

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université **HASSIBA BEN BOUALI –CHLEF-**

Faculté des sciences agronomiques et des sciences biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du *Diplôme de Magister* en Sciences Alimentaires

Présenté par : **Ahmed BELHADRI**

Thème

Etude de la prévalence d' *Helicobacter pylori* et de *Campylobacter jejuni* dans les viandes de volailles et les risques d'infection.

Soutenu le, 30 / 10 / 2008.

Devant le jury d'examen:

- Président* : M^r **BENSAID A.** Maître de conférences, Université de Chlef.
Promoteur : M^r **DILMI-BOURAS A.** Professeur, Université de Chlef.
Examineur : M^{me} **ALLEM R.** Maître de conférences, Université de Chlef.
Examineur : M^r **BOUDEROUA K** Maître de conférences, Université de Mostaganem.
Examineur : M^{elle} **KOÏCHE M.** Chargée de cours, Université de Chlef.

Année Universitaire : 2007 - 2008.

REMERCIEMENTS

Avant d'exposer les résultats de ce travail, qui a été réalisé au laboratoire des bioressources naturelles de la faculté des sciences agronomiques et sciences biologiques, Université Hassiba Ben Bouali-Chlef, et au laboratoire des analyses médicales de la clinique médicochirurgicale EL-IHSEN – Chlef, je tiens à remercier avant tous ALLAH le tout puissant qui ma donné la forcé, la santé et la volonté à fin de réaliser ce travail.

Puis je tiens à adresser, ici mon respect, mes vifs remerciements et ma gratitude à toutes les personnes qui m'ont apporté leur soutien, en particulier :

- Monsieur DILMI-BOURAS A, professeur et doyen de la faculté des sciences agronomiques et sciences biologiques – université de Chlef, pour son aide, ses conseils, ainsi que la confiance qu'il ma témoigné tout au long de la réalisation de ce travail.
- Monsieur BENSAID A. Maître de conférences à l'université de Chlef, pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury et pour avoir bien voulu lire cette thèse et faire part de ses remarques.
- Monsieur BOUDEROUA K. Maître de conférences à l'université de Mostaganem, que je tiens à remercier d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail et faire-part de ses remarques.
- Madame ALLEM R. Maître de conférences à l'université de Chlef, que je tiens à remercier pour sa disponibilité et d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.
- Mademoiselle KOÏCHE M. Chargée de cours à l'université de Chlef, que je tiens aussi à remercier pour ses conseils de valeurs et d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Tous mes remerciement vont à l'ensemble des professeurs et personnel de la faculté des sciences agronomiques et sciences biologiques, Université Hassiba Ben Bouali-Chlef.

Mes remerciements vont également à tout le personnel du laboratoire d'analyses médicales de la clinique médicochirurgicale EL-IHSEN – Chlef.

Enfin, je remercie ma famille pour leur patience, aide et soutien moral tout au long de la réalisation de ce travail. Et je n'oublierai pas de dire merci à tous ce qui ont partagé avec moi les moments les plus difficiles dans la réalisation de ce travail et tous ce qui mon souhaité bon courage.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail qui n'aura pas été réalisé sans l'aide de Dieu le Tout Puissant à :

- *la mémoire de ma très chère mère, que dieu, le tout puissant et miséricordieux, l'accueille dans son vaste paradis. « a dieu nous appartenons et à lui nous retournerons ».*
- *celui qui ma aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui, mon très cher père, que dieu le garde et le protège.*
- *Mes frères, sœurs, neveux et mes nièces.*
- *Tous mes oncles et mes tantes paternel et maternel.*
- *Toute la famille BELHADRI.*
- *Mes amis et mes collègues à l'université Hassiba Ben Bouali – Chlef.*
- *Mes professeurs dans tous les cycles qui m'ont éclairé la voie de savoir.*
- *Tous qui travail pour la science et la paix dans le monde.*

Ahmed
Ahmed

Sommaire

Liste des Abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

<u>Chapitre 1 : <i>Helicobacter pylori</i></u>	03
I - Taxonomie des <i>Helicobacters</i>	03
1- Historique.....	03
2 - Classification des <i>Helicobacters</i>	04
2.1- <i>Helicobacters</i> gastriques	04
2.2- <i>Helicobacters</i> non gastriques	05
3 - Caractères généraux	06
3.1- Ultrastructure des <i>Helicobacters</i>	06
3.2 - Aspect des <i>Helicobacters</i> en culture	06
3.3 - Exigences de croissance et activités enzymatiques	07
3.4 - Sensibilité aux antibiotiques	08
II – Epidémiologie	08
1- Prévalence de l'infection.	08
2 - Voies de transmissions	09
2.1 - Transmission interhumaine d' <i>H. pylori</i>	09
2.2 - Infection à <i>H. pylori</i> : zoonose potentielle	10
III – Pathogénicité des <i>Helicobacters</i>	10
1 - Preuves épidémiologiques du pouvoir pathogène d' <i>H. pylori</i> chez l'homme.....	10
1.1 - Lien entre <i>H. pylori</i> et la maladie ulcéreuse	10
1.2- Liens entre l'infection à <i>H. pylori</i> et le cancer gastrique	11
1.3 - Maladies associées à <i>H. pylori</i> chez l'homme	11
1.4 - Autre pathologie associée à <i>H. pylori</i>	12
2 - Facteurs de pathogénicité d' <i>H. pylori</i>	12
IV – Aspects cliniques	14
1 - Méthodes de diagnostic utilisées pour l'infection à <i>H. pylori</i> chez l'homme.....	14
1.1 - Méthodes invasives	14
1.2 - Méthodes non invasives	14
2 - Traitement antimicrobien	15
3 - Prophylaxie	15
<u>Chapitre 2 : <i>Campylobacter jejuni</i></u>	16
I – Taxonomie	16
1 - Historique	16

2 – classification	16
3 - Caractères généraux	17
II - Epidémiologie	19
1 – Prévalence et incidence de l'infection	19
2 - Voies de transmission	20
3 - Viabilité (développement et survie de <i>Campylobacter</i>) dans l'eau et les aliments	21
3.1- Survie des <i>campylobacters</i> dans l'eau	21
3.2- Survie des <i>campylobacters</i> dans les aliments	22
III – Pathogénicité	22
1 - Description des maladies causées	22
1.1- Entérite	22
1.2- Infections systémiques	23
1.3- Syndromes post-infectieux	23
2 - Facteurs de pathogénicité de <i>Campylobacter jejuni</i>	24
2.1- L'adhérence	24
2.2- Invasion	24
2.3- Production de toxine	24
2.4- capsule	24
3 - Traitements antibiotiques	25
<u>Chapitre 3 : Viande de Volailles</u>	26
I - Situation économique	26
1 – Production	26
2 – Consommation	26
II – Élevage, abattage et commercialisation	26
1 – Elevage	26
2 – Abattage	27
3 – Présentation	27
4 – Commercialisation	28
5- Autres volailles	28
5.1- La dinde	28
5.2 - Le canard	29
5.3 - La pintade	29
III – Qualité	29
1 - Qualité nutritive et hygiénique	29
2 - Qualité gastronomique	31
3 - Qualité sanitaire	31
IV – Conseils pour le choix, la conservation et l'utilisation	32
V - Prévalence des <i>Campylobacters</i> et des <i>Helicobacters</i> chez les volailles	32

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 1 : matériels et méthodes	34
1/ Matériels	34
1.1 - Nature et origine des souches	34
1.2 – la viande de volaille	34
1-3 - Réactifs chimiques	34
1-4 - Milieux de culture	39
1-5 – Equipements de laboratoire	40
2/ Méthodes	41
2.1– recherche d' <i>Helicobacter pylori</i> et de <i>campylobacter jejuni</i> dans les échantillons prélevés	41
2.2.1- échantillonnage	41
2.2.2 - Recherche par la méthode classique de référence	41
A - Techniques d'isolement	41
B – Techniques d'identification	45
2.2.3 – Recherche des <i>Campylobacter</i> par la méthode VIDAS <i>CAMPYLOBACTER</i> (CAM) ...	53
2.2 - Étude de la viabilité du <i>Campylobacter jejuni</i> et d' <i>Helicobacter pylori</i> dans les viandes des volailles	60
2.3 - Étude des risques d'infection.....	63
Chapitre 2 : Résultats et discussion	65
1 – recherche de <i>Campylobacter jejuni</i> et d'<i>Helicobacter pylori</i> dans les viandes des volailles	65
1.1 - <i>Campylobacter jejuni</i>	65
a- recherche par la méthode classique	65
b- recherche par la méthode VIDAS	70
1.2- <i>Helicobacter pylori</i>	74
2 - Étude de la viabilité du <i>Campylobacter jejuni</i> et d'<i>Helicobacter pylori</i> dans les viandes de volailles	76
2.1- viabilité à température ambiante (20 -25 °C)	76
2.2 - Viabilité à température de réfrigération (4 °C ± 2 °C)	77
2.3 - Viabilité à Température de congélation (-18 °C ± 1 °C)	78
3 - Étude des risques d'infection	80
3.1 - risques d'infection par consommation de la viande cuite	81
3.2 - risques d'infection par des plats qui se consomment frais	83
Conclusion	85
Références bibliographiques	86
Annexes	
Résumé	

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : arbre phylogénique des <i>Helicobacters</i>	05
Figure 2 : Morphologie d' <i>H. pylori</i> à l'examen microscopique (objectif 100 à immersion) ..	06
Figure 3 : une culture d' <i>Helicobacter pylori</i> après trois jours d'incubation.....	07
Figure 4 : Histoire naturelle de l'infection à <i>H. pylori</i>	11
Figure 5 : arbre phylogénique des <i>campylobacters</i>	17
Figure 6 : Photo de <i>C. jejuni</i> par microscopie électronique (x 10000).....	17
Figure 7 : Incidence des campylobactérioses humaines dans sept pays industrialisés de 1980 à 1998.....	19
Figure 8 : Voies de transmission de <i>Campylobacter jejuni</i>	20.
Figure 9 : Photo a; cartouche VIDAS® <i>Campylobacter</i> (CAM) vue de face montre les 10 puits, Photo b; cartouche et cône VIDAS® <i>Campylobacter</i> (CAM) vue d'ensemble.....	36
Figure 10 : Photo a; sachets générateurs d'atmosphère microaérophile, Photo b; Un coffret de sachets générateurs d'atmosphère microaérophile.....	37
Figure 11 : Photo d'une Galerie API 20 E.....	38
Figure 12 : Photo de quelques réactifs individuels utilisés.....	38
Figure 13 : Photo d'une jarre d'incubation.....	40
Figure 14 : Photos de l'instrument mini VIDAS blue face.....	40
Figure 15 : Diagramme du protocole d'isolement direct de <i>Campylobacter</i> et d' <i>Helicobacter</i> sur gélose.....	42

Figure 16: incubation réalisée à 37 °C, en jarre avec sachet générateur d'atmosphère microaérophile.....	43
Figure 17: Diagramme du protocole d'isolement après enrichissement de <i>Campylobacter</i> et d' <i>Helicobacter</i> sur bouillon Preston.....	44
Figure 18: a; photo d'une jarre avec boîte Pétri après incubation, b; schéma de fermeture et d'ouverture des jarre.....	45
Figure 19 : Représentation schématique des colonies de <i>C. jejuni</i> sur gélose au sang.....	46
Figure 20 : Représentation schématique de l'aspect de <i>C. jejuni</i> et d' <i>H. pylori</i> en coloration de Gram.....	47
Figure 21 : Représentation schématique de la détermination de la sensibilité de <i>Campylobacter</i> à deux antibiotiques.....	51
Figure 22 : Détection de <i>Campylobacter</i> VIDAS CAM. Protocole d'enrichissement recommandé.....	55
Figure 23 : la carte MLE (fiche de spécifications du lot) montrant les 16 codes barres.....	56
Figure 24 : exemple du résultat imprimé par le module mini VIDAS à la fin de chaque test..	58
Figure 25: Diagramme du Protocole de dénombrement de <i>Campylobacter</i> et d' <i>Helicobacter</i> sur gélose.....	62
Figure 26: photos 1, 2, 3 ; aspect macroscopique de <i>campylobacter</i> après 48 heures d'incubation sur gélose au sang à 37 °C.....	66
Figure 27: pohtos 1 et 2 ; observation des cellules de <i>campylobacter</i> à l'état frais sous microscope optique. (Grossissement x 100 à immersion).....	67
Figure 28: pohtos 1, 2 et 3 ; observation des cellules de <i>campylobacter</i> après coloration de Gram sous microscope optique. (Grossissement x 100 à immersion).....	68
Figure 29: viabilité du <i>Campylobacter jejuni</i> et d' <i>Helicobacter pylori</i> dans la viande de poulet à température ambiante (20 à 25 °C).....	77

Figure 30: viabilité du *Campylobacter jejuni* et d'*Helicobacter pylori* dans la viande de poulet à la température de réfrigération ($4\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$).....78

Figure 31: viabilité du *Campylobacter jejuni* et d'*Helicobacter pylori* dans la viandes de poulet à température de congélation: ($-18\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$).....79

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Composition du produit frais des volailles (en pourcentage).....	30
Tableau 2 : Caractères principaux des espèces de <i>Campylobacter</i>	52
Tableau 3: résultats des tests d'identification des germes rencontrés dans les échantillons examinés.....	69
Tableau 4: fréquences des espèces obtenus par rapport au nombre total des échantillons examinés.....	70
Tableau 5: résultats de la recherche des <i>campylobacters</i> par la méthode VIDAS dans les échantillons de viande de poulet.....	71
Tableau 6: données bibliographiques concernant la prévalence des <i>campylobacters</i> dans les denrées alimentaires aux stades de la transformation ou de la distribution.....	73
Tableau 7: résultats de la recherche d' <i>H. pylori</i> et de <i>C. jejuni</i> dans la viande de poulet artificiellement contaminée cuite	81
Tableau 8: données bibliographiques concernant les valeurs D (temps nécessaire pour détruire 90 % de la population de <i>C. jejuni</i> à une température donnée) pour différents milieux.....	82
Tableau 9: résultats de la recherche d' <i>H. pylori</i> et de <i>C. jejuni</i> dans des plats qui se consomment frais après contact avec une viande de poulet artificiellement contaminée	83

LISTE DES TABLEAUX EN ANNEXE :

Tableau 1: évolution du nombre des cellules cultivables de *C. jejuni* et d'*H. pylori* dans la viande de poulet à la température ambiante (20 à 25 °C).

Tableau 2: évolution du nombre des cellules cultivables de *C. jejuni* et d'*H. pylori* dans la viande de poulet à température de réfrigération (4 °C ± 2 °C).

Tableau 3: évolution du nombre des cellules cultivables de *C. jejuni* et d'*H. pylori* dans la viande de poulet à température de congélation (-18 °C ± 1 °C).

Liste des abréviations

°C	: Degré Celsius
CAM	: <i>Campylobacter</i>
<i>C. jejuni</i>	: <i>Campylobacter jejuni</i>
DVC	: Direct Viable Count.
E	: Echantillon
e.c	: équivalent carcasse
ELFA	: Enzyme Linked Fluorescent Assay.
g	: gramme
h	: heure
<i>H. pylori</i>	: <i>Helicobacter pylori</i>
HLOs	: <i>Helicobacter-like organisms</i>
Kg	: Kilogramme.
mm	: millimètre.
ml	: millilitre.
MLE	: Master Lot Entred
NIT	: Nitrate
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé.
PCR	: Polymerase Chain Reaction
pH	: potentiel d'Hydrogène
Q.S.P	: quantité d'eau suffisante pour préparation
RFV	: Relative Fluorescence Value
TDA	: tryptophane désaminase
TIAC	: Toxi-Infection Alimentaire Collective
TSI	: Triple Sugar Iron
UFC	: Unité Formant Colonie.
UV	: Ultra-Violet
VIDAS	: Vitek Immuno Diagnostic Assay System
VNC	: viables non cultivables.
VP	: Voges-proskauer.
µm	: Micromètre.
%	: Pourcent.

RESUME

L'objectif de notre travail est d'initier une réflexion sur la prévalence d'*Helicobacter pylori* et de *Campylobacter jejuni* dans les viandes de volailles. Et d'étudier les risques d'infection liés à la présence de ces deux bactéries dans ce type de viandes. Pour cela nous avons utilisé la méthode classique pour la recherche d'*Helicobacter pylori*, et deux méthodes, la méthode classique (de référence) et la méthode immuno-enzymatique VIDAS, pour la recherche de *Campylobacter jejuni*.

Les résultats montrent l'absence d'*Helicobacter pylori* dans ce type de viandes. Alors qu'il y a une prévalence élevée de *campylobacter spp.* qui atteint 65 %, distribué comme suit : 45.71 % pour *C. jejuni*, 5.71 % pour *C. coli*, 2.85 % pour *C. lari* et 11.42 % pour *C. fetus*.

Les résultats de la survie des deux espèces dans la viande de poulet aux différentes températures de stockage montrent que les températures de réfrigération sont plus favorables à la survie des populations bactériennes tandis que les températures de congélation et les températures ambiantes, arrêtent et détruisent rapidement une partie importante des population bactérienne. Les résultats montrent aussi que l' *H. pylori* est plus sensible quelque soit la température du stockage.

Pour les risques d'infection, les résultats montrent que ces risques sont liés surtout à l'ingestion d'aliments contaminés insuffisamment cuits, principalement la volaille, ou d'aliment (légumes) contaminés indirectement tel que le contact avec de la viande crue.

Mots clés : *H. pylori*, *C. jejuni*, viandes de volailles, prévalence, risques d'infection.

ABSTRACT

The objective of our work is to initiate a reflection on the prevalence of *Helicobacter pylori* and *Campylobacter jejuni* in the poultry meat. And to study the infection risk according to the presence of these bacteria's in this type of meat. For that we have used the classical method to search *Helicobacter pylori*, and tow methods, the classical and the VIDAS method, to search *Campylobacter jejuni*.

The results show the absence of *Helicobacter pylori* in this type of meat. Whereas there is elevate prevalence of *campylobacter spp.* which achieve 65 %, distributed like following: 45.71 % for *C. jejuni*, 5.71 % for *C. coli*, 2.85 % for *C. lari* and 11.42 % for *C. fetus*.

The survival results of these bacteria's in the poultry meat at different storing temperature show that refrigerating temperatures are more favourable for the survival of bacterial populations, whereas the freezing and the environment temperatures arrest and destroy an important part of these populations.

For the infection risks, the results show that these risks are band to the consumption of badly cooked infected foods, especially the poultry, or the consumption of indirectly contaminated foods (vegetables) such as the contact with the raw meat.

Key words: *H. pylori*, *C. jejuni*, poultry meat, prevalence, infection risk.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Il y a déjà plus de 100 ans que des micro-organismes spiralés ont été observés et leur implication dans les gastro-entérites et dans les gastrites a été reconnue depuis les années 1970. Certains de ces micro-organismes sont intestinaux représentés par les *campylobacters* et principalement par *Campylobacter jejuni*, d'autres sont gastriques représentés par les *Helicobacters* et principalement par *Helicobacter pylori*.

Aujourd'hui, les *campylobacters* sont considérés comme la principale cause bactérienne de gastro-entérites dans le monde, dans les pays développés comme dans les pays en développement. Un regain d'intérêt est apparu ces dernières années pour ces infections pour les raisons suivantes :

- l'incidence des infections entériques à *Campylobacter* augmente de façon importante dans les pays développés. Cette augmentation ne peut être rapportée à une amélioration ou à un élargissement du système de surveillance, car ces pays sont réputés pour avoir un système de surveillance stable depuis de nombreuses années. D'autre part, les méthodes de recherche n'ont pas non plus varié ces dernières années. L'incidence des infections sévères à *Campylobacter* (septicémies et localisations secondaires) semble également non négligeable maintenant que les méthodes de détection dans les hémocultures se sont améliorées.

- il est maintenant établi que le syndrome de **Guillain Barré**, maladie neurologique grave, survient le plus souvent au décours d'une infection entérique à *Campylobacter*. Le mécanisme pathogénique a été bien étudié et est dû à un mimétisme moléculaire entre certains antigènes de la paroi bactérienne et des composants de la gaine de myéline des nerfs.

- les *campylobacters* ont vu leur résistance aux fluoroquinolones augmenter de manière importante cette dernière décennie sans que l'on puisse incriminer l'utilisation plutôt en médecine animale ou plutôt en médecine humaine de ces antibiotiques. Cette évolution semble toutefois stable depuis 1999.

La conséquence de ces observations est un regain d'intérêt des pouvoirs publics pour ces infections. Un groupe de travail de la FAO-OMS a été créé pour réaliser une analyse des risques liés à *Campylobacter* spp. dans la volaille. Au niveau européen, des systèmes de surveillance coordonnés se mettent en place dans la plupart des pays. En France, par exemple, le Centre National de Référence (CNR), situé à l'hôpital Pellegrin (Bordeaux), ne surveillait ces infections depuis 1986 qu'au travers d'un réseau de laboratoires hospitaliers volontaires. En 2002, la surveillance a été élargie aux laboratoires privés d'analyse médicale et une étude cas-témoin des

facteurs de risque de l'infection, diligentée par l'Institut de Veille Sanitaire, a été initiée en septembre 2002. Par ailleurs, une réflexion est en cours concernant l'établissement de critères microbiologiques au niveau européen et l'actualisation des critères pour les denrées animales au niveau français.

Les *campylobacters* sont des bactéries largement distribuées dans le monde animal, notamment chez les oiseaux. Une voie importante de contamination de l'homme est l'alimentation (Friedman et al., 2000). La présence habituelle de *campylobacters* sur les carcasses de volailles a fait suspecter cette voie de contamination. Mais, en Algérie aucune étude n'a été réalisée dans ce sens pour mettre en évidence les risques alimentaires liés à ce type de bactérie.

Pour l'*Helicobacter pylori*, depuis sa découverte en 1982 par Marshall et Waren dans l'antre gastrique de l'être humain, de nombreux travaux ont été consacrés à cette bactérie aussi bien sur le plan diagnostique que thérapeutique. Son rôle étiopathogénique est actuellement reconnu sur l'estomac en particulier les gastrites, la maladie ulcéreuse, les lymphomes et le cancer gastrique. Le traitement de l'infection est actuellement bien codifié, basé sur la trithérapie d'antibiotiques (amoxicilline, imidazolés, clarithromycine) et un antisécrétoire. Il n'existe pas encore de vaccination ni de recommandation pour l'éradication systématique de l'*Helicobacter pylori*.

L'infection à l'*Helicobacter pylori* est extrêmement commune à travers le monde. Sa transmission est vraisemblablement inter-humaine, mais la source naturelle et le mode de transmission ne sont pas encore élucidés et la prévention repose sur l'hygiène et l'amélioration des conditions de vie. En outre, des observations récentes ont mis en évidence le caractère ubiquitaire de certaines *Helicobactéries* en signalant leur présence dans l'estomac de l'homme, du chien et du chat. La présence de *Helicobacter pylori* a également été décrite dans l'estomac d'une colonie de chats domestiques.

Donc, le manque de données concernant l'habitat et la source naturelle de contamination par *Helicobacter pylori* dans le monde, ainsi que le manque de données concernant la prévalence des *campylobacters* dans les aliments en Algérie, ont été à l'origine de la proposition de notre sujet.

Alors, l'objectif général, de notre travail, étant :

- d'initier une réflexion sur la prévalence d'*Helicobacter pylori* et de *Campylobacter jejuni* dans les viandes de volailles en Algérie. En utilisant une seule méthode pour la recherche d'*Helicobacter pylori* qui est la méthode classique, et deux méthodes pour la recherche de *Campylobacter jejuni* qui sont la méthode classique (de référence) et la méthode immunoenzymatique VIDAS.

- D'étudier les risques d'infection liés à la présence de ces deux bactéries dans les viandes

de volailles.

Chapitre 1 :

Helicobacter pylori

Chapitre 1 : *Helicobacter pylori*

I - Taxonomie des *Helicobacters* :

1- Historique

On a longtemps cru que l'estomac était stérile en raison de l'acidité ambiante. Pourtant, la surface du tractus digestif, et plus particulièrement celle de l'estomac, tant chez l'homme que chez beaucoup d'animaux, est colonisée par des micro-organismes hautement spécialisés (Rochard, 2000). Cette découverte, exploitée depuis seulement une vingtaine d'années par la médecine humaine, n'est cependant pas récente. Elle remonte à la fin du 19ème siècle: des bactéries spiralées ont été observées et décrites pour la première fois chez les carnivores domestiques par Rappin en 1881 et Bizzozero en 1893, puis Salomon en 1898 (Eleko, 2003). En 1906, un médecin allemand, Krienitz, observe des bactéries spiralées de diverses morphologies dans l'estomac d'un malade atteint de cancer (Ciacci et Mazzacca, 2006). Durant la première moitié du 20ème siècle, quelques publications y feront référence, dont Weber et col. en 1958, jusqu'à ce que, en 1983, un anatomopathologiste australien, Warren, découvre une bactérie spiralée en association avec des lésions de gastrite chez l'homme, et que Marshall, la même année, en établisse la première culture. Cette découverte, ou redécouverte, fut révolutionnaire, car elle a conduit à admettre que l'estomac, jusqu'alors considéré comme peu propice à la multiplication bactérienne compte tenu de son pH acide, pouvait être le siège d'une croissance bactérienne (Rochard, 2000).

Ainsi, *Helicobacter pylori* fut d'abord classée avec les *Campylobacters* en raison de ses caractères cultureux, morphologiques, métaboliques et écologiques, et fut successivement dénommée *Campylobacter pyloridis* puis *Campylobacter pylori* (Eleko, 2003). Les nouvelles techniques de biologie moléculaire, notamment la comparaison des ARN ribosomiaux et la Polymerase Chain Reaction (PCR) ont mis à jour les particularités génomiques de cette bactérie. Elle fut donc définitivement identifiée comme un nouveau germe et appelée *Helicobacter pylori* (Mohammadi, 2000).

Le genre *Helicobacter* a ainsi été créé en 1989 avec *Helicobacter pylori*, la première cultivée, issue de la muqueuse gastrique de l'homme, et *Helicobacter mustelea*, issue de la muqueuse gastrique du furet (Eleko, 2003). Ce genre fait partie d'un grand groupe éloigné des autres bacilles gram négatifs, et qui comporte plusieurs genres: *Campylobacter*, *Wolinella*, et *Arcobacter* (Rochard, 2000). Les bactéries de ce groupe ont en commun

d'avoir une morphologie spiralée ou hélicoïdale, et d'être adaptées au milieu particulier qu'est le mucus gastrique (Ciacci et Mazzacca, 2006).

2 – Classification des *Helicobacters*

Selon la deuxième édition du manuel de berge de la systématique bactérienne de 2001, le genre *Helicobacter* appartient à la famille des *Helicobacteraceae*, comme le montre l'arbre phylogénique suivante (voir figure 1) :

→ **Domaine** des *Eubacteria*

↳ **Phylum** des *Proteobacteria*

↳ **Classe** des *Epsilon-proteobacteria*

↳ **Ordre** des *campylobacterales*

↳ **Famille** des *Helicobacteraceae*

↳ **Genre** des *Helicobacter*.

↳ **Toutes les espèces** du genre *Helicobacter*

Figure 1: arbre phylogénique des *Helicobacters*.

Source : Prescott et *al.*, (2003).

Depuis la création du genre *Helicobacter*, plusieurs bactéries ont été découvertes ou reclassées dans ce genre. Les HLOs (*Helicobacter-like organisms*) constituent un groupe de bactéries spiralées gram négatives, équipées de flagelles et pouvant se subdiviser en bactéries gastriques et bactéries non gastriques (Rochard, 2000).

2.1- *Helicobacters* gastriques

Les *Helicobacters* gastriques ont pour caractéristique commune d'être uréase positive (Rochard, 2000).

- *Helicobacter pylori*

L'hôte naturel principal de cette bactérie est l'homme (Eleko, 2003). Depuis l'isolement d'*H. pylori* à partir de tissu gastrique en 1983, de nombreuses preuves se sont accumulées démontrant que *H. pylori* est pour l'homme un pathogène gastroduodéal (Faik et Raiss, 1998). Ces découvertes motivent d'ailleurs la recherche de modèles animaux expérimentaux pour comprendre la pathogénie des affections liées à cette bactérie.

