détaillée des *Campylobacter* spp.

II. IDENTIFICATION DES CAMPYLOBACTER THERMOTOLERANTS :

II.1. Tests biochimiques classiques :

Après avoir réalisé les tests biochimiques classiques nous avons déduit que toutes les souches isolées à partir des 3 lots analysés étaient des *Campylobacter* thermotolérants (100%).

II.2. Tests immunologiques d'agglutination :

La réalisation du test d'immuno-agglutination nous a permis de confirmer les résultats des tests biochimiques classiques. Ainsi, pour les 13 souches de *Campylobacter* spp. testées, 100,00% (13/13) étaient des *Campylobacter* thermotolérants.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les résultats obtenus sont répertoriés dans le tableau 11 et représentés par la figure 22.

Tableau11 : Prévalence des *Campylobater* thermotolérants.

Lot	Tests biochimiques		Tests d'immuno-agglutination	
	N	%	N	%
1	3	100,00	3	100,00
2	5	100,00	5	100,00
3	5	100,00	5	100,00
Total	13	100,00	13	100,00

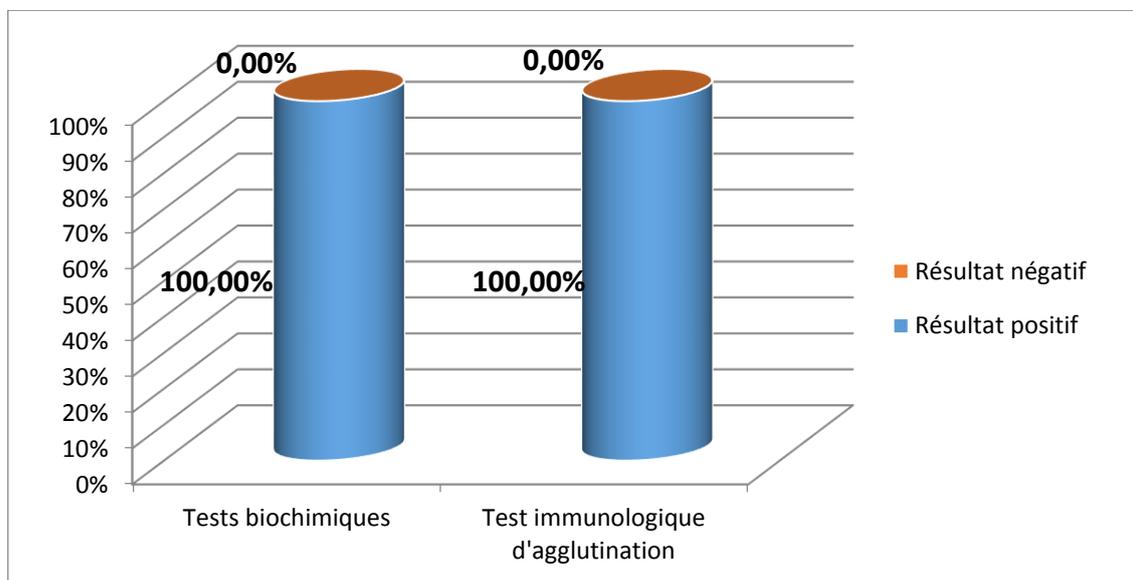


Figure 22 : Prévalence des *Campylobater* thermotolérants.

II.3. Relation entre les résultats des tests biochimiques classiques et les tests d'immuno-agglutination :

L'étude de la relation entre les résultats des tests biochimiques classiques et des tests d'immuno-agglutination a révélé que le coefficient de corrélation (r) enregistré était élevé ($r= 1$), et il qu'il y a une bonne relation entre ces deux types de test. En effet, ces tests ont donné les mêmes résultats (figure 23).

