

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE SAAD DAHLAB BLIDA-1-



FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

LABORATOIRE DE RECHERCHE : BIOTECHNOLOGIES, ENVIRONNEMENT ET
SANTÉ

Mémoire de Project de fin d'étude en vue de l'obtention du Master

Option : Microbiologie

Thème :

**Gastroentérites à *Campylobacter jejuni* :
Diagnostic et résistance aux antibiotiques**

Soutenu le : 01.07.2018

Réalisé et présenté par :

M^{elle} LACEB Zahoua

M^r SLIMANI Abd El Halim

Devant le jury :

M ^{me} SAIDI F.	Pr.	Université de Blida 1	Présidente
M ^{me} MEKLAT A.	MCA.	Université de Blida 1	Examinatrice
M ^{me} AIT SAADI N.	MAA.	Université de Blida 1	Co-Promotrice
M ^{me} HAMROUCHE S.	Dr.	Institut Pasteur	Promotrice

Promotion 2017/2018

Remerciements

Tout d'abord nous remercions Dieu le tout puissant et miséricordieux, de nous avoir donné la force et le courage de réaliser et d'arriver au bout de ce travail.

Nous remercions l'équipe du laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées, de l'Institut Pasteur Algérie (annexe de Delly Brahim) de nous avoir accueilli, suivi, et avoir mis en notre disposition le matériel nécessaire à notre travail. Plus spécialement **Dr Hamrouche S.** notre encadreur, qui nous a donné l'opportunité de réaliser ce travail et nous a guidé, ainsi que **Dr Benamarouche N.** pour ses conseils constructifs et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer.

Nous remercions surtout notre co-encadreur et professeur, **Mme Ait Saadi N.** pour sa générosité et la patience dont elle a fait preuve, ainsi que sa constante présence à nos côtés tout au long de ce parcours. Et sans qui on n'aurait jamais pu finir à temps.

Par ailleurs nous remercions, les membres du jury **Pr Saidi F.** qui a bien accepté de nous faire l'honneur de présider notre jury, ainsi que notre professeur **Dr Meklat A.** de bien vouloir examiner et corriger notre travail.

Nos remerciements les plus chaleureux vont également à notre professeur, **Dr Aissani R.** pour son support moral et ses encouragements.

Et enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué au bon déroulement de ce travail, de près ou de loin.

Dédicaces

Je dédie ce travail à ma très chère famille, ma mère et ma tante que Dieu les protège. Pour leurs encouragements et leur soutien morale constant, tout au long de ma vie et surtout dans les moments les plus durs.

A tous mes amis et spécialement Mehdi, Yassine et Imad.

Je le dédie également aux personnes misent sur mon chemin par dieu le tout puissant et miséricordieux, et ceux qui m'ont aidé de près ou de loin anonymes ou connus, ainsi qu'à toutes les personnes qui ont cru en moi et qui m'ont inspiré, m'inspire et m'inspireront toujours.

Abd El Halim

Dédicaces

Je dédie mon travail aux personnes les plus chères à mon cœur...

Mes parents, ma maman et mon papa. Ces deux magnifiques personnes qui ont toujours fait que je réussisse et ont tout fait pour me construire et me procurer tout ce dont j'ai besoin et bien plus encore. Ce travail est minuscule devant tout ce qu'ils ont fait pour moi, j'espère vraiment avancer encore plus et pouvoir leur rendre ne serait-ce que le centième de ce qu'ils m'ont apporté

Ma sœur Lydia, qui m'a aidé à accomplir tous les pas de ma vie, sans exception. Qui a fait preuve de beaucoup de sagesse et de patience, surtout durant cette dernière période assez délicate pour moi

Mes deux frères, mon frère Anis et mon petit frère d'amour Karim, qui représentent tellement de choses pour moi

Mon fiancé Adel, qui me donne la force et le courage d'avancer de jour en jour, mon exemple de persévérance et sans qui aujourd'hui je n'aurais pas eu toute cette confiance en moi.

Zahoua.

Résumé

Notre étude basée sur la recherche de *Campylobacter jejuni*, chez les personnes présentant des symptômes de gastro-entérite, a été effectuée à l'Institut Pasteur Algérie, au niveau du laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées.

Pour la réalisation de cette étude, de multiples méthodes de diagnostic bactériologique ont été effectuées, dont deux inusuelles (la culture sur milieu chromo-génique CHROMagar™ et le test rapide immuno-chromatographique). Les résultats obtenus par le diagnostic bactériologique direct ont été confirmés, par une identification moléculaire (Amplification en chaîne par polymérase), dans laquelle des gènes caractéristiques des espèces isolées ont été ciblés (VS1 pour *Campylobacter jejuni* et Aspartokinase pour *Campylobacter coli*). Après identification et confirmation de *Campylobacters*, un profil de résistances pour chaque souche isolée a été réalisé.

Les résultats de l'identification ont permis de répertorier cinq souches de *Campylobacter* sp. Quatre d'entre elles étaient isolées chez des nourrissons et une seule chez un sujet adulte. Les résultats montrent également que le CHROMagar™ était hautement efficace et pratique et que le test immuno-chromatographique présentait un bon moyen de dépistage. L'identification par Amplification en chaîne par polymérase a révélé que les gènes utilisés étaient effectivement des gènes caractéristiques de ces espèces.

L'étude de profil de résistance, montre que la résistance à la tetracycline concernait toutes les souches isolées. La résistance aux quinolones (à la ciprofloxacine 3/5 et à l'acide nalidixique 4/5) était majoritaire. Cependant, le reste des molécules étaient plus actives, avec une sensibilité générale concernant les molécules d'érythromycine, le clarithromycine, à la gentamicine, et à l'ertapénème.

Mots clefs : *Campylobacter*, Gastro-entérites, Identification, CHROMagar™, Antibiorésistance.

Abstract

Our study based on the research of *Campylobacter jejuni*, in people with gastroenteritis symptoms, was carried out at the Pasteur Institute of Algeria, in the laboratory of enterobacteria and other related bacteria.

To carry out this study, multiple bacteriological diagnostic methods were performed; including two unusual ones (culture on chromogenic media CHROMagar™ and the immunochromatographic rapid test). The results obtained by direct bacteriological diagnosis were confirmed by molecular identification (Polymerase chain reaction), in which genes characteristic of isolated species were targeted (VS1 for *Campylobacter jejuni* and Aspartokinas for *Campylobacter coli*). After identification and confirmation of *Campylobacters*, a resistance profile for each isolated strain was developed.

The results identified five strains of *Campylobacter* sp. Four were isolated in infants and only one in an adult subject. The results also showed that CHROMagar™ was highly effective and practical and that the immune-chromatographic test was a good detection method. Identification by Polymerase chain reaction revealed that the genes used were indeed genes characteristic of these species.

The resistance profile study shows that resistance to tetracycline concerned all strains isolated. Resistance to quinolones (ciprofloxacin 3/5 and nalidixic acid 4/5) was predominant. However, the remaining molecules were more active with general sensitivity to erythromycin molecules, clarithromycin, to gentamicin and ertapenem.

Keywords: *Campylobacter*, Gastroenteritis, Identification, CHROMagar™, Antibiotic resistance.

الملخص

تناولنا في هذه الدراسة التي أجريت في مخبر البكتيريا المعوية والبكتيريا الأخرى ذات الصلة (معهد باستور الجزائر)، البحث عن كمبيلوباكثير جيجوني *Campylobacter jejuni* عند أشخاص عليهم أعراض إلتهاب المعدة والأمعاء gastro-entérite.

استخدمنا لتنفيذ هذه الدراسة عدّة طرق للتشخيص البكتريولوجي، منها طريقتين غير إعتياديتين: الزرع على وسط مغذي مولّد اللون CHROMagarTM والإختبار السريع المناعي الكروماتوغرافي. أثبتنا نتائج التشخيص البكتريولوجي المباشر بكشف الهوية الجزيئية بطريقة تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) من خلال استهدافنا مورثات مميزة للمعزولتين (VS1 للسلالة *Campylobacter jejuni* و ASP للسلالة *Campylobacter coli*). تطرّقنا بعد التأكد من هوية بكتيريات كمبيلوباكثير دراسة مجال مقاومة كل منهما.

مكّنتنا نتائج تحديد الهوية من الحصول على خمس سلالات من جنس *Campylobacter sp.* عزلت أربعة منها من رُضع والخامسة من شخص بالغ. وبيّنت النتائج أنّ الوسط CHROMagarTM ذات فعالية كبيرة ومرونة في التطبيق، وأن الإختبار المناعي الكروماتوغرافي كان وسيلة جيّدة للتشخيص. أكّد إختبار الكشف عن الهوية الجزيئية بتفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) أنّ المورثات المستخدمة كانت فعلا مورثات مميزة لهذه الأنواع.

كشفت لنا مجال مقاومة المضادات الحيوية أن مقاومة تيتراسيكلن tetracycline ميّزت كل السلالات المعزولة وكانت جليّة في مقاومة الكوينولونات quinolones (سيبروفلوكسلين ciprofloxacin 5/3، وحمض ناليديكسيك 4/5 acide nalidixique). كما أظهرت باقي المضادات الحيوية فعالية لا بأس بها وبحساسية عامة اتجاه جزيئات إريثروميسين érythromycine، جنتاميسين gentamicine، كلاريثروميسين clarithromycine، وإيرتابينيم ertapénème.

الكلمات المفتاحية: كامبيلوباكتر، إلتهاب المعدة والأمعاء، تحديد الهوية الجزيئية، وسط كروم-أغار، مقاومة المضادات الحيوية.

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Glossaire

Introduction

1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Gastro-entérites

4

I.2. Campylobactérioses

4

I.3. *Campylobacter jejuni*

5

I.3.1. Historique

5

I.3.2. Classification

6

I.3.3. Caractères bactériologiques

7

I.3.4. Habitat et réservoir

8

I.3.5. Modes de transmission

8

I.3.6. Epidémiologie

9

I.3.7. Pouvoir pathogène

10

I.3.8. Physiopathologie

11

I.3.9. Diagnostic

13

I.4. Traitement

14

I.4.1. Antibiotiques

16

I.4.2. *Campylobacter* et antibiotiques

17

I.5. Prévention

19

Chapitre II : Matériel et méthodes	
II.1. Matériel	21
II.1.1. Matériel biologique	21
II.1.2. Matériels non biologiques	21
II.2. Méthodes	21
II.2.1. Diagnostic Bactériologique	21
II.2.2 Diagnostic moléculaire (PCR)	29
II.2.3. Antibiogramme	32
II.2.4. Conservation des souches isolées	33
Chapitre III : Résultats et discussion	
III.1. Répartition des prélèvements	35
III.2. Résultat de la recherche des <i>Campylobacters</i>	36
III.3. Résultat de l'identification	41
III.4. Evaluation comparative entre les deux milieux CHROMagar™ <i>Campylobacter</i> et Skirrow	47
III.5. Identification moléculaire (PCR)	49
III.6. Différence d'incidence entre <i>Campylobacter</i> et Salmonelle	51
III.7. Etude du profil de résistance	52
Conclusion	56

Liste des Figures

Figure 1. Vue en microscopie électronique à balayage de <i>C.jejuni</i>	7
Figure 2. Réservoirs et modes de transmission des <i>Campylobacter</i>	9
Figure 3. Répartition des échantillons selon leur lieu de provenance	35
Figure 4. Répartition des échantillons selon l'âge et le sexe	36
Figure 5. Répartition des échantillons selon la présence/absence de <i>Campylobacter</i>	36
Figure 6. Répartition des souches positives selon l'âge et le sexe	38
Figure 7. Répartition des souches positives selon la provenance	39
Figure 8. Répartition des cas positifs selon les signes cliniques	40
Figure 9. Répartition des cas positifs selon l'espèce	41
Figure 10. Résultat positif du test Immuno- chromatographique	42
Figure 11. Aspect des colonies en « stries »	42
Figure 12. Aspect des colonies en « nappes »	42
Figure 13. Aspect des colonies sur le milieu CAC	43
Figure 14. Aspect de <i>C. jejuni</i> sous microscope optique au Gr x 100	44
Figure 15. Lecture positive de la partie aérobique de la galerie Api Campy™ après l'ajout des réactifs	46
Figure 16. Lecture positive de la partie micro aérophile de la galerie Api Campy™	46
Figure 17. Interprétation des résultats de galerie en utilisant le logiciel Apiweb	46
Figure 18. Aspect de <i>Campylobacter</i> sur Skirrow	48
Figure 19. Aspect de <i>Campylobacter</i> sur CAC.	48
Figure 20. Electrophorèse sur gel d'agarose pour les résultats des produits de la PCR (a)	49
Figure 21. Electrophorèse sur gel d'agarose pour les résultats des produits de la PCR (b)	50
Figure 22. Electrophorèse sur gel d'agarose pour les résultats des produits de la PCR (c)	50
Figure 23. Différence entre l'incidence de <i>Campylobacter</i> et Salmonelles	51
Figure 24. Répartition de la résistance antimicrobienne des souches	52

Liste des tableaux

Tableau 1. Agents responsables de la gastro-entérite	4
Tableau 2. Différents caractères relatifs à la croissance de <i>C.jejuni</i>	7
Tableau 3. Différents caractères biochimiques des <i>Campylobacter</i>	8
Tableau 4. Syndromes cliniques des GE	12
Tableau 5. Mécanismes de résistance aux différentes classes d'antibiotiques chez <i>Campylobacter</i>	18
Tableau 6. Réactifs nécessaires pour la préparation de la solution mix et leurs volumes	31
Tableau 7. Résultats des tests présomptifs	45
Tableau 8. Principaux caractères biochimiques typique de <i>Campylobacter</i> isolées	47
Tableau 9. Comparaison selon les résultats du milieu CHROMagar™ et Skirrow	48
Tableau 10. Profil de résistance des souches identifiées	55

Liste des abréviations

AMC : Amoxicilline Acide Clavulanique.

AMP : Ampicilline.

Antibiotique : ATB.

AR : Arthrite réactionnelle.

Asp : Aspartokinase.

Beni Messous : BM.

BGN : Bacille à gram négatif.

BTR : Birtraria.

CAC : CHROMagarTM *Campylobacter*.

Ca-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

CDT : Cytoléthaldistensionnelle.

CEF : Cefalotine.

CIP : Ciproflaxine.

CLR : Clarithromicyne.

CLR : Claritromycine.

CNR : Centre National de Référence

CPS : Les polysaccharides capsulaires.

ERT : Ertapénème.

ERY : Erythromycine.

Eucast : European committee on antibiotic susceptibility testing.

FQ : Fluoroquinolones.

GE : Gastro-entérite.

GEN : Gentamycine.

Gr : Grossissement.

IPA : Institut Pasteur d'Algérie.

MAC : Macrolides.

MHR : Macher.

NAL : Acide Nalidixique.

OR : Ould Rouis.

PCR : Réaction de polymérisation en chaîne.

POMP : Protéine majeure de la membrane externe.

SCI : Syndrome du côlon irritable.

TCY : Tetracycline.

Glossaire

Arthrite : Affection articulaire d'origine inflammatoire.

Atteinte sporadique : Atteinte de manière isolée d'un seul individu, contrairement aux atteintes endémiques ou pandémiques qui font référence à l'atteinte de toute une population.

Carcérale : de la prison.

Comorbidité : Présence d'un ou plusieurs troubles associées à un trouble ou une maladie primaire.

Complément : Mécanisme de défense immunitaire contre les infections, faisant partie de l'immunité innée.

Endovasculaire : Intérieur d'un vaisseau sanguin, tel que l'aorte.

Engourdissement : Une légère paralysie qui n'est que passagère et qui cède spontanément au bout de quelques instants.

Entérocolite : Inflammation de la muqueuse de l'intestin et de l'estomac.

Fibronectine : Glycoprotéine qui joue un rôle dans clé dans l'adhésion.

Lexie : Unité lexicale de langue est constituée soit par un mot (lexie simple), soit par des mots associés (lexie composée et complexe).

Méta analyse : Démarche scientifique systématique combinant les résultats d'une série d'études indépendantes sur un problème donné, selon un protocole reproductible.

Paresthésie : Sensation de fourmillements, d'engourdissements ou autres picotements pouvant être ressentis dans diverses parties du corps, en particulier les membres et leurs extrémités (bras, mains, jambes, pieds).

Prodrome : Avant-coureur d'une maladie.

Spondylarthropathie : Les spondylarthropathies, ou spondylarthrites, regroupent plusieurs maladies touchant les articulations et ayant plusieurs caractéristiques communes, dont celle d'atteindre la colonne vertébrale.

Introduction

Introduction

Le tractus gastro-intestinal est l'un des organes les plus grands et les plus importants de l'organisme humain, composé d'une grande couche de cellules épithéliales intestinales. Cet épithélium présente non seulement des propriétés d'absorption et de digestion cruciales, mais il constitue également une barrière efficace contre les bactéries d'origine alimentaire. De multiples infections d'origine alimentaire et hydrique des voies gastro-intestinales humaines sont responsables de taux très élevés de morbidité et de mortalité. Ces infections tuent un nombre estimé à 2,2 millions de personnes chaque année. *Campylobacter* a été reconnu comme la principale cause des gastro-entérites (GE) bactériennes dans le monde entier (Klein, 2016).

Campylobacter est un bacille Gram négatif (BGN), micro-aérophile, mobile, qui cause typiquement une GE, les deux espèces prédominantes incriminées sont *Campylobacter jejuni* (*C.jejuni*) et *Campylobacter.coli* (*C.coli*) (Skarp *et al.*, 2015 ; Mcrackin *et al.*, 2015).

La campylobactériose est majoritairement auto-limitative, elle se caractérise par une diarrhée aqueuse aigue parfois sanglante, de la fièvre, des crampes abdominales et des vomissements. Dans de rares cas l'infection peut déclencher le syndrome de Guillain-Barré, l'arthrite réactive (AR) et le syndrome du côlon irritable (SCI). Bien que l'infection soit retrouvée dans tous les groupes d'âge, les incidences sont plus élevées chez les jeunes adultes et particulièrement chez les enfants (Kuhn *et al.*, 2017 ; Skarp *et al.*, 2015).

Désormais les *Campylobacters*, font non seulement partie des préoccupations majeures des microbiologistes et des hygiénistes, mais influencent les décisions politiques, socioculturelles, économiques et commerciales, perturbent le marché et causent des pertes économiques parfois non négligeables. Le *Campylobacter* spp. représente une véritable menace pour la Santé Publique. (Charat, 2017).