D'autres espèces peuvent être infectées par cette bactérie: le singe Rhésus (*Macaca mutata*), le chat, et peut-être le porc (Rochard, 2000).

H. pylori montre un tropisme spécifique pour l'épithélium gastrique, la bactérie étant associée à l'épithélium foveolaire. Elle peut coloniser d'autre partie du tractus gastro-intestinal, mais uniquement dans des endroits où l'épithélium présente une métaplasie, comme le bulbe duodéal (Owen, 1993).

D'autres *Helicobacters* gastriques ont pu être identifiés la plupart ont été trouvés dans l'estomac des animaux:

- *Helicobacter mustelae*
- *Helicobacter felis*
- *Helicobacter heilmannii*
- *Helicobacter salomonis*
- *Helicobacter acinonyx*

2.2- *Helicobacters non gastriques*

Les *Hélicobactéries* non gastriques ont pour cibles organiques le tractus digestif et le foie des mammifères et des oiseaux (Rochard, 2000).

- *H. fennelliae* et *H. cinaedi* colonisent l'intestin de l'homme.
- *H. canis*, *H. fennelliae* et *H. cinaedi* se caractérisent par l'existence de flagelles bipolaires engainées, ce qui facilite leur identification.
- *H. cinaedi* et *H. cholecystus* colonisent l'intestin du hamster.
- *H. bilis* est isolé dans le foie de souris souffrant d'hépatite, comme *H. hepaticus* que l'on retrouve aussi en cas de néoplasme hépatique dans cette espèce. *H. hepaticus*, *Flexispira rappini*, et *H. muridarum* sont isolés de l'intestin de la souris.
- *H. pulforum* a été isolé à partir de foie de poulets malades et de fèces d'un patient humain en diarrhée.

3 – Caractères généraux

3.1- Ultrastructure des *Helicobacters*

Les bactéries du genre *Helicobacter* sont gram négatives, hélicoïdales, incurvées ou droites, de 0,5 μm à 1 μm de large sur 2,5 μm à 5 μm de long, aux extrémités arrondies; elles sont mobiles grâce à de multiples flagelles engainées qui peuvent être uni-, bipolaires ou même latérales (Eleko, 2003).



Figure 2: Morphologie d'*H. pylori* à l'examen microscopique (objectif 100 à immersion)

Source : Do-rego seyawi et *al.*, (2001)

H. pylori est plus petit que les autres *Helicobacters* : en effet, il mesure de 3 à 5 μm de long sur 0,3 à 0,5 μm de large; de forme spiralée, certains auteurs ont remarqué que sa morphologie, homogène au niveau des prélèvements, peut être très hétérogène en culture avec des formes bacillaires, en U ou circulaires (Donzé, 2005). Lorsque le milieu s'appauvrit, des formes coccoïdes apparaissent, correspondant à des formes de dégénérescence, bien que certains auteurs aient supposé qu'il existe des formes coccoïdes de résistance; cette question est controversée (Mc nulty et Wyatt, 1999).

3.2 - Aspect des *Helicobacters* en culture :

Les colonies d'*H. pylori* sont de petite taille, de 1 à 2mm de diamètre, non pigmentées, translucides et isolées (figure 3) (Liassine, 2005).



Figure 3 : une culture d' *Helicobacter pylori* après trois jours d'incubation.

Source : McNulty et Wyatt, (1999).

De même aspect, les colonies des autres *helicobactéries* s'étendent parfois en nappe (Rochard, 2000).

3.3 - Exigences de croissance et activités enzymatiques

La culture des *helicobactéries* est lente et difficile (Bontems et Cadranel, 1998).

Les *helicobactéries*, nécessitent une atmosphère microaérophile (10 % de CO₂, 4 à 5 % d'O₂ et le reste de N₂). Elles ne poussent pas en milieu aérobie. La température optimale est de 37° C, elle est possible à 30° C, mais pas à 25° C. A 42° C, la croissance est variable (Tiwari et al, 2006). Elles se développent sur des milieux variés, enrichis en sang ou en sérum.

H. pylori est une bactérie asaccharolytique bien que certains travaux laissent supposer qu'elle pourrait utiliser faiblement le glucose par la voie des pentoses. Les colonies ne deviennent visibles qu'en 3 à 5 jours (Baldwin et al, 2006).

Les *helicobactéries* sont catalase, oxydase, phosphatase alcaline et surtout uréase positives: en effet, elles possèdent une uréase puissante qui conditionne la survie en pH acide et la réussite de la colonisation dans l'environnement gastrique (Rochard, 2000). Elles ne réduisent pas le nitrate, n'hydrolysent pas l'hippurate et l'indoxyl acétate, et ne produisent pas d'H₂S sur TSI (Triple Sugar Iron agar).

3.4 - Sensibilité aux antibiotiques

Les Germes HLOs et *H. pylori* sont sensibles à plusieurs antibiotiques: pénicilline, ampicilline, amoxicilline, érythromycine, gentamicine, kanamycine, rifampycine, tétracyclines (Rochard, 2000).

Ces bactéries ne sont naturellement résistantes qu'à quelques antibiotiques: vancomycine, sulfonamides et triméthoprime. La résistance à l'acide nalidixique, à la céphalothin au métronidazole et à la polymyxine est variable.

H. pylori devient rapidement résistant au métronidazole et à la clarithromycine si ces agents sont administrés seuls. Mais reste sensible aux agents actifs dans la lumière digestive tels que l'amoxicilline, les tétracyclines et le bismuth (Megraud et Lehours, 2007).

II – Epidémiologie

H. pylori infecte 20 à 90 % de la population humaine adulte (Husson et Mignon, 2001). Comme beaucoup d'infection, celle à *H. pylori* est très liée au niveau socio-économique de la population considérée:

L'infection est extrêmement fréquente dans les pays en voie de développement, avec une prévalence de l'ordre de 80 à 90 % (virtuellement presque tous les adultes sont infectés) et dans les couches les plus pauvres des pays développés. Dans ces populations, l'infection est acquise à un âge plus précoce que dans les nations occidentales industrialisées (Rochard, 2000).

Dans les pays développés, la prévalence est presque nulle dans l'enfance et atteint 40 à 50% après 50 ans (Deslick, 2006); elle dépasse 50% de la population générale dans les tranches d'âge supérieure à 60 ans. Le taux d'incidence annuel est de 0,3 à 1 personne-année. La prévalence actuelle en Europe pour les sujets de 21 à 30 ans peut dépasser la valeur de 70 % et montre un net gradient décroissant Est-Ouest. En France elle est de l'ordre de 15% à 20 ans (Delpont et W.Van Der Merwe, 2007), la prévalence tout âge confondu étant de 20 à 30%; elle a été mesurée à 45% dans un échantillon de consultants pour symptomatologie digestive.

Chez l'homme, l'infection semble aussi fréquente chez les sujets masculins que féminins (Rochard, 2000).

2 - Voies de transmissions:

L'histoire naturelle de l'infection à *H. pylori* chez l'homme est encore mal connue. L'infection est probablement contractée à la faveur de l'ingestion de la bactérie (Korwin, 2007).

2.1 - Transmission interhumaine d'*H. pylori*

Le mode de transmission de l'infection est encore mal élucidé. (Malaty, 2006).

❖ Transmission à partir de l'environnement: arguments pour la voie fécale-orale

Elle est peu probable compte tenu de la grande fragilité du germe (Rochard, 2000).

L'eau, comme les légumes crus, seraient en fait contaminée par des selles humaines (Moreno et al, 2007). En effet, *H. pylori* est éliminé dans les selles: alors qu'on pensait que *H. pylori* était détruit par les sels biliaires et ne pouvait pas survivre à la compétition des nombreuses bactéries de la flore fécale, ce germe est détecté dans les selles par PCR avec une bonne sensibilité (Rochard, 2000). Il a été récemment cultivé à partir des fèces. Ceci dit, il est très difficile de le retrouver sous forme cultivable. Des formes de survie (viables mais non cultivables) éliminées dans l'environnement existent vraisemblablement, se transformant en formes «normales» en atteignant l'estomac (Megraud, 2003).

❖ Transmission directe interhumaine: arguments pour la voie orale-orale

Il y a également des arguments pour la voie orale-orale. La prémastication des aliments par la mère est un facteur de risque pour les enfants (Bontems et Cadranel, 1998).

H. pylori pouvant survivre un certain temps dans le liquide gastrique, une transmission est donc possible en cas de vomissements. S'il y a régurgitation, la cavité buccale est susceptible d'être colonisée transitoirement (Delpont et W. Van. Der Merwe, 2007).

La tendance est à penser que la contamination dans les pays développés se ferait surtout par voie orale-orale, alors qu'elle se ferait surtout par voie fécale-orale dans les pays en voie de développement (Rochard, 2000).

❖ L'infection à *H. pylori* peut être une infection nosocomiale

En dehors des modes de transmission possibles dans la communauté, il existe un endroit spécial où la transmission est possible: ce sont les salles d'endoscopie et ce risque concerne à la fois les patients et les gastro-entérologues (Recordati, 2007). En effet, le caractère infectant du liquide gastrique entraîne un risque de contamination lors de la manipulation de matériels souillés (sondes naso-gastriques, sondes à pH, endoscopes...) (Rochard, 2000). Il a été montré que la prévalence de l'infection était significativement plus élevée chez les gastro-entérologues que dans la population générale. La transmission de patient à patient à cause d'endoscopes contaminés est rare mais possible.

2.2 - Infection à *H. pylori*: zoonose potentielle

Même si quelques réservoirs animaux ont été décrits chez le singe et le chat, il est habituellement reconnu que la transmission de l'infection est essentiellement, sinon exclusivement, interhumaine (Rochard, 2000).

Les relations des *Helicobacters* avec l'environnement (habitat, conditions de survie et de développement, acquisition de l'infection...) font l'objet de nombreuses études chez l'animal (Rochard, 2000). En effet, la manière dont cette infection est transmise chez les carnivores n'est pas encore clarifiée.

III – Pathogénicité des *Helicobacters*

1 - Preuves épidémiologiques du pouvoir pathogène d'*H. pylori* chez l'homme.

1.1 - Lien entre *H. pylori* et la maladie ulcéreuse

Il est désormais presque certain que la majorité des ulcères gastroduodénaux décelés chez l'être humain sont associés à une infection à *H. pylori* (H-lai et Sung, 2007).

La relation entre l'infection à *H. pylori* et les ulcères gastroduodénaux est en effet bien démontrée (Khedmat et al, 2007). En effet, depuis que le lien entre *H. pylori* et les ulcères du duodénum a initialement été établi par Warren et Marshall en 1983, un faisceau d'arguments a été accumulé indiquant que la gastrite provoquée par *H. pylori* est un facteur majeur dans l'étiologie de la maladie de l'ulcère peptique, en particulier de l'ulcère duodéal (Banatvala et Feldman, 1993).

1.2- Liens entre l'infection à *H. pylori* et le cancer gastrique

La relation entre l'infection à *H. pylori* et l'adénocarcinome ou le lymphome a fait l'objet de plusieurs études épidémiologiques qui toutes ont conclu à une nette augmentation du risque relatif de cancer chez les patients infectés par *H. pylori* (Jauffret et al, 2003).

Le rôle de *H. pylori* a été reconnu par un groupe d'experts réunis par le Centre International de Recherche sur le Cancer (agence de l'OMS) en 1994. Cette bactérie a ainsi été reconnue comme un carcinogène de grade 1 dans l'étiologie de l'adénocarcinome gastrique (Jauffret et al, 2003). *H. pylori* est donc la première bactérie trouvée jouant un rôle dans l'apparition d'un cancer chez l'homme.

Notons toutefois que le pourcentage de patients infectés qui développeront un cancer ou un lymphome reste faible (Josenhans et al., 2007).

1.3 - Maladies associées à *H. pylori* chez l'homme

L'histoire naturelle de l'infection à *H. pylori* peut être schématisée comme suit (figure 4) :

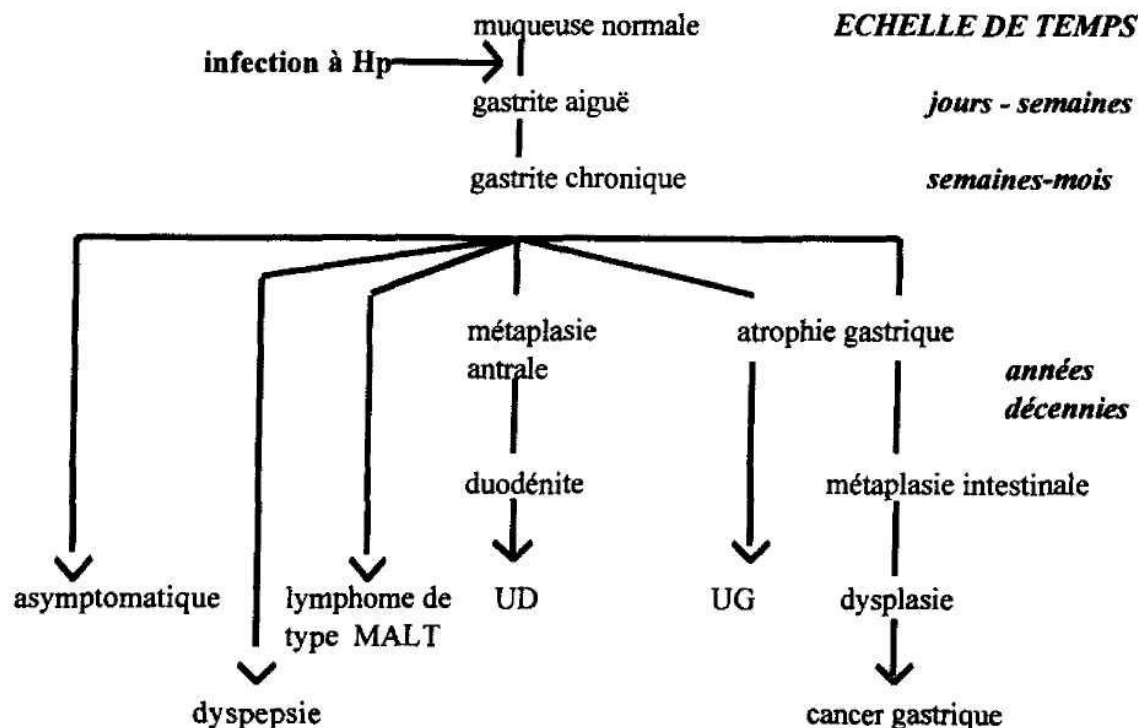


Figure 4 : Histoire naturelle de l'infection à *H. pylori*

Hp: *H. pylori* - UD: ulcère duodéal - UG: ulcère gastrique

Source : Rochard, (2000).

1.4 - Autre pathologie associée à *H. pylori*

L'association entre l'infection à *H. pylori* et la maladie coronaire a été suggérée, car certaines études ont montré la prévalence augmentée de l'infection chez les sujets souffrant d'une ischémie cardiaque par rapport aux témoins sains (Longo-Mbenza et al, 2006). Ceci dit, à l'heure actuelle, le lien entre ischémie cardiaque et infection à *H. pylori* ne peut être considéré qu'hypothétique.

2 - Facteurs de pathogénicité d'*H. pylori*

Le pouvoir pathogène de *H. pylori* réside dans son aptitude à coloniser la muqueuse gastrique, à persister dans l'estomac en échappant aux mécanismes de défense de l'hôte et, enfin, dans sa capacité à induire les lésions de la muqueuse gastrique. La place d'*H. pylori* dans l'ulcérogénèse est encore mal connue. Deux mécanismes pourraient intervenir (Josenhans et al., 2007):

- un mécanisme direct d'agression de la muqueuse gastrique faisant intervenir les propriétés cytotoxiques de la bactérie et son effet promoteur sur l'inflammation,

- une action indirecte d'augmentation de la sécrétion gastrique par le biais d'une dysrégulation des mécanismes neuro-hormonaux.

- **Adhérence** : l'adhérence semble être un facteur important d'agression pour la muqueuse gastrique. Toutes les données témoignent du rôle important de l'adhérence dans la pathogénie associée à *H. pylori*, permettant la sécrétion de substances toxiques dans l'environnement immédiat des cellules et favorisant leur action (Lochhead et Elomar, 2007).
- **Enzymes** : on a identifié des enzymes qui manifestent pour la muqueuse gastrique des propriétés toxiques directes: certaines souches de *H. pylori* synthétisent en effet des phospholipases (A2 et C), et une hémolysine, qui pourraient altérer l'intégrité des cellules épithéliales. L'uréase peut aussi être considérée comme un facteur direct de pathogénicité (Lochhead et Elomar, 2007).

- **Cytotoxines** : une cytotoxine, protéine codée par un gène appelé *vacA*, agit sur les cellules à mucus, entre autre par inhibition de l'exocytose. Les cellules libèrent alors un mucus non complètement élaboré, moins épais, moins hydrophobe, si bien qu'il ne peut plus remplir correctement ses fonctions protectrices de la muqueuse et l'acidité du suc gastrique amplifie alors les lésions (Lochhead et Elomar, 2007).
- **Ilot de pathogénicité Cag** : la région Cag, détermine la plus grande virulence des souches. elle correspond à une fraction génomique de la bactérie contenant une vingtaine de gènes dont 3 ont été caractérisés: le gène CagA, le gène CagB et le gène CagC. Par rapport aux sujets infectés par les souches CagA (-), les patients infectés par les souches CagA(+) présentent une synthèse augmentée d'IL-6 et d'IL-8, une inflammation plus importante au niveau de la muqueuse gastrique pouvant accélérer l'évolution vers l'atrophie, une plus grande probabilité d'avoir un ulcère, d'où leur qualification de « souches ulcérogènes », et semble-t-il une probabilité plus grande de développer un carcinome gastrique (Lochhead et Elomar, 2007).
- **Lipopolysaccharide** : différentes études montrent que le LPS de *H. pylori* possède des propriétés biologiques atypiques qui permettent cependant de lui attribuer un rôle important dans la pathogénie (Hoffelner, et al, 2007). Des études menées plus récemment montrent que le LPS de certaines souches de *H. pylori* possèdent une structure identique a celle des antigènes des groupes sanguins Lewis x et Lewis y. Les patients infectés par ces souches développent des anticorps circulants dirigés contre ces antigènes. Les antigènes Lewis x et Lewis y étant largement présents à la surface des cellules pariétales chez l'homme (antigènes normalement exprimés par la pompe H⁺/K⁺ ATPase, pompe à protons), il est probable qu'une réaction autoimmune dirigée contre ces antigènes soit à l'origine d'une destruction des cellules pariétales et de l'évolution de l'infection vers l'atrophie gastrique (Xiao et al, 2007).
- **Activation des neutrophiles** : les souches d'*H. pylori* sont capables d'activer les neutrophiles, cellules immunitaires impliquées surtout dans la première phase de l'inflammation. Cette propriété est exprimée plus fréquemment et d'une manière plus intense par les souches provenant de patients ulcéreux. La nature des produits responsables de cette stimulation n'est pas encore définie (Zumkeller et al, 2007).

IV – Aspects cliniques

1 - Méthodes de diagnostic utilisées pour l'infection à *H. pylori* chez l'homme

On distingue:

- des méthodes de diagnostic utilisées pour d'autres bactéries pathogènes: la sérologie, l'examen microscopique (histologie ou culture), la culture et l'amplification génique (PCR)

- des méthodes spécifiques de *H. pylori* basées sur la production abondante d'une uréase par cette bactérie: le test respiratoire à l'urée, la recherche directe de l'uréase sur biopsie gastrique (Ricci et al, 2007).

1.1 - Méthodes invasives

Les méthodes invasives sont utilisables uniquement par le spécialiste, car elles nécessitent une endoscopie à la faveur de laquelle on réalise le prélèvement de biopsies de muqueuse gastrique antrale (à environ 2 cm du pylore) et éventuellement fundique. Il est souhaitable d'obtenir une biopsie pour chaque test à effectuer. Ceux sont actuellement les méthodes de diagnostic les plus habituelles (Rochard, 2000).

- Test à l'uréase (Ricci et al, 2007).

- Examen anatomopathologique (Petrenkiene et al, 2004).

- Examen bactériologique standard appelée la méthode de référence (Ricci et al, 2007).

- Amplification génique (Recordati, 2007)

- Méthodes utilisant le liquide gastrique (Rochard, 2000).

1.2 - Méthodes non invasives

- sérologie (Gill et al, 2007).

- Test respiratoire à l'urée marquée au carbone 13 (Breath Test) (Ricci et al, 2007).

- Méthode utilisant la salive (Ricci et al, 2007).

2 - Traitement antimicrobien

Depuis les premières combinaisons thérapeutiques associant sels de bismuth, un ou deux antibiotiques, les trithérapies sont actuellement considérées comme le meilleur schéma d'éradication d'*H. pylori* chez l'homme (Zullo et *al*, 2007).

Les trithérapies consistent en l'association d'agent antisécrétoire (particulièrement les inhibiteurs de la pompe à protons) et de deux agents anti-infectieux (Zullo et *al*, 2007): différentes associations ont été décrites et contrôlées chez l'homme, utilisant un dérivé imidazolé (métronidazole, tinidazole), un macrolide (érythromycine, clarithromycine), et/ou l'amoxicilline. Certains préconisent la substitution de l'amoxicilline par une tétracycline en cas d'allergie aux bêta-lactamines (Zullo et *al*, 2007).

3 - Prophylaxie

La prévalence élevée des infection à *H. pylori* (la population est virtuellement totalement infectée dans les pays en voie de développement), et la morbidité qui leur est associée chez l'être humain font qu'il est souhaitable de prévenir plutôt que de traiter l'infection (Aebischer et *al.*, 2007). Seule une stratégie vaccinale peut être mise en oeuvre au niveau mondial pour diminuer de manière significative les maladies dues à cette infection (Mystrom et Svennerholm, 2006).

Chapitre 2 :

Campylobacter jejuni

Chapitre 2 : *Campylobacter jejuni*

I – Taxonomie:

1 - Historique:

Campylobacter a été décrit pour la première fois par le pédiatre et bactériologiste Théodore Escherich en 1880, à partir d'excréments d'enfant présentant des diarrhées. Bactérie classée tout d'abord dans l'espèce *Vibrio fetus*, il faut attendre Sebald et Veron qui proposent en 1963 de créer le genre *Campylobacter* (Poly, 2005).

L'isolement de souches de *Campylobacter* à partir d'excréments humains a été couronné de succès grâce à l'élaboration d'un milieu sélectif en 1972. Depuis, les bactéries du genre *Campylobacter* ont été reconnues comme bactéries pathogènes pour l'homme (Poly, 2005). L'espèce *Campylobacter jejuni* est la plus fréquemment impliquée dans les cas d'entérite.

Le rôle des *campylobacters* dans les maladies diarrhéiques a fait suite aux travaux de Butzler qui, en utilisant une méthode de filtration, a montré leur importance et à celle de Skirrow qui a mis au point un milieu sélectif d'isolement et confirmé les résultats précédents (Megraud *et al.*, 2003).

2 – classification

Les *campylobacters* (du grec campylo = incurvé et bacter = bacille) font partie avec les genres *Arcobacter*, *Sulfurospirillum*, *Helicobacter* et *Wolinella* de la classe ϵ des Protéobactéries aussi appelée superfamille VI de bacilles à Gram négatif (Vandamme *et al.*, 1991). Avec les deux premiers genres, ils forment la famille des *Campylobacteraceae* (figure 5).

Parmi les nombreuses espèces du genre *Campylobacter*, une espèce est dominante en pathologie humaine, il s'agit de *C. jejuni*; *C. coli* et *C. fetus* sont également rencontrés. Les autres espèces (*C. upsaliensis*, *C. lari*, etc.) sont beaucoup moins fréquemment retrouvées en Europe (Megraud, 2003). De manière générale, les *campylobacters* sont peu pathogènes pour l'animal. Toutefois, *C. fetus* a été une cause majeure d'avortement chez les bovidés, maintenant contrôlée.

→ **Domaine** des *Eubacteria*

↳ **Phylum** des *Proteobacteria*

↳ **Classe** des *Epsilon-proteobacteria*

↳ **Ordre** des *campylobacterales*

↳ **Famille** des *Campylobacteraceae*

↳ **Genre** des *Campylobacter*

↳ **Toutes les espèces** du genre *Campylobacter*

Figure 5: arbre phylogénique des *campylobacters*.

Source : Prescott et *al.*, (2003).

3 - Caractères généraux :

C. jejuni peut être trouvé en fonction des conditions environnementales sous forme de bâtonnets spiralés (de 1,0. à 6,0 µm de long et 0.2 à 0.5 µm de large, Figure 6), ou sous un aspect coccoïde pour les formes de résistance ou en phase de dégénérescence. *C. jejuni* présente fréquemment des flagelles à l'un ou aux deux pôles. La présence de flagelles associés à une forme spiralée confère à la bactérie un fort potentiel de motilité (Poly, 2005).

C. jejuni est une bactérie microaérophile, qui nécessite une faible concentration atmosphérique en oxygène (3 - 5%) et une concentration en CO₂ de 3 à 15%. Les températures optimales de croissance vont de 37 à 42 °C, températures correspondant aux températures de leurs hôtes (l'homme et le poulet, respectivement) (Belloc et *al.*, 2004). L'incubation de *C. jejuni* varie de 2 à 5 jours.



Figure 6: Photo de *C. jejuni* par microscopie électronique (x 10000)

Source : Poly, (2005).

Campylobacter représente le groupe V de la deuxième section du Bergey's Manual (9^e édition), regroupant des bactéries : aérobies, microaérophiles, mobiles, hélicoïdales, (vibrions), à Gram négatif (Prescott et *al.*, 2003).

Le vibron est mobile par l'intermédiaire d'un flagelle présent à un ou deux pôles de la cellule bactérienne. Ne fermentant et n'acidifiant jamais les glucides, possédant une oxydase, n'hydrolysant ni la gélatine, ni l'urée, ne produisant pas de pigments (Poly, 2005).

Les bactéries du genre *Campylobacter* sont caractérisées par une grande exigence en ce qui concerne les conditions de culture. Il n'est en effet pas possible d'assurer leur croissance en présence d'air et sur les milieux ordinaires (Prescott et *al.*, 2003).

Certains facteurs de croissance contrebalancent la toxicité des tensions trop élevées d'oxygène : le sang joue un rôle favorable en permettant la synthèse d'enzymes qui interviennent dans la destruction des peroxydes, avant que la synthèse de la catalase (pour les espèces qui en produisent) ne soit suffisante (Larpen, 1997).

Des agents soufrés réducteurs tels le thioglycolate, jouent en outre un rôle favorable. De plus, le gaz carbonique, même en faible quantité, est nécessaire à la croissance de *Campylobacter*.

Campylobacter est un mauvais compétiteur biologique. Il cultive lentement. On ne l'isolera que difficilement au sein de la flore fécale ou alimentaire (Prescott et *al.*, 2003). Les espèces dites thermotolérantes présentent une croissance à 42 °C, ce qui n'est pas le cas de *C. fetus*. Par contre à 25° C, seul *C. fetus* et quelques autres *Campylobacter* cultivent (Larpen, 1997).

En règle générale, la durée d'incubation sera d'au moins 48 heures, en raison de la lenteur du développement de *Campylobacter*. On les maintiendra en croissance jusqu'à 5 jours pour les souches les plus lentes.

Même dans les conditions quasi-idéales, la culture de *Campylobacter* est pauvre : des colonies de petite taille, transparentes, parfois envahissantes apparaissent en 48 heures sur milieu solide ; en milieu semi-gélosé, la culture apparaît dans une zone cylindrique ayant 4 à 10 mm de hauteur, située à quelques centimètres de la surface (Larpen, 1997).

II - Épidémiologie

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

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

1 – Prévalence et incidence de l'infection

Les *campylobacters* sont la cause la plus fréquente des gastro-entérites bactériennes dans les pays industrialisés. L'incidence annuelle estimée des infections à *Campylobacter* dans la population générale varie selon les pays et est en augmentation dans plusieurs d'entre eux (Gallay *et al.*, 2005) (Figure 7).