PARTIE EXPERIMENTALE

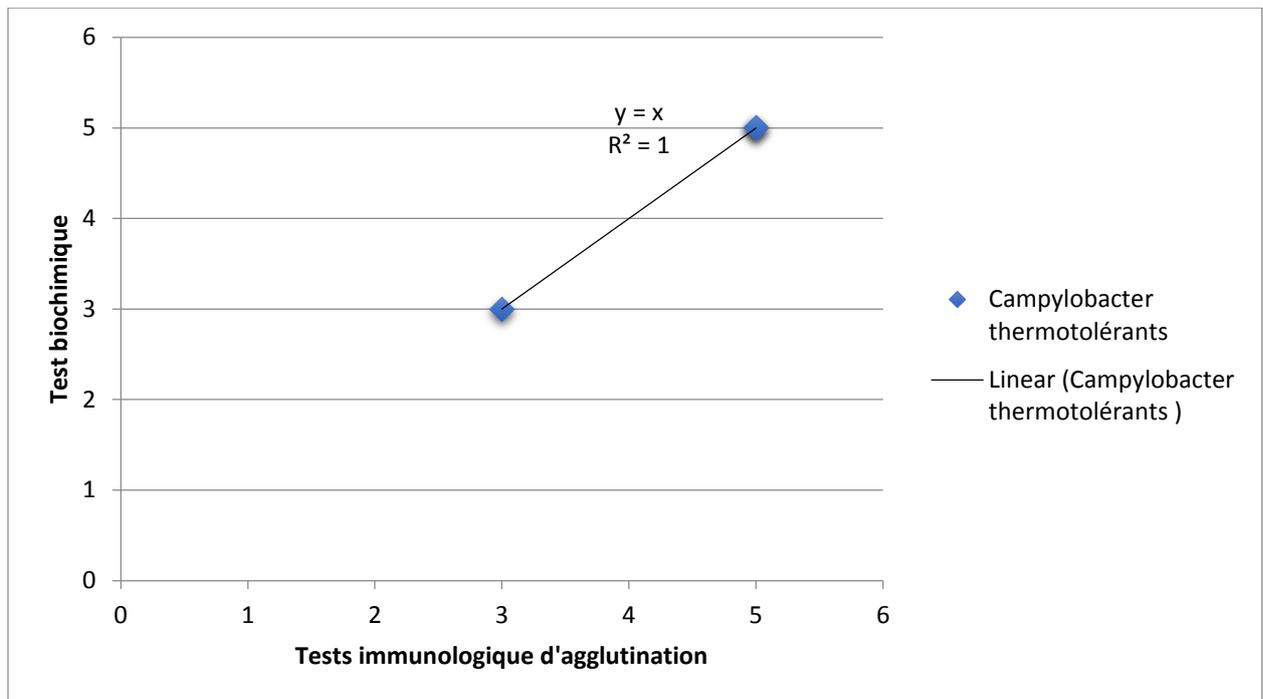


Figure 23 : Corrélation entre les tests biochimiques et les tests immunologique.

III. IDENTIFICATION DE L'ESPECE :

III.1. Identification des espèces de *Campylobacter* spp. à l'aide de galeries classiques :

L'identification de l'espèce de *Campylobacter* spp. à l'aide des tests biochimiques classiques nous a permis uniquement de déduire que toutes les souches testées pouvaient appartenir soit à *C. jejuni*, *C. coli* ou bien à *C. lari* (100,00%) (tableau 12 et figure 24).

Tableau12 : Identification de l'espèce de *Campylobacter* spp. à l'aide d'une galerie classique.

Lot	Espèces (<i>C.j/C.c/C.l</i>)	
	N	%
1	3	100,00
2	5	100,00
3	5	100,00
Total	13	100,00

PARTIE EXPERIMENTALE

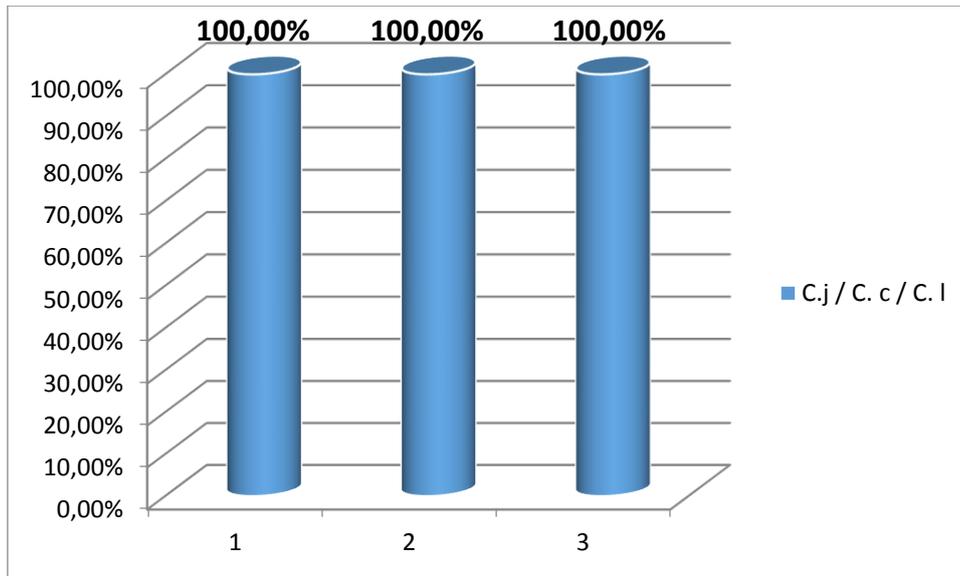


Figure24: Identification de l'espèce de *Campylobacter* spp. à l'aide d'une galerie classique.

III.1. Identification des espèces de *Campylobacter* spp. à l'aide de galeries API Campy :

III.1.1. Prévalence globale :

Sur l'ensemble des souches testées, *Campylobacter jejuni* a été isolé à partir de 69,23% (9/13) des lots prélevés tandis que *Campylobacter coli* a été isolé à partir de 30,77% (4/13) des échantillons analysés. Cependant, aucune souche de *Campylobacter lari* n'a été détectée (0,00%).

Les résultats obtenus sont répertoriés dans le tableau 13 et la figure 25.

Tableau13: Prévalence globale des espèces de *Campylobacter* thermotolérants.