Les tests de diagnostic de *Campylobacter* peuvent être effectués par différentes méthodes, la culture, la recherche des antigènes des selles et les techniques de biologie moléculaire, ces tests différents par leur sensibilité et leur spécificité. Leur diagnostic peut également être réalisé par des méthodes de non-culture, qui détectent les espèces de *Campylobacter* mais ne permettent pas de différencier entre elles (Fitzgerald, 2015).

L'Antibiothérapie, reposant principalement sur l'utilisation d'un macrolide (MAC), n'est pas conseillée dans tous les cas, mais seulement dans les formes les plus graves et aux âges extrêmes de la vie, aux femmes enceintes et aux immunodéprimés (**Megraud *et al.*, 2016**).

En Algérie, la recherche des *Campylobacters* est sous-estimée. Où elle est très rarement incluse dans l'examen coprologique. De ce fait nous nous sommes engagés dans la recherche des *Campylobacters* avec pour objectif principal la détermination de l'incidence de *Campylobacter*, plus particulièrement *C.jejuni* chez des patients présentant des symptômes de GE. Comme objectifs secondaires :

- Maitriser les techniques d'identification usuelles (examen microscopique, culture, tests biochimiques).
- Tester de nouvelles méthodes de diagnostic (culture sur milieu chromogène CHROMagar™ (CAC), test rapide immuno- chromatographique).
- Observer l'évolution de la résistance aux antibiotiques (ATB) des espèces de *Campylobacter*.

Synthèse bibliographique

I.1. Gastro-entérites

La GE, au sens large, désigne tout processus inflammatoire de la surface de l'estomac ou de la muqueuse intestinale. Cependant, le terme désigne généralement une diarrhée infectieuse aiguë, un syndrome diarrhéique d'une durée inférieure à 2 semaines, qui peut s'accompagner de fièvre, de nausées, de vomissements, de douleurs abdominales, de déshydratation et de perte de poids (**Schlossberg, 2015**). Les différents agents responsables de la GE sont illustrés dans le tableau I.

Tableau I: Différents agents causals de la GE

Bactéries	Parasites	Virus
<i>Aeromonas species</i>	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Astrovirus
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Cyclospora cayentanensis</i>	Adenovirus enterique
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	Norovirus
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Giardia intestinalis</i>	Rotavirus
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Cystoisospora belli</i>	Sapovirus
<i>Escherichia coli</i>	<i>Microsporidia (incluant</i>	
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Enterocytozoon bieneusi et</i>	
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>Encephalitozoon intestinalis)</i>	
<i>Salmonella species</i>		
<i>Shigella species</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Vibrio cholerae</i>		
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		
<i>Vibrio vulnificus</i>		
<i>Yersinia enterocolitica</i>		

(Yi et Shane, 2018)

I.2. Campylobactérioses

Les infections à *Campylobacter* font partie des maladies bactériennes d'origine alimentaire les plus importantes au monde (**Platts-Mills et Kosek, 2014**). Ce sont essentiellement des infections entériques, survenant principalement durant la période estivale, à tous les âges, mais leur incidence est particulièrement plus élevée chez les enfants de moins de 5 ans et majoritairement les nourrissons. Les hommes tendent à être plus touchés par ces affections que les femmes. Les campylobactérioses sont presque toujours causées sous forme de diarrhée par le *C.jejuni* ou le *C.coli*. Le *Campylobacter fetus* (*C.fetus*), peut quant à lui causer une infection néonatale (**Lehours et al., 2012; Yapo et al., 2016**). Ces infections sont généralement auto-limitatives, mais dans les cas graves, le traitement aux ATB peut être prescrit (**Bolinger et Kathariou, 2017**).

En 2014, le genre *Campylobacter* comprenait 26 espèces, dont la plupart sont des pathogènes humains connus, causant une large variété de manifestations cliniques mais également de complications immunologiques retardées (annexe 1) (Kaakoush et al., 2015; Yi et Anderson, 2018).

I.3. *Campylobacter jejuni*

C.jejuni est un pathogène entérique bactérien associé à la diarrhée et à l'entérocolite chez les humains et de nombreuses espèces animales, y compris les chiens, les chats, les veaux et les moutons (Hoefler et al., 2012). Elle est associée à plusieurs séquelles, et est biologiquement distincte des autres pathogènes entériques, tels que *Salmonella*, *Shigella* et *Vibrio* (John et al., 2017). Elles portent un génome relativement petit qui est un chromosome circulaire singulier avec un rapport G+C moyen de 30,3 à 30,6 % (Klein, 2016).

I.3.1. Historique

1886 : Première évocation de *Campylobacter* dans les infections humaines par Escherich, qui avait rapporté l'observation en microscopie optique de bactéries spiralées non cultivables dans les selles d'enfants diarrhéiques.

1913 : Culture pour la première fois des bactéries « *Vibrio like* » à partir du produit d'avortement de brebis par McFadyean et Stockman. Ces micro-organismes différaient des vrais vibrions par leur micro-aérophilie. Ils ont été nommés *Vibrio fetus* pour ceux qui ont été isolés des avortements, ou *Vibrio jejuni* et *Vibrio coli* pour ceux isolés à partir des matières fécales (Leflon-Guibout et Munier, 2016).

1946 : L'implication probable de ces microbes dans les maladies infectieuses d'origine alimentaire a été établie, lorsque Levy a décrit une épidémie de GE dans une population carcérale de l'Illinois aux Etats-Unis. Il a signalé que des micro-organismes ressemblant à *Vibrio jejuni* avaient été trouvés dans 13 hémocultures de patients, dans 20 % des échantillons de selles et dans le lait distribué aux détenus. C'était probablement la première description de campylobactériose digestive d'origine alimentaire.

1963 : Sebald et Veron ont proposé la création du genre *Campylobacter* (étymologiquement du grec kampulos = courbe, bactérie = tige), avec une espèce de type *Campylobacter fetus*. Depuis, l'essor de la taxonomie a permis d'établir la classification de ces micro-organismes (Garénaux, 2008).

1973 : Butzler a appliqué les techniques de filtration utilisées en microbiologie vétérinaire pour isoler sélectivement *Campylobacter* des selles des humains atteints de diarrhée.

1977 : Skirrow a décrit un supplément sélectif pour isoler les *Campylobacters* et évaluer leur rôle clinique (Klein, 2016).

I.3.2. Classification

Selon Lehours *et al.*, (2012) et Denis *et al.*, (2016), la classification des espèces de *Campylobacter* est représentée comme suit :

Règne : *Eubacteria*.

Phylum : *Proteobacteria*.

Ordre : *Campylobacteriales*.

Classe : *Epsilon Proteobacteria*.

Famille : *Campylobacteriaceae*.

Genre : *Campylobacter*.

Espèce : *C.jejuni*.

I.3.3. Caractères bactériologiques

I.3.3.1. Caractères morphologiques

Ce sont des BGN, micro-aérophiles, non sporulées, mobiles par un flagelle polaire non engainé « vol de mouettes ». à l'aspect incurvé ou en forme de tire-bouchon en forme de S. De taille 0,2-0,9 micromètre (μm) d'épaisseur et 0,5 à 5 μm de long, et qui peuvent aussi donner des formes coccoïdes dans les cultures anciennes (figure 1) (Wieczorek et Osek, 2013 ; Yapo *et al.*, 2016 et Liu *et al.*, 2017).

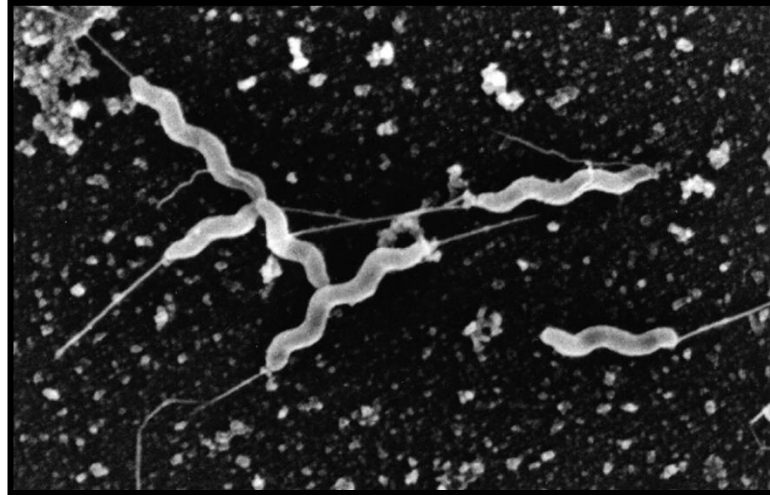


Figure 1. Vue en microscopie électronique à balayage de *C. jejuni* (Denis, 2016).

I.3.3.2. Caractères cultureux

Les caractères relatifs aux conditions de croissance (température, pH, O₂, CO₂ et NaCl) de *C.jejuni* sont cités dans le tableau II.

Tableau II. Différents caractères relatifs à la croissance de *C.jejuni*.

	Optimal	Inhibition
Température	37 à 41,5 °C	< 30 °C ou >45 °C
pH	6,5-7,5	<4,7 ou >8,2
O₂	5-10%	0% ou >15-19%
CO₂	10%	/
NaCl	0,5%	1,5%

(Garénaux, 2008)

I.3.3.3. Caractères métaboliques et biochimiques

Les espèces de *Campylobacter* présentent des caractères biochimiques variés qui diffèrent d'une espèce à une autre, ces caractères sont résumés dans le tableau III.

Tableau III. Différents caractères biochimiques des *Campylobacters*

	Cat	Croissance		Ind. <i>acét.</i>	Uréase	Hip.	Céf.	Nal	Nit	H ₂ S <i>TSI</i>
		25°C	42 °C							
C.jejuni subsp jejuni	+	-	+	+	-	+	R	S	+	-
C.jejuni subsp doylei	+/-	-	-	V	-	V	S	S	-	-
C.coli	+	-	+	+	-	-	R	S	+	+f
C.fetus subsp venerali	+	+	-	-	-	-	S	R	+	-
C.fetus subsp fetus	+	+	-	-	-	-	S	R	+	-

Cat: catalase ; Ind. acét: indoxyl acétate estérase ; Hip: hippurate ; Céf: céfalotine ; Nal: acide nalidixique ; Nit : nitrite réductase ; H₂S TSI : production d'H₂S en milieu TSI ; S: sensible ; R: résistant ; V: variable ; nd : non déterminé ; f : faible

(Denis *et al*, 2016)

I.3.4. Habitat et réservoir

Les *Campylobacteres* sont des hôtes intestinaux normaux des volailles et des porcs. Ces derniers sont des porteurs sains de ces germes dans leurs intestins; ces animaux constituent le réservoir principal de ces germes. Ils peuvent contaminer par la suite des animaux d'élevage ou de compagnie ainsi que les crustacés et les coquillages. Des espèces de *Campylobacter* sont pathogènes pour l'homme et pour les animaux. Un deuxième réservoir est constitué par les étendues d'eau présentant des conditions d'environnements favorables à leur vie. Ils peuvent également être isolés à partir d'une série d'autres tissus, y compris la rate et le foie, même chez les porteurs sains (Garénaux, 2008 ; Delarras, 2014).

I.3.5. Modes de transmission

La transmission de *Campylobacter spp.* à l'homme se produit le plus souvent par la consommation et la manipulation de divers types d'aliments d'origine animale dont les carcasses ont été contaminées par les bactéries pendant l'abattage et la transformation

(Bronowski *et al.*, 2014; Kaakoush *et al.*, 2015). Les Principales voies de contamination par *Campylobacter* chez l'homme sont schématisées dans la figure 2.

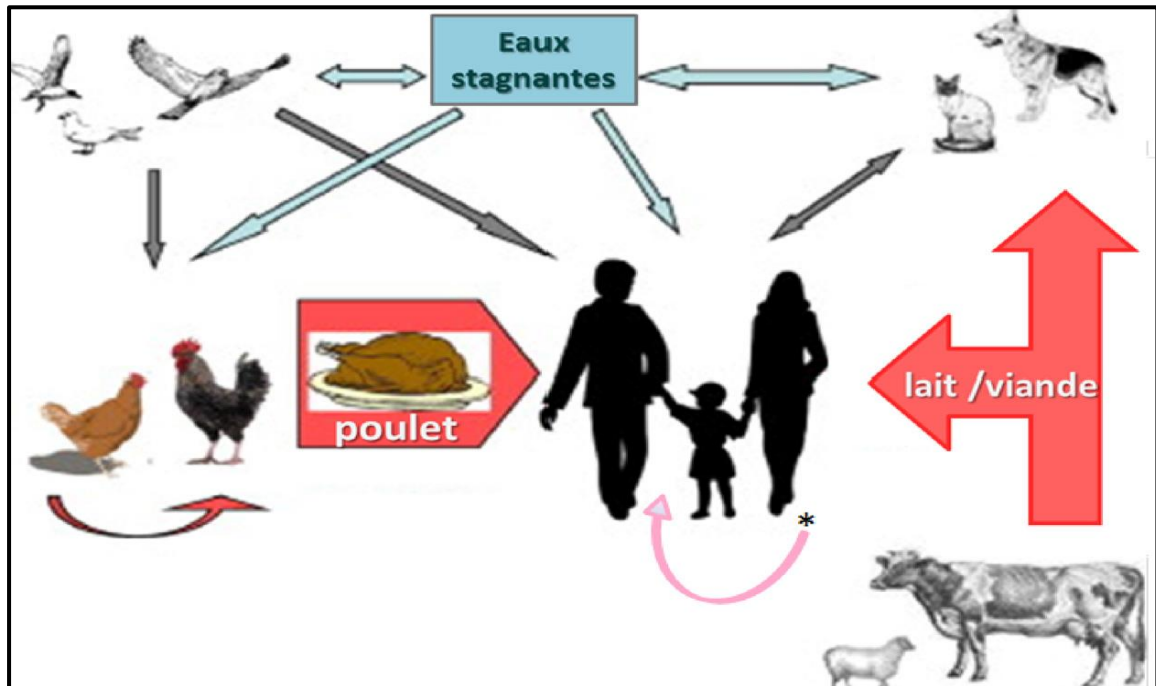


Figure 2. Réservoirs et modes de transmission des *Campylobacter* (Silva *et al.*, 2011).

I.3.6. Epidémiologie

Les infections à *Campylobacter* sont présentes dans toutes les parties du monde, comme l'attestent les études sur les maladies diarrhéiques sur tous les continents habités (Mason *et al.*, 2013). En Afrique, entre 2011 et 2012 dans un hôpital à Kisii au Kenya, une étude a été menée pour la détection d'une gamme de pathogènes entériques a montré que 5% d'échantillons prélevés sur les patients souffrant de diarrhée étaient positifs aux *Campylobacters* (Kaakoush *et al.*, 2015).

Aux Etats Unis, le nombre annuel de cas de campylobactériose a été estimé à 848 024 cas, ce qui a entraîné 8463 hospitalisations et 76 décès (Hoffmann *et al.*, 2012). Le réseau de surveillance active des maladies alimentaires (entre 1996 et 2012) a déclaré une incidence annuelle de 14.3 pour 100 000 habitants (Gilliss *et al.*, 2013).

L'évaluation épidémiologique de la campylobactériose dans 27 états membres de l'union européenne a indiqué que l'incidence des infections à *Campylobacter* variait de 29.9 à 13 500 pour 100 000 habitants en 2009 (**Havelaar et al., 2013**). La même année une étude au Royaume Uni identifie les espèces de *Campylobacter* comme les agents pathogènes bactériens les plus fréquents dans les GE (**Tam et al., 2012**).

I.3.7. Pouvoir pathogène

I.3.7.1. Facteurs de virulence

I.3.7.1.1. Capsule

Les polysaccharides capsulaires (CPS) peuvent donner un avantage à la bactérie pendant l'invasion, et joue un rôle important dans sa virulence car il peut présenter des variations structurelles, et une résistance à la phagocytose et à l'élimination par complément (**Guerry et al., 2012**).

I.3.7.1.2. Mobilité

La mobilité permet la survie des bactéries dans le tractus digestif et leur accession à la cellule hôte. Elle est assurée par 2 facteurs, les flagelles et le chimiotactisme (**Iraola et al., 2014**). Les *Campylobacters* présentent une motilité inhabituelle, surtout dans les substances visqueuses. Cela a été attribué à la présence d'un ou deux flagelles polaires et la forme hélicoïdale des cellules. Le premier prévoit mouvement du couple propulsif et/ou de la cellule rotative, tandis que la forme en hélice facilite une rotation en tire-bouchon (**Bolton, 2015**).

I.3.7.1.3. Les flagelles

Les flagelles sont essentielles non seulement pour la motilité des *Campylobacters*, mais aussi pour l'adhésion et l'invasion des cellules hôtes (**Dodd, 2017**). Le flagelle est constitué par un multimère protéique, la flagelline, composé d'une protéine majeure FlaA et d'une protéine mineure FlaB. Des études ont montré que des mutations dans le gène flaA ou dans ses régulateurs conduisaient à une diminution de la mobilité et un retard à la colonisation (**Leflon-Guibout et Munier, 2016**).

I.3.7.1.4. Le chimiotactisme

La chimiotaxie est un mécanisme par lequel les bactéries mobiles perçoivent et évoluent vers des conditions plus favorables et de nombreuses bactéries pathogènes dépendent de ce processus pour envahir leurs hôtes. *C. jejuni* colonise l'intestin aviaire comme commensal, en particulier les cryptes remplies de mucus et utilise la chimiotaxie pour localiser ces sites de colonisation primaires (**Bolton, 2015**).

I.3.7.1.5. Adhésion

L'adhésion aux cellules de l'épithélium intestinal est médiée par CadF et FlpA, protéines de liaison à la fibronectine. L'adhésion de ces protéines déclenche un signal provoquant l'internalisation des bactéries (**Man, 2011; Eucker et Konkel, 2012 et Bolton, 2015**).

I.3.7.1.6. Invasion

À la phase d'invasion, le flagelle sert d'appareil d'export pour la sécrétion de protéines non flagellaires. Les protéines FlaC, CiaA, CiaB, CiaC essentielles pour la colonisation et l'invasion, sont injectées dans le cytoplasme des cellules hôtes via le flagelle (**Leflon-Guiboutet Munier, 2016**). CiaA joue un rôle dans la survie intracellulaire, CiaB est impliquée dans l'adhésion CiaC est requis pour l'invasion (**Buelow et al., 2011**).