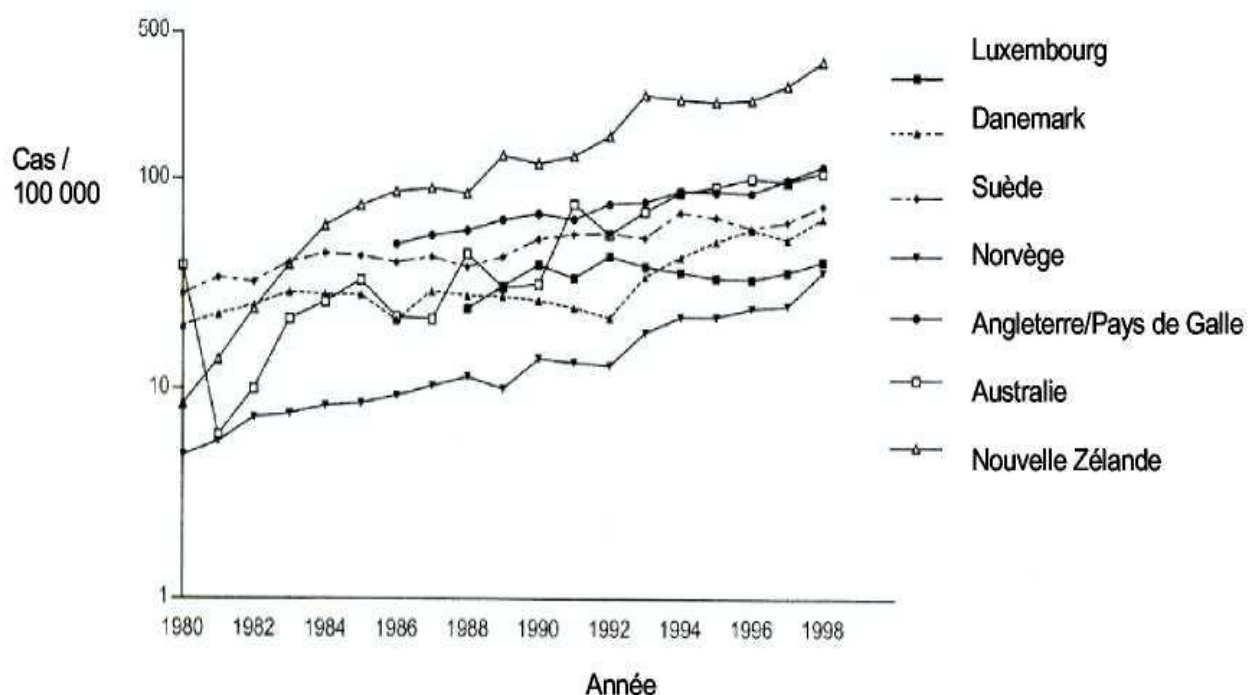


Figure 7: Incidence des campylobactérioses humaines dans sept pays industrialisés de 1980 à 1998

Source : Mégraud *et al.*, (2003).

Il existe une recrudescence du nombre d'infections à *Campylobacter* au cours des mois les plus chauds. *C.jejuni* représente 80 à 90 % des agents identifiés parmi les infections à *Campylobacter*. L'infection touche tous les groupes d'âge et l'incidence est maximale chez le nourrisson et le jeune enfant (Poly, 2005).

2 - Voies de transmission

Les *campylobacters* sont peu pathogènes pour l'animal et de nombreux animaux sont porteurs de *campylobacters*. Les réservoirs sont les animaux domestiques (volaille, bovins, porcins, ovins et caprins), les animaux de compagnie (chiens, chats) et les animaux sauvages (oiseaux, rongeurs). Si le contact avec des animaux domestiques ou de compagnie a été retrouvé comme facteur de risque des infections à *Campylobacter* chez l'homme dans certaines études, le lien épidémiologique avec les animaux sauvages est en revanche difficile à établir. Cependant les animaux sauvages sont à l'origine d'une contamination environnementale, notamment de l'eau (figure 8) (Friedman *et al.*, 2000).

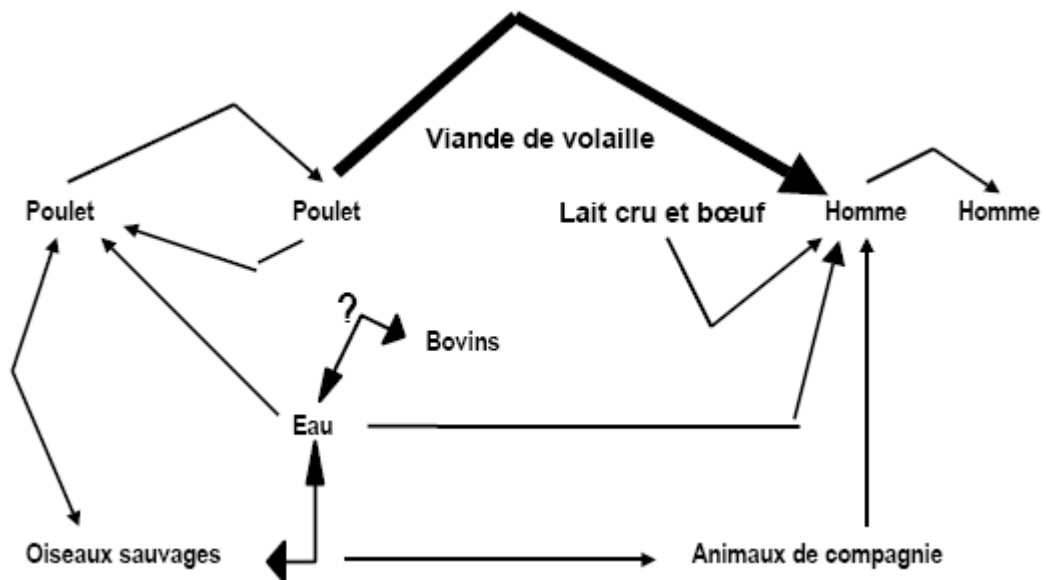


Figure 8 : Voies de transmission de *Campylobacter jejuni*

Source : Mégraud *et al.*, (2003).

La fréquence des *campylobacters* chez les animaux et chez l'homme explique qu'on les retrouve dans les boues d'épandage et les égouts, ce qui contribue à la diffusion de ces bactéries dans l'environnement. Des *campylobacters* ont été isolés dans des échantillons de sable de plage et de fruits de mer, sans toutefois qu'ils n'aient été incriminés dans des cas humains à ce jour (Bolton *et al.*, 1999).

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

La transmission interhumaine est rare (Vellinga et Van Loock, 2002 ; Winqvist *et al.*, 2001 ; Eberhart-Phillips *et al.*, 1997).

L'eau, le lait cru sont les principales sources de contamination identifiées lors de grandes épidémies aux Etats-Unis et dans les pays d'Europe du Nord (Engber *et al.*, 1998 ; Peabody *et al.*, 1997 ; Orr *et al.*, 1995).

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

Comme bon nombre de bactéries impliquées dans les Toxi-Infections Alimentaires, les *campylobacters*, ou plus exactement certaines souches, ont été décrits sous une forme VNC (Formes viables non cultivables) lors d'un séjour dans un microcosme aqueux (Federighi *et al.*, 1998), et le recouvrement du caractère cultivable de ces formes VNC a pu être obtenu après passage sur différents modèles animaux (Cappelier *et al.*, 1999).

3.1- Survie des *campylobacters* dans l'eau

Les *campylobacters* sont souvent retrouvés dans des eaux de surface et de ruissellement (Schaffer et Parriaux, 2002). La survie est plus importante à basse température (4°C-10°C) et est diminuée par une aération-oxygénation des eaux (Buswell *et al.*, 1998 ; Obiri-Danso *et al.*, 2001). Des variations ont également été constatées entre les espèces : les populations de *C. jejuni* et de *C. lari* semblent plus résistantes dans de l'eau de rivière à 5°C (Thomas *et al.*, 1999) et les temps de survie (mesurés par culture) peuvent être très variables en fonction des souches (de 6 à plus de 60 jours ; Talibart *et al.*, 2000). L'application d'UV mimant une exposition solaire d'une journée montre que les populations deviennent non cultivables après 30 à 90 minutes dans des eaux de surface (Obiri-Danso *et al.*, 2001).

3.2- Survie des *campylobacters* dans les aliments

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

Il est à noter qu'une multiplication a été montrée dans la viande conservée à 37 ou 42°C (Hanninen *et al.*, 1984).

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

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

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

III – Pathogénicité:

1 - Description des maladies causées

La maladie humaine la plus fréquemment associée aux *campylobacters* est une entérite aiguë causée par une infection intestinale, qui peut se compliquer de bactériémie, de localisations secondaires, et d'un syndrome post-infectieux (Poly, 2005).

1.1- Entérite

Une association entre la présence des *campylobacters* et l'entérite a été montrée et les critères de causalité ont été remplis (Butzler *et al.*, 1973; Skirrow, 1977). Les *campylobacters* thermotolérants sont essentiellement en cause et en particulier *C. jejuni*. Typiquement les premiers signes apparaissent après une incubation de 3-4 jours en moyenne voire plus (plus longue que celle d'autres infections intestinales), et se manifestent par de la fièvre en général modérée, douleurs abdominales et diarrhée, parfois avec présence de sang dans les selles (Poly, 2005).

La diarrhée est de type inflammatoire et parfois profuse. Tout l'intestin peut être concerné mais en particulier le colon. Les symptômes sont spontanément résolutifs en moins d'une semaine, alors que la bactérie persiste dans les selles plusieurs semaines. Des rechutes sont possibles. Un traitement antibiotique adapté conduit à une éradication de la bactérie et s'il est donné assez tôt peut avoir un effet bénéfique sur les symptômes (Salazar-Lindo *et al.*, 1986).

Dans les pays en développement où l'exposition est très fréquente, l'enfant souffre d'infections successives, une immunité s'installe qui aboutit à un portage asymptomatique (Diarra, 1993).

Des complications locales ont été décrites, à type d'appendicite, péritonite, cholécystite, voire hépatite et pancréatite. Elles sont exceptionnelles (Poly, 2005).

1.2- Infections systémiques

Les *campylobacters* sont des bactéries considérées comme invasives qui peuvent transloquer et se retrouver dans le torrent circulatoire. Néanmoins la fréquence des bactériémies et septicémies détectées en cas d'entérites à *campylobacters* thermotolérants reste très faible de l'ordre de 0,1 % selon Skirrow *et al.*, (1993) notamment par rapport à ce qui est observé pour les *Salmonella* spp.

1.3- Syndromes post-infectieux

C. jejuni comme d'autres bactéries entéropathogènes peut être à l'origine d'un syndrome post-infectieux à type d'arthrite réactionnelle, d'érythème noueux (Eastmond *et al.*, 1982), d'urticaire (Bretag *et al.*, 1984). Ces complications sont rares (moins de 1% des cas). Toutefois le syndrome post-infectieux le plus important à considérer est le syndrome de **Guillain Barré**. Les symptômes en sont une paralysie flasque avec aréflexie et dissociation albumino-cytologique au niveau du liquide céphalo-rachidien. Trois formes peuvent être distinguer : une polyneuropathie démyélinisante aiguë inflammatoire avec dégénérescence axonale secondaire, majoritaire dans les pays occidentaux, une neuropathie axonale motrice ou sensorimotrice aiguë majoritaire en Asie, et le syndrome de Miller Fisher qui comporte ataxie et ophtalmoplégie (Ho *et al.*, 1998).

2 - Facteurs de pathogénicité de *Campylobacter jejuni*

Le degré de virulence d'un microorganisme pathogène est conféré par soit un déterminant génétique, biochimique ou une structure particulière provoquant une maladie chez l'organisme hôte (Poly, 2005).

Quatre mécanismes majeurs de pathogénicité bactérienne sont reconnus chez *C. jejuni*:

2.1- L'adhérence :

L'adhérence est réversible et dépend de la mobilité. Les pili, la flagelline, les protéines de membrane externe et le lipopolysaccharide pourraient jouer le rôle d'adhésine (Konkel et al., 2000). Cette adhérence prévient la bactérie d'une élimination par le péristaltisme, et est un prérequis à la pénétration dans les cellules où la bactérie est protégée des défenses de l'hôte.

2.2- Invasion :

C.jejuni peut transloquer soit au travers des cellules épithéliales polarisées par endocytose (voie transcellulaire), soit en migrant entre les cellules (voie paracellulaire) (Mégraud et al., 2003).

2.3- Production de toxine :

La présence d'entérotoxine proche de celle du choléra (Ruiz Palacios et al., 1983), n'a pas été confirmée. La toxine synthétisée par toutes les souches mais en quantité variable est une toxine distendant le cytosquelette (cdt) décrite en 1988 (Johnson et Lior, 1988). Cette toxine contribue à l'apoptose et à l'arrêt du cycle cellulaire en G2-M, c'est-à-dire dans la phase du cycle cellulaire précédant la mitose (Whitehouse et al., 1998).

2.4- capsule :

C. fetus possède une microcapsule S qui le rend résistant à la phagocytose (Blaser et al., 1988). Des travaux récents (Karlyshev et al., 2001 ; Dorell et al., 2001) ont aussi montré la présence d'une capsule et l'existence du locus correspondant chez certaines souches de *C. jejuni*. Le rôle exact de cette capsule n'est pas déterminé mais l'hypothèse de son implication dans la virulence et la survie de cette souche est à considérer (Bacon et al., 2001 ; Dorell et al., 2001).

3 - Traitements antibiotiques

C. jejuni est sensible à la plupart des familles d'antibiotiques. Toutefois, une résistance peut être acquise vis-à-vis de certaines : macrolides, aminosides, β -lactamines, tétracyclines et quinolones. Cette résistance est restée relativement stable durant ces 15 dernières années sauf pour les quinolones. La résistance aux quinolones de première génération (acide nalidixique) et aux fluoroquinolones (ciprofloxacine, enrofloxacine) pour les souches isolées en pathologie humaine est passée de moins de 5 % en 1988 à 25 % en 2000 pour *C.jejuni* et de moins de 5 % à 40 % pour *C. coli*. Toutefois, depuis 1998, elle semble stabilisée voire en diminution (Mégraud, 2003).

Chapitre 3 :

Viande de Volailles

Chapitre 3 : Viande de Volailles

I - Situation économique :

1 - Production

Dans le monde entier, la volaille est la viande dont la production a progressé le plus durant ces dernières années (Dupin et *al.*, 1992).

2 - Consommation

Dans un marché où la consommation totale de viande est stabilisée ou même en léger déclin, la consommation de volaille continue à croître (Mégraud et *al.*, 2003; Dupin et *al.*, 1992).

En 1998, la consommation de poulet a été estimée à 12,24 kg équivalent carcasse/habitant/an (kg e.c./hab/an) en France. En 2002, la consommation individuelle a été établie à 12,22 kg.e.c./hab/an (Mégraud et *al.*, 2003).

II – Élevage, abattage et commercialisation : l'exemple du poulet selon Dupin et *al.*, (1992) :

1 - Elevage

Le poulet de chair est élevé au sol sur litière. L'éleveur de poulets reçoit ses poussins à 1 jour. Ceux-ci proviennent d'une exploitation spécialisée dans l'élevage des pondeuses de reproduction et produisant des poussins toute l'année.

Les animaux voyagent en emballages de carton perforé. Ils sont placés dès leur arrivée sur une épaisse litière de copeaux de bois ou de paille hachée qui a été étendue sur le sol du poulailler après nettoyage et désinfection du bâtiment.

L'éleveur doit veiller durant les premières semaines, à maintenir une température suffisante, qu'il réduira progressivement, à créer en général une ambiance propice à la meilleure croissance en évitant les brusques changements de température, à aérer le local. La lumière, vive les premiers jours, est ensuite tamisée, favorisant ainsi le calme.

Les animaux, dès leur arrivée, sont abreuvés d'eau fraîche et propre et reçoivent à discrétion un aliment complet équilibré. C'est en grande partie dans une bonne maîtrise de l'ambiance que réside le talent de l'éleveur. Bien chauffé, bien aéré, au calme, le poussin grandira vite et

donnera une viande de qualité.

Six à sept semaines après sa naissance et son arrivée à l'exploitation, le poussin est devenu un poulet consommable pesant 1,6 à 2 kg vif, il est alors prêt à être vendu.

Dix à douze heures avant l'abattage, les animaux sont mis à la diète.

2 - Abattage

Le poulet est saigné, plongé dans un bac d'eau chaude à 50-51 °C qui permet de préparer la peau et les plumes aux opérations ultérieures du plumage. Celui-ci est alors effectué entre des tambours rotatifs sur lesquels sont fixés des doigts de caoutchouc qui frappent la plume et la détachent. Dans la présentation dite « éviscérée », la cavité abdominale est incisée puis, après qu'une inspection vétérinaire de salubrité ait été pratiquée, les viscères (intestins, foie, rate, cœur, gésier, poumons) sont enlevés. De même, la tête et le cou sont détachés.

Les plumes qui ont échappé au plumage mécanique sont enlevées à la main. Les tarses sont coupés à la jointure. Enfin, le poulet est plié et calibré.

Commence maintenant la chaîne du froid. Pour amener la carcasse à la température de stockage, les animaux sont d'abord placés dans une salle frigorifique dite de « ressuage » destinée à lui faire perdre l'humidité de surface et à le refroidir à 0 °C à cœur. Ce séchage superficiel est indispensable à la bonne conservation ultérieure. Il fait perdre à la carcasse environ 1 % de son poids.

Sortant du ressuage, les poulets sont emballés sous film plastique puis immédiatement envoyés à la salle de stockage à 0 °C. Le travail de conditionnement est alors terminé, ils sont prêts à la vente. Il ne s'est écoulé que 45 minutes entre le saignage et la réfrigération de la carcasse. Des camions réfrigérants les achemineront vers les centres de distribution. Sous cette présentation, le poulet doit être consommé dans les 10 à 12 jours qui suivent son abattage.

3 - Présentation

3.1- Le poulet effilé frais : Il possède encore le foie, la rate, le gésier, les poumons. (bien souvent, le détaillant procède à l'éviscération au moment de la vente). C'est une présentation traditionnelle en voie de diminution rapide au profit du poulet éviscéré.

3.2 - Le poulet éviscéré frais : C'est celui dont nous avons décrit le traitement. Il constitue la présentation de carcasse entière la plus recherchée maintenant. Elle est encore dénommée « Prêt à cuire » puisque le poulet, débarrassé de son emballage, peut être placé directement au four avec son assaisonnement.

3.3 - Le poulet éviscéré congelé : La congélation ne s'applique qu'au « prêt à cuire ». Cette présentation est encore peu développée (elle est importante dans l'Europe du Nord) (Dupin et *al.*, 1992).

3.4 - Les découpes de poulet : La demande, aussi bien des ménages que des collectivités, se porte de plus en plus sur les pièces découpées : ailes, cuisses, escalopes, présentées fraîches ou surgelées. Cette évolution répond à plusieurs tendances : cuisson plus rapide, portions plus homogènes, réduction des déchets (Dupin et *al.*, 1992).

3.5 - Poulet fumé : Cuit et fumé, ce poulet se consomme habituellement froid mais peut aussi facilement être réchauffé avec un légume (choucroute, lentilles...). C'est une présentation qui renouvelle complètement un menu de poulet (Dupin et *al.*, 1992).

4 - Commercialisation

L'abattoir est en même temps le lieu du conditionnement. C'est le passage forcé du poulet d'élevage.

Cet abattoir vend par plusieurs canaux :

- ◆ Vente directe par téléphone aux Centrales d'achat et aux collectivités.
- ◆ Représentants régionaux.
- ◆ Grossistes.
- ◆ Marché d'Intérêt National (MIN).
- ◆ Vente directe aux industries transformatrices de la viande (conserves, plats cuisinés).

5- Autres volailles

Bien que représentant environ 56 % des volailles commercialisées, le poulet n'est pas le seul animal de basse-cour produit pour la consommation.

5.1- La dinde

La présentation de morceaux découpés, de rôtis, de produits élaborés, a permis un élargissement de sa consommation. Devenue la seconde volaille consommée en Algérie et en France par exemple.

La productivité de cette filière donne à la viande de dinde un excellent rapport qualité/prix et sa valeur nutritionnelle doit lui assurer un développement croissant dans les années à venir.

5.2 - Le canard

Sa consommation en Algérie reste très faible par contre en France, son marché s'est rapidement développé ces dernières années avec la présentation de morceaux découpés et particulièrement du magret (ou filet). La sélection d'animaux mieux conformés et plus maigres, à partir de l'espèce Barbarie, a permis d'améliorer la qualité et la valeur nutritionnelle de cette viande réputée grasse.

5.3 - La pintade

Sa consommation augmente lentement mais reste faible. Elle peut varier les menus et permettre des plats plus recherchés.

La finesse de son squelette permet un bon rendement en viande mais la petite taille de cette espèce ne se prête pas à la découpe.

Enfin, pigeon, oie, caille restent des productions marginales en Algérie.

III - Qualité

Si nous tentons de décomposer les facteurs de la qualité, nous pensons à :

- qualité nutritive et hygiénique,
- qualité sanitaire,
- qualité gastronomique,
- qualité marchande.

1 - Qualité nutritive et hygiénique

La viande de poulet et celle des autres volailles ont les caractéristiques nutritionnelles

suivantes (Dupin et *al.*, 1992):

- digestibilité élevée due à une teneur en collagène réduite,
- richesse en protéines (tableau 1),
- faible teneur en graisse (localisée),
- teneur la plus élevée en acides gras insaturés de toutes les viandes (à égalité avec le lapin).

Ainsi, les viandes de volaille correspondent bien aux recommandations nutritionnelles actuelles et aux besoins de la vie moderne (Cheftel et Cheftel, 1982). Ces atouts contribuent à expliquer la part croissante prise par ces viandes dans la consommation carnée de toutes les régions du monde, au moins 15 % et même plus de 35 % aux USA et au Japon.

Tableau 1: Composition du produit frais des volailles (en pourcentage).

	Humidité	Protéines	Graisse	Matières minérales	Collagène* Protéines
Poulet :					
Escalope	74	23,5	1,5	1	2
Viande de cuisse sans peau	72,5	19	2,5	1	6,5
Peau	37,5	10,5	47,5	0,5	52
Dindon :					
Escalope	73,5	24	1,5	1,1	2
Viande de cuisse sans peau	73	21	5	1	6
Peau	39	11	52	0,5	56
Canard de Barbarie :					
Escalope sans peau	74	21	2	1,4	4,5
Escalope avec peau (magret)	61	17,5	19,5	1,2	17
Viande de cuisse sans peau	74	20,5	5	1,4	16,5
Peau	22	7	72	0,5	55

* Hydroxyproline x 7,5.

Source : Dupin et *al.*, (1992)

Sur le plan hygiénique, les réglementations de plusieurs pays en matière d'adjuvants de l'alimentation animale limitent très sérieusement le nombre des additifs utilisables et exigent des tests d'innocuité très sévères.

Seuls quelques antibiotiques sont autorisés en tant que facteurs de croissance à la condition qu'ils ne traversent pas la barrière intestinale et ne soient pas utilisés en thérapeutique humaine ou vétérinaire. Ainsi sont évités les risques de résidus ou de résistance.

2 - Qualité gastronomique

Les animaux jeunes possèdent un collagène peu structuré, ce qui confère plus de tendreté à la viande et plus de finesse à la peau, mais en même temps peut faciliter les pertes de substances aromatiques solubles lors de la cuisson. Ils présentent également une teneur en graisse plus faible notamment au niveau de la peau, concourant aussi à réduire une autre source de principes aromatiques. Le poulet jeune a donc naturellement une saveur plus discrète, mais il est par contre plus tendre (Dupin *et al.*, 1992).

Certaines souches de poulets ont l'aptitude de fixer dans leur peau les pigments jaunes naturels de leur nourriture (maïs, luzerne) D'autres ne peuvent le faire et restent blancs avec la même alimentation.

La couleur est en effet sous la dépendance de caractères génétiques. A un moindre titre, elle est influencée par l'état d'embonpoint une peau grasse masquant la couleur rose du muscle sous-jacent.

3 - Qualité sanitaire

Les volailles subissent généralement un échaudage suivi de la plumaison et éventuellement d'une première découpe (première transformation) ; selon le cas, d'autres découpes sont réalisées (deuxième transformation) ainsi qu'un désossage et diverses opérations (troisième transformation). Les volailles et les produits dérivés peuvent contenir des germes issus de la flore originelle de l'animal (*Salmonella*, *Campylobacter*).

Des contaminations sont favorisées par l'échaudage et la plumaison (pour cette raison, celle-ci se fait parfois «à sec»), par les germes intestinaux au moment de l'éviscération, par les manipulations et l'environnement : les germes les plus fréquents sont des *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* (*S. enteridis*), *Listeria*, des coliformes et des levures (Guiraud, 1998).

Les détériorations qu'ils provoquent sont généralement des altérations de surface lorsqu'il s'agit de produits peu ou pas découpés, ce qui ne favorise pas la pénétration des germes dans la viande. Dans les animaux entiers, la dégradation microbienne débute par la zone intestinale et se diffuse ensuite :

elle est le fait de germes psychrophiles *Pseudomonas*, *Brochothrix*, *Micrococcus*, etc., qui provoquent viscosité, pigmentations indésirables et odeurs désagréables. Dans le cas de produits plus transformés, on rencontre des altérations plus variées.

Les problèmes sanitaires sont liés aux germes pathogènes intestinaux (*Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter*, etc.) et à *S. aureus* ; les cas de listériose sont rares (Guiraud, 1998).

La décontamination des viandes de volaille peut se faire par des produits chimiques (pratique non autorisée dans certains pays), par cuisson ou par ionisation (dans le cas des viandes séparées mécaniquement) (Poly, 2005).

IV – Conseils pour le choix, la conservation et l'utilisation

Les volailles, comme toutes les viandes, doivent être conservées au froid (0-4 °C). Il faudra donc choisir des détaillants correctement équipés.

Une date limite de consommation figure obligatoirement sur l'emballage des volailles et produits de volailles frais. Une date limite de consommation est recommandée sur les produits congelés. En pratique, les dates limites de consommation des produits frais sont de 8 à 9 jours pour le poulet éviscéré et les découpes et de 6 à 7 jours pour les abats.

La marque commerciale, qu'elle soit celle d'un abattoir ou d'un distributeur, engage leur réputation. En ce sens elle est aussi une garantie supplémentaire.

Il est important de choisir un industriel sérieux apportant des garanties d'hygiène et un réseau de distribution bien équipé en froid et ponctuel.

Le poulet doit être placé au réfrigérateur en lui conservant son film plastique d'emballage car le professionnel l'a choisi pour son aptitude à protéger et conserver. Ainsi emballé, il ne prendra pas l'odeur d'autres produits voisins (Dupin et *al.*, 1992).

V - Prévalence des *Campylobacters* et des *Hélicobacters* chez les volailles

C. jejuni est une bactérie commensale de l'intestin de poulet. La bactérie colonise le mucus de la paroi intestinale de préférence dans le ceca et dans le petit intestin (Guiraud, 1998). En fonction de la souche et de ses relations avec le poulet, il a été démontré de façon expérimentale qu'un nombre restreint de bactéries était nécessaire à la colonisation des intestins (Poly, 2005). Après colonisation, *C. jejuni* peut être récupéré jusqu'à environ 10⁹ bactéries/g d'intestin.