<i>C. jejuni</i>		<i>C. coli</i>		<i>C. lari</i>	
N	%	N	%	N	%
9	69,23	4	30,77	0	0,00

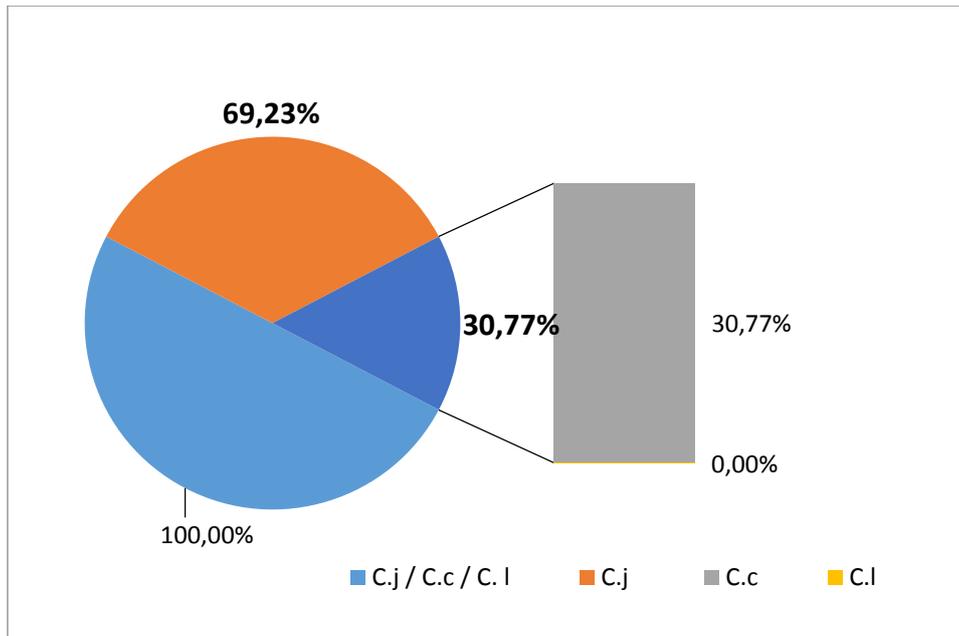


Figure 25 : Prévalence globale des espèces de *Campylobacter* thermotolérants.

III.1.2. Prévalence par lot :

Toutes les souches de *Campylobacter* thermotolérants identifiées à l'aide de galeries biochimiques classiques ont fait l'objet d'une confirmation *via* les galeries API Campy. Ces dernières nous ont permis de détecter deux espèces de *Campylobacter* :

- L'espèce *Campylobacter jejuni* : retrouvée dans 33,33% (1/3), 60,00% (3/5) et 100% (5/5) des souches isolées du premier, du deuxième et du troisième lot respectivement.
- L'espèce *Campylobacter coli* : Isolée à partir du premier et du deuxième lot avec des fréquences de 66,67% (2/3) et 40,00% (2/5) respectivement (tableau 14, figure 26).

Tableau14 : Prévalence des espèces de *Campylobacter* par lot.

Lot	<i>C. jejuni</i>		<i>C. coli</i>		<i>C. lari</i>	
	N	%	N	%	N	%
1	1	33,33	2	66,67	0	0,00
2	3	60,00	2	40,00	0	0,00
3	5	100,00	0	0,00	0	0,00
Total	9	64,44	4	35,56	0	0,00

PARTIE EXPERIMENTALE

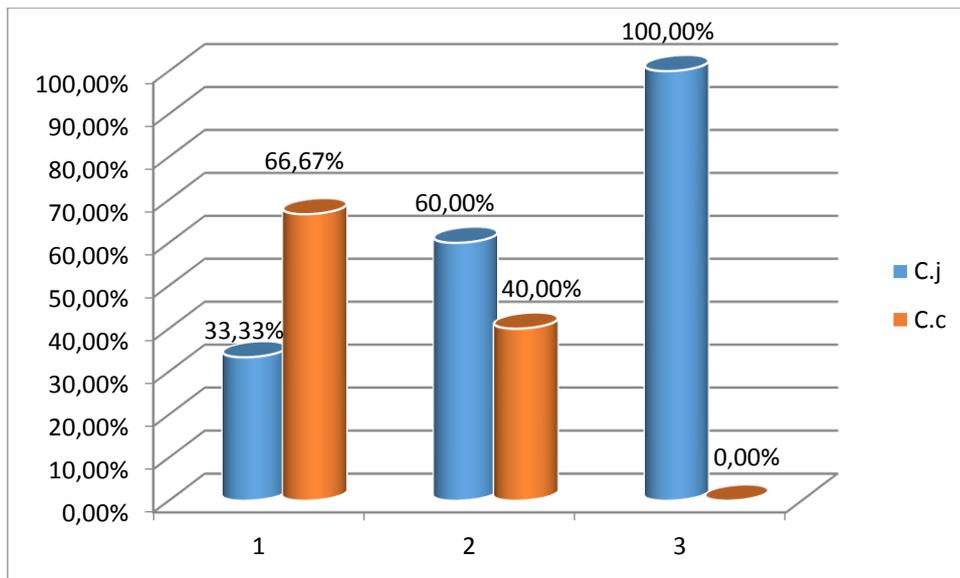


Figure 26: Prévalence des espèces de *Campylobacter* par lot.