I.3.7.1.7. Toxine cytoléthaldistensionnelle (CDT)

Cette Toxine a été identifiée chez les *Campylobacters*, bien que les mécanismes moléculaires exacts qui mènent à la pathogénèse ne soient pas entièrement compris. On suggère que le cholestérol interagit avec le CDT pour former des radeaux membranaires, ce qui entraîne la destruction des cellules intestinales par l'activité désoxyribonucléasique (ou ADNase) associée à la toxine (**Dodd, 2017**).

I.3.8. Physiopathologie

Les symptômes se manifestent généralement dans les 1 à 5 jours suivant l'exposition à *C.jejuni* et peuvent durer jusqu'à 10 jours. La plupart de ces infections, cependant, sont autolimitées, en particulier chez les personnes en bonne santé, bien que les rechutes soient fréquentes (**Kaakoush et al., 2015**). La dose infectante est de 10^3 à 10^9 germes. La personne

peut être atteinte lors de petites épidémies familiales ou de façon sporadique (Yapo *et al.*, 2016).

I.3.8.1. Manifestations Intestinales

La manifestation clinique de loin la plus fréquente de *Campylobacter* est la GE aigue, dont le tableau clinique est superposable à la *salmonellose* et à la *shigellose* (Munier et Leflon-Guibout, 2016). En conséquence de l'infection à *C.jejuni* chez l'homme, les bactéries colonisent l'iléon et le côlon, où elles peuvent affecter les fonctions d'absorption et de sécrétion régulières du tractus gastro-intestinal. Cela mène éventuellement à une campylobactériose intestinale (Klein, 2016).

Des prodromes sont retrouvés dans 1/3 des cas, associant douleurs diffuses, vertiges et parfois troubles neuropsychiatriques (Munier et Leflon-Guibout, 2016). Elles se traduisent par des diarrhées fébriles associées à des douleurs abdominales. Les selles peuvent être sanglantes ou non et la durée de l'épisode diarrhéique est comprise entre 3 et 7 jours (Bertholom, 2015). Les différents syndromes des GE sont classés dans le tableau IV.

Tableau IV. Syndromes cliniques des GE.

	Non inflammatoire	Inflammatoire	Invasive
Syndrome	Diarrhée aqueuse, vomissements	Dysenterie	Fièvre entérique
Site	Intestin grêle	Côlon	Ileum, côlon
Volume des selles	Grand	Petit	Petit
Les leucocytes Fécaux	Absents	Présents	Présent

(Schlossberg, 2015)

I.3.8.2. Manifestations extra-intestinales

Les infections extra-intestinales à *Campylobacter* sont rares chez les personnes en bonne santé, mais elles sont plus susceptibles de survenir chez les personnes immunodéprimées, les personnes âgées ou les femmes enceintes. Le type le plus courant est la bactériémie avec ou sans maladie diarrhéique. Les patients atteints d'infections à

Campylobacter sont exposés à un risque accru de complications post infectieuses, y compris le syndrome de Guillain-Barré (SGB), l'AR et le SCI (**Fitzgerald, 2015**).

La manifestation extra-intestinale la plus fréquente est la septicémie qui survient plus volontiers chez les patients présentant des comorbidités, mais qui peut aussi être observée chez les patients jeunes sans comorbidités (**Nielsen et al., 2010**).

I.3.8.3. Syndromes post-infectieux

❖ Syndrome de Guillain-Barré

Le SGB a été considéré comme une maladie plutôt hétérogène du système nerveux périphérique. Les patients présentent une faiblesse ascendante symétrique aiguë ou subaiguë des membres, une hypo-lexie ou une aréflexie et des symptômes sensoriels légers à modérés, tels que la paresthésie ou l'engourdissement (**Wakerley et Yuki, 2015**).

❖ Arthrite réactionnelle (AR)

Cette spondylarthropathie post-infectieuse est caractérisée par des changements inflammatoires des articulations suite à des infections gastro-intestinal ou génito-urinaires (**Ajene et al., 2013**). Les sites de prédilection sont les articulations des membres inférieurs, une méta analyse évalue à 2,86 % la proportion de patients présentant une AR dans les suites de l'infection à *Campylobacter* (**Keithlin et al., 2014**).

❖ Syndrome du côlon irritable (SCI)

Une revue et une méta-analyse récentes ont révélé que dans les études prospectives, 8,64 % des patients infectés par *Campylobacter* ont développé un SII, comparativement à 0,15 % dans les études rétrospectives (**Keithlin et al., 2014**).

I.3.9. Diagnostic

I.3.9.1. Prélèvement

Le prélèvement de selles doit se faire dans un récipient propre en récupérant si possible les parties glaireuses, purulentes ou sanglantes. S'il n'est pas possible de recueillir les selles, un écouvillonnage rectal sera réalisé. Les selles ou l'écouvillon doivent être maintenus à 4°C avant l'étude durant un délai inférieur à 24 heures (h). La découverte de *Campylobacter* dans les hémocultures est le plus souvent le fruit du hasard. Il faut néanmoins savoir y penser devant des cultures négatives (**Denis et al., 2016**).

I.3.9.2 Identification bactériologique

❖ L'examen microscopique

À contraste de phase permet de mettre en évidence les *Campylobacters* grâce à leur mobilité caractéristique en « vol de moucheron », proche de ce que l'on observe avec *Vibrio cholerae*. Un frottis coloré peut permettre à un observateur exercé de noter la présence de bactéries incurvées de petite taille, souvent associée à la présence d'hématies et de leucocytes (Fitzgerald, 2015).

❖ La culture

La culture est réalisée en ensemençant une suspension de selles sur un milieu sélectif, une fois ensemençés, les milieux doivent être incubés rapidement en atmosphère micro-aérophile 37°C pendant 48h. Les colonies suspectes explorées par le test d'oxydase et la morphologie des bactéries (Lehours *et al.*, 2012).

Il est possible d'avoir recours à une technique de filtration des selles (filtre de nitrate de cellulose) avant dépôt du filtre pendant 5 minutes (min) sur gélose au sang avec un temps d'incubation prolongée. L'association de la filtration et de l'utilisation de milieux sélectifs augmente les chances d'isolement des *Campylobacter* et permet l'isolement d'espèces moins courantes (Bertholom, 2015).

❖ L'identification du genre

Peut être fait à partir de colonies suspectes lisses, brillantes, ayant un test d'oxydase positif (sauf *C.gracilis* dont l'oxydase est négative), qui à l'examen microscopique après coloration de Gram montre l'aspect typique de petits BGN incurvés (Munier et Leflon-Guibout, 2016).

❖ L'identification des espèces

Se fait à l'aide d'un système d'identification commerciale (système API Campy, bioMérieux, France), qui est un système standardisé pour l'identification des espèces de *Campylobacter* à l'aide de 20 tests biochimiques. L'identification de chaque isolat se fait à l'aide d'un numéro de profil à 7 chiffres et d'un logiciel d'indexation du profil analytique API Campy (Liu *et al.*, 2017).

I.3.9.3. Détection moléculaire directe

Différentes techniques de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) ont été développées pour la détection directe de *Campylobacter* dans les selles (**De-Boer et al., 2013**). Ces techniques de sensibilité et de spécificité supérieures à celle de la culture, permettent le diagnostic de co-infection et l'obtention rapide du résultat. Ces techniques présentent cependant quelques limites. En plus de leur coût, certaines selles contiennent des inhibiteurs de Taq polymérase empêchant toute amplification et donc tout diagnostic (**Knabl et al., 2016**).

I.4. Traitement

La plupart des infections à *Campylobacter* sont auto-limitatives et n'ont pas besoin d'être traitées par intervention thérapeutique autre qu'une thérapie de soutien, par exemple le maintien de l'hydratation et de l'équilibre électrolytique (**Kaakoush et al., 2015**).

L'antibiothérapie pourrait donc être réservée aux patients immunodéprimés, à ceux présentant des symptômes sévères ou persistants ou bien aux atteintes extra-intestinales (**Munier et Leflon-Guibout, 2016**). Dans les infections entériques, le traitement se justifie quand la diarrhée est fébrile, importante ou persistante, avec des selles sanglantes ainsi que chez les femmes enceintes, les sujets sidéens et les patients immunodéprimés. Dans les infections systémiques, une bithérapie est nécessaire, le choix devant s'appuyer sur les résultats de l'antibiogramme qui est indispensable (**Bertholom, 2015**).

I.4.1. Antibiotiques

I.4.1.1. Définition d'un antibiotique

Selon **Elliott et al, (2011)**, un ATB est une substance capable d'inhiber la croissance de la bactérie (effet bactériostatique) ou de tuer la bactérie (effet bactéricide). Cette substance peut être chimique naturelle, synthétique, ou semi synthétique ayant un mode d'action spécifique contre les bactéries. La majorité des ATB sont des molécules naturelles, produites essentiellement par des bactéries ou certains champignons (**Kohanski et al, 2010**).

I.4.1.2. Familles d'antibiotiques

Nous disposons aujourd'hui d'une panoplie assez large d'ATB permettant de trouver le produit adapté à chaque type d'infection et à chaque patient. Les principaux types d'ATB sont classés en plusieurs familles, les bêtalactamines (pénicilline, céphalosporine et autres), les

tétracyclines, les aminosides, les MAC et apparentés, les FQ, les ATB glycopeptidiques, les sulfamides et les ATB divers (acide fusidique, fosfomycine, thiampénicol, polymyxine, linézolide, rifampicine...) (**Buxeraud, 2014**).

I.4.1.3. Mode d'action d'antibiotiques

Selon **Buxeraud, (2014)**. Quatre catégories d'ATB peuvent être distinguées par rapport à leur mode d'action :

- Les ATB inhibant la synthèse de la paroi bactérienne : bêtalactamines, glycopeptides, fosfomycine.
- Les ATB inhibant la synthèse des protéines : aminosides, MAC, rifampicine, tétracyclines.
- Les ATB inhibant le fonctionnement de l'ADN : quinolones, sulfamide/triméthoprime.
- Les ATB entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique : polymixine

I.4.1.4. Phénotype de résistance (anti biotype)

La sensibilité à un ATB est évaluée au laboratoire par la méthode de l'antibiogramme, cette dernière permet d'apprécier l'activité bactériostatique et de déterminer la CMI d'un ou de plusieurs ATB vis-à-vis d'une bactérie. La lecture de l'antibiogramme d'un germe permet de déterminer l'expression phénotypique de la résistance de ce germe à un ensemble d'ATB, et par la même de suspecter le ou les mécanismes de résistance. L'étude du phénotype peut aussi représenter une aide à l'identification des bactéries ou à la mise en évidence de souches épidémiques ou responsables d'infections nosocomiales (**Vaubourdolle et Porquet, 2013**).

I.4.2. *Campylobacter* et antibiotiques

I.4.2.1. Sensibilité aux antibiotiques

Les bactéries appartenant au genre *Campylobacter* sont naturellement sensibles à l'amoxicilline, aux carbapénèmes, aux aminosides, aux tétracyclines, aux MAC et aux FQ (**Leflon-Guibout et al., 2016**). Ils sont naturellement peu sensibles aux carboxyurédo péricillines et céphalosporines, par défaut de perméabilité des porines et par expression de protéines liant les péricillines (PLP) de faible affinité. Ils sont résistants au triméthoprime, à la rifampicine et à la colistine (**Luangtongkum et al., 2009**).

I.4.2.2. Mécanismes de résistance

La résistance aux ATB chez *C. jejuni* est un problème de plus en plus important. En raison de sa compétence naturelle, de ses séquences génomiques hypervariables, de sa plasticité génomique considérable qui favorise l'émergence de mutants résistants et lui permet de développer des mécanismes de résistance supplémentaires (Lovine, 2013). Ces derniers sont résumés dans le tableau V.

Tableau V. Mécanismes de résistance chez les *Campylobacters*.

Classe d'antibiotique	Mécanisme de résistance	Support génétique
Fluoroquinolones	Modification de cible par mutation ponctuelles dans DNA gyrase A : Thr-86-Ile. (Fréquente) confère un haut niveau de résistance ; Asp-90-Asn et Ala-70-Thr (rares) confère un niveau de résistance intermédiaire.	C
	Efflux : pompe CmeABC	C
Macrolides	Modification de cible : mutations ponctuelles de l'ARN 23S (fréquentes),	C
	Mutation des protéines ribosomales L4/L22 (rares)	C
	Efflux : pompe CmeABC	C
Bêtalactamines	Enzymatique : bêta lactamase (pénicillinase, OXA-61)	C
	Diminution de la perméabilité membranaire médié par l'expression de major outermembranprotein (MOMP) pour les antibiotiques anioniques et ceux de PM > 360 kDa	C
	Efflux : pompe CmeABC	C
Tétracyclines	Modification de la cible : protection de la cible ribosomale par les ribosomal protections proteins (RPPs)	P/C
	Efflux : pompe CmeABC	C
Aminosides	Enzymatique : inactivation des aminosides (AphA, AadE, Sat)	P

(Leflon-Guibout *et al.*, 2016)

C: chromosome et **P:** plasmide.

Les ATB de choix et de 1^{ere} intention pour traiter les *Campylobacters*, sont actuellement les MAC. Ces données soutiennent les dernières recommandations de prise en charge de la diarrhée du voyageur, souvent imputable à une infection par *Campylobacter*. En revanche et dans le cas d'une infection grave à *Campylobacter* chez l'homme, le traitement par des aminoglycosides est couramment utilisé (**Freedman *et al.*, 2016; Yi et Anderson, 2018; Qin *et al.*, 2012**).

Il a cependant été démontré qu'en cas de bactériémie à *Campylobacter*, une antibiothérapie inadaptée était un facteur de risque de mortalité. Les septicémies survenant préférentiellement chez les patients les plus fragiles, dans cette situation, le taux de mortalité peut s'élever à 88 % (**Munier et Leflon-Guibout, 2016**).

I.5. Prévention

Des Stratégies visant à réduire les infections à *Campylobacter* sont en cours d'exploration et comprennent l'élimination de *Campylobacter* des poulets colonisés, ce qui réduit l'exposition environnementale, et augmente la résistance des poulets à *Campylobacter*.

L'aspect le plus important dans la prévention et le contrôle de la diarrhée, c'est l'hygiène publique et personnelle, ces mesures comprennent l'hygiène méticuleuse des techniques de préparation des aliments et l'utilisation limitée des antiacides, les médicaments anti-motilité et les agents antimicrobiens. Ainsi que l'installation de change ergonomiques et renforcement de l'hygiène (**Yi et Anderson ; Yi et Shane, 2018**).

Matériel et Méthodes

Notre étude portant sur l'isolement et la détermination de l'incidence de *C.jejuni* chez des patients présentant des symptômes de GE, ainsi que le test et l'évaluation de nouvelles méthodes de diagnostic, a été effectuée au niveau du laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées au sein de l'institut Pasteur d'Algérie (IPA) annexe de Delly Brahim, durant une période de 3 mois. Il s'agit d'une étude prospective.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

Plus du tiers des prélèvements (70 prélèvements) ramenés dans le but de notre étude provenaient du laboratoire d'analyse médicale privé Ould Rouis, 51 prélèvements du CHU Beni Messous, 32 prélèvements provenaient de l'IPA. Suivis du laboratoire d'analyse médicale privé Macher (23 prélèvements). En dernier nous avons L'EPH de Birtraria avec un 16 prélèvements et de l'EPH de Koléa avec un pourcentage de 8 prélèvements.

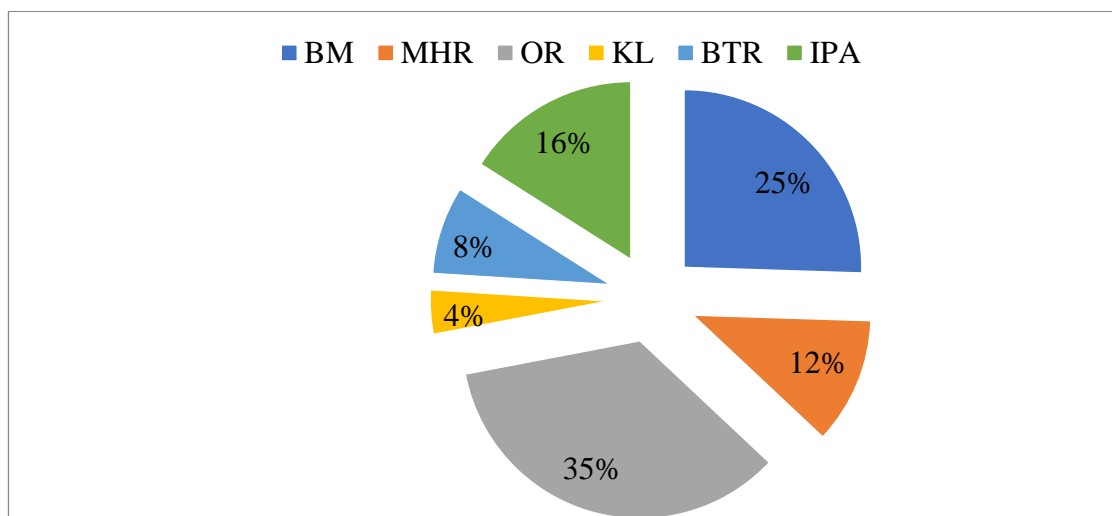


Figure 3. Répartition des échantillons selon leur lieu de provenance.

Ces échantillons ont également bénéficié d'une recherche d'autres agents entéropathogènes (*Salmonelles*, *Shigelles*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* et *Vibrio Cholerae*).

Nous avons également utilisé, une souche de référence interne au laboratoire de l'IPA provenant du CNR Paris (Centre National de Référence), et ce comme témoins positif.

II.1.2. Matériels non biologiques

Le matériel non biologique utilisé durant notre étude est consigné en annexe 2.

II.2. Méthodes

II.2.1. Diagnostic Bactériologique

II.2.1.1. Echantillonnage

Selon Denis, (2016), la recherche de *Campylobacter* se fait à partir d'échantillons de selles (coproculture) humaines fraîches ou conservées à 4°C pendant une durée de moins de 24h. L'acheminement des échantillons au laboratoire se fait dans une glacière à une température de 4°C, dans des petites boites propres en plastique à usage unique, accompagnées d'une fiche de renseignements soigneusement remplie (annexe 3).

II.2.1.2. Examen macroscopique des selles

Dans le but d'orienter notre diagnostic bactériologique, nous avons noté la consistance des selles analysées, ainsi que la présence de mucus, pus ou sang.