Connaissant les méthodes utilisées pour l'élevage de poulet destiné à la consommation humaine, il est aisé d'imaginer la facilité de propagation de *C. jejuni* via le contact de la nourriture avec les excréments au cours du processus d'abattage (Poly, 2005). La plupart des cas de campylobactériose sont sporadiques, cependant des cas de manifestation de *C. jejuni* apparaissent chaque année dans le monde entier les points suivants sont à retenir (Megraud et al., 2003):

- La prévalence des *campylobacters* chez les volailles est variable selon les pays et la saison.
- Les données disponibles montrent que les volailles sont plus souvent porteuses de *Campylobacter* que les autres espèces animales.
- Les sources et les voies de contamination des poulets par cette bactérie restent mal connues, toutefois la transmission horizontale de *campylobacters* présents dans l'environnement de l'élevage semble être la voie principale.
- Les autres sources d'émission du danger peuvent être le lait non pasteurisé ainsi que les eaux non traitées et contaminées par la bactérie, les animaux domestiques et les oiseaux sauvages.
- *Campylobacter* n'étant pas pathogène pour la volaille, un traitement antibiotique préventif spécifique doit être proscrit car il serait probablement nocif, dans la mesure où il entraînerait la sélection de souches résistantes.
- Aucune donnée n concernant l'effet du transport sur la contamination des volailles n'est disponible, il est probable que cet effet soit limité.
- La contamination intestinale des poulets à leur arrivée à l'abattoir est la principale source de *campylobacters* sur les carcasses.
- Les volailles subissent différentes étapes qui participent à la diminution (échaudage, = refroidissement) ou à l'augmentation (plumaison, éviscération) du niveau de contamination par *Campylobacter*, ces effets étant variables selon les dispositions prises dans chaque abattoir.
- Le type de conditionnement (atmosphère modifiée, emballage sous vide) a également un impact sur la survie des *campylobacters*.

En fin, Malgré la relation phylogénique étroite entre *C. jejuni* et *Helicobacter pylori*, les similarités sont limitées aux gènes dits de ménage (55 %) alors que pour les gènes concernant la survie, la transmission et le pouvoir pathogène, les deux microorganismes ont peu de choses en commun. En particulier, un répertoire important de systèmes de régulation présent chez *C. jejuni* indique que cette bactérie peut être présente dans une variété plus grande de niches écologiques que *H. pylori* (Poly, 2005).

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 1 :
Matériels et Méthodes

Chapitre 1 : Matériels et Méthodes

L'ensemble de ce travail a été réalisé aux laboratoires de microbiologie et de biochimie de la faculté des sciences agronomiques et sciences biologiques, Université Hassiba Ben Bouali-Chlef, et au laboratoire des analyses médicales de la clinique médicochirurgicale EL-IHSEN - Chlef.

1/ Matériels

1.1 - Nature et origine des souches

Les deux souches *Helicobacter pylori* et de *Campylobacter jejuni* utilisées pour l'étude de la viabilité de ces deux espèces sont isolées et identifiées au laboratoire des entérobactéries vibrions de l'institut pasteur d'Alger (voir annexe 1), importées sous forme active en culture jeune et pure dans des boîtes Pétri de gélose au sang, sous un atmosphère microaerophile.

1.2 – la viande de volaille

Nous avons utilisés la viande de poulets comme matrice alimentaire pour la recherche ainsi que pour l'étude de la viabilité des deux espèces *Helicobacter pylori* et de *Campylobacter jejuni*.

Notre choix s'est porté sur la viande de poulet à cause de sa large consommation par rapport aux autres viandes de volailles.

1-3 - Réactifs chimiques

❖ VIDAS® Campylobacter (CAM)

Un coffret (de 30 Tests) contient :

30 cartouches CAM	STR	Prêtes à l'emploi. En polypropylène, elles sont composées de 10 puits recouverts d'une feuille d'aluminium scellée et étiquetée. L'étiquette comporte un code-barres reprenant le type de test réalisé et le numéro de lot utilisé. Le premier puits comporte une partie prédécoupée pour faciliter l'introduction de l'échantillon. Le dernier puits est une cuvette optique permettant la lecture en fluorimétrie. Les huit puits intermédiaires contiennent les différents réactifs nécessaires à l'analyse (voir description de la cartouche).
30 cônes CAM	SPR	Prêts à l'emploi. Ces cônes sensibilisés avec des anticorps spécifiques des antigènes de surface des <i>Campylobacter</i> , assurent la fixation de l'antigène et le transfert de liquides. Chaque cône est identifié. Ne sortir du sachet que le nombre de cônes nécessaires. Bien refermer le sachet après ouverture.
Standard CAM (1x6 ml)	S1	Antigène purifié et inactivé de <i>Campylobacter</i> + conservateur + stabilisant protéique.
Contrôle positif CAM (1x6 ml)	C1	Antigène de <i>Campylobacter</i> purifié et inactivé + conservateur + stabilisant protéique. Indice = l'intervalle de confiance est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Control C1 (+) Test Value Range". Antigène de <i>Campylobacter</i> purifié et inactivé + azoture de sodium 1 g/l + stabilisant protéique. Indice = intervalle de confiance indiqué sur l'étiquette du flacon
Contrôle négatif (1x6 ml)	C2	Tampon salin - Tween + conservateur. La valeur maximum acceptable du test est indiqué sur la carte MLE avec la mention "Control C2 (-) Test Value Range". TRIS - Na Cl - Tween 150 mmol/l pH 7,6 + azoture de sodium 1g/l.
1 Carte MLE		Fiche de spécifications contenant les données usine nécessaires à la calibration du test.
1 Notice		

Description de la cartouche CAM :

Puits	Réactifs
1	Puits échantillon : déposer 0,5 ml de bouillon d'enrichissement chauffé, de standard ou de contrôle.
2	Tampon de prélavage (400 µl): Tampon salin Tween (150 mmol/l) pH 7,6 + conservateur.
3.4.5-7.8-9	Tampon de lavage (600 µl): Tampon salin Tween (150 mmol/l) pH 7,6 + conservateur.
6	Conjugué (400 ul) ; Anticorps anti-Campy/obacter IgG marqués à la phosphatase alcaline + conservateur.
10	Cuvette de lecture avec substrat (300 ul) : 4-Méthyl-ombelliferyl-phosphate (0,6 mmol/l) + diéthanolamine* (DEA) (0,62 mol/l soit 6,6 %, pH 9,2) + conservateur.



a



b

Figure 9 : Photo a; cartouche VIDAS® *Campylobacter* (CAM) vue de face montre les 10 puits, Photo b; cartouche et cône VIDAS® *Campylobacter* (CAM) vue d'ensemble.

❖ Sachets générateurs d'atmosphère

Un coffret contient :

REF 96 125	GENbox microaer 10 sachets aluminium contenant chacun 1 générateur + 1 notice
------------	---



a

b

Figure 10 : Photo a; sachets générateurs d'atmosphère microaéroophile, Photo b; Un coffret de sachets générateurs d'atmosphère microaéroophile.

Les sachets générateurs d'atmosphère GENbox fonctionnent sans addition d'eau ni catalyseur (il n'y a pas de dégagement d'hydrogène). Les sachets générateurs GENbox microaer contiennent le charbon activé, ascorbate de sodium et autres composants organiques et inorganiques). Les compositions gazeuses obtenues dans la jarre (oxygène et dioxyde de carbone) sont ajustées par les quantités des composés chimiques absorbant l'oxygène et libérant du dioxyde de carbone contenu dans chaque sachet.

	Concentration en oxygène	Concentration en dioxyde de carbone
GENbox microaer	De 6,2 à 13.2% après 1 heure	De 2,5 à 9,5% après 24 heures

❖ Galerie API 20 E: un coffret de 100 tests (réf. 20 160) contient :

- 100 galeries API 20 E (4x25 galeries)
- 100 boîtes d'incubation
- 100 fiches de résultats
- 1 barrette de fermeture
- 1 notice

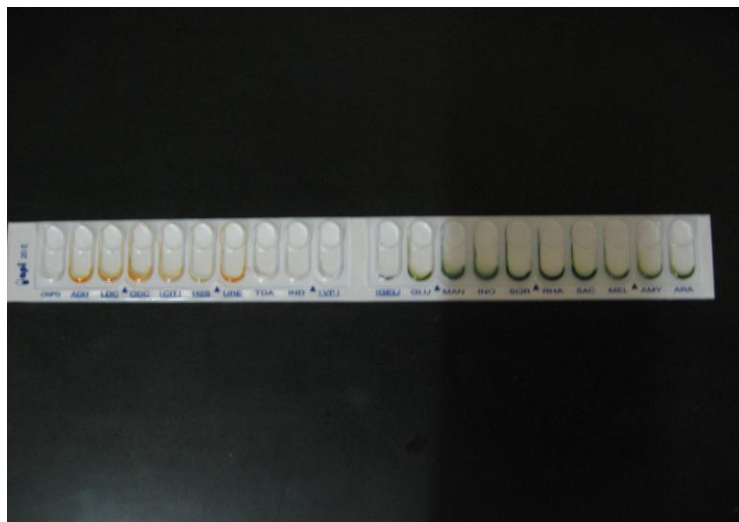


Figure 11 : Photo d'une Galerie API 20 E

❖ Solution physiologique de NaCl

Cette solution est utilisée comme diluant. Elle est préparée comme suit :

Dissoudre 9g de chlorure de sodium (NaCl) dans un litre d'eau distillée. Répartir dans des tubes ou des flacons et ensuite, stériliser à 121-124 °C à l'autoclave pendant 15-18 minutes.

❖ réactifs individuels ;



Figure 12 : Photo de quelques réactifs individuels utilisés.

- TDA (Réf. 70 402)
- JAMES (Réf. 70 542)
- VP 1 + VP 2 (Réf. 70 422)
- NIT 1 + NIT 2 (Réf. 70 442)
- poudre de Zn (Réf. 70 380)
- disque d'Oxydase (Réf. 55 635)

- Huile de paraffine (Réf. 70 100)
 - *HCl* Acide chlorhydrique concentré (référence : pureté 37 %, d = 1.19).
 - *NaOH* Hydroxyde de sodium concentré (référence : 1 N)
 - *huile à émersion* (référence : D-35530)
 - H_2O_2 (eau oxygénée) à 10 V
 - Hippurate de sodium
 - Hydrogénophosphate disodique dihydraté
 - Dihydrogénophosphate monosodique monohydraté
 - ninhydrine
 - butanol
 - acétone
- ❖ Suppléments antibiotiques (réf : OXOID) : Cefoperazone, Vancomycine, triméthoprimine, Cycloheximide.
 - ❖ Disques d'antibiotiques (réf : biomérieux) Acide nalidixique 30 µg ; Céfaloine 30 µg.

1-4 - Milieux de culture

- Géloses au sang (réf : laboratoire FARABI d'Alger) dépourvues d'antibiotiques: géloses dont la base Columbia agar est additionnée de 5 à 15 % de sang stérile de cheval.(voir annexe 2).
- Gélose Preston : est un milieu sélectif solide dont la base Columbia agar (réf : laboratoire FARABI d'Alger) est additionné de 5 à 15 % de sang stérile de cheval (réf : institut pasteur d'Alger) et un mélange d'antibiotiques, les plus classiques étant représentés par la vancomycine, le triméthoprimine, la polymyxine B ou l'amphotéricine B (voir annexe 2).
- gélose Mueller-Hinton : (réf : institut pasteur d'Alger)
- Bouillon Preston : il s'agit du même milieu gélose Preston, mais sans addition d'agar-agar.
- Bouillon *Brucella* (réf : institut pasteur d'Alger).
- Milieu TSI ou « Triple Sugar Iron », ou gélose au citrate de fer et aux trois sucres contenant en particulier des sels de fer
- milieu Urée-Indol (réf : laboratoire DIMED d'Alger)

Fabrication et conservation des géloses : ces géloses sont préparées extemporanément et utilisées le plus rapidement possible. L'utilisation de géloses trop anciennes peut rendre aléatoire la croissance des bactéries.

1-5 – Equipements de laboratoire:

- ❖ Les jarres d'incubation: GENbox Jar 2.5 L (Réf. 96 127)



Figure 13 : Photo d'une jarre d'incubation

- ❖ l'instrument mini VIDAS®



Figure 14 : Photos de l'instrument mini VIDAS blue face

- ❖ Pipette à usage unique.
- ❖ Bain marie (95-100°C)
- ❖ agitateur type Vortex.
- ❖ Divers tubes à hémolyse,
- ❖ Gants stériles
- ❖ Equipement général de laboratoire de bactériologie

2/ Méthodes :

2.1– recherche d'*Helicobacter pylori* et de *campylobacter jejuni* dans les échantillons prélevés

2.2.1- échantillonnage

35 carcasses de Poulets sont prélevées au hasard à partir de sept points de vente à raison de 5 poulets par prélèvement. Ces points de vente sont représentés par:

- Trois abattoirs de poulets; ces abattoirs font a la fois l'abattage des poulets et la vente aux détaillons et aux consommateurs.

- Quatre magasins de vente en détail de viande de volaille.

2.2.2 - Recherche par la méthode classique de référence:

A - Techniques d'isolement

☞ Isolement direct sur gélose

En général, 25 grammes de (muscle pectoral, peau du bréchet, foie ou cœur de volailles) sont prélevés. L'échantillon est mélangé à du *bouillon Preston*, à raison de x (masse) pour la prise d'essai et 9 x pour le bouillon. L'échantillon est alors broyé et des dilutions successives jusqu' à 10^{-5} sont réalisés (figure 15).

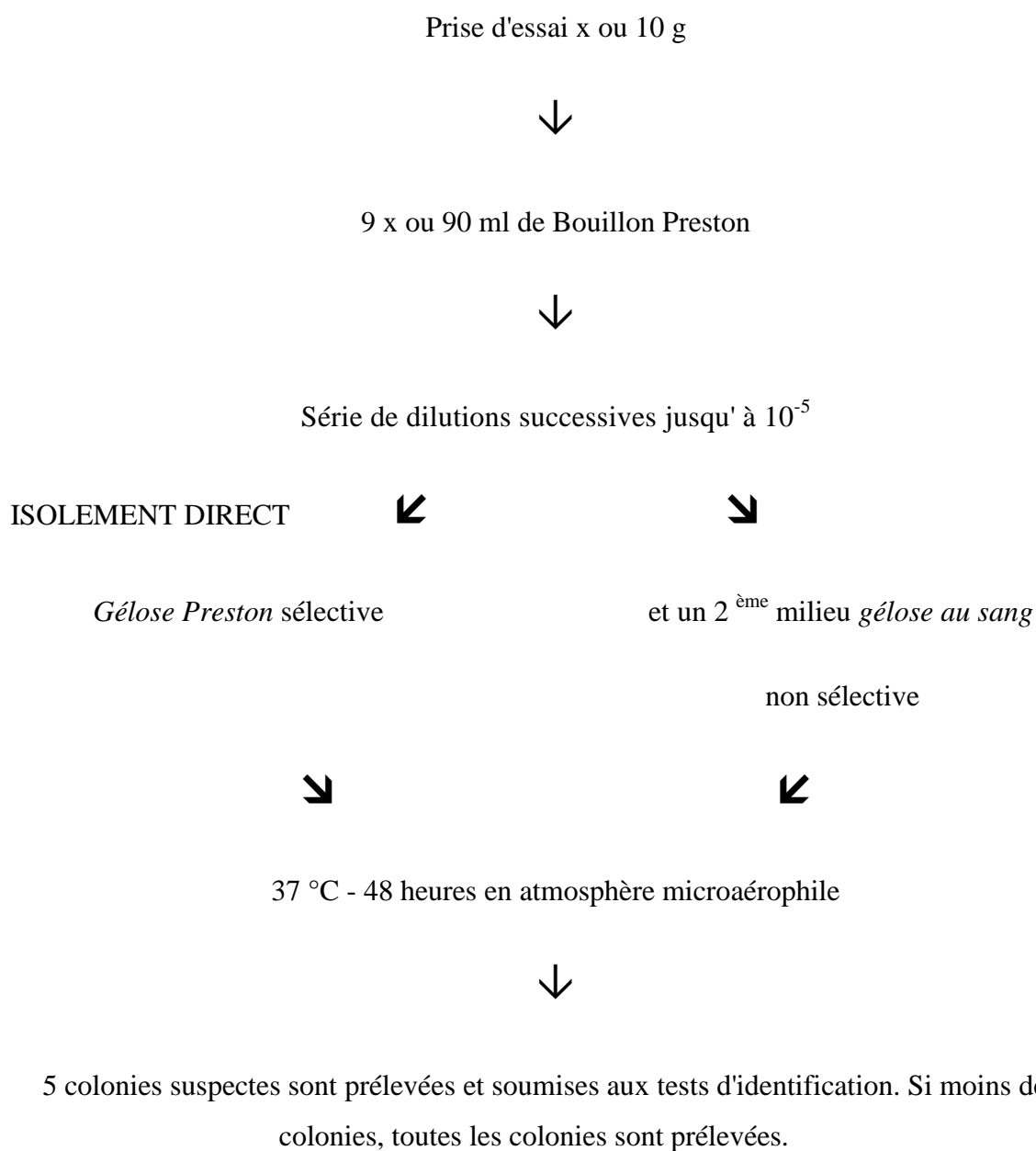


Figure 15 : Diagramme du protocole d'isolement direct de *Campylobacter* et d'*Helicobacter* sur gélose.

Pour chaque dilution 0,1 ml sont déposés sur deux géloses différentes:

- une gélose au sang sélective: gélose *Preston*,
- et une gélose non sélective: *gélose au sang*.

L'incubation, de 3 boîtes de chaque milieu par dilution, est réalisée à 37 °C, en jarre avec sachet générateur d'atmosphère microaérophile (figure 16), pendant 48 heures. Chaque boîte peut être observée après 24 h d'incubation.



Figure 16: incubation réalisée à 37 °C, en jarre avec sachet générateur d'atmosphère microaérophile.

☞ Isolement après enrichissement

Cette technique consiste à utiliser du bouillon Preston. L'incubation des échantillons dans ce milieu est suivie de l'inoculation sur une gélose sélective et une gélose non sélective d'isolement. Ces géloses sont identiques aux milieux d'isolement direct (figure 17).

B - techniques d'identification

☞ Lecture

Pour ouvrir la jarre (après incubation) : Déclipser alternativement vers le haut les 2 systèmes opposés ; d'abord A et A' puis B et B'. Soulever doucement un coin du couvercle (angle droit) pour faire entrer l'air et évacuer les gaz. Enlever ensuite complètement le couvercle.

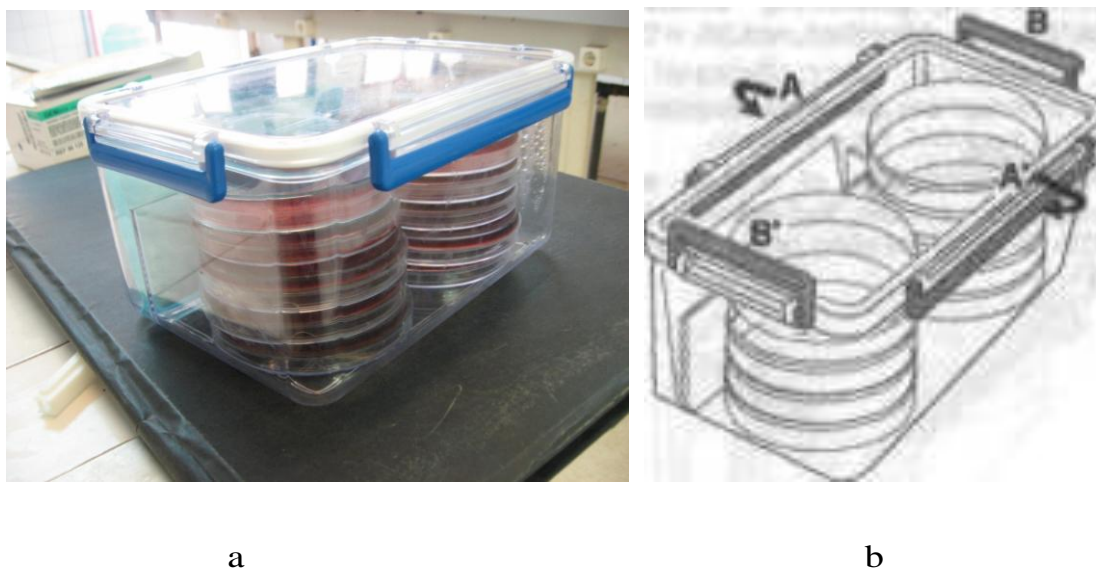


Figure 18: a; photo d'une jarre avec boîte Pétri après incubation, b; schéma de fermeture et d'ouverture des jarres.

Après usage, sortir le générateur GENbox anaer de la jarre et le laisser refroidir à température du laboratoire.

Après ouverture des jarres, les colonies seront observées à la loupe en raison de leur petite taille et à jour frisant.

Après ouverture de la jarre et examen des cultures, si une seconde incubation est nécessaire, on utilise des générateurs neufs.

☞ Repiquage et purification des souches

Les colonies suspectes sont repiquées sur une gélose au sang non sélective (*gélose Columbia au sang*).

Après inoculation, les milieux seront placés dans une jarre avec un sachet générateur d'atmosphère microaérophile et incubés 48 h à 37 °C. Ce repiquage a pour but la purification des souches obtenues.

Après purification les souches sont soumises aux tests d'identification.

☞ Les tests d'identification :

Toutes colonies suspectes sont soumises, après purification, aux tests d'identification suivants:

- *Aspects des colonies* : les colonies sont observées à la loupe ;

Les colonies *d'H. pylori* sont de petite taille, de 1 à 2 mm de diamètre, non pigmentées, translucides et isolées

Pour les *Campylobacter*, il en existe deux aspects: des colonies caractéristiques de petite taille, transparentes qui se ressemblent aux colonies *d'H. pylori*, ou parfois des colonies envahissantes apparaissent en 48 heures sur milieu solide comme un film transparent ou grisâtre (figure 19).

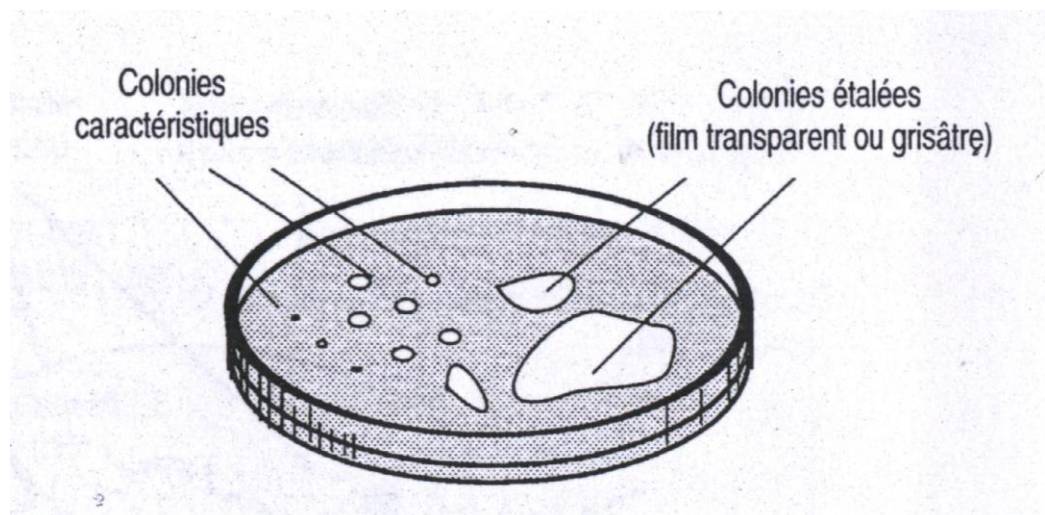


Figure 19 : Représentation schématique des colonies de *C. jejuni* sur gélose au sang.

- *Aspects des Campylobacters et H. pylori au microscope* : Deux examens microscopiques sont réalisés ;

- ✓ examen à l'état frais a immersion,
- ✓ un examen après coloration de *gram*.

En état frais, *C. jejuni* présente une mobilité en vol de moucheron, avec des mouvements saccadés, des frétilllements. Cette mobilité est différente de celle de *Pseudomonas* (trajets rectilignes et brusques changements de direction). Et de celle d' *H. pylori* qui présente des mouvements ondulatoires.

En coloration de Gram, les deux bactéries présentent deux aspects selon l'âge des cultures;

Un aspect d'une forme vibronnaire, caractéristique des cellules des cultures jeunes:

- *H. pylori* présente une forme vibronnaire en fer à cheval caractéristique.
- *C. jejuni* présente une forme vibronnaire en S ou en virgule.

Et un deuxième aspect d'une forme coccoïdes, arrondie, caractéristique des cultures âgées et correspond à la forme dégénéscente. La seule véritable difficulté réside dans la lecture de la coloration de *Gram*. La forme vibronnaire est facile à identifier, mais les formes coccoïdes sont plus délicates à reconnaître. Elles peuvent être confondues avec des bactéries coccoïdes (parfois), des taches de colorant (souvent) (figure 20).

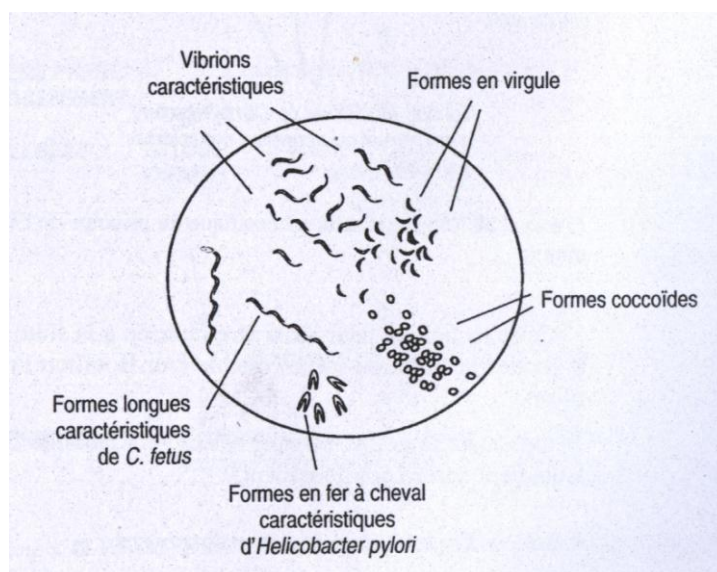


Figure 20 : Représentation schématique de l'aspect de *C. jejuni* et d' *H. pylori* en coloration de Gram.

- *Tests d'identification biochimique :*

Les tests biochimiques d'identification d' *H. pylori* sont représentés surtout par la recherche d'une uréase rapide.

A ce test on ajoute ;

- Le test de l'oxydase,
- La recherche de la catalase

H. pylori est positif pour les trois tests.

Les tests d'identification des *campylobacter* sont réunis ici ;

- ✓ Test de l'oxydase
- ✓ Recherche de la catalase
- ✓ Tests de croissance à 25 ° C (2 à 5 jours)
- ✓ Tests de croissance à 37° C
- ✓ Tests de croissance à 42° C
- ✓ Production d'H₂S sur TSI (5 jours)
- ✓ Hydrolyse de l'hippurate
- ✓ Sensibilité aux antibiotiques (Acide nalidixique et céfalotine)

➔ Méthode de réalisation des tests :

Les tests d'identification biochimique sont réalisés comme suit ;

- *Recherche d'une uréase rapide :*

Test caractéristique à l' *H. pylori* au quel toutes les colonies suspectes sont soumises. Ce test est réalisé comme suit :

5 à 6 colonies d'une culture pure sont émulsionnées avec une goutte du milieu urée-indol sur une lame, si le germe est uréase rapide positif une coloration rose doit apparaître au bout de quelques secondes.

H. pylori est uréase rapide positif.

- *Test de l'oxydase :*

La présence de cette enzyme se manifeste par une coloration violette, après avoir déposé avec une pipette Pasteur boutonnée un fragment de colonie, sur un disque imprégné de tétraméthylparaphénylènediamine.

H. pylori et *Campylobacter* sont « oxydase positive ».

- *Recherche de la catalase :*

Après avoir déposé avec une pipette Pasteur boutonnée un fragment de colonie, sur une goutte d'eau oxygénée à 5 %. La présence de la catalase est révélée par un dégagement de gaz (= effervescence).

H. pylori, *Campylobacter jejuni/coli* et *Campylobacter fetus* sont « catalase positive ».

- *Tests de croissance à 25 °C, 37 °C, 42 °C :*

Après inoculation, les milieux (gélose au sang) sont placés avec un sachet générateur d'atmosphère microaérophile en étuve aux températures ci-dessus.

- *Campylobacter jejuni/coli* se développe à 37 °C et 42 °C
- C, mais pas à 25 °C.
- *Campylobacter fetus* se développe à 37 °C et 25 °C mais pas à 42 °C.

- *Production d'H₂S sur TSI :*

Le milieu TSI estensemencé sur la pente et dans le culot.