I. ISOLEMENT DES CAMPYLOBACTER SPP. :

Lors de notre étude, les *Campylobacter* spp. ont été isolés à partir des échantillons analysés avec un prévalance de 86,67% . Seulement 13,33% des prélèvements étaient représentés par des contaminants. Cette constatation nous pousse à suggérer que la prévalence des souches de *Campylobacter* spp. est très élevée chez le poulet de chair ; principal réservoir des *Campylobacter*.

II. IDENTIFICATION DES CAMPYLOBACTER THERMOTOLERANTS :

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 86,67% également.

Les taux de prévalence enregistrés au cours de notre étude se rapprochent de ceux notés par MESSAD (2015) qui a enregistré un taux de contamination par les *Campylobacter* thermotolérants égal à 80 % suite à des prélèvements de peaux de cou de poulet de chair dans trois régions différentes de l'Algérie (Alger, Boumerdès et Bouira).

D'après la littérature, la contamination de la viande de volaille est surtout superficielle, et comme la peau n'est pas retirée, de nombreux microorganismes sont retrouvés sur ou dans la peau (PEYRAT, 2008).

La forte prévalence enregistrée au cours de notre étude pourrait s'expliquer par le fait que la contamination de la viande de poulet par *Campylobacter* se produit principalement lors de l'abattage, par contamination fécale directe de la carcasse ou par contamination indirecte des carcasses (JOHANNESSEN et al., 2007).

En effet, Selon JAY (2009), la contamination des peaux de cou dans les 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.

PARTIE EXPERIMENTALE

- La contamination secondaire, quant à elle, s'effectue par transfert du contenu digestif à la carcasse par l'intermédiaire d'une source secondaire. Ces contaminations peuvent être occasionnées par le personnel ou bien par le matériel d'abattage tel que les couteaux, le bac à échauder, la plumeuse et l'équipement d'éviscération. Il ne faut pas oublier, également, les contaminations croisées qui peuvent avoir lieu lors de la chaîne d'abattage par des lots précédents de poulets contaminés (JOHANNESSENE et *al.*, 2007). Les lots initialement négatifs pour *Campylobacter* deviennent, alors, fortement positifs lorsqu'ils sont abattus après des lots positifs, et la proportion des carcasses positives augmente, ainsi, pendant l'abattage (RIVOAL et *al.*, 1999).

Vu que nos échantillons ont été prélevés dans la chambre froide pendant l'étape du ressuage, il est nécessaire de savoir que d'après la littérature, le ressuage des carcasses de la volaille dans une chambre froide ventilée à 4°C jouerait un rôle conséquent dans la diminution du taux des *Campylobacter* thermotolérants, car la survie de ces micro-organismes aux températures froides est très influencée par les conditions dans lesquelles se retrouvent les denrées alimentaires contenant ces bactéries (ventilation, présence ou non d'emballage). En effet, l'inactivation par le froid peut être renforcée par la ventilation utilisée lors de la congélation ou de la réfrigération et du stockage des produits bruts non conditionnés. Celle-ci entraîne une dessiccation en surface des produits à laquelle *Campylobacter* est très sensible. Cependant, il faut tenir compte de la nature du milieu (solide ou liquide); étant donné que ces micro-organismes survivent mieux dans les milieux solides à de basses températures (FEDERIGHI, 2005); ce qui expliquerait les fortes prévalences enregistrées.

III. IDENTIFICATION DE L'ESPECE :

Parmi les souches de *Campylobacter* isolées à partir des peaux de cou 69,23% étaient des *Campylobacter jejuni*, et d'après BOUHAMED (2011), *C. jejuni* est la souche la plus prédominante au niveau des carcasses de dinde en Algérie; ce qui confirme que la volaille, notamment le poulet et la dinde, sont les principaux réservoirs de *C.jejuni*. En effet, il est généralement admis que *C.jejuni*, représente la grande majorité des cas de gastro-entérite provoquée par *Campylobacter* chez l'homme (FEDERIGHI, 2005). Pour cela, il faut surveiller les étapes d'abattage et prévenir la contamination croisée des lots négatifs par les lots positifs via l'application des règles d'hygiène.

**CONCLUSION
ET
RECOMMANDATIONS**

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

I. CONCLUSION :

L'objectif de ce travail était d'évaluer la prévalence des *Campylobacter* thermotolérants isolés à partir de prélèvements de peaux de cou de poulets de chair à partir d'un abattoir avicole situé à Alger.

Malgré l'exigence des *Campylobacter* thermotolérants à plusieurs conditions de culture (température de croissance, atmosphère microaérophile et milieux de culture spécifiques) qui les rend difficiles à cultiver à partir des prélèvements, nous avons obtenu des résultats qui montrent que la plupart des sujets qui ont été abattus (86,67%) dans l'établissement d'abattage où nous avons effectué notre étude étaient contaminés par les *Campylobacter* thermotolérant, et ce durant l'étape du ressuage. Ces taux élevés de contamination peuvent être dus à un portage intestinal important, d'une part, et à une contamination croisée le long de la chaîne d'abattage, d'autre part.