II.2.1.3. Préparation des suspensions

La suspension bactérienne a été préparée en introduisant de façon stérile une noix de selles, dans un tube à essai contenant 9 millilitre (mL) d'eau physiologique stérile (0.9%) et en homogénéisant la suspension en la passant au vortex.

II.2.1.4. Coloration au bleu de méthylène en vue d'examen microscopique des selles

a. Principe

La coloration au bleu de méthylène n'est pas à proprement parler, une coloration bactériologique mais elle est pourtant très utilisée en bactériologie. C'est une coloration simple et rapide, qui permet de colorer toutes les bactéries à l'exception des mycobactéries et qui à l'inverse du Gram ou du Ziehl. Elle n'apporte aucune information sur la nature des bactéries mais nous permet d'avoir une idée sur la morphologie des bactéries (bacilles, coques...), leur mode de groupement (isolées, par deux, en amas, en chaînettes) et aussi la présence de cellules (polynucléaires, cellules épithéliales...).

b. Technique

Un frottis est réalisé en déposant une goutte de la suspension de selles sur une lame puis fixé. La lame est ensuite recouverte de bleu de méthylène et laisser agir 3 min. Après 3 min la lame est rincée à l'eau distillée et sécher entre 2 feuilles de papier essuie-tout.

c. Lecture

L'examen microscopique a été effectué au grossissement Gr x 100 et à l'immersion. La présence de bactéries est déterminée, ainsi que la présence de différentes cellules indiquant une réponse immunitaire (ex : polynucléaire).

II.2.1.5. Dépistage par test rapide immuno- chromatographique**a. Principe**

Permet la détection rapide et efficace qualitative d'antigènes de *C.jejuni* et de *C.coli* dans les échantillons de selles et dans les cultures. C'est un test immuno-chromatographique sur membrane en une étape, qui utilise aussi bien des anticorps anti-*Campylobacter* biotinylés que marqués à l'or. Dès que l'agent pathogène est présent dans un échantillon positif, il se forme des immuno-complexes avec les anticorps anti-*Campylobacter* marqués, qui traversent alors la membrane. La streptavidine qui se trouve sur la ligne de test T lie les complexes immuns qui s'écoulent via la biotine couplée aux anticorps anti-*Campylobacter*, entraînant une coloration violet rouge de la ligne T. Les anticorps marqués à l'or non complexés qui traversent sont liés à la ligne de contrôle C qui suit. Sur les échantillons négatifs, les complexes immuns marqués à l'or ne sont donc pas liés à la ligne T mais uniquement à la ligne C. La ligne C rouge indique en permanence si le déroulement du test a été valide.

b. Technique

Nous avons suivi le protocole fourni avec le prospectus fourni avec le test **RIDA®QUICK (Ref N2403)**.

Nous avons commencé par introduire 0.5 mL de réactif A puis 0.5 mL du réactif B (ces deux réactifs sont composés d'anticorps) dans le récipient de réaction. Nous avons ensuite ajouté à l'aide de la pipette fourni avec le kit 50 microlitre (µL) ou 50 milligramme (mg) de l'échantillon de selles à analyser au mélange des réactifs A et B préparé dans le récipient de

réaction. Après avoir bien fermé le récipient de réaction et bien secoué, nous avons laissé sédimenter 5 min à température ambiante. Nous

avons par la suite retiré la cassette test, que nous avons déposée sur une surface plane. Pour finir, nous avons pipeté 50µL du surnageant de l'échantillon sédimenté dans l'opercule d'injection de la cassette test.

c. Lecture

- *Campylobacter* positif : deux bandes (bandes C et T) sont visibles.
- *Campylobacter* négatif : seulement la bande de contrôle C est visible.

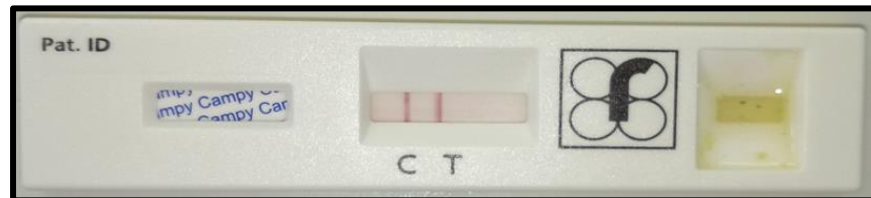


Figure 10. Résultat positif du test Immuno- chromatographique.

II.2.1.6. Culture

II.2.1.6.1. Ensemencement

Les ensemencements en stries se font à partir de la suspension préalablement préparée à l'aide d'une pipette pasteur non boutonnée sur le milieu Skirrow et le milieu CAC déjà préparés (annexe 4). Ce, selon la méthode des 4 cadrans. Parallèlement nous avons déposé quelques gouttes de la suspension, dans des tubes contenant le bouillon d'enrichissement Preston.

II.2.1.6.2. Incubation

Nous nous sommes basés sur les conditions d'incubation décrites par **Lehours, (2016)**. Nous avons ensemencé les boîtes et les tubes d'enrichissements pendant 48h à 37°C après leur déposition dans des jarres préalablement nettoyées avec de l'alcool et contenant des générateurs d'atmosphère micro-aéroophile (**GENBox**) (annexe 5).

II.2.1.6.3. Lecture les boîtes ensemencées

Après 48h d'incubation, une première lecture a été effectuée à la recherche des colonies suspectes sur les deux milieux, CAC et Skirrow (diagnostic direct).

II.2.1.6.4. Repiquage et purification

Un premier repiquage est réalisé à partir des tubes d'enrichissements de Preston, sur milieu Skirrow et CAC selon la méthode des 4 cadrans. Puis un deuxième, en se basant sur la technique décrite par **Butcher et Stintzi, (2017)**, et ce à partir des colonies suspectes au sein d'une flore polymorphe sur gélose Columbia au sang avec filtre (0.45µm).

II.2.1.7. Lecture

II.2.1.7.1. Etude macroscopique

Cette étude se fait après 48h d'incubation. L'observation de la morphologie bactérienne permet une orientation préliminaire du diagnostic. A l'œil nu, nous pouvons distinguer les caractéristiques d'une colonie à savoir : la forme, la taille, la couleur, l'aspect, la transparence et l'allure des contours.

II.2.1.7.2. Etude microscopique

A. Observation à l'état frais

a. Principe

L'observation à l'état frais permet de mettre en évidence la forme, le mode d'arrangement des cellules ainsi que la mobilité des bactéries.

b. Technique

Sur une lame porte objet bien nettoyée, nous avons déposé une goutte d'eau physiologique, que nous avons mélangé avec quelques colonies suspectes jusqu'à l'apparition d'un trouble, puis recouvert par une lamelle couvre objet. Ensuite, nous sommes directement passés à l'observation microscopique (au microscope photonique au Gr x 100 en immersion). Ce, dans le but d'observer la mobilité des bactéries présentes.

B. Coloration de Gram

a. Principe

C'est une coloration différentielle double qui permet de classer les micro-organismes en groupe de Gram négatif ou en Gram positif, et cela sur la base de la composition chimique de leur paroi et de ce fait apprécier la morphologie des cellules et leur regroupement.

b. Technique

Nous nous sommes basés sur la technique décrite par **Singleton, (2004)**. Nous avons d'abord réalisé un frottis, en déposant une goutte d'eau distillée sur lame, puis en prélevant une colonie suspecte à l'aide d'une pipette et en la mélangeant avec l'eau distillée déposée sur lame. Ensuite, nous avons séché ce frottis, à l'aide de la flamme du bec bunsen pendant quelques secondes (sec). Puis, nous sommes passés à coloration de base, où nous avons recouvert totalement la lame de violet de gentiane et laissé agir de 20 sec à 1 min.

Nous avons ensuite fait le mordantage, en jetant l'excès du colorant initial ensuite en couvrant la lame avec la solution de Lugol durant quelques secs. Par la suite, nous avons décoloré par l'alcool.

Enfin, nous avons fait la coloration de contraste, en couvrant la lame de quelques gouttes de fuchsine et en laissant agir 10 à 20 sec, puis en rinçant à l'eau.

c. Lecture

Nous avons observé au microscope optique en immersion Gr x100, en notant la morphologie des bactéries présentes et notons également le type de Gram.

II.2.1.8. Test d'immuno-agglutination

a. Principe

Le test d'agglutination au latex est utilisé pour le diagnostic présomptif des infections à *Campylobacter*. Les particules de latex sont sensibilisées avec un antisérum polyvalent spécifique des *Campylobacter*. Une fois en contact avec une suspension de *Campylobacter* les particules de latex sensibilisées forment rapidement des agrégats visibles à l'œil nu.

b. Technique

Nous avons suivi le prospectus fourni avec le coffret **Oxoid Dryspot™ *Campylobacter* (DR0150)**. Une goutte de la solution saline fourni avec le kit a été déposé sur les 2 puits de la carte de réaction. Ensuite, nous avons déposé quelques colonies suspectes sur chacun des

puits. Puis, rajouté 1 goutte du réactif de test de latex dans un puits et 1 goutte du réactif de contrôle dans l'autre. Nous avons mélangé à l'aide d'un bâtonnet puis nous avons agité la carte doucement durant quelques min (jusqu'à 2 min).

c. Lecture et interprétation

Une réaction positive se traduit par la formation d'agrégats visibles à l'œil nu. L'intensité de la réaction peut varier (granularité fine ou granularité grossière). Le test doit toujours être validé par l'utilisation de témoin positif.

II.2.1.9. Identification biochimique

II.2.1.9.1. Recherche de l'oxydase

a. Principe

L'étude de l'oxydase est un test fondamental pour l'identification des BGN, elle revient à la recherche de la dernière enzyme de la chaîne bactérienne respiratoire (oxydase ou cytochrome oxydase) qui catalyse des réactions d'oxydation de type : $DH_2 + O_2 \rightleftharpoons D + H_2O_2$. En présence d'oxygène, cette enzyme peut oxyder un substrat incolore en un produit coloré, facilement repérable.

b. Technique

Nous avons suivi le protocole noté sur le prospectus fourni avec la lame test **BBL Dry Slide Oxidase (SO 0191-5)**, où nous avons isolé une colonie, puis l'avons parfaitement étalée sur la lame d'oxydase.

c. Lecture

- L'apparition d'un spot violet : oxydation du substrat, ce qui implique que la bactérie possède une oxydase (oxydase +).
- Aucune couleur n'apparaît : aucune réaction n'a eu lieu, ce qui implique que la bactérie ne possède pas d'oxydase (oxydase -)

II.2.1.9.2. Recherche de la catalase

a. Principe

L'importance de cette enzyme serait d'empêcher l'accumulation de l'eau oxygénée H₂O₂ dont l'action serait létale pour la cellule bactérienne, en catalysant la réaction:

- $H_2O_2 \Rightarrow \frac{1}{2} O_2 + H_2O$ (l'oxygène libère se dégage sous forme gazeuse).

b. Technique

Nous nous sommes basés sur la technique décrite par **Joffin et Leyral, (2001)**. Sur une lame propre et sèche nous avons déposé une goutte d'H₂O₂, puis dissociions directement quelques colonies prélevées d'un milieu solide, de la culture à étudier.

c. Lecture

- Si la souche examinée possède une catalase : observation d'un dégagement immédiat de bulles d'oxygène.
- Si la souche est catalase négative : Absence de dégagement de bulles.

II.2.1.9.3. Galerie API Campy

a. Principe

La galerie **API[®] CAMPY de bioMérieux** contient 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Elle est composée de deux parties :

- La première partie de la galerie (tests enzymatiques et conventionnels) est inoculée avec une suspension dense qui réhydrate les substrats, les réactions produites pendant la période d'incubation en aérobiose (24h) se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

- La deuxième partie de la galerie : tests d'assimilation ou d'inhibition est inoculée avec un milieu minimum incubée en atmosphère micro aérophile (24 à 48h).

Les bactéries croissent si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant ou si elles sont résistantes à l'ATB testé.

b. Technique

Nous avons suivi la technique mentionnée sur le prospectus de la galerie **API**[®] **CAMPY** de **bioMérieux (Ref 20 800)**.

Nous avons d'abord préparé de la galerie, en déposant stérilement chaque compartiment dans une boîte d'incubation et en inscrivant les références de la souche sur les languettes latérale de la boîte. Nous avons aussi réparti 3mL d'eau distillé stérile dans les alvéoles du fond.

Ensuite nous avons préparé l'inoculum, en préparant une suspension bactérienne dans une ampoule API NaCL 0.85% Medium. Pour cela nous avons raclé avec un écouvillon stérile la culture bactérienne pure jusqu'à obtention d'une suspension d'opacité égale à 6McFarland.

Nous sommes passées par la suite à l'inoculation de la galerie, et ce en deux étapes :

- Première étape : nous avons remplis les cupules du test URE jusqu'au test PAL de la première partie de la galerie ainsi que le tube du test H₂S de la deuxième partie de la galerie avec la suspension précédente en évitant la formation de bulles. Ensuite, nous avons recouvert le test URE d'huile de vaseline et nous avons refermé la boîte d'incubation de la première partie, et l'avons incubé pendant 24h, à 35 °C et en atmosphère aérobie.

- Deuxième étape : nous avons ouvert une ampoule Api Aux Medium, puis nous avons transféré 150 µL de la suspension précédente. Après homogénéisation nous avons répartis cette nouvelle suspension dans les tubes et les cupules de test GLU jusqu'au test ERO de la deuxième partie de la galerie. Nous avons refermé la boîte d'incubation et l'avons incubé pendant 48h, à 35 °C en atmosphère micro-aéroophile.

c. Lecture

L'addition des réactifs pour les tests qui en nécessitent ainsi que la lecture de la galerie et l'identification des espèces, s'effectuent en se référant au tableau de lecture (annexe 6).

II.2.2. Diagnostic moléculaire (PCR)

Pour la réalisation de la PCR, nous avons suivi le protocole interne du laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées, de l'IPA.

II.2.2.1. Principe de la PCR

La PCR est une technique qui permet d'amplifier en un nombre élevé de copies une séquence particulière d'ADN. Cette amplification se réalise dans un mélange réactionnel contenant de faibles quantités d'ADN, possédant la séquence à amplifier et deux amorces nucléotidiques complémentaires des séquences qui encadrent la cible à amplifier, l'enzyme Taq polymérase et un mélange de 4 dNTP. La PCR débute par une étape de dénaturation thermique de l'AND à amplifier, les séquences oligo-nucléotidiques complémentaires ou amorces sont alors hybridées aux extrémités 3' des deux brins du fragment d'ADN matrice, l'allongement des deux brins est assuré par l'enzyme Taq polymérase. La réaction se répétant ainsi plusieurs dizaines de fois.

II.2.2.2. Technique

II.2.2.2.1. Extraction d'ADN

Nous avons utilisé le kit **Pure Link Genomic DNA** pour la réalisation de notre extraction. Ce kit est illustré dans (annexe 7).

Etape 01. Préparation du Lysat Bactérien Gram négatif

A partir de la culture, nous prenons quelques colonies auxquelles nous ajoutons du BHIB. Nous centrifugeons, prenons le culot et dans le cas d'utilisation d'une souche congelée, nous laissons se décongeler et puis centrifugeons afin d'avoir le culot. Le culot a été resuspendu avec 180 µL de Pure Link Genomic Digestion Buffer et 20 µL de Proteinase K pour lyser la bactérie. Après homogénéisation, le tube a été incubé au bain marie à 55°C avec homogénéisations occasionnelles (30 min à 4h). Ensuite, 20 µL d'ARNase A sont rajoutés au lysat, vortexée et incubée à température ambiante durant 2 min. 200 µL de Pure Link Genomic Lysis Bulding Buffer a été ajoutée et homogénéisée. 200µL d'Ethanol absolu sont ajoutés à notre lysat, avec homogénéisation durant environ 5 sec. En utilisant la micropipette, le lysat a été traversé dans une mini-colonne, centrifugé et enfin, la mini-colonne est placée dans un tube collecteur propre.

Etape 02. Lavage ADN

500 µL de Wash Buffer 1 est ajouté. Après centrifugation, l'opération est répétée une deuxième fois avec le Wash Buffer 2. Puis, la colonne est placée dans un micro-tube qui se ferme.

Etape 03. Elution

50 μL de Pure Link Genomic Elution sont ajoutées, puis nous incubons à température ambiante pendant 1 mn, puis centrifugeons à vitesse maximale pendant 1 min. Nous détachons la mini colonne du tube et gardons ce dernier contenant notre ADN extrait.

NB : l'ADN doit être conservé à -20°C dans du Pure Link Genomic Elution à long terme ou à 4°C pour une courte conservation.

II.2.2.2. Préparation de la solution réactionnelle

Pour préparer la solution réactionnelles nous avons besoin des réactifs cités dans le tableau VI.

Tableau VI. Réactifs nécessaires pour la préparation de la solution réactionnelle et leurs volumes.

Réactif	Volume (μL)
Tampon PCR	5
MgCl_2 (25 nM)	5
GC enhancer	5
dNTP (2,5 nM)	5
Amorce F (10 μM)	2,5
Amorce R (10 μM)	2,5
TaqGold	0,25
Eau	21,75

A ce mélange réactionnel est ajouté 3 μl d'ADN bactérien (ce qui nous fait un volume de 50 μL pour chaque PCR lancée).

NB. Nous avons utilisé des amorces complémentaires à des régions spécifiques du gène VS1 pour l'identification de *C.jejuni*, et des amorces complémentaires à des régions du gène Asp (Aspartokinase) pour l'identification de *C.coli*.

Nous avons préparé les mêmes mesures pour les témoins positif et négatif, mais en remplaçant l'ADN par l'eau distillée pour le témoin négatif et une souche de référence de *Campylobacter sp.* pour le témoin positif (150 μl de volume total).

II.2.2.2.3. Amplification

Nous mettons les micro-tubes contenant les mélanges réactionnels, dans le thermocycleur préalablement réglé au programme **CampyGold** :

- Nombre de cycle : 30
- Températures
 - Initiale : 95°C pendant 10min.
 - De dénaturation : 95°C durant 30 sec.
 - D'hybridation des amorces : 55 °C durant 30 sec.
 - D'extension : 72°C durant 60 sec.
 - Température Finale 4°C.