Le noircissement du milieu ou son jaunissement signeront respectivement la production d'hydrogène sulfuré et la fermentation des glucides avec acidification du milieu.

Campylobacter est en général H₂S négatif (-).

Ces deux derniers tests (croissance à différentes températures et production d'H₂S sur milieu TSI) peuvent être réalisés simultanément.

- Recherche de l'hydrolyse de l'hippurate

Ce test correspond à la mise en évidence de l'hydrolyse de l'hippurate de sodium en glycine (et en acide benzoïque) par les souches de *Campylobacter*. Il est dérivé de celui qui est habituellement utilisé pour l'identification des souches de streptocoques.

La présence de glycine est révélée par l'addition de ninhydrine (coloration violette soutenue). Il permet de mettre en évidence la présence d'une hippuricase.

Le matériel nécessaire à ce test correspond à :

- une solution d'hippurate de sodium à 10 % (dans un tampon PBS ou phosphate salin) :

Hippurate de sodium	10 g
NaCl	8,5 g
Hydrogénophosphate disodique dihydraté	8,98 g
Dihydrogénophosphate monosodique monohydraté	2,71 g
Eau	Q.S.P. 11

La solution d'hippurate sera stérilisée par filtration et répartie dans de petits tubes à hémolyse, conservés à - 20 °C.

- Une solution de ninhydrine composée de 3,5 g de ninhydrine dans 100 ml d'un mélange à parties égales de butanol et d'acétone.

Ce test est réalisé en tubes, le germe est inoculé dans la solution d'hippurate de sodium en quantité suffisante pour provoquer une réaction d'intensité convenable.

La glycine est révélée par addition de 5 gouttes de ninhydrine dans la suspension après incubation à 37 °C / 2 heures du tube d'hippurateensemencé.

- *Campylobacter jejuni* est « hippurate positive» (+) (coloration violette profonde).

- *Campylobacter coli* est « hippurate négative» (-) (aucune coloration ou coloration faiblement violette).

- *Sensibilité aux antibiotiques* (figure 21)

L'antibiogramme est réalisé par la méthode des disques et permet de rechercher la sensibilité des souches à l'acide nalidixique et au céfalotine. La composition de ces disques est la suivante :

- Acide nalidixique 30 μg ;
- Céfalotine 30 μg .

On réalisera une suspension laiteuse de la souche qui sera versée sur une gélose au sang.

La gélose au sang servant de milieu pour ce test est composée d'une gélose Mueller-Hinton.

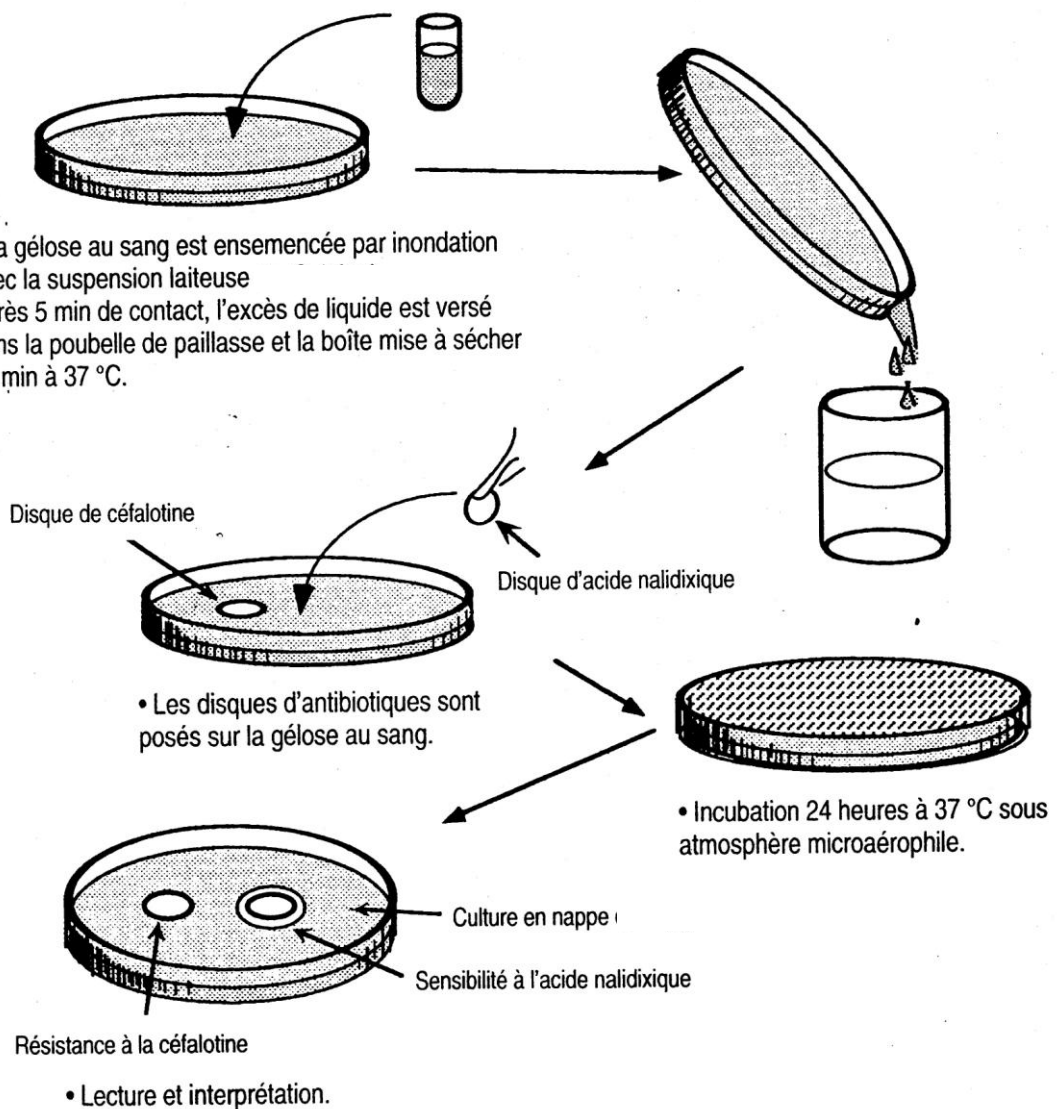


Figure 21 : Représentation schématique de la détermination de la sensibilité de *Campylobacter* à deux antibiotiques.

La lecture est effectuée de la manière suivante :

- souche au contact du disque = souche résistante à l'antibiotique
- zone d'inhibition = souche sensible.

Caractères différentiels des souches :

L'identification des souches isolées sera fondée sur la classification biochimique qui figure dans le tableau 2.

Tableau 2 : Caractères principaux des espèces de *Campylobacter*.

	<i>C. jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. fetus</i>
	Biotype 1	Biotype 2			
Croissance à 25 °C	-	-	-	-	+
Croissance à 42 °C	+	+	+	+	-
Résistance à l'acide nalidixique	S	S	S	R	R
Résistance au Céfalotine	S	S	R	(R)	S
Hydrolyse de l'hippurate	+	+	-	-	-
Production d'H ₂ S en présence de fer	-	+	(+)	+	-
H ₂ S/SIM	-	-	-	-	-

R = Résistant à l'antibiotique, S = Sensibilité
(+) signe un caractère faiblement positif.

- *Galerie API 20 E*

Une galerie API 20 E est réalisée pour les souches possédant des caractères qui se concordes avec les caractères des *campylobacter* dans le but de confirmer les différentes espèces trouvées.

Cette galerie n'est pas spécifique aux *campylobacter* mais nous permet de mettre en évidence des caractères biochimiques suivants:

- L'utilisation des sucres surtout le glucose.
- la réduction des nitrates.
- présences d'uréase.
- utilisation du citrate.

Les puits d'une galerie sont inoculés par une même souche pure.

L'incubation est réalisée à 37 °C, en jarre avec sachet générateur d'atmosphère microaérophile, pendant 48 heures. Chaque galerie peut être observée après 24 h d'incubation.

2.2.3 - Recherche des *Campylobacter* par la méthode VIDAS CAMPYLOBACTER (CAM)

Dans notre travail cette méthode est utilisée en parallèle avec la méthode de référence.

☞ - Définition de VIDAS : Vitek Immuno Diagnostic Assay System.

La technologie utilisée, applicable à de nombreux paramètres est la combinaison de la méthode ELISA avec une lecture finale en fluorescence : c'est la technologie **ELFA**. (ELFA = Enzyme Linked Fluorescent Assay). L'enzyme utilisée pour la gamme VIDAS est la phosphatase alcaline. Le substrat est la 4-méthyl ombelliféryl phosphate (4-MUP) qui est hydrolysée en 4-méthyl ombélliférone (4-MU). L'ombélliférone a la propriété de rémettre la lumière à 450 nm après excitation à 370 nm.

☞ - Principe :

VIDAS *Campylobacter* est un test immunoenzymatique permettant la détection d'antigènes de *Campylobacter* par la méthode ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) grâce au système automatisé VIDAS.

Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage pour le test. L'intérieur du cône est recouvert d'anticorps *anti-Campylobacter* adsorbés sur sa surface. Les autres réactifs sont prêts à l'emploi et sont pré-répartis dans la cartouche.

Toutes les étapes sont réalisées automatiquement par le module analytique VIDAS. Une aliquote du bouillon d'enrichissement thermisé est placée dans la cartouche et subit un

cycle d'aspiration/refoulement dont la durée a été spécifiquement calculée pour activer la réaction. Les antigènes présents dans le milieu vont se fixer sur les anticorps *anti-Campylobacter* de l'intérieur du cône. Les éléments restés libres sont éliminés par lavage. Ensuite, les anticorps conjugués marqués à la phosphatase alcaline sont aspirés/refoulés dans

le cône et vont se fixer sur les anticorps de la paroi du cône. De nouvelles étapes de lavage éliminent le conjugué non fixé. Un substrat, la 4 méthyl-ombelliferylphosphate est introduit dans le cône. L'enzyme restant sur les parois du cône catalyse alors la transformation du substrat en un produit fluorescent : la 4 méthyl-ombelliférone. L'intensité de la fluorescence est mesurée par le système optique du VIDAS à 450 nm.

À la fin du test, les résultats sont analysés automatiquement par l'ordinateur qui fournit une valeur test pour chaque échantillon. Cette valeur est comparée à des références internes (seuils) et chaque résultat est interprété (positif ou négatif)

- Protocole

Préparation des échantillons :

La préparation des échantillons est une étape d'enrichissement qui est la même utilisée pour la méthode de référence.

Le protocole suivant est recommandé (figure 22) :

Ajouter aseptiquement 25 g (ou 25 ml) de l'échantillon à 225 ml du bouillon de Preston *sans agar*. Homogénéiser et incuber 48 ± 2 heures à 37 °C en microaérophilie.

Après incubation, transférer 1 à 2 ml du bouillon d'enrichissement dans un tube et chauffer au bain marie à 95-100 °C pendant 15 ± 1 minutes. Ramener les tubes à la température du laboratoire, puis homogénéiser soigneusement à l'aide d'un agitateur de type vortex pour casser le caillot formé, avant de transférer 0,5 ml dans la cartouche VIDAS® CAM. Conserver le bouillon restant non chauffé à 2 – 8 °C pour confirmation en cas de résultat positif (voir paragraphe confirmation des résultats positifs).

La confirmation des échantillons présumés positifs se fera par isolement sur les milieux sélectifs décrits dans la méthode de référence.

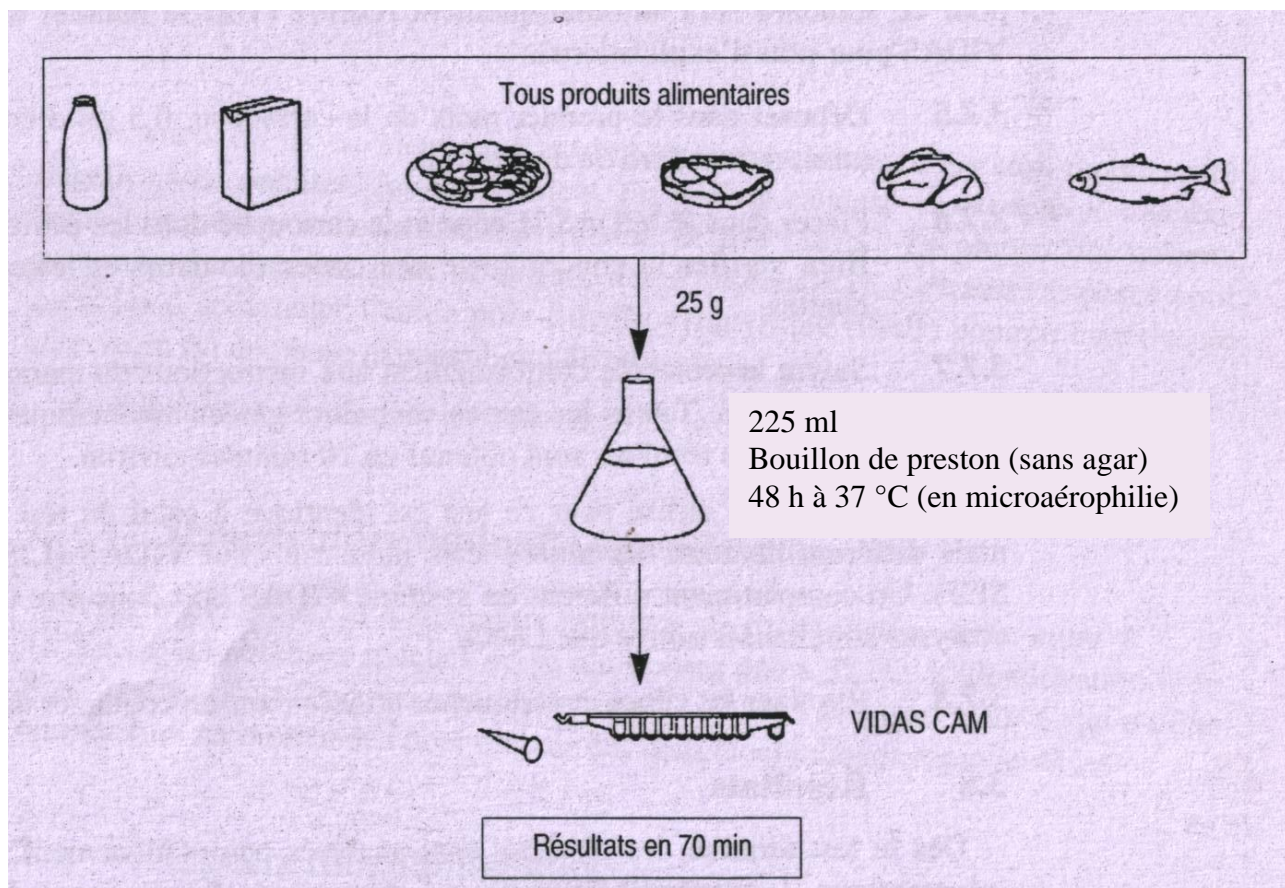



Figure 22 : Détection de *Campylobacter* VIDAS CAM. Protocole d'enrichissement recommandé.

 - Mode opératoire

Saisie des données de la carte MLE (Master Lot Entred)

A l'ouverture d'un nouveau lot, les spécifications (ou données usine) doivent être entrées dans l'instrument mini VIDAS® à l'aide de la carte MLE (fiche de spécifications) (figure 23) incluse dans chaque coffret. Si cette opération n'était pas effectuée avant de commencer les tests, l'instrument ne pourrait pas éditer de résultats. Ces spécifications ne sont entrées qu'une seule fois pour chaque lot.

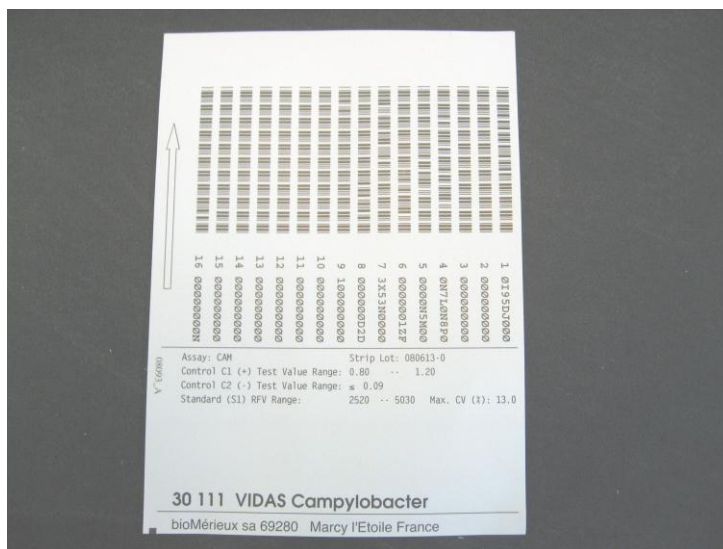


Figure 23 : la carte MLE (fiche de spécifications du lot) montrant les 16 codes barres.

Il est possible de saisir les spécifications manuellement ou de façon automatique grâce à la carte MLE.

Calibration

La calibration, à l'aide du standard fourni dans le coffret, doit être effectuée à l'ouverture de chaque nouveau lot après entrées des spécifications du lot (carte MLE) puis tous les 14 jours. Cette opération permet d'ajuster la calibration à chaque instrument et à l'évolution éventuelle du réactif dans le temps.

Le standard, identifié par S1, sera analysé en double. La valeur du standard doit être comprise dans les limites de RFV f (Relative Fluorescence Value) fixées. Si ce n'est pas le cas, refaire une calibration.

Réalisation du test

1. Sortir uniquement les réactifs nécessaires, les laisser 30 minutes à température ambiante avant utilisation.

2. Utiliser une cartouche " CAM " et un cône " CAM " pour chaque échantillon, contrôle ou standard à tester vérifier que le sachet de cônes a bien été refermé après chaque utilisation.

3. Taper ou sélectionner " CAM " sur l'instrument pour entrer le code du test. Le standard identifié obligatoirement par "S1", doit être utilisé en double. Si le contrôle positif

doit être testé, il sera identifié par "C1". Si le contrôle négatif doit être testé, il sera identifié par C2.

4. Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex le standard, les contrôles et le/les échantillon(s) chauffé(s).

5. Distribuer 500 μL de standard, d'échantillon ou de contrôle dans le puit échantillon.

6. Placer dans l'instrument les cônes et les cartouches. Bien vérifier la concordance des codes (couleurs et lettres) entre le cône et la cartouche.

7. Démarrer l'analyse. Toutes les étapes sont alors gérées automatiquement par l'instrument. Les résultats sont obtenus en 70 minutes

A la fin de l'analyse, retirer les cônes et les cartouches de l'instrument.

9. Eliminer les cônes et cartouches utilisés dans un récipient approprié.

- Résultats et interprétation

Dès le test terminé, les résultats sont analysés automatiquement par le système informatique.

L'instrument effectue deux mesures de fluorescence dans la cuvette de lecture pour chacun des tests.

La première lecture prend en compte le bruit de fond dû à la cuvette substrat avant mise en contact du substrat avec le cône.

La seconde lecture est effectuée après incubation du substrat avec l'enzyme présente dans le cône.

Le calcul de la RFV (Relative Fluorescence Value) est le résultat de la différence des deux mesures. Il apparaît sur la feuille de résultats (figure 24).

La RFV obtenue pour chaque échantillon est interprétée par le système VIDAS[®] de la manière suivante : Valeur du test = RFV échantillon / RFV standard

Seuil et interprétation des résultats:

Valeur du test	Interprétation
<0,1	Négatif
> 0.1	Positif

```
-----  
      mini VIDAS Rapport  
      LABORATOIRE EL-IHSSENE  
      Compartiment: A  
Terminé: 23:59:44 02sep07  
      Campylobacter (CAM)  
Ver: R5.2.0  
Lot: 080613-0  
      Cal. utilisé:  
      Terminé: 00:49:14 19ao007  
      RFV = 4383  
VT Négatif < 0.10  
VT Positif >= 0.10  
-----  
Position: A1  
ID échant.: 28  
Bruit fond: 166 RFV: 6278  
VT: 1.43 Résultat: Positif  
  
Position: A2  
ID échant.: 29  
Bruit fond: 158 RFV: 580  
VT: 0.13 Résultat: Positif  
  
Position: A3  
ID échant.: 30  
Bruit fond: 161 RFV: 1970  
VT: 0.44 Résultat: Positif  
  
Position: A4  
ID échant.: 31  
Bruit fond: 160 RFV: 1098  
VT: 0.25 Résultat: Positif  
  
Position: A5  
ID échant.: 32  
Bruit fond: 159 RFV: 211  
VT: 0.04 Résultat: Négatif  
  
Position: A6  
ID échant.: 33  
Bruit fond: 161 RFV: 198  
VT: 0.04 Résultat: Négatif  
-----
```

Figure 24 : exemple du résultat imprimé par le module mini VIDAS à la fin de chaque test.

Sont imprimés sur la feuille de résultats :

- le type de test,
- l'identification de l'échantillon,
- la date et l'heure,
- le numéro de lot et la date de péremption du coffret,
- la RFV, la valeur test et l'interprétation des résultats pour chaque échantillon.

Un résultat avec une valeur test inférieure à la valeur seuil indique un échantillon avec des antigènes *Campylobacter* indétectables.

Un résultat avec une valeur test supérieure à la valeur seuil indique un échantillon contaminé. En ce cas, il faut confirmer le résultat en utilisant le bouillon d'enrichissement conservé à 2 – 8 °C.

Un résultat invalide peut apparaître :

- lorsque la lecture du bruit de fond est supérieure à un certain seuil pré-déterminé (indiquant une contamination du substrat) ; Dans ce cas, répéter l'essai avec le bouillon chauffé ou le réactif utilisé.

- lorsqu'il n'y a pas de standard enregistré pour le numéro de lot indiqué sur la cartouche ; dans ce cas, effectuer une calibration en double avec des cartouches portant le même numéro de lot que le test invalide. Le résultat peut alors être recalculé à l'aide de ces nouveaux standards enregistrés.

- Contrôle de qualité

Un contrôle positif et un contrôle négatif sont inclus dans chaque coffret VIDAS® CAM. Ces contrôles doivent être utilisés à l'ouverture de chaque nouveau coffret afin de vérifier l'absence d'altération des réactifs.

Chaque calibration doit être également vérifiée à l'aide de ces contrôles. Pour que l'instrument puisse vérifier la valeur des contrôles, il faut les identifier par C1 et C2. Si la valeur des contrôles s'écarte des valeurs attendues, les résultats ne peuvent être validés.

- Performances

Trois espèces pathogènes de *Campylobacter* sont détectés par le kit VIDAS CAM : *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*.

- Confirmation des résultats positifs

Tout résultat positif obtenu avec VIDAS® CAM doit être confirmé.

La confirmation se fait à partir du bouillon Preston non chauffé conservé à 2 – 6 °C. Par isolement sur géloses décrites dans la méthode de référence (isolement après enrichissement).

La méthodes de références nous permette de confirmer les résultats ainsi que l'identification des espèces en cause parmi les trois espèces : *C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari* détecté par le kit VIDAS CAM.

Dans notre travail les deux méthodes sont réalisées en parallèle. Donc le même bouillon d'enrichissement utilisé pour l'isolement par la méthode de référence est utilisé pour la méthode VIDAS[®] CAM.

Alors, pour chaque échantillon il suffit de comparer les résultats des deux méthodes.

2.2 - Étude de la viabilité du *Campylobacter jejuni* et d'*Helicobacter pylori* dans les viandes des volailles:

Pour cette étude nous avons utilisé une souche d'*Helicobacter pylori* et une souche de *Campylobacter jejuni* ces deux souches sont isolées et identifiées au laboratoire des entérobactéries vibrions de l'institut pasteur d'Algérie (voir annexe 1), importées sous forme active en culture jeune et pure dans des boîtes Pétri de gélose au sang, sous un atmosphère microaérophile.

La viabilité des deux espèces est étudiée pour trois intervalles de température:

- Température ambiante: 20 à 25 °C.
- Température de réfrigération: 4 °C ± 2 °C.
- Température de congélation: -18 °C ± 1 °C.

La durée de suivi de la viabilité des deux souches variée en fonction de la température d'entreposage des échantillons. Et le protocole expérimentale reste le même pour les deux souches.

Pour cela et pour chaque souche 96 échantillons de 25 g ont été artificiellement contaminés par une suspension bactérienne d'une charge maximale de 10⁹ germe/ml.

Juste après l'inoculation, et pour chaque souche, trois échantillons sont analysés par un dénombrement des cellules viables et cultivables, dans le but de déterminer la charge bactérienne initiale des deux souches dans les échantillons artificiellement contaminés.

✱ Viabilité à température ambiante (20 à 25 °C):

Pour cette température, la viabilité est suivie pendant seulement 48 h; cette durée correspond au double de la durée maximale d'entreposage de la viande de poulet à cette température.

Alors, parmi les 96 échantillons artificiellement contaminés, 12 échantillons seulement sont conservés à cette température, et trois échantillons sont analysés chaque 12 h par un dénombrement des cellules qui restent viables et cultivables.

✱ Viabilité à température de réfrigération (4 °C ± 2 °C):

La viabilité est suivie pendant 15 jours; cette durée correspond au 3/2 de la durée maximale d'entreposage de la viande de poulet à cette température.

Pour cela 45 échantillons des 96 échantillons artificiellement contaminés sont conservés à cette température, et trois échantillons sont analysés chaque jour par un dénombrement des cellules qui restent viables et cultivables.

✱ Viabilité à Température de congélation (-18 °C ± 1 °C):

Pour cette température, la viabilité est suivie pendant 2 mois.

36 échantillons des 96 échantillons artificiellement contaminés sont conservés à cette température, et trois échantillons sont analysés tous les 5 jours par un dénombrement des cellules qui restent viables et cultivables.

✱ **Techniques de dénombrement**

Tous les échantillons sont traités de la même manière. Nous en donnerons seulement le principe, étant donné que la technique utilisée pour le dénombrement est idem à la technique d'isolement direct sur gélose sélective (figure 25).

L'échantillon (prise d'essai de 25 g) est mélangé à du *bouillon Preston*, à raison de x (masse) pour la prise d'essai et 9 x pour le bouillon.

L'échantillon est alors broyé et des dilutions décimales successives jusqu' à 10^{-7} sont réalisés.

0,1 ml du contenu de chaque bouillon *Preston* ainsi que leurs dilutions décimales sont inoculés par étalement sur une gélose *Preston* à raison de trois boîtes de Pétri par tube de dilution.

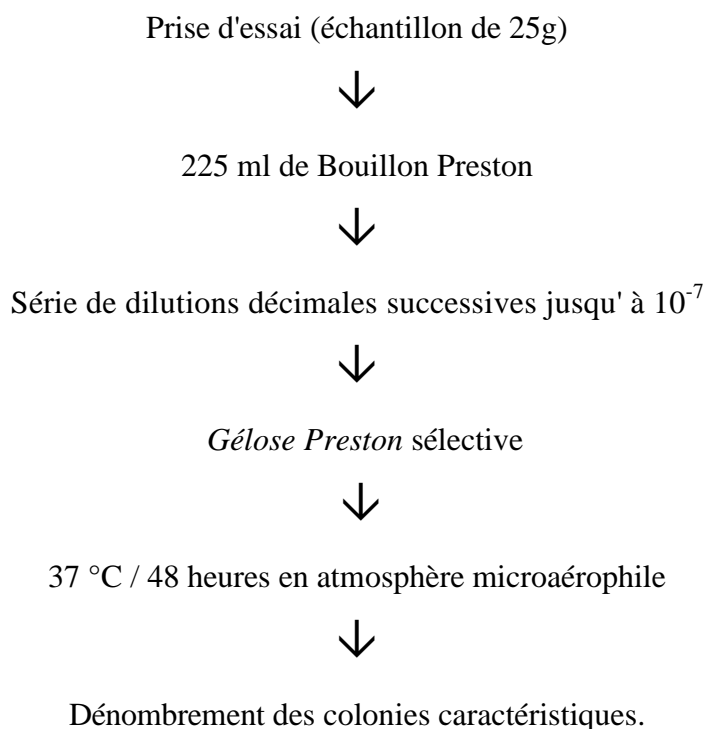


Figure 25: Diagramme du Protocole de dénombrement de *Campylobacter* et d'*Helicobacter* sur gélose.