Après avoir identifié les souches isolées à partir de nos prélèvements, nous avons constaté que la prévalence des *C.jejuni* (69,23%) était plus élevée que celle des *C. coli* (30,77%). Ces données renforcent celles de la littérature ; vu que la volaille, notamment le poulet de chair, représente le principal réservoir de *C.jejuni* qui est transmis à l'homme *via* la manipulation ou la consommation de viandes contaminées, en particulier celle des volailles.

Bien que les *Campylobacter* soient fragiles dans le milieu extérieur, l'étude de la capacité de survie jusqu'à la fin de la chaîne d'abattage, en plus du pouvoir pathogène de ces bactéries, nous ont aidé à comprendre pourquoi ils sont considérés comme les premiers agents causaux des TIA.

Enfin, le contrôle des *Campylobacter* dans la chaîne alimentaire est maintenant devenu une cible majeure des agences en charge de la sécurité alimentaire dans le monde.

II. RECOMMANDATIONS :

L'union européenne a établi une approche pour la sécurité sanitaire des aliments de la ferme à l'étable pour protéger les consommateurs contre la Campylobactériose (EFSA, 2014). Cette approche englobe les mesures de gestion et d'évaluation des risques associant tous les acteurs clés concernés, à savoir les autorités vétérinaires et les responsables de la santé publique.

Les recommandations visent principalement à réduire de la prévalence des *Campylobacter* à tous les niveaux. En effet, la viande de volaille, principalement le poulet est considérée comme source majeur des Campylobactérioses humaines, le contrôle doit être mis en place à chaque maillon de cette filière :

1. Mesures de contrôle dans les élevages :

Ce sont les mesures mises en œuvres dans les bâtiments d'élevage afin d'empêcher l'accès des *Campylobacter*. Pour cela, il faudrait :

- Se focaliser sur l'hygiène du bâtiment d'élevage (nettoyage et désinfection entre deux lots) ;
- Minimiser la circulation des éleveurs dans les bâtiments (accès limités) ;
- Utiliser les pédiluves.

2. Mesure de contrôle pendant le transport à l'abattoir :

La connaissance des points critiques de la chaîne d'abattage peut permettre une amélioration de la qualité microbiologique des carcasses. En effet, le problème "contamination croisée" se pose avec une acuité particulière dans les salles d'abattage. Pour cela, il faudrait penser à :

- La mise à jeun des animaux 8-12h avant le transport pour réduire la contamination extérieure du plumage par des *Campylobacter* pendant le transport.
- Au nettoyage et désinfection des caisses de transport après chaque utilisation. En effet, des plumes et des fientes sont souvent rencontrées après le nettoyage, les caisses ne sont pas séchées et directement réutilisées.

3. Mesures de contrôle dans les abattoirs :

Plusieurs approches sont envisageables :

- Prévention de la contamination croisée.
- Respect de la propreté maximum pendant l'abattage surtout pendant l'éviscération.
- Respect de l'hygiène des locaux et du matériel quotidiennement dans les abattoirs de volailles.
- Utilisation d'une température d'échaudage élevée (>53°C) ;
- Ressuage à l'air libre (statique ou dynamique) pour diminuer la contamination de la surface des carcasses. Les *Campylobacter* sont très sensibles à la dessiccation.
- Diminution de la cadence d'abattage.
- Décontamination des carcasses (physiques ou chimiques). L'irradiation représente la méthode de choix mais elle est onéreuse et difficilement acceptée par les consommateurs.

4. Mesures de contrôle dans les cuisines :

Ce sont des mesures recommandées pour les cuisines domestiques plus que les cuisines collectives :

- Nettoyage du matériel utilisé dans les cuisines.
- Une cuisson correcte est le meilleur moyen pour la destruction des *Campylobacter* présents dans les viandes.
- Eviter la contamination croisée avec d'autres aliments : décongélation de la carcasse de volaille dans l'étagère du bas du réfrigérateur pour ne pas conduire à un égouttage.
- Mise en place d'une bonne pratique d'hygiène en restauration.