II.2.2.2.4. Migration par Electrophorèse sur gel d'Agarose

Après préparation du gel, pour chaque mélange réactionnel, nous avons mélangé 2µL de bleu de bromophénol (BBP) avec 3µL d'eau pure et 10µL du mélange réactionnel contenant l'ADN sur une lame à l'aide d'une micropipette. Ensuite nous avons remplis trois puits distincts avec les 3 mélanges que nous avons, et le 4em puits avec le marqueur moléculaire (Un marqueur de 100pb de **Invitrogen™**)

Puis, nous avons fermé la cuve d'électrophorèse et branché les fils exerçant un voltage de 90 Volts, et avons laissé migrer pendant 30 mn.

II.2.2.2.5. Visualisation

Le gel est visualisé dans l'obscurité à l'aide d'un trans-illuminateur à UV puis photographié grâce à un appareil numérique ou scanner afin d'interpréter notre PCR.

II.2.3. Antibiogramme

a. Principe

L'antibiogramme a pour but de déterminer la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis divers ATB

b. Technique

L'antibiogramme est réalisé sur milieu MH, additionné de 5 % de sang en se basant sur les recommandations du (**CA-SFM/ EUCAST 2018**) et en testant éventuellement d'autres ATB.

A partir d'une culture pure et jeune, nous avons préparé une suspension bactérienne avec du bouillon B.H.I.B dont la densité est équivalente au standard 0.5 McFarland. Nous avons trempé l'écouvillon dans l'inoculum, puis pressé contre la paroi interne du tube afin d'éliminer l'excrétion de liquide retenu dans l'écouvillon. Nous avons ensuite ensemencé l'inoculum bactérien par des stries serrés en trois orientations décalées 1 tiers de tours soit 60°C. Puis nous avons terminé en passant l'écouvillon deux fois autour de la boîte de Pétri.

Nous avons par la suite déposé à la surface de la gélose, les disques d'ATB et des bandelettes E-test à tester. L'ATB diffuse à partir du disque ou de la bandelette au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Puis nous avons incubé en atmosphère de microaérophilie, durant 24 heures. Si la culture est insuffisante, réincuber immédiatement et effectuer une lecture 24h après.

c. Lecture

Les diamètres des zones d'inhibitions sont mesurés avec précision (boîte de pétri ouverte et bien éclairée) à l'aide d'un pied à coulisse. Les diamètres mesurés seront comparés aux valeurs critiques. Ces derniers ainsi que les charges standards des disques utilisées dans cette étude sont illustrés annexe 8.

II.2.4. Conservation des souches isolées

a. Principe

Après identification et confirmation, la souche sera conservée pour plusieurs intérêts, dont le principal est de garder la bactérie intacte afin de constituer une collection de souches bactériennes en vue d'éventuelles études complémentaires et épidémiologiques

b. Techniques

Nous avons appliqué la technique décrite par **Joffin et Leyral, (2001)**. La conservation commence par la réalisation d'une solution dense de BHIB (les colonies seront prises d'une culture jeune et pure) additionnée de trois gouttes de Glycérol. Nous répartissons ensuite pour conserver nos congélas, les suspensions dans 4 cryotubes, une fois scellés marqués ils sont mis dans des cryobox et placés au congélateur à -20 °C.

NB. L'analyse statistique a été établie sur **Excel version 2010** et le logiciel **Minitab 2018**.

Résultats et discussion

Durant notre étude nous avons analysé un nombre total de 200 échantillons dans le but de rechercher *C.jejuni*.

III.1. Répartition des prélèvements destinés à la recherche de *Campylobacter* selon l'âge et le sexe

Durant notre étude, nous avons analysé des selles de patients des deux sexes, dont l'âge est compris entre un mois et 76 ans. Comme représenté dans la figure 4.

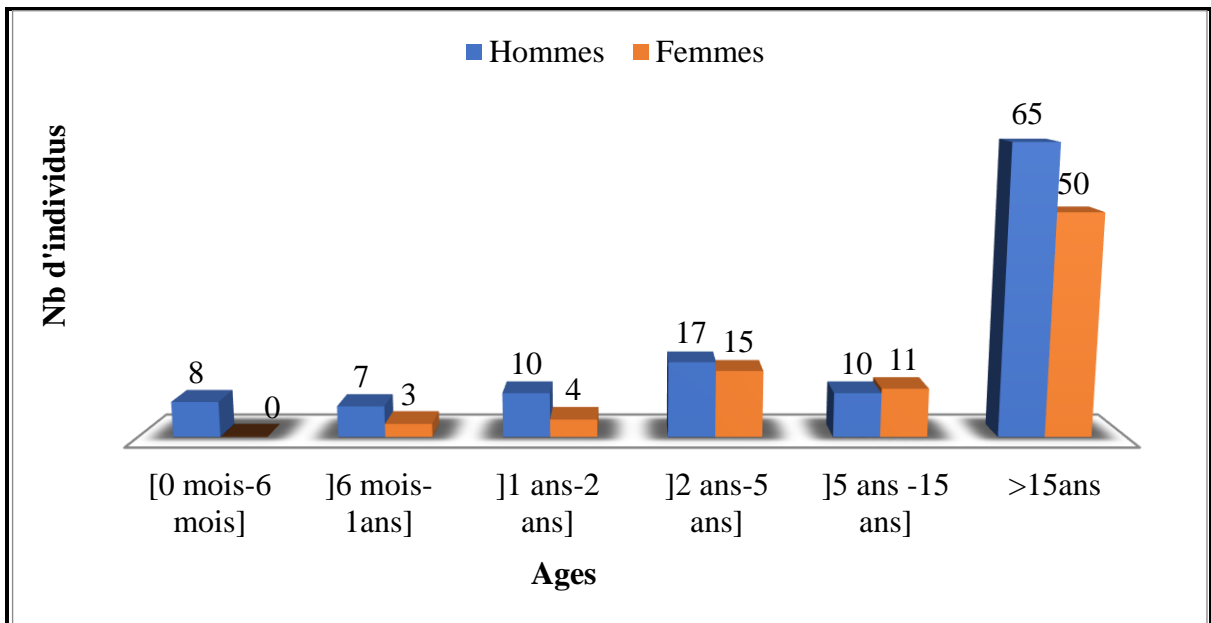


Figure 4. Répartition des échantillons selon l'âge et le sexe.

L'histogramme indique une prédominance de la classe d'âge supérieur à 15 ans (115 adultes), ceci est justifié par le fait que les sources d'où proviennent nos prélèvements ont des patients présentant des symptômes de GE (diarrhées, fièvre, vomissements, douleurs abdominales etc...) de différentes tranches d'âge. Nous notons aussi une prédominance masculine avec un sexe ratio F/H de $\frac{1}{4}$.

III.2. Résultats de la recherche de *Campylobacter*

III.2.1. Incidence de *Campylobacter*

Les résultats de l'identification des *Campylobacters* sont indiqués dans la figure 5.

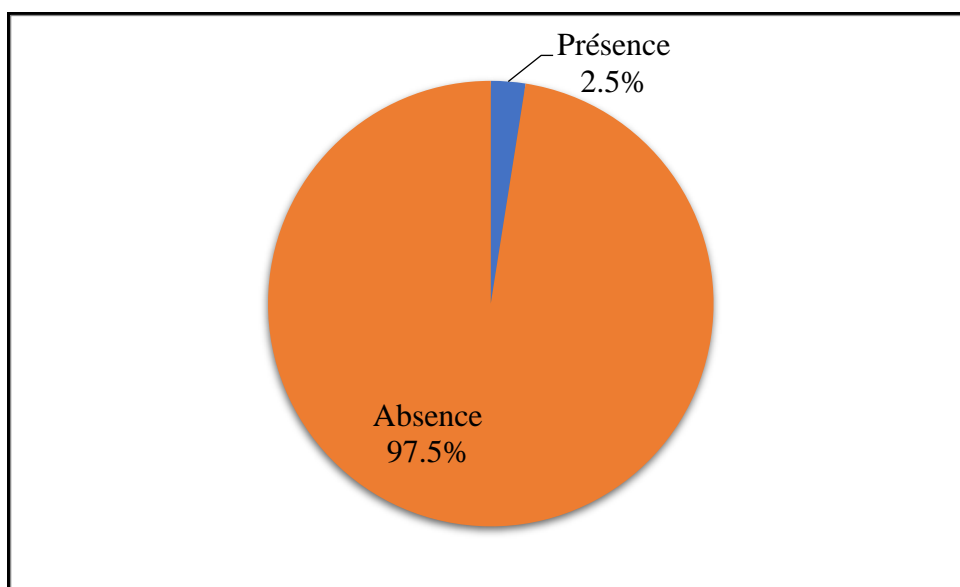


Figure 5. Répartition des échantillons selon la présence/absence des *Campylobacters*.

Au cours de notre étude nous avons isolé 5 souches de *Campylobacter* spp, ce qui correspond à un taux de positivité de 2.5 %. Ceci est en parfait accord avec l'étude de **Mouffok *et al.*, (2011)**, qui avaient identifié 15 espèces de *Campylobacter* sur un total de 598 prélèvements. Nos résultats correspondent aussi à l'étude faite à l'Hôpital Central de l'Armée (HCA) par **Bensersa *et al.*, (2016)**, ayant trouvé une incidence de 3%. En revanche, ce taux de *Campylobacters* identifiés reste supérieur à celui retrouvé en France par **Mégraud *et al.*, (2016)** correspondant à un pourcentage de 0.84 %.

Nous pourrions expliquer ce taux obtenus, par le fait que :

- Notre étude soit réalisée en saison hivernale, alors que *Campylobacter* enregistre un pic d'incidence dans la saison estivale (**Denis *et al.*, 2016**). Contrairement aux virus impliqués dans les GE, qui enregistrent quant à eux une incidence automno-hivernale (**Stanislas *et al.*, 2009**).
- *Campylobacter* soit difficile à isoler, faire croître et à identifier parfois à cause de sa forme coccoïde, viable mais non cultivable (**Fitzgerald, 2015**). Cette forme est due à une activité métabolique réduite protégeant la bactérie de la carence en nutriments, en oxygène ou de l'acidification du pH (**Leflon-Guibout et Munier, 2016**).

- Les échantillons analysés ont été acheminé au laboratoire sur une distance moyenne de 35 kilomètres avant leurs analyses à l'IPA. Cela pourrait justifier aussi le faible pourcentage de souches isolées en s'appuyant sur l'étude de **Schlossberg, (2015)** apportant que *Campylobacter* est extrêmement fragile et peut être détruite durant son transport.

- L'automédication et la prise d'ATB avec persistance des symptômes avant consultation pourrait mener à un résultat diagnostique négatif, ce qui s'ajoute aux facteurs potentiels responsables de notre faible taux (**Stanislas et al., 2009**).

III.2.2. Répartition des cas positifs selon l'âge et le sexe

La répartition des cas positifs selon l'âge et le sexe, est représentée dans la figure 6.

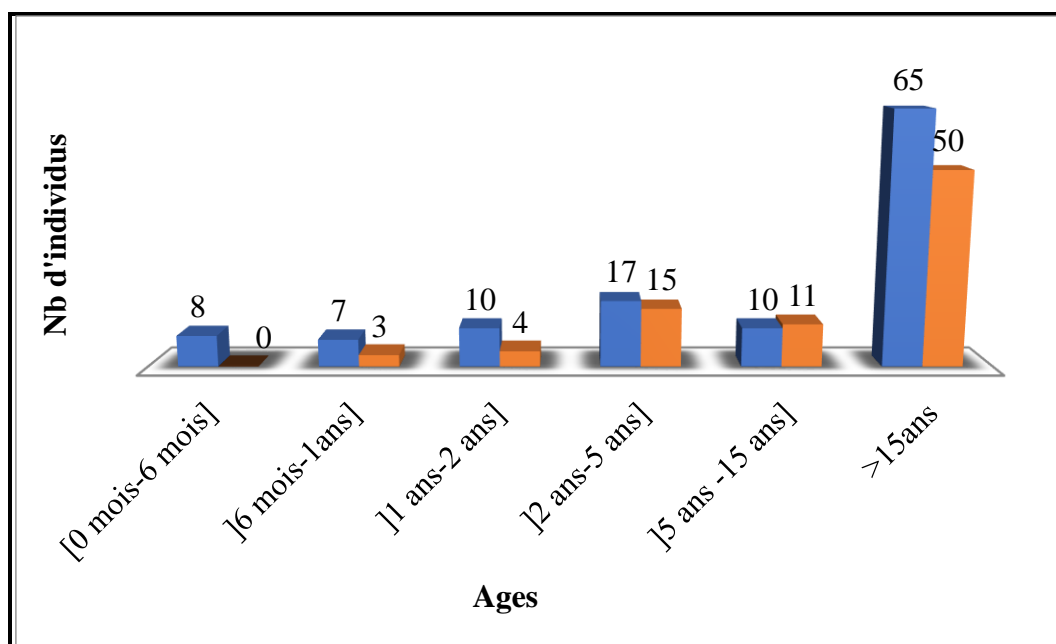


Figure 6. Répartition des souches positives selon l'âge et le sexe.

Sur les 5 patients atteints de campylobactériose, 4 d'entre eux étaient des nourrissons avec une moyenne d'âge de 8 mois, le cinquième patient était un adulte de 34 ans. Malgré le taux faible, on pourrait lier ce résultat à celui de **Schlossberg, (2015)** notant que les campylobactérioses affectent majoritairement les nourrissons de moins d'un an et à une mesure moindre les jeunes adultes. Cette prédominance est expliquée par le fait que les personnes adultes auraient développé une immunité précoce, due à l'exposition importante au pathogène dès leur petit jeune âge (**Charrat, 2017**).

Par ailleurs, nous avons observé une prédominance masculine prononcée où 4 espèces sur 5 ont été isolées chez le sexe masculin, avec un sexe ratio F/M de 4/1. Ce résultat pourrait comparer avec celui de **Kaakoush et al., (2015)**, qui avaient noté que le sexe masculin était plus susceptible d'être affecté par des *Campylobacters*, comparé aux deuxième sexe.

III.2.3. Répartition des cas positifs selon la provenance

La répartition des souches identifiées selon leurs sources de provenance, a été représentée dans la figure 7.

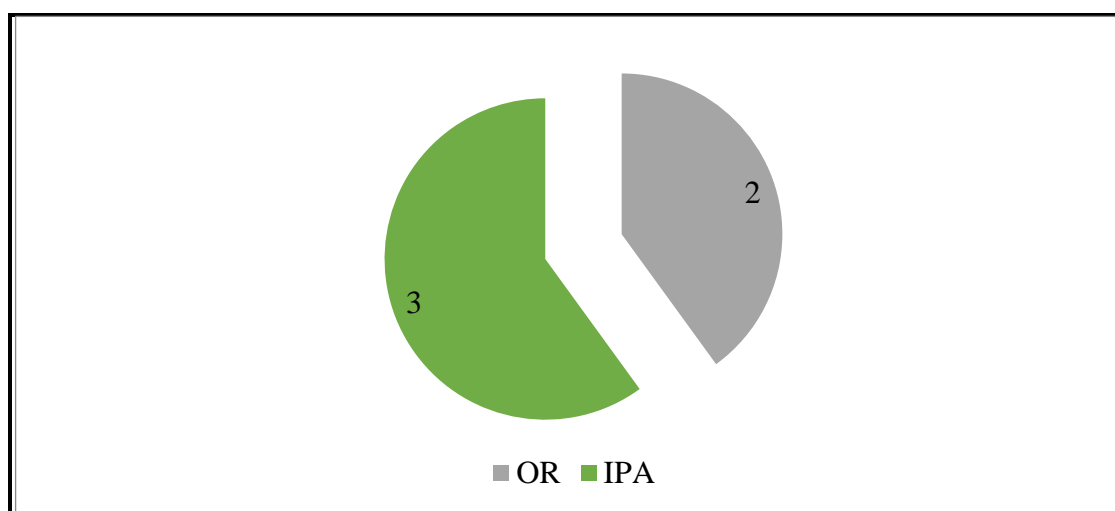


Figure 7. Répartition des souches positives selon la provenance.

La totalité des souches de *Campylobacter* isolées, étaient répartis entre l'IPA (3 souches) et le laboratoire d'analyses médicales privé OR (2 souches). Ces données sont en accord avec l'étude faite au CNR, en France entre 2003 et 2013 qui avait conclu que la fréquence d'isolation de *Campylobacter* dans les laboratoires d'analyses médicales est beaucoup plus élevée que la fréquence des souches isolées dans les laboratoires hospitaliers (**Megraud et al., 2016**). Cette remarque est au fait, en relation avec le rapport de **Denis, (2016)**, qui avait rapporté que le pourcentage d'hospitalisations imputables aux GE à *Campylobacter* était estimé que de 16% environ.

III.2.4. Répartition des cas positifs selon les signes cliniques

Les signes cliniques présentés par les patients atteints de GE à *Campylobacter* sont représentés dans la figure 8.

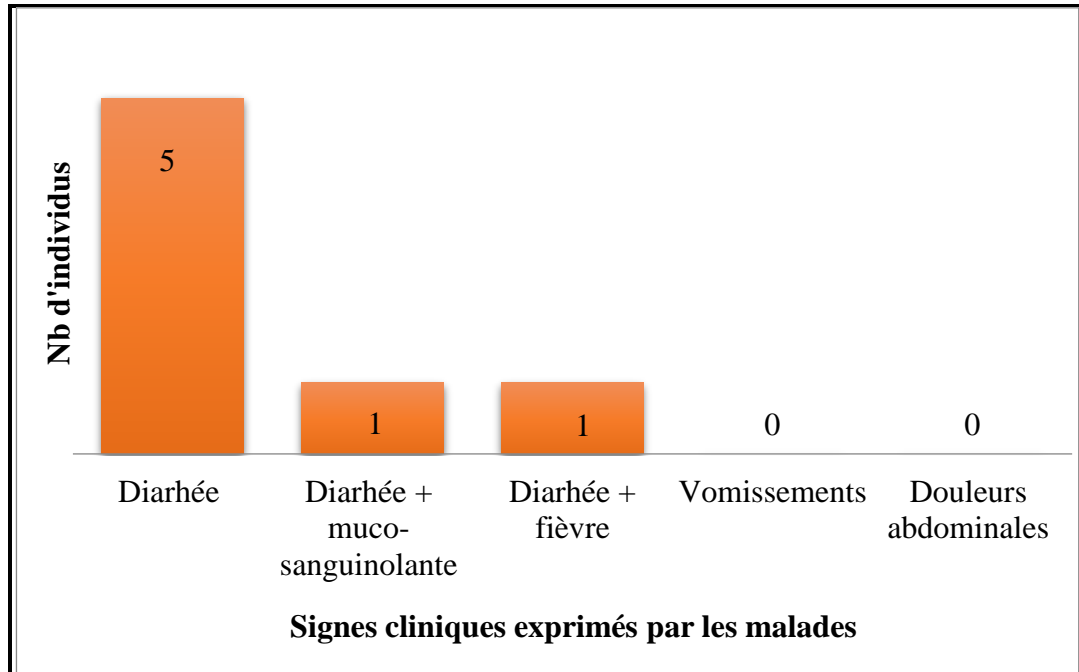


Figure 8. Répartition des cas positifs selon les signes cliniques.