L'incubation est réalisée à 37 °C, en jarre avec sachet générateur d'atmosphère microaérophile, pendant 48 heures. Chaque boîte peut être observée à 24 h de culture.

Après incubation, les colonies de *Campylobacter* sont comptées sur les boîtes de Pétri.

La concentration de *C. jejuni* dans l'échantillon est calculée en multipliant le nombre de colonies par l'inverse de la dilution et de l'inoculum (0,1 ml).

Pour *Helicobacter pylori* les colonies caractéristiques sont soumises à un test d'uréase rapide pour confirmer qu'il ne s'agit pas de colonies de *campylobacter* qui peut exister naturellement sur les échantillons de viande de poulet.

* Calcul et expression des dénombrements

Si m est la concentration de *Campylobacter* par ml ou par gramme de substrat, N_i le nombre total de colonies comptées sur les géloses, C_i les différentes dilutions, n_i le nombre de boîte par dilution :

$$m = \frac{N_i}{\sum C_i * n_i} \text{ Campylobacter/ml}$$

Nous rappelons que le protocole expérimentale utilisé pour le dénombrement d'*Helicobacter pylori* est le même utilisé pour *Campylobacter jejuni*. Donc l'expression des résultats reste la même.

2.3 - Étude des risques d'infection:

Cette étude a pour but de mettre en évidence les risque d'infection de l'homme par les deux espèces pathogènes: *Helicobacter pylori* et *Campylobacter jejuni* contenues dans des viandes de poulet artificiellement contaminées.

Pour cela deux manipulations ont été réalisées;

- La première manipulation a pour but la mise en évidence des risques d'infection par consommation des viandes de poulet artificiellement contaminées après traitements thermique (cuisson).

- La deuxième a pour but la mise en évidence des risques d'infection par les aliments consommés frais après contact avec des viandes de poulet artificiellement contaminées.

☞ - risques d'infection par consommation de la viande cuite

Alors, pour chaque souche:

06 échantillons de 200 g sont artificiellement contaminés par une suspension bactérienne d'une charge maximale de 10^9 germe/ml, et deux modes de cuisson sont appliqués pour chaque trois échantillons;

- le rôti
- et le ragoût.

Après cuisson, les germes sont recherchés dans ces échantillons par les mêmes méthodes décrites pour la recherche d'*Helicobacter pylori* et de *Campylobacter jejuni* dans les viandes des volailles.

Alors, on utilise les méthodes classiques pour les deux bactéries:

- ✓ Isolement direct sur gélose.
- ✓ Et isolement après enrichissement sur bouillon.

En plus on utilise la méthode VIDAS CAM pour *Campylobacter jejuni*.

☞ - risques d'infection par des plats qui se consomment frais

Pour chaque souche:

Deux plats qui se consomment frais sont préparés après contact avec des viandes artificiellement contaminées mimant ainsi les contaminations possibles dans les préparations culinaires;

- ✓ Une salade (laitue, tomate, carotte....).

✓ et une découpe de fruit (pomme).

Pour chaque plat 3 échantillons sont préparés.

Après préparation, les germes sont dénombrés dans ces échantillons par les mêmes méthodes décrites pour le dénombrement d'*Helicobacter pylori* et de *Campylobacter jejuni* dans les viandes des volailles.

Chapitre 2 :

Résultats et discussion:

Chapitre 2 : Résultats et discussion:

1 – recherche de *Campylobacter jejuni* et d'*Helicobacter pylori* dans les viandes des volailles:

Cette étude a pour but de déterminer la prévalence des deux germes pathogènes *Campylobacter jejuni* et *Helicobacter pylori* dans les viandes de volailles, pour savoir si cette denrée alimentaire largement consommée, peut être une source d'infection pour l'homme.

1.1 - *Campylobacter jejuni* :

a- recherche par la méthode classique :

Nous avons noté l'absence de colonies dans les échantillons 21, 22, 23, 25, 32, 33, et 34 ce qui démontre l'absence des *Campylobacter* dans ces échantillons. Par contre, les colonies sont bien distinctes dans les 28 autres échantillons : 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 35.

Les résultats des tests d'identification des colonies suspectes sont comme suit :

❖ L'aspect macroscopique des cultures obtenues montre des colonies caractéristiques de petite taille, transparentes et parfois des colonies envahissantes suspectées d'être des *Campylobacter*, la figure 26 montre quelques exemples d'aspects des colonies obtenues.

❖ L'examen microscopique à l'état frais a permis d'observer des vibrions mobiles en vol de moucheron. Cette mobilité est caractéristique au *campylobacter*. La figure 27 montre des exemples des résultats obtenus. Notant que ce caractère est très difficile à le mettre en évidence vu la taille très minuscule des *campylobacters*.

❖ L'examen microscopique après coloration de Gram a permis d'observer des bacilles de couleur rose, prouvant leur appartenance aux bactéries à caractère gram négatif, ayant une forme de bacille, vibrion ou coccoïde. Ces caractères sont identiques à ceux des *campylobacters* La figure 28 montre des exemples des résultats obtenus.

❖ Les résultats des tests d'identifications sont rassemblés dans le tableau 3.

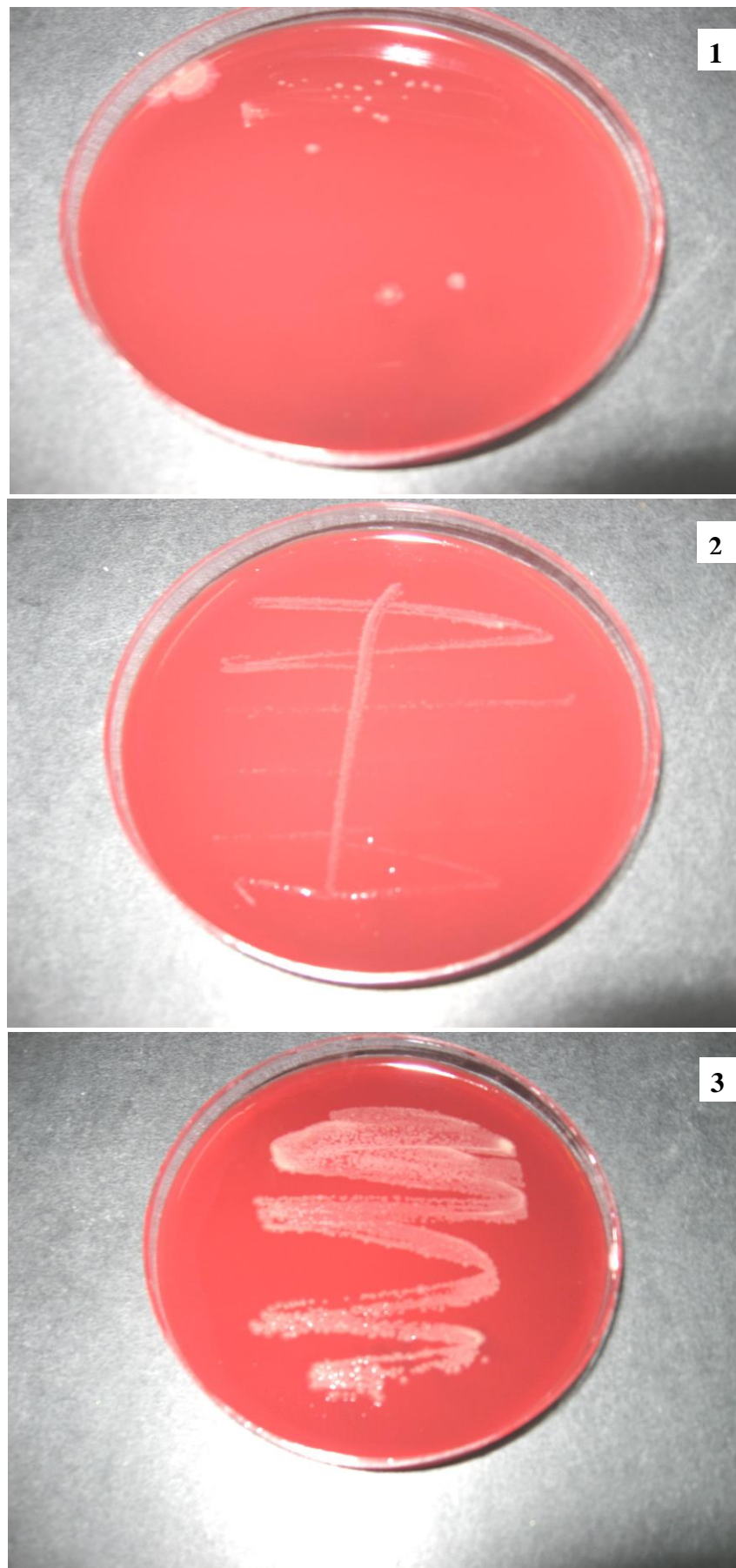


Figure 26: photos 1, 2, 3 ; aspect macroscopique de *campylobacter* après 48 heures d'incubation sur gélose au sang à 37 °C.

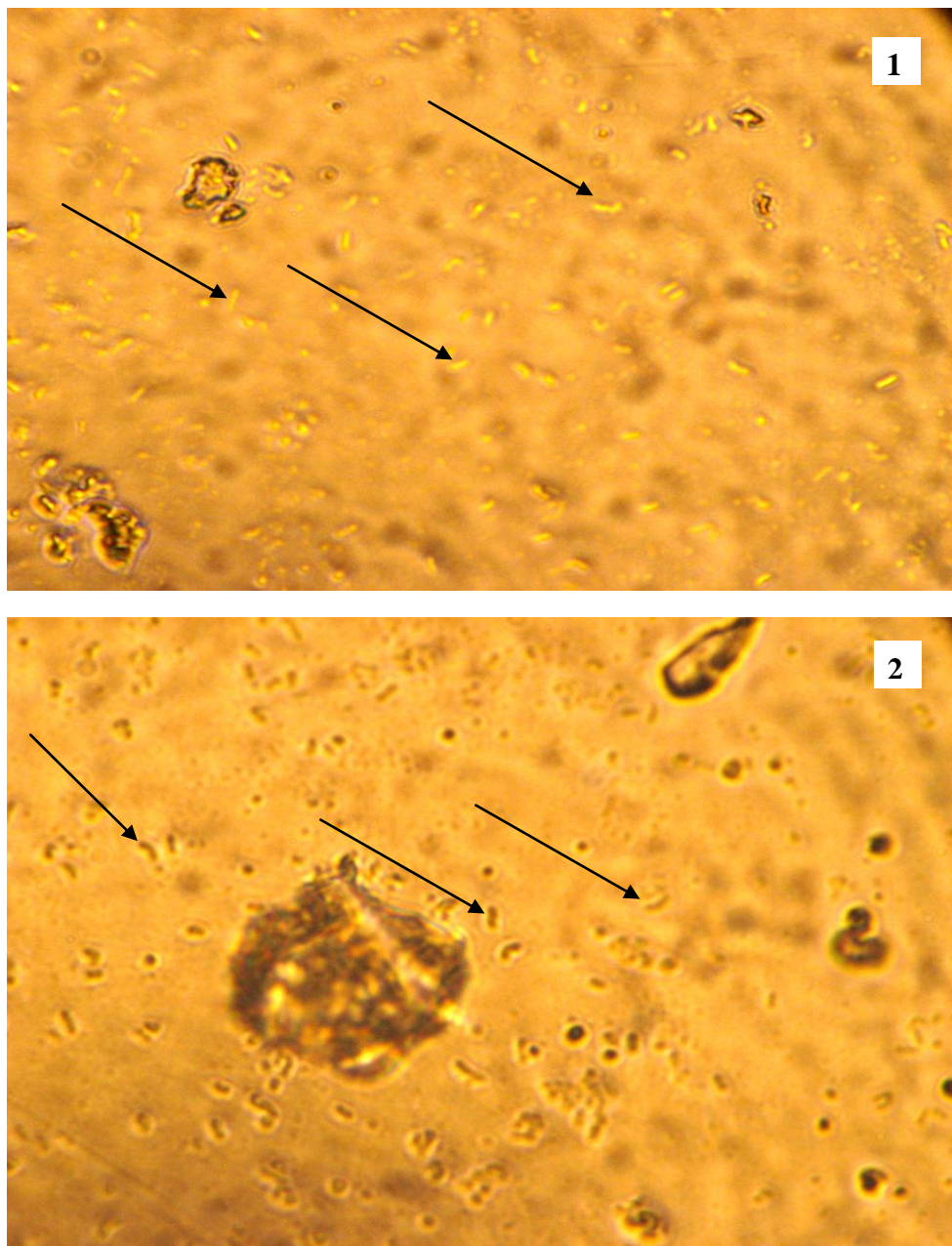


Figure 27: photos 1 et 2 ; observation des cellules des *campylobacter* à l'état frais sous microscope optique. (Grossissement x 1000 à immersion)

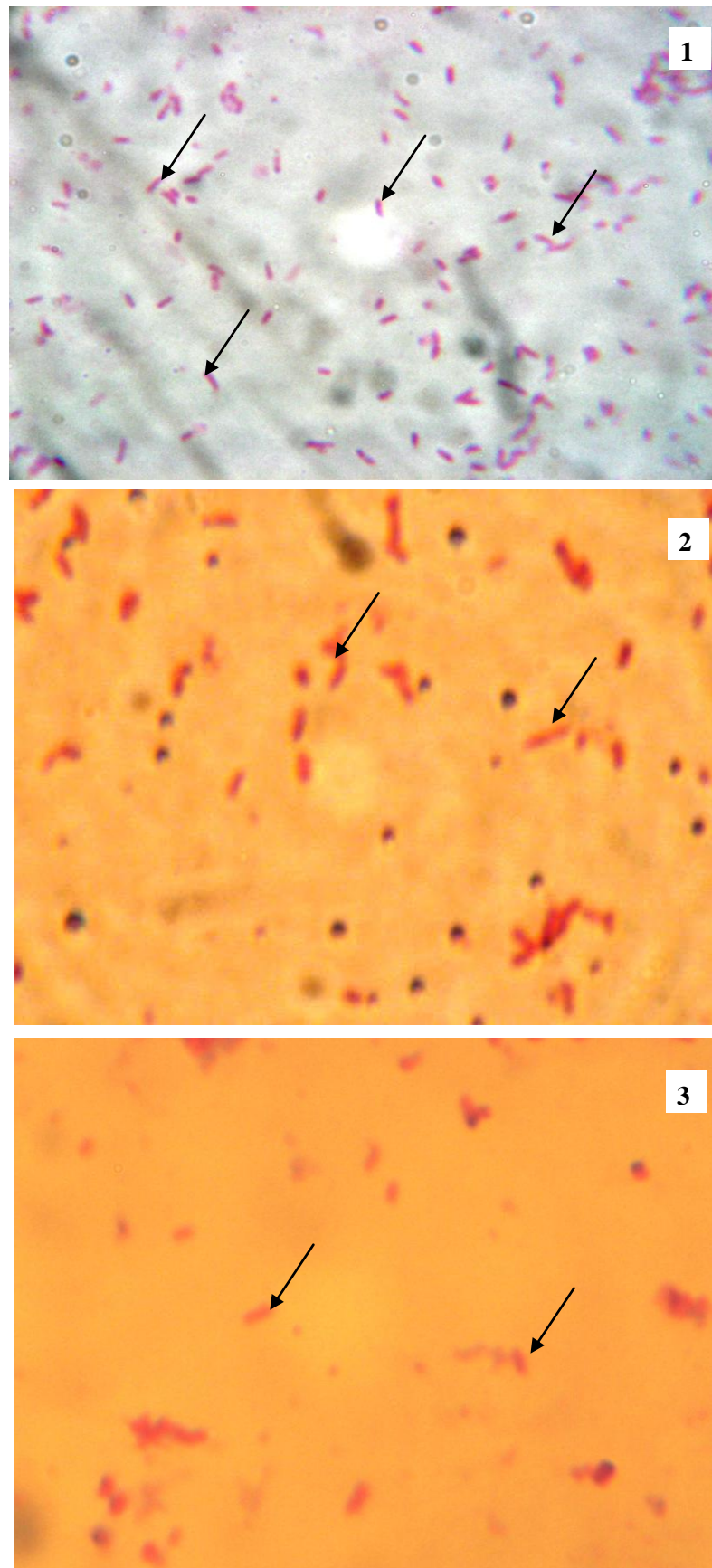


Figure 28: photos 1, 2 et 3 ; observation des cellules des *campylobacter* après coloration de Gram sous microscope optique. (Grossissement x 1000 à immersion).

Tableau 3: résultats des tests d'identification des germes rencontrés dans les échantillons examinés.

Echantillon	tests													Résultats	
	Etat frais (mobilité)	GRAM	H ₂ S	céfaloïne	Acide nalidixique	Hydrolyse de L'hippurate	Oxydase	catalase	TSI	nitrate	citrate	Fermentation des sucres (glucose)	Croissance à 42 °C		Croissance à 25 °C
E1	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E2	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E3	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E4	+	-	±	R	S	-	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. coli</i>
E5	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E6	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E7	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E8	+	-	±	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E9	+	-	+	R	R	-	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. lari</i>
E10	+	-	±	R	S	-	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. coli</i>
E11	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E12	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E13	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E14	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E15	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E16	+	-	-	S	R	-	+	+	-	+	-	-	+	+	<i>C. fetus</i>
E17	+	-	-	S	R	-	+	+	-	+	-	-	+	+	<i>C. fetus</i>
E18	-	-	+	S	S	-	+	-	+	-	+	+	+	+	Profil ne correspondant pas à <i>campylobacter</i>
E19	-	-	+	S	S	-	+	+	+	-	+	+	+	-	
E20	+	-	-	S	R	-	+	+	-	+	-	-	+	+	<i>C. fetus</i>
E21	Culture stérile													Absence de colonies	
E22	Culture stérile													Absence de colonies	
E23	Culture stérile													Absence de colonies	
E24	+	-	-	S	R	-	+	+	-	+	-	-	+	+	<i>C. fetus</i>
E25	Culture stérile													Absence de colonies	
E26	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E27	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E28	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E29	+	-	-	S	S	+	+	+	-	+	-	-	+	-	<i>C. jejuni</i>
E30	+	-	-	R	S	-	+	-	+	+	+	+	+	-	Profil ne correspondant pas à <i>campylobacter</i>
E31	-	-	+	R	R	-	+	+	-	+	+	+	+	-	
E32	Culture stérile													Absence de colonies	
E33	Culture stérile													Absence de colonies	
E34	Culture stérile													Absence de colonies	
E35	-	-	+	R	R	-	+	+	-	+	+	+	+	-	Profil ne correspondant pas à <i>campylobacter</i>

+ : test positif, ± : test faiblement positif, - : test négatif, S : sensible, R : résistant.

Le tableau 4 résume les résultats du tableau 3.

Tableau 4: fréquences des espèces obtenus par rapport au nombre total des échantillons examinés.

espèce	Fréquence sur le nombre total des échantillons examinés	Pourcentage (%)
<i>C. jejuni</i>	16	45.71
<i>C. coli</i>	02	5.71
<i>C. lari</i>	01	2.85
<i>C. fetus</i>	04	11.42
Profil ne correspondant pas à <i>campylobacter</i>	05	14.28
Absence de colonies	07	20

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une prévalence élevée de *campylobacter spp.* dans les viandes de poulets testées. Cette prévalence est de 65 % par rapport au taux globale des *campylobacters*. Les différences observées entre les différentes espèces de *campylobacter* sont significatives : 45.71 % pour *C. jejuni*, 5.71 % pour *C. coli*, 2.85 % pour *C. lari* et 11.42 % pour *C. fetus*.

b- recherche par la méthode VIDAS :

Les résultats de la recherche des *campylobacter* dans les échantillons de viande de poulet par la méthode VIDAS sont portés dans le tableau 5.

La comparaison des résultats trouvés par la méthode classique avec ceux de la méthode VIDAS, nous permet de montrer que les résultats positif de cette dernière correspondent à la présence de *C. jejuni*, ou de *C. coli* ou bien de *C. lari* ; Alors que les résultats négatifs correspondent aux cultures stériles, ou à la présence de *C. fetus* ou à des germe ayant un profil ne correspondant pas au *campylobacter*.

Tableau 5: résultats de la recherche des *campylobacters* par la méthode VIDAS dans les échantillons de viande de poulet.

Echantillon	RFV	Valeur du test	Résultats
E1	9401	2.09	Positif
E2	11080	2.46	Positif
E3	2392	0.54	Positif
E4	1340	0.30	Positif
E5	3289	0.75	Positif
E6	227	0.05	Négatif
E7	10224	2.33	Positif
E8	4626	1.05	Positif
E9	4182	0.95	Positif
E10	9912	2.26	Positif
E11	217	0.04	Négatif
E12	225	0.05	Négatif
E13	8306	1.89	Positif
E14	6942	1.58	Positif
E15	10365	2.36	Positif
E16	11585	2.64	Positif
E17	1042	0.23	Positif
E18	1080	0.24	Positif
E19	226	0.05	Négatif
E20	228	0.05	Négatif
E21	226	0.05	Négatif
E22	228	0.05	Négatif
E23	226	0.05	Négatif
E24	221	0.05	Négatif
E25	318	0.07	Négatif
E26	320	0.07	Négatif
E27	254	0.05	Négatif
E28	6278	1.43	Positif
E29	580	0.13	Positif
E30	1970	0.44	Positif
E31	1098	0.25	Positif
E32	211	0.04	Négatif
E33	198	0.04	Négatif
E34	228	0.05	Négatif
E35	207	0.04	Négatif

RFV : Relative Fluorescence Value

Les résultats obtenus par la méthode VIDAS sont en parfaite concordance avec ceux trouvés par la méthode classique. La seule différence réside dans la détermination de l'espèce incriminée. Rappelant que la méthode VIDAS détecte les trois espèces pathogène: *C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari*, mais sans déterminer l'espèce en cause. Le test est dit positif s'il y a présence d'au moins une des trois espèces sus-citées, tandis qu'il est dit négatif dans tous autres cas même en présence d'autres espèces de *campylobacter*.

19 échantillons sur 35 analysés par la méthode VIDAS sont positifs, ce qui correspond à 54.28 %. le même résultat est obtenu par la méthode classique pour les trois espèces thermotolérants (*C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari*) groupés.

Les trois espèces détectées par la méthode VIDAS appartiennent au groupe des *campylobacters* thermotolérants et sont les plus pathogènes pour l'homme (Larpen, 1997).

Les résultats trouvés apparaissent cohérentes avec ceux de la bibliographie (tableau 6), qui montrent que les volailles sont globalement plus souvent contaminées, par les *campylobacters*, que les autres produits alimentaires d'origine animale. Cela est en accord avec l'idée générale que l'habitat le plus propice au développement des *campylobacters* est le tractus digestif des oiseaux (Poly, 2005).

Cette prévalence élevée des *campylobacters* dans les viandes de volailles explique le taux élevé des intoxications alimentaires lié à ces bactéries en pays développés ainsi qu'en pays en voie de développement. Notant que les chiffres publiés en France, par exemple, font état d'une fréquence égale, sinon supérieure, à celle des infections humaines dues aux salmonelles (Larpen, 1997).

Au terme des données bibliographiques, nous constatons que les données du tableau 6 concernent surtout les pays développés. Alors que les données concernant les pays en voie de développement sont rares ou même inexistantes. Les intoxications dues aux *campylobacters* sont représentées essentiellement par des cas sporadique (Mégraud et al., 2003)

En Algérie, le manque d'une recherche systématique de ces bactéries dans les selles diarrhéiques ou dans les aliments ne permet pas de détecter l'incrimination des *campylobacters* dans les intoxications alimentaires. Car la réglementation en vigueur n'impose pas leur recherche dans les contrôles de routine ou même en cas d'intoxications alimentaires.

Tableau 6: données bibliographiques concernant la prévalence des *campylobacters* dans les denrées alimentaires aux stades de la transformation ou de la distribution.

Type de produit	Echantillon (nombre)	Taux de positif	pays	référence
Aliments autres que la volaille				
Œufs	650	0 %	Angleterre	Pearson et <i>al.</i> , 1993
Lait cru	1200	0.2 %	Pays-Bas	Beumer et <i>al.</i> , 1985
Carcasse de bœuf	127	23.6 %	Angleterre	Fricker et Park, 1989
Abats de bovins et ovins (foie, rognon, cœur)	689	47 %	Angleterre	Fricker et Park, 1989
Carcasse d'ovin	130	15.5 %	Angleterre	Fricker et Park, 1989
Produit de la mer	89	14.6 %	Angleterre	Fricker et Park, 1989
Huîtres	600	0.9 %	France	Federighi, 1999
Légumes « 4 ^{ème} gamme)	400	0.5 %	France	Federighi, 1999
Volailles autres que le poulet				
Carcasse de dinde	691	56.7 %	Norvège	Rosef et <i>al.</i> , 1984
Carcasse de canard	200	48 %	Pologne	Lammerding et <i>a.l.</i> , 1988
Carcasse d'oie	200	38 %	Pologne	Lammerding et <i>a.l.</i> , 1988
Poulet				
carcasse	35	80 %	Angleterre	Simmons et Gibbs, 1979
carcasse	82	22 %	Suède	Federighi, 1999
carcasse	251	39.4 %	Italie	Rindi et <i>al.</i> , 1986
carcasse	410	38.2 %	Canada	Lammerding et <i>a.l.</i> , 1988
carcasse	203	80.3 %	Pologne	Kwiatek et <i>al.</i> , 1990
carcasse	691	48.2 %	Norvège	Rosef et <i>al.</i> , 1984
carcasse	79	89 %	Suède	Bemdtson et <i>al.</i> , 1992
carcasse	2925	37 %	Angleterre	Pearson et <i>al.</i> , 1993
carcasse	180	81 %	Allemagne	Altmeyer et <i>al.</i> , 1985
carcasse	97	80.4	France	Federighi, 1999
Viande sans peau	340	3 %	Suède	Berndtson et <i>al.</i> , 1992
Cuisse sans peau	50	85 %	France	Mégraud et <i>al.</i> , 2003
Cuisse avec peau	406	88.6	France	Mégraud et <i>al.</i> , 2003

Rappelant que les *campylobacters* sont des micro-organismes que l'on peut qualifier de « fastidieux » car leur culture et leur identification demandent au manipulateur une certaine habitude, ils exigent pour leurs croissance des milieux spécifiques et enrichis, ainsi qu'une atmosphère pauvre en oxygène, sans les quels on ne peut espérer les mettre en évidence (Hussain et *al.*, 2007).

Donc, nous pouvons, maintenant, imaginer le danger, que constitue cette prévalence élevée des *campylobacters* dans les viandes de volailles, sur la santé du consommateur en terme des risques d'infection.

1.2- *Helicobacter pylori* :

Comme pour *Campylobacter*, nous avons noté l'absence de colonies dans les échantillons 21, 22, 23, 25, 32, 33, et 34, ce qui démontre l'absence d'*Helicobacter* dans ces échantillons.

Pour les 28 autres échantillons : 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 35, l'identification des colonies suspectes d'être *Helicobacter pylori* est basée principalement sur le test uréase rapide. Alors en réalisant ce test, toutes les colonies suspectes sont uréase rapide négatives ce qui démontre l'absence d'*Helicobacter pylori* dans les échantillons examinés.

Les résultats obtenus nous permettent de conclure que les viandes de volailles ne peuvent être une source d'infection de l'homme par *Helicobacter pylori*, néanmoins cette conclusion reste relative aux conditions expérimentales, car cette bactérie est rapidement dégénérante dans les conditions drastiques pour devenir incultivable, alors qu'elle continue de survivre sous une forme dite Viable non cultivable "VNC".

Cette dégénérescence rapide d'*Helicobacter pylori* dans les conditions drastiques a été étudiée par plusieurs auteurs, parmi eux Yolanda et al., (2007) qui a montré que l'inoculation de cette bactérie dans une eau à 1.16 mg/l de chlore total et 0.96 mg/l de chlore libre pendant 5 minutes seulement était suffisante pour qu'une charge bactérienne de l'ordre de 10^7 UFC/ml devienne incultivable, et par suite indétectable par la méthode de culture.