5. Recommandation à l'intention du public et des voyageurs :

Le public ainsi que les voyageurs devraient :

- S'assurer sur la cuisson des aliments.
- Veiller à une bonne hygiène des mains, notamment après un contact avec des animaux d'élevages ou de compagnies.
- Laver avec soin les fruits et les légumes avant de les consommer.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **AFSSA ,2001** : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Appréciation des risques alimentaires liés aux *Campylobacters*. Application au couple poulet/*Campylobacter jejuni*.
2. **AFSSA, 2003** : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Appréciation des risques alimentaires liés aux *Campylobacters* : Application au couple poulet / *Campylobacter jejuni*. 1-96.
3. **AFSSA, 2006** : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments *Campylobacter* spp.
4. **ANSES, 2011** : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire alimentation, environnement, travail. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments. Caractéristiques et sources de *Campylobacter jejuni /coli*.
5. **Baccar MN., Kacem S., Ben Dhiab H., 2006** : système HACCP appliqué à l'abattage des volailles, la 7^{ème} édition du salon international de l'investissement agricole et de la technologie.
6. **Bouhamed R., 2011** : Détection et étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* thermotolérants isolées chez la dinde dans quelques élevages et établissements d'abattage avicoles situés dans la région d'Alger. Thèse de magistère en sciences vétérinaires présentée à l'ENSV d'Alger.
7. **Bull A., 2012** : Natle Méd., 2012, 196, no 8, 1659-1671, séance du 27 novembre 2012.
8. **CA-SFM, 2013** : comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Recommandations 2012; 62 pages.
9. **CODEX ALIMENTARIUS, 2005** : code d'usage en matière d'hygiène pour la viande (CAC/RCP 58-2005). Deuxième édition, Rome, 2009. Pp 3, 5, 14-18, 33.
10. **Corry JEL., Atabay HI., 2001**: Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. *Journal of Applied Microbiology* 90: 96-114.
11. **DGAL, 2009** : la note de service de la Direction Générale de l'Alimentation.
12. **Doyle LP., 1994** : A *vibrio* associated with swine dysentery. *Am JV et Res* ; 5 :3-5.
13. **1-Dromigny E., 2007**: Monographie de microbiologie : *Campylobacter*. Paris Tec & Doc : 25, 27, 35, 97, 149-151, 158-161, 166, 176, 198-199, 230-232.
14. **Escherich T., 1886** : Articles adding to the Knowledge of intestinal bacteria,III.on the existence of *vibrios* in the intestine and feces of babies.*Munch.Med.Wochenschr* ; 33 :815-817.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

15. **Euzeby P., 1992** : *Campylobacter*. Les toxi-infections alimentaires dues aux bactéries du genre *Campylobacter*. Le Point Vétérinaire 24(147): 423-433.
16. **Federighi M., Magras C., Pilet MF., 1998**: *Campylobacter*. In: Sutra L., Federighi M., Jouve JL. 'Manuel de bactériologie alimentaire'. Polytechnica : 185-203.
17. **Federighi M., Magras C., Pilet MF., 2005**: *Campylobacter*. In : Federighi M., 'bactériologie alimentaire : compendium d'hygiène des aliments'. Economica 2ième edition : 145-172.
18. **Friedman, 2004** : Laboratoire National des Références *Campylobacter*. Unité Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins. Anses-Laboratoire de Ploufragan/Plouzané.
19. **Garenaux A., Ritz-Bricaud M., Federighi M., 2005** : *Campylobacter* and food safety : analysis, assessment and risk management.
20. **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.
21. **ISO 10272, 1995** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Campylobacter* thermotolérants. 1-15.
22. **ISO 10272, 2006** : Microbiologie des aliments-Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Campylobacter* spp. 1-18.
23. **Jay MA., 2009** : Elaboration d'un model expérimental d'étude de la contamination d'origine digestive de surface des viandes. Application au danger *Campylobacter*. Thèse de diplôme d'état de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes ; 144 pages.
24. **Jo, 2010** : Journaux officiels. Petites structures d'abattage de volailles maigres, de lagomorphes et de ragondins. Pp 41.
www.itavi.asso.fr/elevage/sanitaire/GBPH-chap4-pdf).
25. **Johannessen GS., Johnsen G., et al., 2007** : Enumeration of thermotolerant *Campylobacter* spp. from poultry carcasses at the end of the slaughter-line. *Lett Appl Microbiol* 44(1) : 92-7.
26. **Jones FS., Orcutt M., Little RB., 1931** : *Vibrios (Vibrio jejuni, n.sp.)* associated with intestinal disorders of cows and calves. *J Escp Med* ; 53,853-864.
27. **Joshua GW., Guthrie-Irons C., Karlyshev AV., Wren BW., 2006** : Monographie de microbiologie : *Campylobacter*. Biofilm formation in *Campylobacter jejuni*. *Microbiology* 152 (Pt 2) : 387-96.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