Les signes cliniques présentés par les patients affectés par les GE à *Campylobacter* différaient d'un patient à un autre. Tous les patients présentaient des diarrhées, dont un qui présentait en plus de la fièvre et un autre des selles muco-sanglantes. Ceci rejoint les données de littérature, en effet, selon **Megraud et al., (2016)**, les patients atteints de campylonactérioses présentaient des diarrhées inflammatoires, avec parfois présence de sang dans les selles. Ainsi, dans un contexte de signes généraux variables, de la fièvre en général modérée. Néanmoins, aucun cas de vomissements ou de douleurs abdominales n'a été signalé. Ceci ne corrobore pas avec les écrits de **Denis et al., (2016)**, ainsi que **Klein, (2016)**, citant que ce sont des manifestations typiques, apparaissant dans la phase digestive de GE à *Campylobacter*, précédant l'apparition de diarrhées. Cela pourrait être expliqué par le manque de communication entre le médecin prescripteur et le personnel du laboratoire. En effet la fiche de renseignement est souvent incomplète et parfois même absente, malgré son rôle primordial dans l'orientation du diagnostic bactériologique.

III.2.5. Répartition des cas positifs selon l'espèce

La répartition des cas positifs par rapport aux espèces de *Campylobacter* isolées est illustrée dans la figure 9.

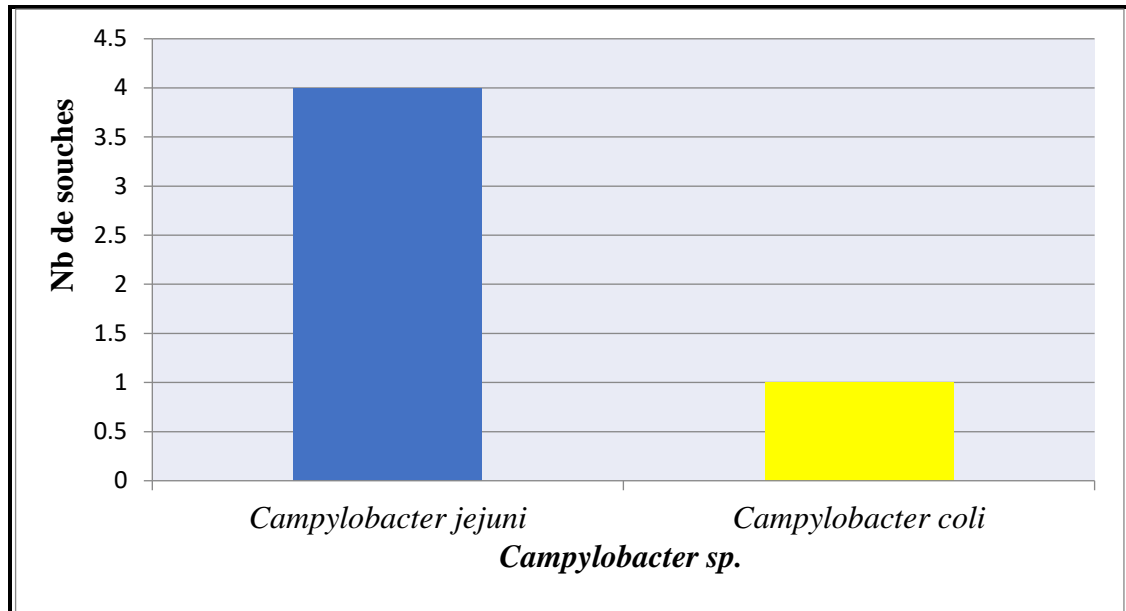


Figure 9. Répartition des cas positifs selon l'espèce.

Les 5 souches de *Campylobacter* isolées étaient partagées entre *C.jejuni* et *C.coli*. Ceci pourrait éventuellement se rapprocher des données de **Yi et Anderson, (2018)**, rapportant que la maladie chez l'homme est principalement due aux espèces *C. jejuni* et *C. coli*.

Parmi les 5 souches isolées, 4 d'entre elles appartenaient à l'espèce *C.jejuni* et une seule à l'espèce *C.coli*. Ceci rejoint les données de littérature, notées par **Keller, (2011)**, en France qui avait affirmé que *C.jejuni* était de loin l'espèce la plus isolée (80% pour *C.jejuni* et 14% pour *C.coli*). Ceci concorde également avec l'étude d'**Al Amir, (2015)**, en Algérie qui avait noté 87% de *C.jejuni* contre 10% de *C.coli*.

III.3. Résultat de l'identification

III.3.1. Résultat de l'identification par Test rapide immuno-chromatographique

Dans le but de tester la fiabilité du test rapide **Rida® Quick Campylobacter**, nous l'avons essayé sur quelques suspensions bactériennes avant leur mise en culture. Les résultats de ce test concordaient avec ceux de la culture. On déduit donc que, ce test immuno-chromatographique a une bonne sensibilité aux *Campylobacters*.

Ce test pourrait donc être utilisé en outil de dépistage avant la culture, ceci est en accordance avec **Bertholom, (2015)** et **Megraud, (2016)**. En revanche, d'après **Fitzgerald, (2015)**, une mise en culture s'impose dans le cas de positif du test rapide, et ce tenant compte de la limite de ce dernier, qui permet de détecter la présence des espèces de *Campylobacter*, mais ne permet pas de différencier entre elles. En plus du fait que la culture soit nécessaire pour toute étude du profil de résistance.

III.3.2. Résultat de la culture

III.3.2.1. Etude macroscopique

a. Aspect des colonies

Sur le milieu Skirrow nous avons observé un aspect caractéristique des colonies de *Campylobacter*, entre autres de petites colonies plates translucides grisâtres rondes et parfois sous forme de nappes, lisses, étalées et envahissantes (Figure 11 et 12).

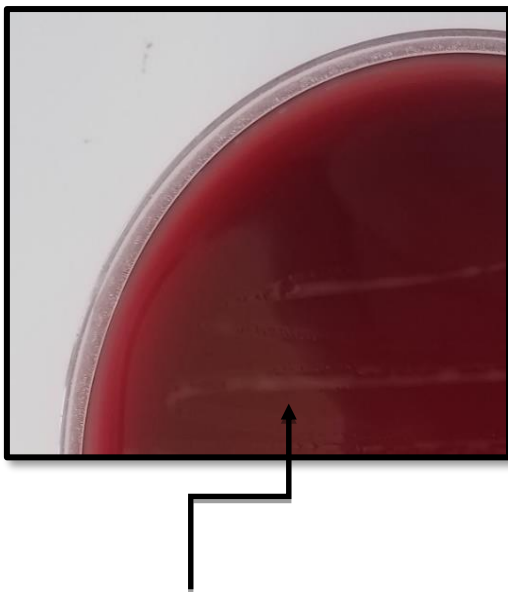


Figure 11. Aspect des colonies en « stries »



Figure 12. Aspect des colonies en « nappes »

Sur le milieu CAC les colonies apparaissent petites, rondes, surélevées de couleur rouge brique avec parfois un reflet doré (Figure13).

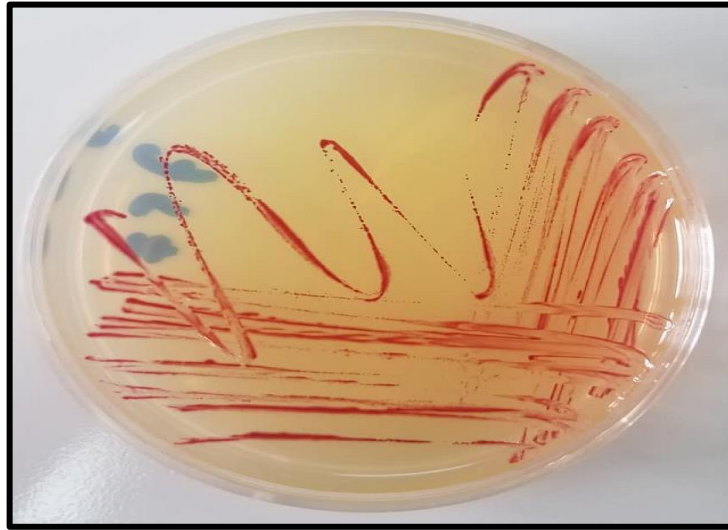


Figure 13. Aspect des colonies sur le milieu CAC.

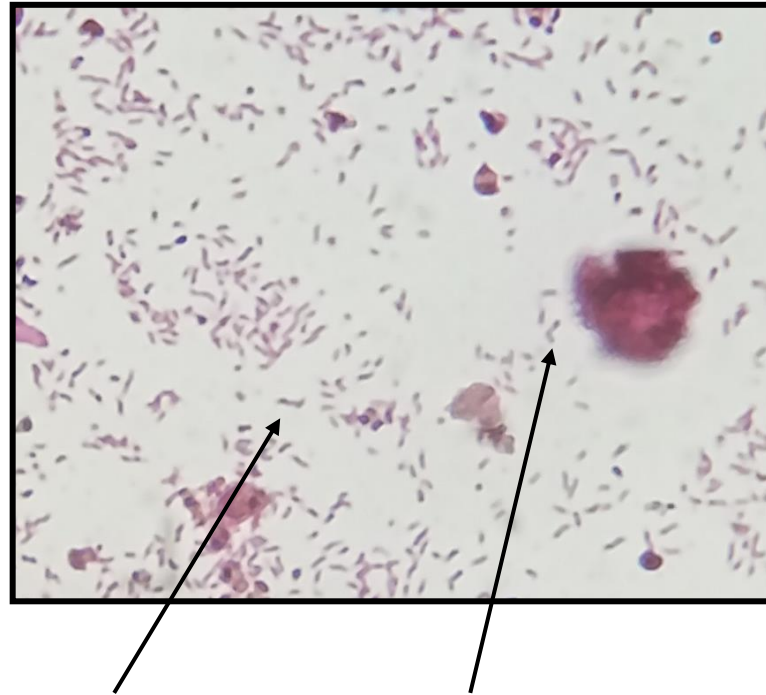
III.3.2.2. Etude microscopique

a. Observation à l'état frais

L'observation de la mobilité des souches isolées au microscope optique, nous a révélé de petits bacilles avec une très grande mobilité en vol de moucheron. Ce qui est en accord avec la description rapportée par **Munier et al., (2016)**, qui avaient noté que la mobilité en grande vitesse, en vol de moucheron, était caractéristique des *Campylobacters*.

b. Coloration de Gram

Après coloration de Gram nous avons observé des petits BGN, en forme incurvée en S ou en « ailes de mouette » (figure 14). Ceci correspond aux données de **Yapo et al., (2016)**. Très rarement nous avons observé des formes coccoïdes dans le cas de vieilles cultures, cette forme coccoïde est viable mais non cultivable. Elle est due à une activité métabolique réduite protégeant de la carence en nutriments, en oxygène ou de l'acidification du pH (**Leflon-Guibout et Munnier, 2016**).



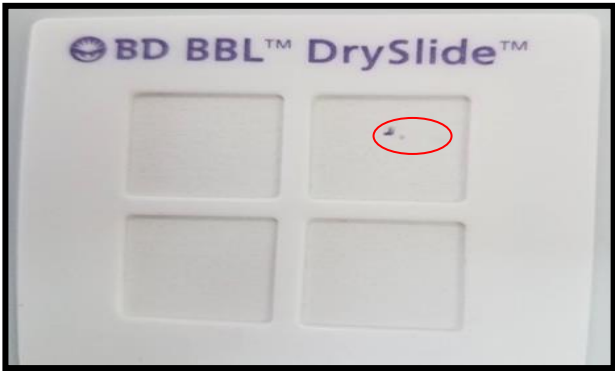


Forme incurvée en « S » Forme en « ailes de mouettes »

Figure 14. Aspect de *C.jejuni* sous microscope optique Gr x100.

III.3.2.3. Résultats des tests complémentaires

Les résultats de quelques tests complémentaires de présomption sont illustrés dans le tableau VII.

Tableau VII. Résultats des tests de présomption

Résultats	Figures
<p>Résultat de l'oxydase</p> <p>Après dépôt de la colonie sur le disque d'oxydase, nous remarquons un virement de couleur vers un bleu violacé indiquant une réaction positive.</p>	
<p>Résultat de la catalase</p> <p>Il y a formation de bulles d'oxygène, indice d'une catalase positive. Ce, après contact entre les colonies prélevées et l'eau oxygénée (H₂O₂).</p>	
<p>Test d'agglutination</p> <p>La formation d'un complexe d'agrégation est synonyme d'une réaction positive.</p>	

III.3.2.4. Etude biochimique (Galerie Api Campy)

Après inoculation de la galerie API Campy et incubation de la première partie de cette galerie pendant 24h et la deuxième partie pendant 48h suivant le manuel d'utilisation, les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 15 et la figure 16.



Figure 15. Lecture de la partie aérobie de la galerie Api Campy après l’ajout des réactifs.



Figure 16. Lecture de la partie micro aérophile de la galerie Api Campy.

Après avoir noté les caractères positifs et négatifs sur le chéquier, nous avons introduit le code obtenu dans le logiciel Api Web. Afin de confirmer que c’était bien le genre *Campylobacter* et aussi pour identifier l’espèce concernée. Le résultat affiché par le logiciel est illustré dans la figure 17.

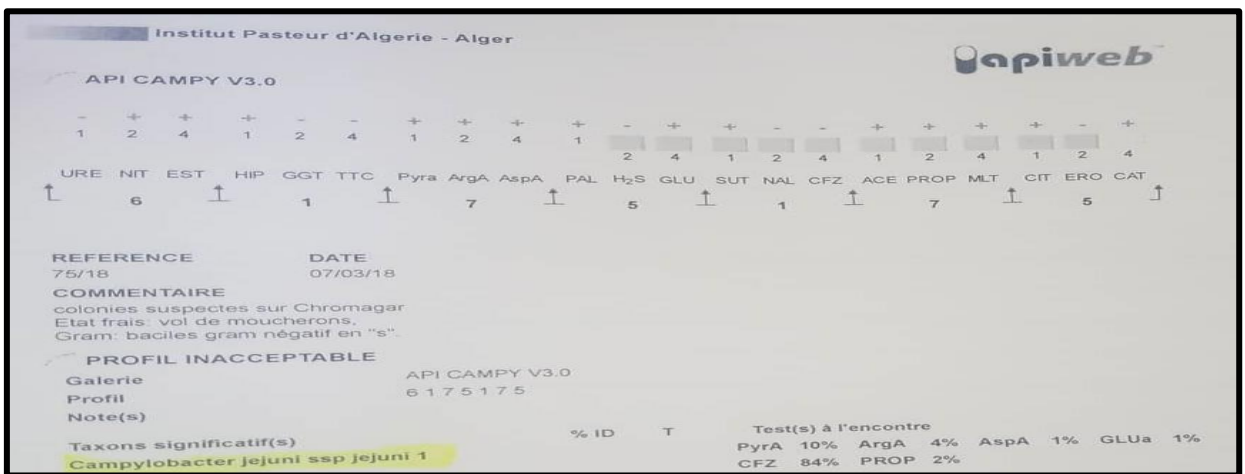


Figure 17. Interprétation des résultats de galerie en utilisant le logiciel Apiweb.

Les principaux caractères biochimiques révélés par les tests précédents, sont résumés dans le tableau VIII.

Tableau VIII. Principaux caractères biochimiques typique de *Campylobacter* isolées

Espèce	Nombre de souches identifiées	Oxydase	Catalase	H ₂ S	Nitrate Réductase	Hydrolyse de l'hippurate	Uréase
<i>C.jejuni</i>	4	+	+	-	+	+	-
<i>C.coli</i>	1	+	+	+	+	-	-

Nous notons une positivité concernant l'oxydase et la catalase pour toutes les souches identifiées, ceci est en accordance avec **Bertholom, (2015)**.

Toutes les souches *C.jejuni* isolées avait un test à l'hippurate positif, mis à part la souche *C.coli*, ce résultat est vérifié par les données de **Denis, (2016)**. Selon cet auteur, *C.coli* présentait un test à l'hippurate négatif, et ne se distingue de *C.jejuni* que par son inaptitude à hydrolyser l'hippurate.

III.4. Evaluation comparative entre les deux milieux sélectifs CHROMagar™ *Campylobacter* et Skirrow

III.4.1. Comparaison selon l'aspect des colonies

La détection de *Campylobacter* a été plus facile sur le milieu CAC qui a donné des colonies typiques rougeâtres et bien isolées (Figure18). Contrairement à celui du milieu Skirrow donnant des colonies grisâtres à blanchâtres (Figure19), pouvant être confondues avec d'autres bactéries. Ces données corroborent avec les résultats de **Bensarsa et al., (2016)**, qui avait eux aussi noté une préférence pour le milieu CAC concernant la netteté des colonies.



Figure 18. Aspect de *Campylobacter* sur Skirrow.

Figure 19. Aspect de *Campylobacter* sur CAC.

III.4.2. Comparaison selon les résultats de chaque milieu

Les résultats des deux milieux de culture utilisés sont illustrés dans le tableau IX.

Tableau IX. Comparaison selon les résultats du milieu CAC et Skirrow.

Résultat	Milieux	
	CAC	Skirrow
Présence de contaminants (Faux positifs)	9	47
<i>Campylobacter</i> + contaminant	0	4
<i>Campylobacter</i> pure	5	0

Selon le test statistique ANOVA on a constaté qu'il y a une différence hautement significative entre les deux milieux, en matière de faux positifs notés sur chacun de Skirrow et de CAC ($P < 0.0001$) (annexe 9).