La non cultivabilité ne signifie pas la disparition et l'absence total de la bactérie dans le milieu, mais cette dernière peut continuer à survivre sous la forme VNC, c'est cette hypothèse qui a été démontré par le même auteur Yolanda et al., (2007) dans l'étude précédente. En utilisant une méthode de comptage direct des cellules viables dite méthode DVC (Direct Viable Count) il a montré que les cellules d'*Helicobacter pylori* restent viables même après 3 heures d'incubation dans une eau à 1.16 mg/l de chlore total et 0.96 mg/l de chlore libre.

La méthode DVC est basée sur l'incubation de l'échantillon dans un milieu contenant les nutriments et un inhibiteur de la synthèse de l'ADN (de l'ADN gyrase) pour arrêter la division cellulaire, alors dans ces conditions les cellules viables continuent à métaboliser les nutriments

pour devenir plus longues et par la suite différenciables des cellules mortes par comptage direct sous microscope.

Nous comparons les conditions de traitement des carcasses des volailles après abattage, nous pouvons constater que ces conditions sont plus drastiques que l'incubation dans l'eau chlorée (à 1.16 mg/l de chlore total et 0.96 mg/l de chlore libre), et par la suite même s'il y a présence d'*Helicobacter pylori*, dans les viandes de volailles, elle devienne rapidement non cultivable. Rappelons que les abattoirs pratique un trempage des carcasses dans une eau chlorée pour leur nettoyage après éviscération.

A la lumière de ces donnés, nous pouvons dire que les résultats obtenus, concernant la prévalence d' *Helicobacter pylori* dans les viandes de volailles, restent à confirmer :

- Soit par d'autres études en utilisant directement le contenu du tube digestif comme échantillons. Il est a indiqué, que le tube digestif représente l'habitat préférable des *Helicobacters* dans le temps ou il constitue la source principale de la flore de contamination des viandes.

- Soit par l'utilisation de méthodes de recherche autres que la méthode de culture tel que : la méthode PCR, la méthode DVC ou les méthodes sérologiques.

Nous avons signalé dans la partie bibliographique que malgré la relation phylogénique étroite entre *C. jejuni* et *Helicobacter pylori*, les similarités sont limitées aux gènes dits de ménage (55 %) alors que pour les gènes concernant la survie, la transmission et le pouvoir pathogène, les deux microorganismes ont peu de choses en commun. En particulier, un répertoire important de systèmes de régulation présent chez *C. jejuni* indique que cette bactérie peut être présente dans une variété plus grande de niches écologiques que *H. pylori* (Poly, 2005).

2 - Étude de la viabilité du *Campylobacter jejuni* et d'*Helicobacter pylori* dans les viandes de volailles:

Pour qu'ils constituent un risque sur la santé du consommateur et être capables d'infecter l'homme, les germes pathogènes d'origine alimentaire nécessitent une survie dans les aliments pour un temps relativement long (Bell, 1993).

C'est dans ce sens que s'inscrit cette étude, qui a été réalisée pour savoir la survie des deux bactéries : *C. jejuni* et *H. pylori*, dans les viandes de volailles à différentes températures de stockage.

Les données bibliographiques pour *H. pylori* concernant ce type d'expérience sont rares, alors que de nombreuses expérimentations ont porté sur l'évolution du nombre des *campylobacters* dans les aliments.

Dans les conditions habituelles de transformation, transport et distribution, le nombre de *C. jejuni* diminue au cours du temps quels que soit la température, l'atmosphère, le pH ou la nature du substrat. Pour mémoire, il est à noter qu'une multiplication a été montrée dans la viande conservée à 37 ou 42 °C (Hanninen et al., 1984).

Des résultats similaires ont été trouvés à l'issue de notre étude, concernant l'évolution du nombre de *C. jejuni* dans la viande de poulet au cours du temps. Mais cette diminution varié en fonction de la température de stockage.

2.1- viabilité à température ambiante (20 -25 °C):

Pour le stockage à température ambiante (20 à 25 °C) (figure 29), nous avons noté un déclin rapide du nombre de bactéries cultivables qui passe de 4.10^8 UFC/g à 3.10^6 UFC/g pour *C. jejuni* et de 10^8 UFC/g à 7.10^4 UFC/g pour *H. pylori* après 12 heures de stockage, ce qui correspond à plus de 99 % de la population bactérienne inoculée pour les deux espèces. En générale, l'allure des deux courbes montre une diminution continue du nombre de cellules cultivables en fonction du temps. Cette diminution est plus rapide chez *H. pylori* qui s'annulé après 48 heures de stockage à température ambiante. Alors qu'il reste toujours des cellules cultivables de *C. jejuni* même à faible concentration.

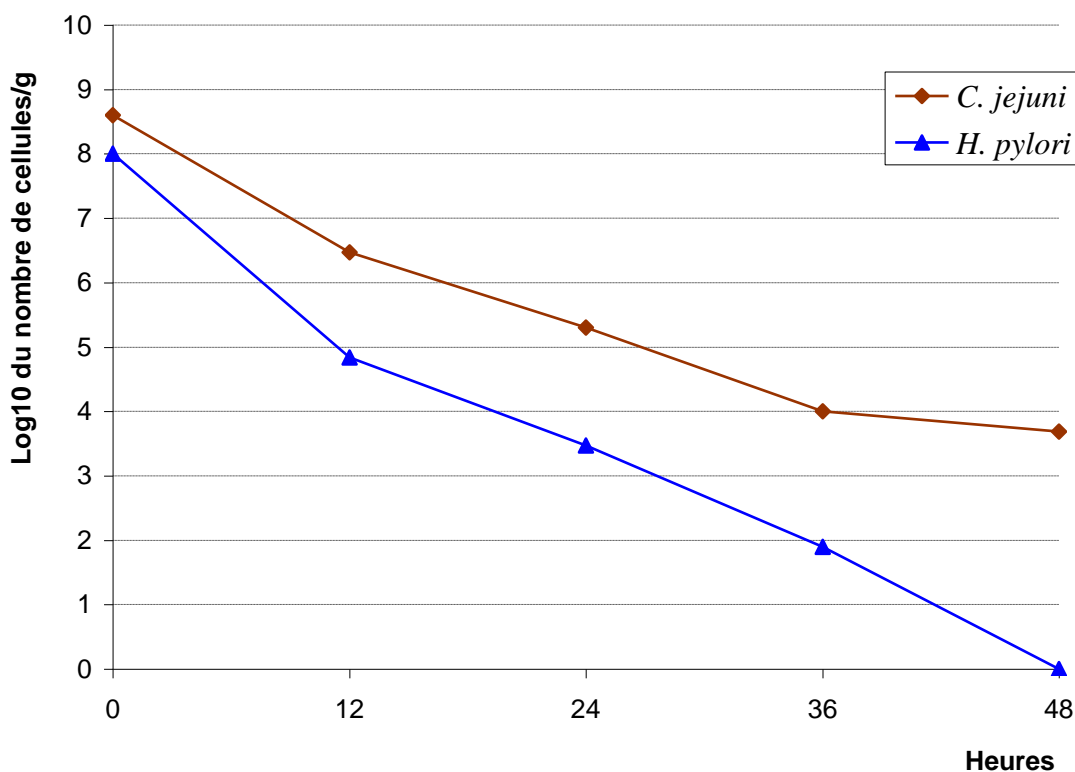


Figure 29: viabilité de *Campylobacter jejuni* et d'*Helicobacter pylori* dans la viande de poulet à température ambiante (20 à 25 °C).

2.2 - Viabilité à température de réfrigération (4 °C ± 2 °C):

L'évolution du nombre de cellules cultivable de *Campylobacter jejuni* et d'*Helicobacter pylori* dans la viande de poulet à température de réfrigération (4 °C ± 2 °C), décroît en fonction du temps (figure 30). Une diminution rapide du nombre de cellules est enregistrée qui passe de $4 \cdot 10^8$ UFC/g à $23 \cdot 10^7$ UFC/g pour *Campylobacter jejuni* et de 10^8 UFC/g à 10^6 UFC/g pour *Helicobacter pylori* après 24 h de stockage.

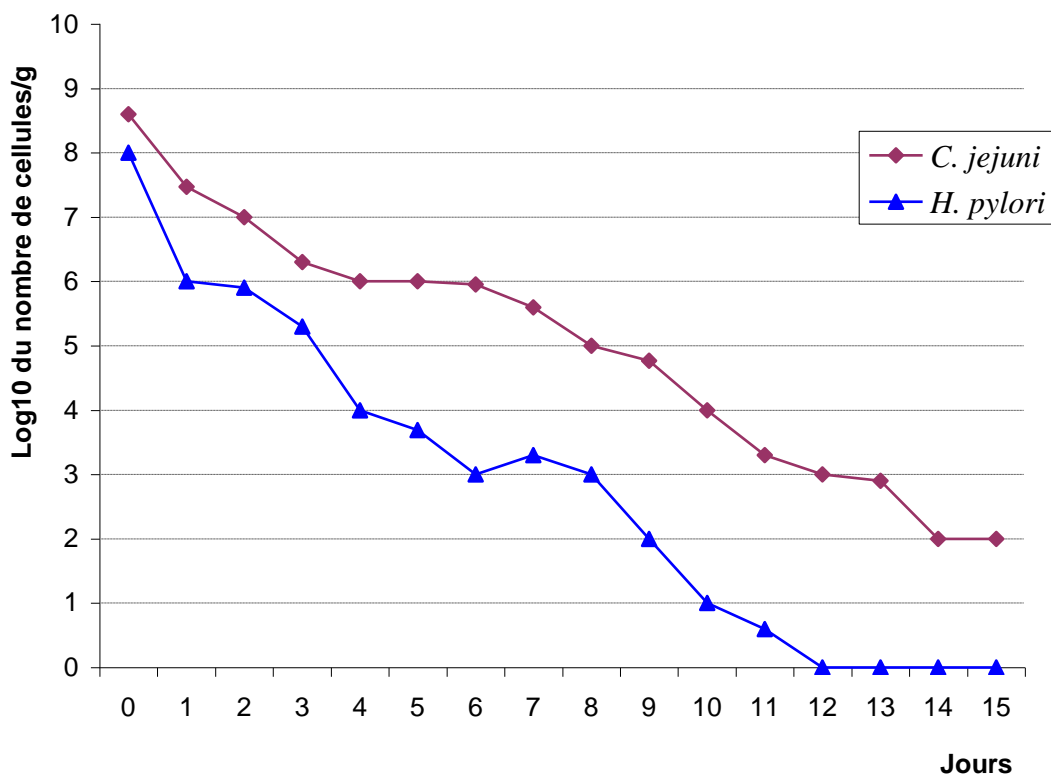


Figure 30: viabilité de *Campylobacter jejuni* et d'*Helicobacter pylori* dans la viande de poulet à température de réfrigération ($4\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$).

Cette diminution du nombre de cellules cultivables se poursuit pour atteindre 10^4 UFC/g pour *Campylobacter jejuni* et 0 UFC/g pour *Helicobacter pylori* ; après 12 jours de stockage à température de réfrigération ($4\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$).

Il est à noter qu'il reste toujours des cellules cultivables de *Campylobacter jejuni* même après 15 jours de stockage à la même température.

2.3 - Viabilité à température de congélation ($-18\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$):

Le nombre de cellules cultivable de *Campylobacter jejuni* et d'*Helicobacter pylori* dans la viande de poulet diminue au cours du stockage à ($-18\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$) (figure 31).

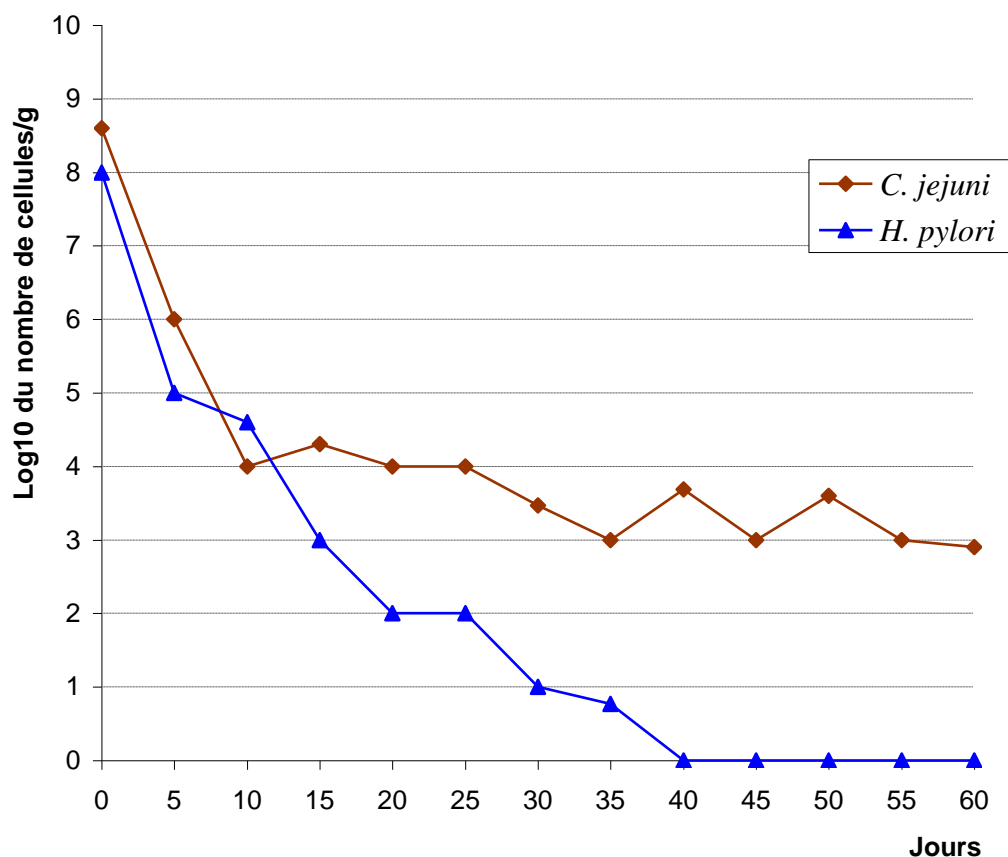


Figure 31: viabilité de *Campylobacter jejuni* et d'*Helicobacter pylori* dans la viande de poulet à température de congélation ($-18\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$).

Cette diminution importante du nombre de cellules cultivables peut correspondre à l'effet du phénomène de la congélation-décongélation des échantillons et donc la destruction des cellules par les cristaux de glaces.

Ces résultats sont en parfaite concordance avec les données de la littérature qui montrent que les températures communément utilisées pour la congélation des aliments arrêtent la croissance de *C. jejuni* et détruisent une partie de la population bactérienne (Mégraud et al., 2003)

Une comparaison entre les données des figures 29,30 et 31 montre que la température de réfrigération ($4\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$) est plus favorable à la survie des deux bactéries que la température ambiante ($20\text{ à }25\text{ °C}$) ou la température de congélation ($-18\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$). De même, les données bibliographiques montrent des résultats semblables, par exemple lorsque 10^6 UFC sont

inoculées à de la viande de volaille conservée à 4, 23, 37 et 43 °C pendant sept jours, un déclin du nombre de bactéries cultivables est observé : 10^5 UFC/g à 4 °C, 10 par g à 23 °C, aucune bactérie n'étant retrouvée à 43 °C (Blankenship et Craven, 1982).

Il est à noter que plusieurs études ont été réalisées pour mettre en évidence l'influence de la température de stockage sur la survie des *Campylobacters* dans les denrées alimentaires (par exemple : Hanninen *et al.*, 1984 ; Buswell *et al.*, 1998 ; Thomas *et al.*, 1999 ; Obiri-Danso *et al.*, 2001). Mais les données de ces travaux sont souvent fragmentaires et quelquefois contradictoires. Les approches (aliments, milieux synthétiques) et les méthodologies d'obtention des UFC sont différentes, ce qui ne facilite pas la comparaison des résultats.

La comparaison entre les résultats de la survie des deux espèces bactériennes, *C. jejuni* et *H. pylori*, dans la viande de poulet aux différentes températures de stockage, montre que l'*H. pylori* est plus sensible quelque soit la température du stockage. Nous constatons toujours une disparition totale des cellules cultivables d'*H. pylori* du milieu, dans le temps où *C. jejuni* continue à survivre dans les mêmes conditions pour des durées plus longues. Ces résultats viennent pour confirmer la conclusion de la première partie et les données bibliographiques qui montrent que les similarités, entre *C. jejuni* et *H. pylori*, sont limitées aux gènes dits de ménage, alors que pour les gènes concernant la survie, la transmission et le pouvoir pathogène, les deux microorganismes ont peu de choses en commun. En particulier, un répertoire important de systèmes de régulation présent chez *C. jejuni* indique que cette bactérie peut être présente dans une variété plus grande de niches écologiques que *H. pylori* (Poly, 2005).

D'une façon générale, et selon les résultats obtenus nous pouvons classer les températures de stockage selon leurs effets sur la survie des deux bactéries en :

- ☛ températures négatives : qui arrêtent et détruisent rapidement une partie importante de la population bactérienne, et qui sont représentées par les températures de congélation et les températures ambiantes.
- ☛ températures positives : qui sont plus favorables à la survie des populations bactériennes, et qui sont représentées par les températures de réfrigération.

3 - Étude des risques d'infection:

Pour qu'ils puissent atteindre le corps humain et constituer un risque réel d'infection, les germes pathogènes doivent suivre des voies de transmission bien déterminées. Alors, la

présence d'une bactérie pathogène dans une denrée alimentaire, ne signifie pas leur transmission obligatoire vers l'homme. pour cela, elle doit franchir certaines barrières tel que : les traitements thermiques, le nettoyage par les désinfectants, les traitements par les additifs alimentaires...

L'objectif de cette étude s'inscrit dans ce sens, qui est la détermination des risques d'infections de l'homme par ces deux bactéries pathogènes (*C. jejuni* et *H. pylori*) tant que leurs survie dans la viande de poulet est plus ou moins considérable surtout à température de réfrigération ($4\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$).

3.1 - risques d'infection par consommation de la viande cuite:

Cette étude a été réalisée pour déterminer la survie des deux espèces après traitements thermiques (cuisson : rôti et ragoût) dans la viande de poulet artificiellement contaminée.

Les résultats obtenus (tableau 7) montrent que tous les échantillons traités et examinés révèlent un résultat négatif pour les deux espèces ; *C. jejuni* et *H. pylori*, et pour les deux types de traitements thermiques.

De même, la recherche de *C. jejuni* par la technique VIDAS révèle un résultat négatif pour tous les échantillons.

Tableau 7: résultats de la recherche d' *H. pylori* et de *C. jejuni* dans la viande de poulet artificiellement contaminée cuite.

échantillon	rôti			ragoût		
	Ech 1	Ech 2	Ech 3	Ech 4	Ech 5	Ech 6
<i>C. jejuni</i> (méthode classique) (UFC)	0	0	0	0	0	0
<i>C. jejuni</i> (méthode VIDAS)	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
<i>H. pylori</i> (UFC)	0	0	0	0	0	0

Ces résultats confirment les données bibliographiques (tableau 8) montrent que les traitements thermiques détruisent rapidement une population même importante de *C. jejuni*. Cette destruction est mise en évidence par la valeur D.

Selon les valeurs D, il apparaît que les *campylobacters* sont très sensibles à la chaleur et que des traitements thermiques à cœur supérieur à 60 °C sont létaux quel que soit l'environnement, solide ou liquide.

Tableau 8: données bibliographiques concernant les valeurs D (temps nécessaire pour détruire 90 % de la population de *C. jejuni* à une température donnée) pour différents milieux.

Température (°C)	Nombre de souches testées	Valeur de D (minutes)	Milieu utilisé	Référence
48	3	7,2 – 12,8	Lait écrémé	Doyle, 1981
49	3	15,2	Eau peptonée	Blankenship et Craven, 1982
	5	15,8	Lait	Waterman, 1982
	3	20,5	Volaille	Blankenship et Craven, 1982
50	4	1 – 4,5	Lait	Christopher et <i>al.</i> , 1982
	4	5,7 – 7,3	Lait	Waterman, 1982
	5	4,9 – 7,02	Eau peptonée	Blankenship et Craven, 1982
	5	8,7 – 9,2	volaille	Blankenship et Craven, 1982
53	3	1 – 2,2	Lait	Waterman, 1982
	5	1,7 – 2,7	Eau peptonée	Blankenship et Craven, 1982
	5	4,8 – 4,9	Volaille	Blankenship et Craven, 1982
55	3	0,74 - 1	Lait	Doyle, 1981
	4	1 - 23	Lait écrémé	Christopher et <i>al.</i> , 1982
	2	0,6 – 1,1	Eau peptonée	Blankenship et Craven, 1982
	5	0,6 – 1,09	Eau peptonée	Blankenship et Craven, 1982
	5	2,12 – 2,25	Volaille	Blankenship et Craven, 1982
56	3	0,71 – 0,78	Solution saline	Sorqvist, 1989
	2	0,3 – 0,9	Lait	Waterman, 1982
	3	0,6 – 1	Viande rouge	Koidis et Doyle, 1983
58	3	0,24 – 0,28	Solution saline	Sorqvist, 1989
	8	0,2 – 0,4	Viande rouge	Koidis et Doyle, 1983
	5	0,7 – 0,9	Volaille	Blankenship et Craven, 1982
60	3	0,12 – 0,14	Solution saline	Sorqvist, 1989
	8	0,2 – 0,34	Viande rouge	Koidis et Doyle, 1983

Les données bibliographiques pour l'*H. pylori* sont rares. Mais les résultats obtenus pour la survie de cette bactérie par rapport au *C. jejuni* nous permettent de conclure, que cette bactérie est plus sensible aux traitements thermiques que *C. jejuni*.

Ces résultats montrent que les deux bactéries ; *C. jejuni* et *H. pylori* sont incapables de franchir la barrière des traitements thermiques des différents modes de cuisson qui peuvent

être appliqués sur la viande de poulet. Et par suite sont incapables d'infecter le consommateur et ne constitue aucun risque sur la santé même si le niveau de contamination est important.

Il reste à rappeler, que les résultats obtenus concernent les formes cultivables de ces deux bactéries, alors que nous n'avons aucune information sur la sensibilité ou sur la résistances des formes VNC aux traitements thermiques. Ces formes qui sont considérées comme des modes de résistance de ce type de bactéries. Notant que des auteurs (Federighi *et al.*, 1998; Cappelier *et al.*, 1999 ; Talibart *et al.*, 1999) ont réussi à cultiver des formes VNC de *C. jejuni* après plusieurs passages dans le tube digestif des animaux.

3.2 - risques d'infection par des plats qui se consomment frais:

Au moment de la préparation des repas à base de viande de volailles, il y a toujours en parallèle des préparations d'autres plats, parmi lesquels, il y a certains qui se consomment frais sans aucun traitement thermique, comme les salades et les desserts. Alors, il peut y avoir un contact entre les plats prêt à l'emploi et les viandes ou les surfaces contaminés, et ainsi peut constituer une voie de transmission de ces deux bactéries vers le consommateur.

Cette manipulation vient pour éclairer cette idée et confirmer si cette voie peut être vraiment une voie de transmission d' *H. pylori* et de *C. jejuni* vers l'homme.

Les résultats obtenus (tableau 9) montrent que la prévalence des deux bactéries dans les échantillons est très élevé : 100 % des échantillons révèlent un résultat positif pour *C. jejuni* et 50 % pour *H. pylori*.

Tableau 9: résultats de la recherche d' *H. pylori* et de *C. jejuni* dans des plats qui se consomment frais après contact avec une viande de poulet artificiellement contaminée.

échantillon	Découpe de pomme			salade		
	Ech 1	Ech 2	Ech 3	Ech 4	Ech 5	Ech 6
<i>C. jejuni</i> (méthode classique) (UFC)	26	47	2.10 ²	3.10 ²	80	150
<i>C. jejuni</i> (méthode VIDAS)	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
<i>H. pylori</i> (UFC)	0	0	8	15	39	0

Plusieurs études ont été réalisées dans ce sens (Bolton *et al.*, 1999 ; Friedman *et al.*, 2000 ; Winquist *et al.*, 2001), ont montré que l'infection à *campylobacter* est une zoonose et la transmission principale semble se faire par ingestion d'aliments contaminés insuffisamment cuits, principalement la volaille, ou d'aliment (légumes) contaminés indirectement tel que le contact avec de la viande crue.

Les résultats obtenus nous permettent de tirer les mêmes conclusions pour les principales voies de transmission de ces deux bactéries surtout pour *C. jejuni* qui a une prévalence élevée dans les viandes des volailles.

Il reste à déterminer la dose infectante ou l'élément dose-réponse pour savoir le degré du risque que constitue cette voie de transmission sur la santé du consommateur, car la concentration des cellules cultivables, qui se trouvent dans les échantillons positifs, est moyennement faible.

A ce jour, une seule expérimentation déterminant l'effet dose-réponse dans l'infection à *C. jejuni* a été publiée. Cette étude (black *et al.*, 1988) a consisté à administrer 2 souches de *C. jejuni* à 111 volontaires adultes à des doses variant de $8 \cdot 10^2$ à $2 \cdot 10^9$ UFC.

Les volontaires étaient des jeunes adultes en bonne santé. Ils ont reçu l'inoculum dans du lait ou du bicarbonate de soude, après 90 minutes de mis à jeun. Une surveillance clinique approfondie a ensuite été menée durant 7 jours avant d'administrer un traitement (érythromycine). Les taux d'infection montrent une tendance à l'augmentation avec la dose mais l'apparition des symptômes n'a pas montré une association nette avec la dose.

Cette étude suggère que dans les conditions naturelles, des inoculums faibles de *C. jejuni* puissent conduire à des taux d'attaque significatifs, et ainsi donner l'impression de cas sporadiques.

Pour *H. pylori* les données sur l'approche élément dose-réponse reste à déterminer. Rappelant que la première découverte de l'implication d'*H. pylori* dans les maladies ulcéreuses a été obtenue après l'ingestion volontaire d'une suspension bactérienne d'*H. pylori* par le chercheur australien Marshall en 1982.

CONCLUSION

CONCLUSION GENERALE

L'implication de *Campylobacter jejuni* dans les gastro-entérites et d'*Helicobacter pylori* dans les maladies gastriques n'est plus à démontrer. Mais leurs sources naturelles et voies de transmission sont encore à discuter surtout pour l'*Helicobacter pylori*.

Les résultats de cette étude indiquent une prévalence élevée (65 %) de *campylobacter spp.* dans les viandes de poulets, ce taux est le même pour les deux méthodes de recherche ; classiques ou VIDAS. Les différences observées entre la prévalence des espèces de *campylobacter* sont significatives : 45.71 % pour *C. jejuni*, 5.71 % pour *C. coli*, 2.85 % pour *C. lari* et 11.42 % pour *C. fetus*.

Pour l'*Helicobacter pylori*, les résultats obtenus nous permettent de conclure que les viandes de volailles ne peuvent être une source d'infection de l'homme par cette bactérie. Car sa recherche dans tous les échantillons examinés montre un résultat négatif. Mais cette conclusion reste à confirmer :

- Soit par d'autres études en utilisant directement le contenu du tube digestif de poulet comme échantillons. Il est à indiquer que le tube digestif représente l'habitat préférable des *Helicobacters* dans le temps où il constitue la source principale de la flore de contamination des viandes.

- Soit par l'utilisation de méthodes de recherche autres que la méthode de culture tel que : la méthode PCR, la méthode DVC ou les méthodes sérologiques.

Selon les résultats de la survie des deux espèces bactériennes, *C. jejuni* et *H. pylori*, dans la viande de poulet aux différentes températures de stockage nous pouvons classer ces températures selon leurs effets sur les deux bactéries en :

- températures négatives : représentées par les températures de congélation et les températures ambiantes, qui arrêtent et détruisent rapidement une partie importante de la population bactérienne.

- températures positives : représentées par les températures de réfrigération et sont plus favorables à la survie des populations bactériennes.

Les résultats de la survie des deux espèces montrent aussi que l' *H. pylori* est plus sensible quelque soit la température du stockage. Où il y a toujours une disparition totale des cellules cultivables d' *H. pylori* du milieu, dans le temps où *C. jejuni* continue à survivre dans les mêmes conditions pour des durées plus longues.