28. **Jouve JL., 1996** : La qualité microbiologique des aliments, maîtrise et critère, 2^{ème} édition. Pp 342-352..
29. **Kelly DJ., 2001** : Monographie de microbiologie : *Campylobacter*. The physiology and metabolism of *Campylobacter jejuni* and *Helicobacter pylori*. Symp Ser Soc Appl Microbiol (30) :16S-24S.
30. **Kusumaninrum HD., Riboldi G., Hazeleger WC., Beumer RR., 2003** : Survival of foodborne pathogènes on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. *Int. J. Food Microbiol*, 85, 227-236.
31. **Lehours P., 2014** : Epidémiologie de la sensibilité aux antibiotiques d'*Helicobacter* et *Campylobacter*.15^{ème} journée nationale d'infectiologie. Bordeaux 2014.
32. **Lehuraux V., 1997** : Nettoyage et désinfection en abattoir de volailles. Ecole nationale vétérinaire de Lyon. Université Claude Bernard-Lyon I: 85 pages.
33. **Leminor L., Véron M., 1989** : Bactériologie médicale.Chapitre 32 : *Campylobacter* 2^{ème} édition : Médecine-Science Flammarion Paris : 694-718. In Messad S., 2015.
34. **McFadyean J., Stockman S., 1913** : Report of the Departmental Committee appointed by the board of Agriculture and Fisheries to inquire into epizootic abortion, III.Abortion in sheep. HMSO, London, UK.
35. **Megraud., 2007** : *Campylobacter*.In : Freney J., Leclerq R., Renaud F., Riegel P., 'Précis de Bactériologie Clinique'.ESKA.2^{ème} édition : 1349-1357.
36. **Mentor AL., 2012** : Développement d'un essai PCR pour l'identification des espèces de *Campylobacter*. Mémoire présenté à la faculté des études supérieures et postdoctorales de l'Université Laval dans le cadre du programme de maîtrise en Microbiologie-immunologie.Faculté de médecine. Université Laval (QUEBEC).87 pages.
37. **Messad S., 2016** : *Campylobacter* thermotolérants dans les élevages et abattoirs de poulet de chair :caractérisation phénotypique et antibiorésistance des souches isolées. Mécanisme pathogénique de *Campylobacter* dans le tube digestif humain. Thèse de doctorat en sciences vétérinaires présentée à l'ENSV d'Alger.
<http://www.nsa.univ-cezanne.Fe/UE22-files/Bolla2.pdf>.
38. **OIE, 2005** : Office International des Epizooties. Manuel Terrestre de l'OIE : 1177-1187.
39. **OMS, 2003**: Organisation mondiale de la santé .GLOBAL SALM-SURV : Isolement, identification et détermination de la sensibilité aux antibiotiques des *Campylobacter*.1-30.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 40. Peyrat MB., 2008 :** Etude de l'influence du nettoyage et de la désinfection et des procédés d'abattage en abattoir de volailles sur le niveau de résistance aux antibiotiques des *Campylobacter*. Thèse de doctorat. Université de Rennes 1.1-237.
- 41. Regguem S., 2012 :** Contribution à l'étude des motifs de saisie des viandes blanches (poulet de chair) dans deux établissements d'abattage de région d'ALGER. Ecole National Vétérinaire Thèse de magistère. Pp 4-13-36 -16.
- 42. Rivoal K., Denis M., et al., 1999 :** Molecular characterization of the diversity of *Campylobacter* spp. isolates collected from a poultry slaughterhouse : analysis of cross-contamination. Lett Appl.Microbiol 29 (6) : 370-4.
- 43. Seye k., 2009 :** Etude de la contamination croisée des carcasses de poulets par les manipulateurs : cuisines de la zone urbaine et périurbaine de Dakar. Mémoire de diplôme de MASTER II " Qualité des aliments de l'homme" présenté à l'EISMV de Dakar.
- 44. Tall F., 2003 :** Qualité bactériologique de la viande de poulet de chair-au Sénégal : incidences conditions d'élevage et d'abattage des volailles. Ecole Inter-Etats Des Sciences et Médecine Vétérinaire (EISMV) pages : 12-14-15-18-19.
www-beep.ird.fr/collect/eismv/index/assoc/MEMO_03.../MEMO_03-11-pdf

ANNEXES

ANNEXE 01 : COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE

• **Composition du milieu de base pour le bouillon Bolton (g/L d'eau)**

Peptone de viande.....	10,0
Hydrolysate de lactalbumine.....	5,0
Extrait de levure.....	5,0
Chlorure de sodium.....	5,0
Acide a-cétoglutarique.....	1,0
Pyruvate de sodium.....	0,5
Métabisulfite de sodium.....	0,5
Carbonate de sodium.....	0,6
Hémine.....	0,0

• **Composition du milieu de base pour la gélose mCCDA (g/L d'eau)**

Bouillon nutritif n°2.....	25,0
Charbon bactériologique.....	4,0
Hydrolysate de caséine	3,0
Désoxycholate de sodium	1,0
Sulfate ferreux.....	0,25
Pyruvate de sodium.....	0,25
Agar.....	12,0

• **Composition de la gélose Columbia (g/L d'eau)**

Peptone.....	23
Amidon soluble.....	1
Chlorure de sodium.....	5
Agar-agar.....	8 à 18

• **Composition de la gélose Mueller Hinton (g/L d'eau)**

Infusion de viande.....	6
Hydrolysate de caséine.....	17,5
Amidon soluble.....	1,5
Agar-agar.....	8 à 18

ANNEXES

- **Composition de la gélose au citrate de fer et aux trois sucres (g/L d'eau)**

Extrait de viande.....	3
Extrait de levure.....	3
Peptone.....	20
Chlorure de sodium.....	5
Lactose.....	10
Saccharose.....	10
Glucose.....	1
Citrate de fer (III).....	0,3
Thiosulfate de sodium.....	0,3
Rouge de phénol.....	0,024
Agar-agar.....	8 à 18