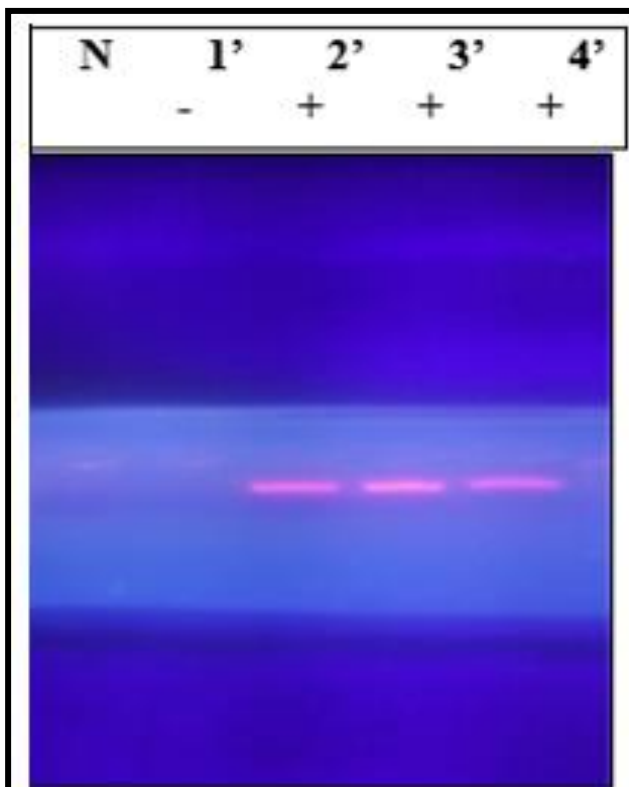
Ceci indique que le milieu CAC est plus sélectif et sensible à la croissance de *Campylobacter*, car il donne moins de cultures contaminées (N=9) que le milieu Skirrow (N=51) et il est plus spécifique puisqu'il donne un taux de faux positif plus faible (4.5%). Parallèlement le taux de positivité sur CAC a été plus élevé (5 positifs sur CAC et 4 sur Skirrow). Ceci est en accord avec les résultats de l'étude menée par **Forsberg *et al.*, (2016)**, qui avait noté un taux faible de faux positifs (8%) concernant le CAC.

III.5. Identification moléculaire (PCR)

Nous avons utilisé des amorces complémentaires à une région spécifique sur le gène VS1 ayant un poids moléculaire de 358pb pour l'identification des souches *C.jejuni*. Ainsi que des amorces complémentaires à des régions du gène Asp ayant un poids moléculaires de 258 pb pour *C.coli*.

III.5.1 Identification de *C.jejuni*

Identification de la souche 247 :



N : Control Négatif 1 (Eau distillée).

Puits 1' : Control Négatif 2 (souche *C.coli*)

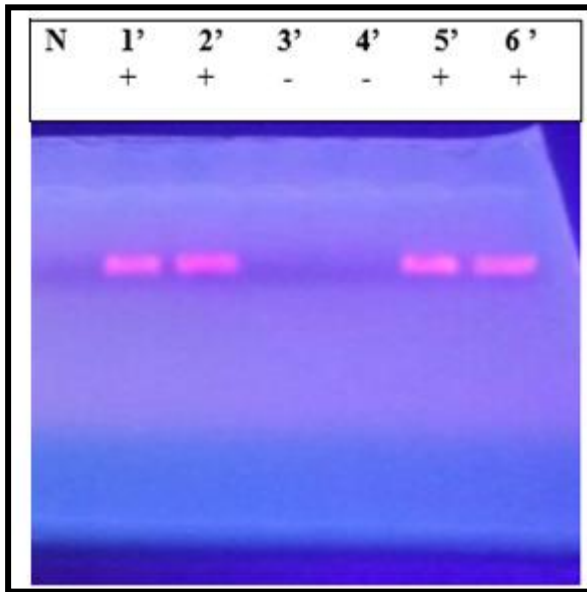
Puits 2' : Control positif (Souche de référence du CNR).

Puits 3' : Souche 247 congelât.

Puits 4' : Souche 247 culture

Figure 20. Electrophorèse sur gel d'agarose pour les résultats des produits de la PCR (a).

Identification des souches 75, 130 et 276 :



Puits 1' : Control Positif.

Puits 2' : Souche 75 congelât.

Puits 3' : Souche 174 congelât.

Puits 4' : Souche 174 culture.

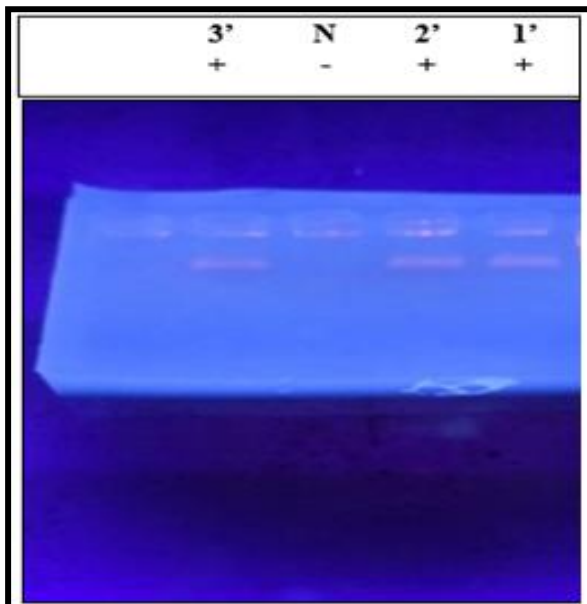
Puits 5' : Souche 130 congelât

Puits 6' : Souche 276 culture.

Figure 21. Electrophorèse sur gel d'agarose pour les résultats des produits de la PCR (b).

III.5.2. Identification de *C.coli*

Identification de la souche 174 :



N : Contrôle négatif (1).

Puits 1' : Contrôle positif.

Puits 2' : Souche 174 culture.

Puits 3' : Souche 174 congelât

Figure 22. Electrophorèse sur gel d'agarose pour les résultats des produits de la PCR (c).

Les résultats de la PCR renforcent le résultat du diagnostic bactériologique direct et rejoignent le travail fait sur paillasse. Cela affirme que les 5 souches isolées s'agissent bien de souches bactériennes du genre *Campylobacter*, et que les souches 75, 130, 174 et 276 s'agissent bien de l'espèce *C.jejuni*.

Ces données corroborent avec les résultats obtenus par **Taminiau, (2014)**. Qui avait confirmé les résultats de l'identification de *C.jejuni* par culture par une PCR, en utilisant le gène VS1, et avait constaté un taux de sensibilité de 100% du gène VS1 vis-à-vis les espèces *C.jejuni* et avait également souligné la spécificité de ce gène, ainsi que sa fiabilité pour différencier entre cette espèce et l'espèce *C.coli*.

En ce qui concerne la souche 174, la PCR réalisée nous a confirmé que ce n'est pas une espèce *C.jejuni* mais plutôt une espèce *C.coli*. Ceci rejoint l'étude de **Debruyne,(2008)**, qui avait trouvé lui aussi une sensibilité de 100% du gène Asp envers *C.coli*, rapportant au passage qu'il est spécifique à celle-ci.

III.6. Différence d'incidence entre *Campylobacter* et *Salmonella*

Les résultats d'incidence de *Campylobacter* et *salmonelles* sont représentées dans la figure 23.

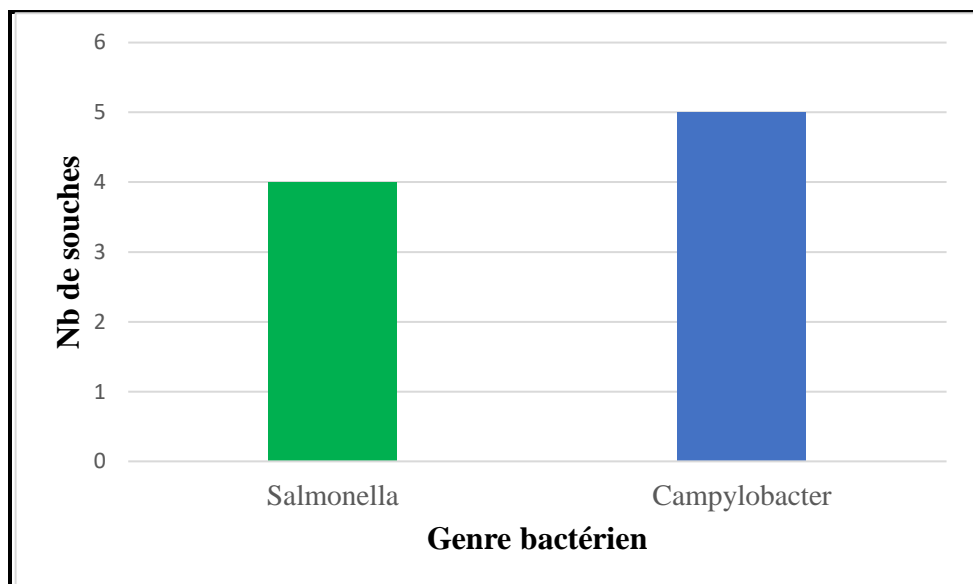


Figure 23. Différence entre l'incidence de *Campylobacter* et *Salmonella*.

Dans une étude parallèle à la nôtre, un autre binôme (**Hafsa M.et IFTENE A.**) a analysé les mêmes suspensions, 4 souches de *Salmonella* (*S.enteritidis* (2), *S.Virchow*, *S.bredeney*) ont été isolées, ce qui est légèrement en dessous de nos chiffres et qui pourrait être rapporté à l'étude qui a été effectuée à l'institut Robert Koch, en Allemagne qui ont fait un suivis du taux d'incidence des *Campylobacter* et *Salmonelles* impliquées dans les GE entre 2006 et 2014 et ont constaté que le taux d'incidence de *Campylobacter* avait dépassé le taux d'incidence des *salmonelles* d'environ 30% (**Klein, 2016**).

III.7. Etude du profil de résistance

Le profil de résistance de chaque souche isolée est représenté dans les figures 24 et le tableau X.

Tableau X. Profil de résistance des souches identifiées.

	Espèce	Profil ATB
Souche 75	<i>C.jejuni</i>	AMP. AMC. TCY.CEF.NAL
Souche 130	<i>C.jejuni</i>	CIP.TCY.CEF.NAL
Souche 174	<i>C.coli</i>	AMP.AMC.CIP.TCY.CEF.NAL
Souche 247	<i>C.jejuni</i>	AMP.TCY.CEF
Souche 276	<i>C.jejuni</i>	AMP.CIP.TCY.CEF.NAL

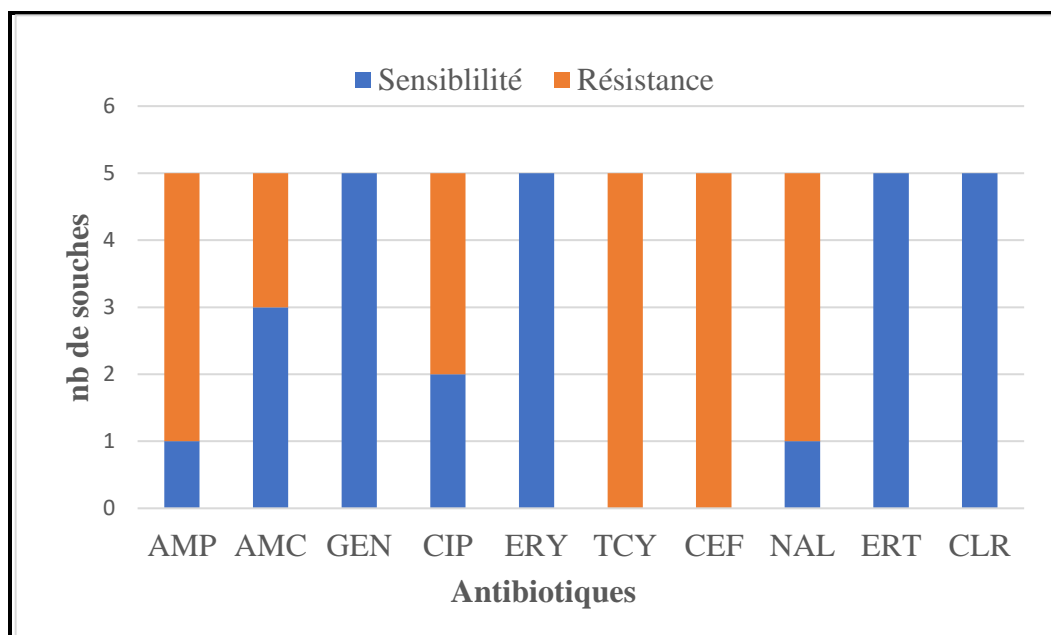


Figure 24. Répartition de la résistance antimicrobienne des souches.

D'après les résultats de nos études concernant la résistance des souches identifiées aux différents ATB, nous avons noté :

Que toutes les souches étaient résistantes à la Tétracycline (TCY), ce taux reste très élevé par rapport à celui rapporté en France par **Denis, (2013)**, et **Bertholom, (2015)**, qui avaient trouvé respectivement des pourcentages de 10 et 52 %. Néanmoins, notre taux se rapproche de celui retrouvé en Chine par **Wang et al., (2016)**, qui avaient trouvé que presque la totalité des souches étaient résistantes (91%) et avec les études menées en Algérie, à l'IPA par **Ouar et al., (2015)**, (86 %).

- Selon **Lovine, (2013)**, la résistance des *Campylobacter* à la TCY est due au gène tetO, qui est responsable de modifications du site A du ribosome d'une part, et d'autre part que la TCY soit rejeté par la protéine majeure de la membrane externe (MOMP) et ce à cause de son poids moléculaire.

En ce qui concerne l'ERY, toutes les souches isolées avaient manifesté une sensibilité à cet ATB, ce qui est en correspondance avec l'étude d'**Al amir, (2015)**, à l'IPA qui avait trouvé un taux de 95%, et avec l'étude menée par **Denis, 2016** (97.4 %) et **Collado et al., (2017)** au Chili (98%). Toutes les souches que nous avons identifiées étaient sensibles aux Clarithromicyne (CLR).

- Toute fois, une résistance aux MAC peut être enregistrée, d'après **Bolinger, (2017)**, cela est expliquée par les mutations qui altèrent les protéines et gènes ribosomales antimicrobiens, en plus du système multi-drogue des pompes d'efflux CmeABC et aussi la diminution de la perméabilité causée par l'action de la MOMP.

3/5 de nos souches avait exprimé une résistance à la CIP, ce qui est conforme aux résultats trouvés par **Bertholom et al., (2015)**, en France (59.9%) et plus ou moins en accord avec les résultats de **Ouaret al., (2014)** en Algérie et au résultat de **Collado et al., (2017)**, au Chili qui avaient rapporté des taux respectifs de 50% et 48%. En revanche, nos résultats sont en désaccord à ceux notés par **Wieczorek (2013)**, en Émirats arabes unis (86%), et par **Bensarsaet al., (2016)**, à l'HCA en Algérie (88%).

Quant à l'Acide Nalidixique (NAL), nous avons observé une résistance chez 4 souches sur 5, ce pourcentage est en accord avec les chiffres observés en Algérie, à l'IPA (93%) par **Ouar et al., (2015)**. Ainsi qu'à l'HCA (88 %) par **Bensarsa et al., (2016)**. Ce taux reste élevé comparé à celui trouvé par **Yapo et al., (2016)** en France (50%).

- La résistance aux FQ (Cip + NAL) a été tant évoquée, et s'explique par la mutation unique du gène *gyrA* de l'ADN gyrase, conférant une haute résistance ainsi que par l'action de la pompe d'efflux CmeABC (**Yi et Anderson, 2018**).

- Selon les données de littérature, concernant les trois familles d'antibiotiques citées ci-dessus, l'émergence et l'augmentation rapide du nombre de souches résistantes aux FQ, aux MAC et aux TCY est principalement causée par l'utilisation massive des ATB pour le traitement des Infections mais surtout comme facteurs de croissance pour l'élevage des animaux (**Leflon-Guibout et Munier, 2016**).

D'autre part, nous avons constaté que 4/5 étaient résistantes à l'AMP ce qui est en accord avec les données de l'étude réalisée en Algérie, à l'HCA où **Bensarsa et al., (2016)**, avaient noté que 68% de leurs souches isolées étaient résistance à l'AMP. En revanche ce taux est élevé comparé à celui (35%) du BSIC en France, **Cauteren et al., (2015)**.

Par ailleurs, 2/5 souches étaient résistante à l'AMC (40%) ce qui ne concorde pas avec les études faites par **Mouffok et al., (2011)** à l'IPA qui avaient trouvé un pourcentage équivalent à 16% et les études en France par **Megraud et al., (2014)**, qui avaient quant à eux trouver un pourcentage inférieur à 1.

L'antibiogramme nous a aussi dévoilé que toutes les souches que nous avons identifiées étaient toutes sensible à l'Ertapénème (ERT), et toutes résistantes à la Cefalotine (CEF).

- La résistance des *Campylobacter* aux ATB de la famille β -lactamine est causée par la diminution de la perméabilité de la membrane par la MOMP et une modification ou inactivation de l'ATB due à une β -lactamase, et ce selon **YI, (2018)**.

Pour la GEN, nous avons trouvé que toutes nos souches expriment une sensibilité à cet ATB, ce qui est soutenu par l'étude en Algérie d'**Al Amir, (2015)**, et celle de **Mégraud et al., (2014)** qui avaient également trouvé une résistance nulle.

Conclusion

Conclusion

Les *Campylobacters* causent un problème de santé publique souvent négligé et pourtant ils sont actuellement la première cause bactérienne de GE dans les pays développés et ceux en voie de développement dépassant ainsi les *salmonelles*. Leur incidence est en constante évolution et elle est due à des facteurs liés à l'hôte comme l'âge et le sexe ou à des facteurs liés à l'environnement comme les saisons.

Notre étude qui porte sur les GE à *C.jejuni*, nous a permis d'isoler cinq souches de *Campylobacter*, dont quatre *C.jejuni* et une *C.coli*, après analyse de ces dernières nous pourrions éventuellement dire que :

- L'espèce *C.jejuni* est la plus souvent incriminée suivis de *C.coli*.
- Les enfants et plus spécifiquement les nourrissons semblent les plus touchés par les Campylobactérioses.
- Le sexe masculin est d'avantage touché que le sexe féminin.
- Le diagnostic des *Campylobacter* est grandement facilité par le milieu chromogénique « CAC » plus spécifique.
- Le profil de résistances des cinq souches de *Campylobacter*, nous permet de conclure que la résistance aux TCY ainsi qu'aux FQ, notamment le NAL continue de croître, ce qui requiert une surveillance de près.