Pour les risques d'infection, les résultats montrent que les deux bactéries, *C. jejuni* et *H. pylori*, sont incapables de franchir la barrière des traitements thermiques des différents modes de cuisson qui peuvent être appliqués sur la viande de poulet. Et ne constitue aucun risque sur la santé suite à la consommation de la viande cuite, même si le niveau de contamination est important. Mais les résultats obtenus concernent les formes cultivables de ces deux bactéries, alors que nous n'avons aucune information sur la sensibilité ou la résistance des formes VNC, formes de résistance, aux traitements thermiques.

Les résultats obtenus pour les risques d'infection par des plats qui se consomment frais montrent que ces risques sont élevés: après préparation 100 % des plats révèlent un résultat positif pour *C. jejuni* et 50 % pour *H. pylori*. Ces résultats montrent que l'infection semble se faire par ingestion d'aliments contaminés insuffisamment cuits, principalement la volaille, ou d'aliment (légumes) contaminés indirectement tel que le contact avec de la viande crue. Surtout pour *C. jejuni* qui a une prévalence élevée dans les viandes des volailles.

En fin, Il serait nécessaire de faire d'autres études avec un échantillon plus représentatif pour avoir des résultats plus significatifs, que se soit pour la prévalence des deux bactéries dans les viandes de volailles ou pour les risques d'infection. Par ailleurs, il serait important que des études d'incidence de l'infection à l'*H. pylori* soient menées pour aider à mieux comprendre son histoire naturelle et sa transmission.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AEBISCHER T., WALDUCK A., SCHROEDER J., WEHRENS A., CHIJOKE O., SCHREIBER S., MEYER T.F., (2007). A vaccine against *Helicobacter pylori*: Towards understanding the mechanism of protection. *International Journal of Medical Microbiology*, **10**: 10-16.
- ALTMAYER M., KRABISCH P., DORN P., (1985). Occurrence and distribution of *Campylobacter jejuni/coli* in young poultry fattening production. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, **92**: 456-459.
- BACON D.J., SZYMANSKI C.M., BURR D.H., SILVER R.P., ALM R.A., GUERRY P., (2001). A phase-variable capsule is involved in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Mol Microbiol*, **40**: 769-777.
- BAILLET F., (2003). Cancérologie. Faculté de médecine Pierre et marie Curie, Université Paris-VI. DCEM3, 2002-2003.
- BALDWIN D.N., SHEPHERD B., KRAEMER P., HALL M.K., SYCURO L.K., PINTO-SANTINI D.M., SALAMA N.R., (2006). Identification of *Helicobacter pylori* Genes That Contribute to Stomach Colonization. *American Society for Microbiology : infection and immunity*, **75** : 1005–1016.
- BANATVALA N., et FELDMAN R., (1993). The epidemiology of *Helicobacter pylori*: missing pieces in a jigsaw. *Editor CDR: Communicable Disease Report*, **3** (4): 3144-3186.
- BELL G.D, (1993). Clinical aspects of infection with *Helicobacter pylori*. *Editor CDR: Communicable Disease Report*, **3** (4): 3144-3186.
- BELLOC C., MAGRAS C., FOURICHON C., FEDERIGHI M., SEEGERS H., (2004). Epidémiologie descriptive de *Campylobacter spp* chez le porc : portage et typologie des souches isolées en élevage et dans les viandes. *Journées Recherche Porcine*, **36**: 359-364.
- BERNDTSON E., TIVEMO M., ENGVALL A., (1992). Distribution and numbers of *Campylobacter* in newly slaughtered broiler chickens and hens. *Int J Food Microbiol*, **15**: 45-50.
- BEUMER R.R., NOOMEN A., MARIJS J.A., KAMPELMACHER E., (1985). Antibacterial action of the lactoperoxidase on *Campylobacter jejuni* in cow's milk. *Netherland Milk Dairy Journal*, **39**: 107-114.

- BLACK R.E., LEVINE M.M., CLEMENTS M.L., HUGUES T.P., BLASER M.J., (1988). Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. J Infect Dis, **157**: 472- 479.
- BLANKENSHIP L.C et CRAVEN S.E., (1982). *Campylobacter jejuni* survival in chicken meat as a function of temperature. Appl Environ Microbiol, **44**: 88-92.
- BLASER M.J., SMITH P.F., REPINE J.E., JOINER K.A., (1988). Pathogenesis of *Campylobacter fetus* infections. Failure of encapsulated *Campylobacter fetus* to bind C3b explains serum and phagocytosis resistance. J Clin Invest, **81**: 1434-1444.
- BOLTON F.J., SURMAN S.B., MARTIN K., WAREING D.R., HUMPHREY T.J., (1999). Presence of *Campylobacter* and *Salmonella* in sand from bathing beaches. Epidemiol Infect, **122**: 7-13.
- BONTEMS P et CADRANEL S., (1998). Infection par *Helicobacter pylori* chez l'enfant. Acta Endoscopica, **28** (3): 213-220.
- BRETAG A.H., ARCHER R.S., ATKINSON H.M., WOODS W.H., (1984). Circadian urticaria: another *Campylobacter* association. Lancet, **1**: 954.
- BUSWELL C.M., HERLIHY Y.M., LAWRENCE L.M., MCGUIGGAN J.T., MARSH P.D., KEEVIL C.W., LEACH S.A., (1998). Extended survival and persistence of *Campylobacter spp.* in water and aquatic biofilms and their detection by immunofluorescent-antibody and -rRNA staining. Appl Environ Microbiol, **64**: 733-741.
- BUTZLER J.P., DEKEYSER P., DETRAIN M., DEHAEN F., (1973). Related vibrio in stools. J Pediatr, **82**: 493-495.
- CAPPELIER J.M., MAGRAS C., JOUVE J.L., FEDERIGHI M., (1999). Recovery of viable but non culturable *Campylobacter jejuni* cells by two animals models. Food Microbiol, **16**: 375-384.
- CHEFTEL J.C et CHEFTEL H., (1982). Introduction a la biochimie et a la technologie des aliments. Techniques et Documentation – Lavoisier, Paris.
- CHRISTOPHER F.M., SMITH G.C., VANDERZANT C., (1982). Effect of temperature and pH on the survival of *Campylobacter fetus*. J Food Prot, **45**: 253-259.
- CIACCI C et MAZZACCA G., (2006). The history of *Helicobacter pylori*: A reflection on the relationship between the medical community and industry. Digestive and Liver Disease **38**: 778–780.

- DELPORT W et W.VAN.DER MERWE S., (2007). The transmission of *Helicobacter pylori*: The effects of analysis method and study population on inference. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, **21**: 215-236.
- DESLICK G.D., (2006). *Helicobacter pylori* infection causes gastric cancer? A review of the epidemiological, meta-analytic, and experimental evidence. *World Journal of Gastroenterology*, **12**(19): 2991-2999.
- DIARRA M., (1993). Diarrhée aiguë à *Campylobacter* chez les enfants vietnamiens suivis de 0 à 24 mois dans leur milieu naturel : incidence et immunité. Thèse pour le Doctorat en Médecine, Université Bordeaux 2. n°108.
- DONZE N., PETER O., RIAND R., BELOEIL N., CONSILIA., SION., (2005). Détection de la présence d'*Helicobacter pylori*. Organe de publication pour l'Institut Central des Hôpitaux Valaisans ICHV et CONSILIA Laboratoires et Conseils Médicaux SA, Suisse, Vol : 7- Numéro 9.
- DO-REGO SEYAWI C., ROSSERO A., LE-GAL A., FEDERIGHI M., MAGRAS C., (2001). «*Helicobacter heilmannii*», pathogène humain et animal. *Revue Méd. Vét.*, **152** (8-9) : 623-632.
- DORRELL N., MANGAN J.A., LAING K.G., HINDS J., LINTON D., AL-GHUSEIN H., BARRELL B.G., PARKHILL J., STOKER N.G., KARLYSHEV A.V., BUTCHER P.D., WREN B.W., (2001). Whole genome comparison of *Campylobacter jejuni* human isolates using a low-cost microarray reveals extensive genetic diversity. *Genome Res*, **11**:1706-1715.
- DOYLE M.P., (1981). *Campylobacter fetus subsp. jejuni*: an old pathogen of a new concern. *J Food Prot*, **44**: 480-488.
- DUPIN H., CUQ J L., MALEWIAK M I., LEYNAUD-ROUAUD C., BERTHIER A.M., (1992). *Alimentation et nutrition humaines*. ESF éditeur, Paris.
- EASTMOND C.J., RENNIE JAN., REID TMS., (1983). An outbreak of *Campylobacter* enteritis: a rheumatological follow-up survey. *J Rheumatol*, **10**:107-108.
- EBERHART-PHILLIPS J., WALKER N., GARRETT N., BELL D., SINCLAIR D., RAINGER W., BATES M., (1997). *Campylobacteriosis* in New Zealand: results of a case-control study. *J Epidemiol Commun Health*, **51**:686-691.

- ELEKO E.B., (2003). Prévalence de l'infection à *Helicobacter pylori* en milieu rural : mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval dans le cadre du programme de maîtrise en épidémiologie pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.) Québécois. Université LAVAL QUÉBEC, 116 p.
- ENGBER J., GERNER-SMIDT P., SCHEUTZ F., MOLLER NIELSEN E., ON SLW., MOLBAK K., (1998). Water-borne *Campylobacter jejuni* infection in a Danish town--a 6-week continuous source outbreak. *Clin Microbiol Infect*, **4**: 648-56.
- FAIK M et RAISS M., (1998). *Helicobacter pylori* et pathologie gastrique. *Médecine du Maghreb*, **70**: 37-40.
- FEDERIGHI M., THOLOZAN J.L., CAPPELIER J.M., TISSIER J.P., JOUVE J.L., (1998). Evidence of non coccoid viable but non culturable *Campylobacter jejuni* cells in microcosm water by direct viable count, CTC-DAPI double staining and scanning electron microscopy. *Food Microbiol*, **15**: 5.
- FEDERIGHI M., (1999). *Campylobacter* et denrées alimentaires. In *Campylobacter* et hygiène des aliments (ISBN 2-84054-061-4), éditions Polytechnica, Paris, pp. 97-124.
- FRICKER C.R et PARK R.W.A., (1989). A two-year study of the distribution of "thermophilics" *Campylobacter* in human, environmental and food samples from the reading area with particular reference to toxin production and heat-stable serotype. *J Appl Bacteriol*, **66**: 477-490.
- FRIEDMAN C.R., NEIMANN J., WEGENER H.C., TAUXE R.V., (2000). Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. In Nachamkin, Blaser MJ (eds). *Campylobacter*, 2nd edition. ASM press, Washington DC, pp 121-138.
- GALLAY A., PROUZET-MAULEON V., MEGRAUD F., (2005). Les infections à *Campylobacter* en France : bilan de surveillance du réseau de laboratoires de ville et hospitaliers (2001–2003). Centre national de référence des *Campylobacters* et *Helicobacters*.
- GILL P., AMINI M., GHAEMI A., SHOKOUHIZADEH L., ABDUL-TEHRANI H., KARAMI A., GILAK A., (2007). Detection of *Helicobacter pylori* by enzyme-linked immunosorbent assay of thermophilic helicase-dependent isothermal DNA amplification. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **10** (1016): 1-7.

- GUIRAUD J.P., (1998). Microbiologie alimentaire. Dunod, Paris.
- HANNINEN M.L., KORKEALA H., PAKKALA P., (1984). Effect of various gas atmospheres on the growth and survival of *Campylobacter jejuni* on beef. J Appl Bacteriol, **57**:89-94.
- LAI L.H., SUNG J.J.Y., (2007). *Helicobacter pylori* and benign upper digestive disease. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, **21** (2): 261-279.
- HO T.W., MCKHANN G.M., GRIFFIN J.W., (1998). Human autoimmune neuropathies. Annu Rev Neurosci, **21**:187-226.
- HOFFELNER H., RIEDER G., HAAS R., (2007). Helicobacter pylori vaccine development: Optimisation of strategies and importance of challenging strain and animal model. Int. J. Med. Microbiol, **10** (1016): 2-9.
- HUSSAIN I., SHAHID MAHMOOD M., AKHTAR M., KHAN A., (2007). Corrigendum to ‘‘Prevalence of *Campylobacter species* in meat, milk and other food commodities in Pakistan’’. Food Microbiol, **24** : 219–222.
- HUSSON M.C et MIGNON M, (2001). Les traitements d’éradication d’*Helicobacter pylori*. Dossier du CNHIM: Centre National Hospitalier d’Information sur le Médicament ; Revue d’évaluation sur le médicament. Publication bimestrielle, XXII, 5.
- JOHNSON WM et LIOR H., (1988). A new heat-labile cytolethal distending toxin (CLDT) produced by *Campylobacter spp.* Microb Pathog, **4**:115-126.
- JOSEPHANS C., BEIER D., LINZ B., MEYER T.F., SUERBAUM S., (2007). Pathogenomics of *Helicobacter*. Int. J. Med. Microbiol, 10 (1016) /j.ijmm.
- KARLYSHEV A.V., MCCROSSAN M.V., WREN B.W., (2001). Demonstration of polysaccharide capsule in *Campylobacter jejuni* using electron microscopy. Infect Immun **69**: 5921-5924.
- KHEDMAT H., AHMADZAD-ASL M., AMINI M., LESSAN-PEZESHKI M., EINOLLAHI B., POURFARZIANI V., NASERI M H., DAVOUDI F., (2007). Gastro-Duodenal Lesions and *Helicobacter pylori* Infection in Uremic Patients and Renal Transplant Recipients. Transplantation Proceedings, **39**: 1003–1007.
- KOIDIS P et DOYLE M P., (1983). Survival of *Campylobacter jejuni* in fresh and heated red meat. J Food Prot, **46**: 771-774.

- KONKEL M.E., JOENS L.A., MIXTER P.F., (2000). Molecular characterization of *Campylobacter jejuni* virulence determinants. In Nachamkin, I., M.J. Blaser (Eds.). *Campylobacter*. 2nd edition. ASM Press, Washington, D.C, USA; pp 217-240.
- KORWIN J.D., (2007). Infection à *Helicobacter pylori* : quoi de neuf après le prix Nobel ?. La Revue de médecine interne **28** : 359–362.
- KWIATEK K., WOJTON B., STERN N.J., (1990). Prevalence and distribution of *Campylobacter spp.* on poultry and selected red meat carcasses in Poland. J Food Prot, **53**: 127-130.
- LAMMERDING A.M., GARCIA M.M., MANN E.D., ROBINSON Y., DORWARD W.J., TRUSCOTT R.B., TITTIGER F., (1988). Prevalence of *Salmonella* and Thermophilic *Campylobacter* in fresh pork, beef, veal and poultry. Can J Food Prot, **51**: 47-52.
- LARPENT J.P., (1997). Microbiologie alimentaire – techniques de laboratoire. Technique et documentation – lavoisier, Paris.
- LIASSINE N., (2005). *Helicobacter pylori*. J Information scientifiques ; Unilabs, place cornavin, Genève.
- LOCHHEAD P et EL-OMAR E.M., (2007). *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, **21** (2): 281–297.
- LONGO-MBENZA B., NKONDI NSENGA J., VANGU NGOMA D., (2007). Prevention of the metabolic syndrome insulin resistance and the atherosclerotic diseases in Africans infected by *Helicobacter pylori* infection and treated by antibiotics. Int J Cardiol, **10** (1016)/j.ijcard.
- MALATY H.M., (2006). Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, **21** (2): 205-214.
- MC-NULTY C.A et WYATT J.I., (1999). *Helicobacter pylori*. J. Clin. Pathol. **52** : 338-34.
- MÉGRAUD F., BULTEL C., FLAVIGNY A.L., THOMANN C., (2003)., Appréciation des risques alimentaires liés aux *Campylobacters*: Application au couple poulet / *Campylobacter jejuni*, rapport de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.
- MEGRAUD F et LEHOURS P., (2007). *Helicobacter pylori* Detection and Antimicrobial Susceptibility Testing. American Society for Microbiology. Clinical Microbiology Reviews, Apr. 2007, p 280–322.

- MEGRAUD F., (2003). Quand et comment s'infecte-t-on par *Helicobacter pylori*?. *Gastroenterol clin biol*, **27** : 374-379
- MOHAMMADI M, (2000). Génotypage des souches iraniennes d'*Helicobacter pylori* basé sur la PCR-RFLP des gènes conservés et non-conservés. Société de pathologie exotique. Paris.
- MORENO Y., PIQUERES P., ALONSO J.L., JIMENEZ A., GONZALEZ A., FERRUS M., (2007). Survival and viability of *Helicobacter pylori* after inoculation into chlorinated drinking water. *Water research* **41** : 3490– 3496.
- MYSTROM J et SVENNERHOLM A.M, (2006). Oral immunization with HpaA affords therapeutic protective immunity against *H. pylori* that is reflected by specific mucosal immune responses. Department of Microbiology and Immunology, Institute of Biomedicine, The Sahlgrenska Academy of Göteborg University, Box 435, 40530 Göteborg, Sweden. *Vaccine* **25**: 2591–2598.
- OBIRI-DANSO K., PAUL N., JONES K., (2001). The effects of UVB and temperature on the survival of natural populations and pure cultures of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari* and urease-positive thermophilic *Campylobacters* (UPTC) in surface waters. *J Appl Microbiol*, **90**: 256-267.
- ORR KE., LIGHTFOOT N.F., SISSON P.R., HARKIS B.A., TWEDDLE J.L., BOYD P., CARROLL A., JACKSON C.J., WAREING D.R., FREEMAN R., (1995). Direct milk excretion of *Campylobacter jejuni* in a dairy cow causing cases of human enteritis. *Epidemiol Infect*, **114**: 15-24.
- OWEN R.J., (1993). Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* infection. Editor CDR: Communicable Disease Report, **3** (4): 3144-3186.
- PEABODY R., RYAN M. J., WALL P.G., (1997). Outbreaks of *Campylobacter* infection: rare events for a common pathogen. *Commun Dis Rep CDR Wkly*, **7**: 33–37.
- PEARSON A.D., GREENWOOD M, HEALING T.D., ROLLINS D., SHAHAMAT M., DONALDSON J., COLWELL R.R., (1993). Colonization of broiler chickens by waterborne *Campylobacter jejuni*. *Appl Environ Microbiol*, **59**: 987-996.
- Petrenkiene V., VITKAUSKIENE A., JONAITIS L., KUPEINSKAS L., WADSTROM T., (2004). Detection of *Helicobacter spp.* in liver biopsy specimens. *Acta medica lituanica*. 2004, **11** (3): 31-35.

- POLY F., (2005). Etude de la diversité génétique de l'espèce *Campylobacter jejuni* par l'utilisation de puces à ADN. Thèse présentée à l'Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé, en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur- Strassbourg. France. 199 p.
- Prescott L.M., HARLEY J.P., KLEIN A.D., (2003). Microbiologie – 2^{ème} édition française. Editions De-boeck Université. Bruxelles.
- RECORDATI C., GUALDI V., TOSI S., FACCHINI R V., PENGO G., LUINI M, SIMPSON K.W., SCANZIANI E., (2007). Detection of *Helicobacter spp.* DNA in the oral cavity of dogs. *Veterinary Microbiology* **119**: 346–351.
- RICCI C., HOLTON J., VAIRA D., (2007). Diagnosis of *Helicobacter pylori*: Invasive and non-invasive tests. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. **21** (2) : 299-313.
- RINDI S., CERRI D., GERARDO B., (1986). Sulla presenza di *Campylobacter* termofili nelle salsicce fresche del commercio. *Industrie Alimentari*, pp 648-650.
- ROCHARD E., (2000). Contribution à l'étude de l'infection de l'estomac par les bactéries du genre *Helicobacter* chez les carnivores domestiques. Thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire de Nantes. France 140 p.
- ROSEF O., GONDROSEN B., KAPPERUD G., (1984). *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* as surface contaminants of fresh and frozen poultry carcasses. *Int J Food Microbiol*, **1**: 205-215.
- RUIZ-PALACIOS G., TORRES J., TORRES N I., ESCAMILLA E., RUIZ-PALACIOS B.R., TOMAYO J., (1983). Cholera-like enterotoxin produced by *Campylobacter jejuni*. Characterization and clinical significance. *Lancet*, **2**: 250-253.
- SALAZAR-LINDO E., SACK R.B., CHEA-WOO E., KAY B.A., PISCOYA Z.A., LEON-BARUA R., AUGUST Y. (1986). Early treatment with erythromycin of *Campylobacter jejuni* associated dysentery in children. *J Pediatr*, **109**: 355-360.
- SCHAFFTER N et PARRIAUX A., (2002). Pathogenic-bacterial water contamination in mountainous catchments. *Water Res*, **36**: 131-139.
- SIMMONS N A et GIBBS F.J. *Campylobacter spp.* in oven-ready poultry. *J Infect*, **1**:159-162.

- SKIRROW M.B., JONES D.M., SUTCLIFFE J., BENJAMIN J., (1993). *Campylobacter* bacteraemia in England and Wales, 1981-91. *Epidemiol Infect*, **110**: 567-573.
- SKIRROW M.B., (1977). *Campylobacter* enteritis : a « new » disease. *Br Med J*, **2**: 9-11.
- SORQVIST T.S., (1989). Heat resistance of *Campylobacter* and *Yersinia* strains by three methods. *J Appl Bacteriol*, **67**: 543-549.
- TALIBART R., DENIS M., CASTILLO A., CAPPELIER J.M., ERMEL G., (2000). Survival and recovery of viable but non cultivable forms of *Campylobacter* in aqueous microcosm. *Int J Food Microbiol*, **55**: 263-267.
- THOMAS C., HILL D.J., MABEY M., (1999). Evaluation of the effect of temperature and nutrients on the survival of *Campylobacter spp.* in water microcosms. *J Appl Microbiol*, **86**: 1024-1032.
- TIWARI S.K., KHAN A.A., IBRAHIM M., HABEEB M.A., HABIBULLAH C.M., (2006). *Helicobacter pylori* and other *Helicobacter* species DNA in human bile samples from patients with various hepato-biliary diseases. *World Journal of Gastroenterology*, **12** (14): 2181-2186.
- VANDAMME P., FALSEN E., ROSSAU R., HOSTE B., SEGERS P., TYTGAT R., DE LEY J., (1991). Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. *Int J Syst Bacteriol*, **41**: 88-103.
- VELLINGA A et VAN LOOCK F., (2002). The dioxin crisis as experiment to determine poultry-related *Campylobacter* enteritis. *Emerg Infect Dis*, **8**:19-22.
- WATERMAN S.C., (1982). The heat sensitivity of *Campylobacter jejuni* in milk. *J Hyg (Lond)*, **88**: 529-533.
- WHITEHOUSE C.A., BALBO P.B., PESCI E.C., COTTLE D.L., MIRABITO P.M., PICKETT C.L., (1998). *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin causes a G2-phase cell cycle block. *Infect Immun*, **66**: 1934-1940.
- WINQUIST A.G., ROOME A., MSHAR R., FIORENTINO T., MSHAR P., HADLER J., (2001). Outbreak of *Campylobacteriosis* at a senior center. *J Am Geriatr Soc*, **49**: 304-307.
- XIAO Z.P., SHI D.H., LI H.Q., ZHANG L.N., XU C., ZHU H.L., (2007). Polyphenols based on isoflavones as inhibitors of *Helicobacter pylori* urease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **15**: 3703–3710.

- YOLANDA M., PATRICIA P., JOSÉ L A., ANA J., ANA G., MARIA A.F., (2007). Survival and viability of *Helicobacter pylori* after inoculation into chlorinated drinking water. *Water research*, **41**: 3490 – 3496.
- ZULLO A., DE FRANCESCO V., SCACCIANOCE G., MANES G., EFRATI C., HASSAN C., MACONI G., PIGLIONICA D., CANNAVIELLO C., PANELLA C., MORINI S., IERARDI E., (2007). *Helicobacter pylori* eradication with either quadruple regimen with lactoferrin or levofloxacin-based triple therapy: A multicentre study *Digestive and Liver Disease*, **39**: 806–810.
- ZUMKELLER N., BRENNER H., CHANG-CLAUDE J., HOFFMEISTER M., NIETERS A., ROTHENBACHER D. *Helicobacter pylori* infection, interleukin-1 gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer: Evidence from a case-control study in Germany. *European Journal Of Cancer* **43**: 1283–1289.

ANNEXES

ANNEXE I : décharge montre les références des deux souches ,d'*Helicobacter pylori* et de *Campylobacter jejuni*, utilisées dans l'étude de la viabilité et les risques d'infection.



MINISTERE DE LA SANTE , DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE

وزارة الصحة والسكان واصلاح المستشفيات

INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE

معهد باستور بالجزائر

Alger le, 25 MARS 2008

SERVICE DES ENTEROBACTERIES & EAUX

- DECHARGE -

Ce jour 25 Mars 2008, ont remis, Mme. TALEB Farida une Souche d'*Helicobacter pylori* Humaine et Mme. AL AMIR Hanane une Souche de *Campylobacter jejuni* Humaine à Mr. Ahmed BELHADRI de l'Université de Chelef.

Mme. TALEB, Mme. AL AMIR - Mr. BELHADRI

INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE
Service des Enterobacteries
Vibrions



ANNEXE II : Milieux de cultures

Tableau I : Composition du milieu de base pour Columbia agar (g/l)

Constituants	g/l
Peptone (mélange)	23.00
Amidon	01.00
Chlorure de Sodium	05.00
gélose	10.00

Tableau II : Composition du milieu de base pour gélose au sang (g/l)

Constituants	g/l
Protéose-Peptone	15.00
Extrait de foie	2.50
Extrait de levure	05.00
Chlorure de Sodium	05.00
Agar	12.00

Tableau III : Composition du milieu bouillon *Brucella* (g/l)

Constituants	g/l
Tryptone	10.00
Peptone pepsique de viande	10.00
Extrait de levure	02.00
Glucose	01.00
Chlorure de sodium	05.00
Bisulfite de sodium	00.10

Tableau III : Composition du milieu gélose Mueller-Hinton (g/l)

Constituants	g/l
Extrait de viande	02.00
Hydrolysate acide de caséine	17.50
Amidon	01.50
Gélose	10.00

ANNEXE III : Évolution du nombre des cellules cultivables de *C. jejuni* et d'*H. pylori* dans la viande de poulet en fonction du température de stockage.

Tableau 1: évolution du nombre des cellules cultivables de *C. jejuni* et d'*H. pylori* dans la viande de poulet à température ambiante (20 à 25 °C).

Temps (heures)	0	12	24	36	48
<i>C. jejuni</i> (UFC)	$4 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^5$	10^4	$5 \cdot 10^3$
<i>H. pylori</i> (UFC)	10^8	$7 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^3$	$8 \cdot 10$	0

Tableau 2: évolution du nombre des cellules cultivables de *C. jejuni* et d'*H. pylori* dans la viande de poulet à température de réfrigération (4 °C ± 2 °C).

Temps (jours)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>C. jejuni</i> (UFC)	$4 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^7$	10^7	$2 \cdot 10^6$	10^6	10^6	$9 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$	10^5	$6 \cdot 10^4$	10^4	$2 \cdot 10^3$	10^3	$8 \cdot 10^2$	10^2	10^2
<i>H. pylori</i> (UFC)	10^8	10^6	$8 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^5$	10^4	$5 \cdot 10^3$	10^3	$2 \cdot 10^3$	10^3	10^2	10	4	0	0	0	0

Tableau 3: évolution du nombre des cellules cultivables de *C. jejuni* et d'*H. pylori* dans la viande de poulet à température de congélation (-18 °C ± 1 °C).

Temps (jours)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
<i>C. jejuni</i> (UFC)	$4 \cdot 10^8$	10^6	10^4	$2 \cdot 10^4$	10^4	10^4	$3 \cdot 10^3$	10^3	$5 \cdot 10^3$	10^3	$4 \cdot 10^3$	10^3	$8 \cdot 10^2$
<i>H. pylori</i> (UFC)	10^8	10^5	$4 \cdot 10^4$	10^3	10^2	10^2	10	6	0	0	0	0	0

UFC : unité formant colonie.