- **Composition du bouillon cœur-cerveille (B.H.I.B) (g/L d'eau)**

Infusion de cervelle de veau.....	200
Infusion de cervelle de bœuf.....	250
Peptone de gélatine.....	10
Chlorure de sodium.....	5
Phosphate disodique.....	2,5
Glucose.....	2

- **Composition des réactifs :**

- **Composition du supplément de Bolton :**

Céfopérazone.....	10 mg
Vancomycine.....	10 mg
Triméthoprime.....	10 mg
Cycloheximide.....	25 mg

- **Composition du supplément mCCDA :**

Céfopérazone.....	16 mg
Amphotéricine.....	5 mg

ANNEXE 02 : PREPARATION DES MILIEUX DE CULTURE

Tous les milieux de base complets déshydratés sont dissous dans de l'eau distillée conformément à la notice du fabricant, puis stérilisés à l'autoclave réglé à 121°C pendant 15 minutes.

- **Bouillon de Bolton :**

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

- **Gélose Columbia au sang :**

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

- **Gélose mCCDA :**

- Le supplément mCCDA est joint à la gélose de base mCCDA ;
- Le milieu de culture gélosé est coulé dans des boîtes de Petri stériles qu'on laisse refroidir et se solidifier sur paillasse avant de les sécher dans une étuve à 37°C.

- **Gélose Mueller Hinton au sang :**

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

Résumé :

Le but de cette présente étude était de rechercher les espèces de *Campylobacter* thermotolérants chez le poulet de chair. Pour ce faire, 45 prélèvements de peaux de cou répartis en 15 échantillons ont été récoltés, pendant l'étape du ressuage, dans un abattoir avicole situé dans la région d'Alger. Ces prélèvements ont fait l'objet d'une analyse bactériologique conformément aux instructions de la norme ISO 10272-1 : 2006. Nos résultats ont révélé que 86,67 % (13/15) des échantillons analysés étaient positifs pour *Campylobacter*. La confirmation de ces souches à l'aide de tests biochimiques classiques et de tests d'immuno-agglutination a donné les mêmes résultats. En effet, 100% des souches testées étaient des *Campylobacter* thermotolérants. Enfin, l'identification de l'espèce a indiqué que la plupart des souches analysées étaient des *C. jejuni* (69,23%) et que (30,77%) des souches étaient des *C. coli*. Nos résultats ne font que confirmer les données de la littérature qui indiquent que le poulet de chair représente le principal réservoir de *C. jejuni*.

Mots clés : abattoir, peau de cou, carcasse de volaille, *Campylobacter*, *C. jejuni*, *C. coli*.

Abstract :

The aim of this study was to find thermotolerant *Campylobacter* species in broiler chickens. For this, 45 specimens of neck skins distributed in 15 samples were collected during our stage in a poultry slaughterhouse located in the region of Algiers. These samples were subjected to bacteriological analysis in accordance with ISO 10272-1: 2006. Our results revealed that 86.67% (13/15) of the samples analyzed were positive for *Campylobacter*. Confirmation of these strains using standard biochemical tests and immuno-agglutination tests yielded the same results. Indeed, 100% of the strains tested were *Campylobacter* thermotolerants. Finally, the identification of the species indicated that most of the strains analyzed were *C. jejuni* (69.23%) and that 30.77% of the strains were *C. coli*. Our results confirm the literature datas which show that broiler chickens represent the main reservoir of *C. jejuni*.

Key words: abattoir, neck skin, poultry carcass, *Campylobacter*, *C. jejuni*, *C. coli*.

ملخص

ان الهدف من هذه الدراسة هو البحث عن انواع السلالات عند الكوميبيلوباكتر المتحمل للحرارة عند الدجاج اللاحم للقيام بذلك، تم جمع 45 قطعة من جلد الرقبة مقسمة إلى 15 عينة جمعت خلال مرحلة التجفيف، في مذبحة للدواجن في منطقة الجزائر. وعرضت هذه العينات للتحليل البكتريولوجية طبقا للمعيار : ISO 10272-1: 2006 أظهرت النتائج أن 86.67% أي (13/15) من العينات التي تم فحصها كانت ايجابية للكوميبيلوباكتر المتحمل للحرارة).

اعطت الاختبارات البيو كيميائية التقليدية والاختبارات المناعية للتراس المستخدمة للتأكد من هذه السلالات نفس النتائج. في الواقع، كانت 100% من السلالات التي خضعت للاختبار هي الكوميبيلوباكتر المتحمل للحرارة.

وأخيرا، أشار تحديد الأنواع إلى ان السلالات التي تم تحليلها كانت (*C. jejuni* 69.23%) وان (*C. coli* 30.77%) من السلالات.

نتائجنا اكدت المعطيات النظرية التي تشير إلى أن الدجاج اللاحم هو المخزن الرئيسي لـ *C. jejuni*.

الكلمات المفتاحية : مذبحة , كوميبيلوباكتر , جلد الرقبة , هيكل الدجاج, *C. coli*, *C. jejuni*.