Afin de prévenir cette infection, il est nécessaire d'instaurer des lois basées sur un programme d'utilisation responsable des ATB, ainsi que des contrôles strictes et sanctions dans le cas d'une utilisation archaïque dans les milieux d'élevages. Parallèlement il faut rappeler aux populations les mesures d'hygiène par le biais de campagnes de sensibilisation, surtout en saison estivale ou l'infection est endémique. Il faudrait également contrôler les porteurs sains surtout chez le personnel travaillant dans la restauration, par le biais des enquêtes d'hygiène.

Comme perspective, il est souhaitable de faire des recherches plus poussées s'étalant sur toutes les saisons de l'année concernant les *Campylobacter*, dans toutes les régions algériennes et penser à des moyens pour que leur recherche devienne systématique dans l'examen coprologique des selles dans le reste des laboratoires d'analyse médicales à travers le territoire national, ainsi que d'étudier plus en profondeur le milieu chromogénique, en vue d'une éventuelle utilisation étendue.

Références bibliographiques

Ajene, A.N., Fischer Walker, C.L., Black, R.E. (2013). Enteric pathogens and reactive arthritis: a systematic review of *Campylobacter*, salmonella and Shigella-associated reactive arthritis. *J HealthPopulNutr* 31, 299–307.

Al Amir, H. (2015). Campylobactérioses alimentaires : prévalence, identification des souches et étude génétique. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat d'état en biologie, Ecole nationale supérieure d'agronomie d'Alger, 187p, Algérie.

Bensersa-Nedjar, D., Zerouki, A., Aggoune, N., Yamouni, F., Henniche, F/Z., Chabani, A., (2017). Evaluation comparative de trois milieux de culture sélectifs ; CHROMagar *campylobacter* (CHROMagar), Karmali (Oxoid) et Campyloset (bioMérieux), pour la recherche des *Campylobacter* thermotolérants à partir des échantillons fécaux. 37^e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Lundi 18 et mardi 19 décembre 2017. Palais des congrès, Paris 17^e. P161.

Bertholom, C. (2015). Infections à *Campylobacter* : actualités diagnostiques et résistance aux antibiotiques. *Option/Bio* 26, 13–15.

Bolinger, H., Kathariou, S. (2017). The Current State of Macrolide Resistance in *Campylobacter* spp.: Trends and Impacts of Resistance Mechanisms. *Applied and Environmental Microbiology* 83, e00416-17.

Bolton, D.J. (2015). *Campylobacter* virulence and survival factors. *Food Microbiology* 48, 99–108.

Bronowski, C., James, C.E., and Winstanley, C. (2014). Role of environmental survival in transmission of *Campylobacter jejuni*. *FEMS Microbiology Letters* 356, 8–19.

Bruley des Varannes, S., Ducrotté, P., Bueno, L., Chassany, O., Coffin, B., Dapoigny, M., Bonaz, B., Savarieu, B., and Salin, B. (2009). Profil symptomatique et modalités de prise en charge des gastro-entérites aiguës de l'adulte en médecine générale. *La Presse Médicale* 38, 177–184.

Buelow, D.R., Christensen, J.E., Neal-McKinney, J.M., and Konkel, M.E. (2011). *Campylobacter jejuni* survival within human epithelial cells is enhanced by the secreted protein CiaI: C. jejuni survival within epithelial cells. *Molecular Microbiology* 80, 1296–1312.

Butcher, J., and Stintzi, A. (2017). *Campylobacter jejuni: methods and protocols* (New York: Humana Press). 274p

- Charrat, N. (2015).** Diagnostic moléculaire et application en agroalimentaire : caractérisation des souches de *Campylobacter* isolées à partir du poulet de chair. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en biologie, université Mohammed V, faculté des sciences Rabat, Maroc.
- Collado, L., Muñoz, N., Porte, L., Ochoa, S., Varela, C., and Muñoz, I. (2018).** Genetic diversity and clonal characteristics of ciprofloxacin-resistant *Campylobacter jejuni* isolated from Chilean patients with gastroenteritis. *Infection, Genetics and Evolution* 58, 290–293.
- Connerton, I.F., and Connerton, P.L. (2017).** *Campylobacter* Foodborne Disease. *Foodborne Diseases*, 3^{ème} édition Elsevier, pp. 209–221.
- DeBoer, R.F., Ott, A., Güren, P., van Zanten, E., van Belkum, A., and Kooistra-Smid, A.M.D. (2013).** Detection of *Campylobacter* Species and *Arcobacter butzleri* in Stool Samples by Use of Real-Time Multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 51, 253–259.
- Debruyne, L., Samyn, E., De Brandt, E., Vandenberg, O., Heyndrickx, M., and Vandamme, P. (2008).** Comparative performance of different PCR assays for the identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Research in Microbiology* 159, 88–93.
- Delarras, C. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire : recherche de bactéries et de levures-moisissures, lavoisier,800P
- Denis, F., Ploy, M.-C., Martin, C., Cattoir, V., Barbeyrac, B. de, Barraud, O., Bébéar, C., and Fumat, C. (2016).** Bactériologie médicale : techniques usuelles. 3^{ème} édition Elsevier Masson, Issy-les-Moulineaux, pp. 390-394.
- Dodd, C.E.R., Aldsworth, T., A. Stein, R., O. Cliver, D., P. Riemann, H. (2017).** *Foodborne diseases*. 3^{ème} édition, 3173p.
- Elliott, T., Casey, A., Lambert, P., Sandoe, J. (2011).** *Medical Microbiology and Infections: Lectures Notes*.5^{ème} édition, wiley-Blackwell, 231p.
- Eucker, T.P., and Konkel, M.E. (2012).** The cooperative action of bacterial fibronectin-binding proteins and secreted proteins promote maximal *Campylobacter jejuni* invasion of host cells by stimulating membrane ruffling: *C. jejuni* invasion of epithelial cells. *Cellular Microbiology* 14, 226–238.
- Fitzgerald, C. (2015).** *Campylobacter*. *Clinics in Laboratory Medicine* 35, 289–298.
- Forsberg, L., Barth, C., Malejczyk, K., Minion J.** Evaluation of CHROMagartm *Campylobacter*. Canadian annual meeting in infectious diseases and microbiology (CACMID).30 mars au 2 avril 2016. Sheraton Vancouver wall centre, Vancouver, Canada.P43.
- Freedman, D.O., Chen, L.H., and Kozarsky, P.E. (2016).** Medical Considerations before International Travel. *New England Journal of Medicine* 375, 247–260.

- Garénaux, A., Luchetti-Miganeh, C., Ermel, G., Barloy-Hubler, F., De Jonge, R., Newell, D., Payot, S., Federighi, M., Tresse, O., Guillou, S., Ritz, M. (2008).** Better understanding of the *campylobacter* conundrum. Nova Science Publishers, New York. 161P
- Gilliss, Cronquist AB, Cartter M, Tobin-D'Angelo M, Blythe D, Smith K, Lathrop S, Zansky S, Cieslak PR, Dunn J, et al. (2013).** Incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food - foodborne diseases active surveillance network, 10 U.S. sites, 1996-2012. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 62, 283–287.
- Guerry, P., Poly, F., Riddle, M., Maue, A.C., Chen, Y.-H., and Monteiro, M.A. (2012).** *Campylobacter* Polysaccharide Capsules: Virulence and Vaccines. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2,1-11.
- Havelaar, A.H., Ivarsson, S., Löfdahl, M., Nauta, M.J. (2013).** Estimating the true incidence of *campylobacteriosis* and salmonellosis in the European Union, 2009. *Epidemiology and Infection* 141, 293–302.
- Hoefer, H.L., Fox, J.G., Bell, J.A. (2012).** Gastrointestinal Diseases. In *Ferrets, Rabbits, and Rodents*, 3^{ème} édition Elsevier, pp. 27–45.
- Hoffmann, S., Batz, M.B., Morris, J.G. (2012).** Annual Cost of Illness and Quality-Adjusted Life Year Losses in the United States Due to 14 Foodborne Pathogens. *Journal of Food Protection* 75, 1292–1302.
- Iraola, G., Pérez, R., Naya, H., Paolicchi, F., Pastor, E., Valenzuela, S., Calleros, L., Velilla, A., Hernández, M., and Morsella, C. (2014).** Genomic Evidence for the Emergence and Evolution of Pathogenicity and Niche Preferences in the Genus *Campylobacter*. *Genome Biology and Evolution* 6, 2392–2405.
- Jacques Buxeraud (2014).** Les antibiotiques. *Actualités Pharmaceutiques* 53, S1–S5.
- Joffin, J.N. et Leyral, G. (2001).** *Microbiologie Technique 1 : dictionnaire des techniques*. 3^{ème} édition, 312p.
- John, D.A., Williams, L.K., Kanamarlapudi, V., Humphrey, T.J., and Wilkinson, T.S. (2017).** The Bacterial Species *Campylobacter jejuni* Induce Diverse Innate Immune Responses in Human and Avian Intestinal Epithelial Cells. *Frontiers in Microbiology* 8. 1-15.
- Kaakoush, N.O., Castaño-Rodríguez, N., Mitchell, H.M., and Man, S.M. (2015).** Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. *Clinical Microbiology Reviews* 28, 687–720.
- Keithlin, J., Sargeant, J., Thomas, M.K., Fazil, A. (2014).** Systematic review and meta-analysis of the proportion of *Campylobacter* cases that develop chronic sequelae. *BMC Public Health* 14, 1-19.
- Klein, G. (2016).** *Campylobacter: features, detection, and prevention of foodborne disease*. Elsevier, Boston. 149P.
- Knabl, L., Grutsch, I., Orth-Höller, D. (2016).** Comparison of the BD MAX® Enteric Bacterial Panel assay with conventional diagnostic procedures in diarrheal stool samples. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 35, 131–136.

- Kuhn, K.G., Nielsen, E.M., Mølbak, K., and Ethelberg, S. (2018).** Epidemiology of campylobacteriosis in Denmark 2000-2015. *Zoonoses and Public Health* 65, 59–66.
- Leflon-Guibout, V., Munier, A.-L. (2016).** Infections à *Campylobacter* : épidémiologie, facteurs de virulence, résistance aux antibiotiques. *Journal des Anti-infectieux* 18, 160–168.
- Lehours, P., Aladjidi, N., Sarlangue, J., and Mégraud, F. (2012).** Infections à *Campylobacter* chez l'enfant. *Archives de Pédiatrie* 19, 629–634.
- Liu, Y.-H., Yamazaki, W., Huang, Y.-T., Liao, C.-H., Sheng, W.-H., and Hsueh, P.-R. (2017).** Clinical and microbiological characteristics of patients with bacteremia caused by *Campylobacter* species with an emphasis on the subspecies of *C. fetus*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 1-5.
- Lovine, N.M. (2013).** Resistance mechanisms in *jejuni*. *Virulence* 4, 230–240.
- Luangtongkum, T., Jeon, B., Han, J., Plummer, P., Logue, C.M., and Zhang, Q. (2009).** Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence. *Future Microbiology* 4, 189–200.
- Man, S.M. (2011).** The clinical importance of emerging *Campylobacter* species. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 8, 669–685.
- Mason, J., Iturriza-Gomara, M., O'Brien, S.J., Ngwira, B.M., Dove, W., Maiden, M.C.J., and Cunliffe, N.A. (2013).** *Campylobacter* Infection in Children in Malawi Is Common and Is Frequently Associated with Enteric Virus Co-Infections. *PLoS ONE* 8, 1-5.
- Mégraud, F., Bessède, E., Lehours, P. (2016).** Infections à *Campylobacter*. *EMC - Maladies infectieuses* 13, 1–11.
- Mouffok, F., Hamrouche, S., Sadat, Kias, F., Slimani R. (2011).** Rapport d'activité. Laboratoire des entérobactéries et vibrions. Institut Pasteur d'Algérie. 124-126.
- Munier, A.L., Leflon-Guibout, V. (2016).** Infections à *Campylobacter* : tableaux cliniques, prise en charge diagnostique et thérapeutique. *Journal des Anti-infectieux* 18, 169–176.
- Nielsen, H., Hansen, K.K., Gradel, K.O., Kristensen, B., Ejlertsen, T., Østergaard, C., and Schönheyder, H.C. (2010).** Bacteraemia as a result of *Campylobacter* species: a population-based study of epidemiology and clinical risk factors. *Clinical Microbiology and Infection* 16, 57–61.
- Ouar-Kourichi, M., Hamrouche, S., Sadat, Kias, F., Slimani R. (2014).** Rapport d'activité. Laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées. Institut Pasteur d'Algérie 34-36.
- Ouar-Kourichi, M., Hamrouche, S., Sadat, Kias, F., Slimani R. (2015).** Rapport d'activité. Laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées. Institut Pasteur d'Algérie. 42-44.

- Platts-Mills, J.A., Kosek, M. (2014).** Update on the burden of Campylobacter in developing countries: Current Opinion in Infectious Diseases 27, 444–450.
- Qin, S., Wang, Y., Zhang, Q., Chen, X., Shen, Z., Deng, F., Wu, C., and Shen, J. (2012).** Identification of a Novel Genomic Island Conferring Resistance to Multiple Aminoglycoside Antibiotics in Campylobacter coli. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 56, 5332–5339.
- Schlossberg, D. (2015).** Clinical infectious disease. 2^{ème} édition, Cambridge University Press, Royaume uni. pp.748-765
- Silva, J., Leite, D., Fernandes, M., Mena, C., Gibbs, P.A., and Teixeira, P. (2011).** Campylobacter spp. as a Foodborne Pathogen: A Review. Frontiers in Microbiology 2, 1-12.
- Singleton, P. (2004).** Bactériologie. 6^{ème} édition, John Wiley et Sons Ltd, 415p.
- Skarp, C.P.A., Hänninen, M.-L., and Rautelin, H.I.K. (2016).** Campylobacteriosis: the role of poultry meat. Clinical Microbiology and Infection 22, 103–109
- Slimani-Benhadj R., Taleb F., Hamrouche S., Touati D., Bensersa D., Zerouki A., Naim M., Ouar-Korichi M.** Étude préliminaire de la résistance des souches de Campylobacter à Alger durant une année. 35^e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Lundi 14 et mardi 15 décembre 2015. Palais des congrès, Paris 17^e. P417.
- Tam, C.C., Rodrigues, L.C., Viviani, L., Dodds, J.P., Evans, M.R., Hunter, P.R., Gray, J.J., Letley, L.H., Rait, G., Tompkins, D.S., et al. (2012).** Longitudinal study of infectious intestinal disease in the UK (IID2 study): incidence in the community and presenting to general practice. Gut 61, 69–77.
- Taminiau, B., Korsak, N., Lemaire, C., Delcenserie, V., and Daube, G. (2014).** Validation of real-time PCR for detection of six major pathogens in seafood products. Food Control 44, 130–137
- Vaubourdolle, M., Porquet, D. (2013).** Infectiologie. Mécanismes généraux de résistances aux antibiotiques. 4^{ème} édition Wolters Kluwer. pp. 345-350.
- Wakerley, B.R., Yuki, N. (2015).** Guillain–Barré syndrome. Expert Review of Neurotherapeutics 15, 847–849.
- Wang, Y., Dong, Y., Deng, F., Liu, D., Yao, H., Zhang, Q., Shen, J., Liu, Z., Gao, Y., Wu, C., et al. (2016).** Species shift and multidrug resistance of Campylobacter from chicken and swine, China, 2008–14. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 71, 666–669.
- Wieczorek, K., Osek, J. (2013).** Antimicrobial Resistance Mechanisms among Campylobacter. BioMed Research International 2013, 1–12.
- Yapo, T., Pulcini, C., Rapp, C., and Tattevin, P. (2016).** ECN.Pilly: maladies infectieuses et tropicales : préparation ECN, tous les items d’infectiologie. 25^{ème} édition, 972P, Paris : Alinéa Plus.
- Yi, J., Anderson, E.J. (2018).** Campylobacter jejuni and Campylobacter coli. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases 5^{ème} édition Elsevier, pp. 899-902.e3.

Références bibliographiques

Yi, J., Shane, A.L. (2018). Approach to the Diagnosis and Management of Gastrointestinal Tract Infections. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases 5^{ème} édition Elsevier, pp. 376-383.e2.

Zerouki, A., Bensersa-Nedjar, D., Benouarets, A., Aggoune, N., Yamouni, F., henniche, F.Z., Chabani, A., Bacha, D. Résistance aux antibiotiques des Campylobacter responsables de gastroentérites observées à l'hôpital central de l'armée d'Alger. 36^e Réunion

Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. Lundi 12 et mardi 13 décembre 2016.
Palais des congrès, Paris 17^e. P160.

Annexes

Annexe 1

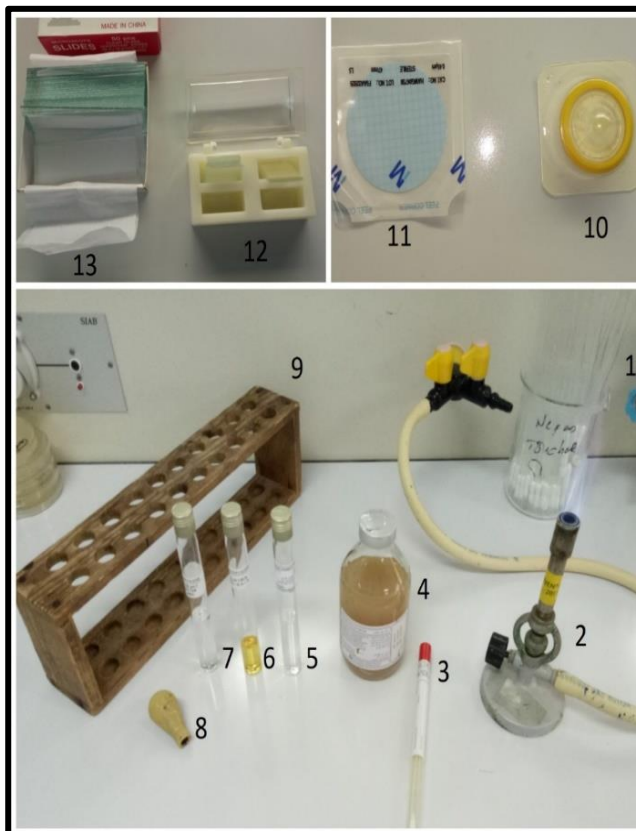
Tableau. Espèces de *Campylobacter*, hôtes, infection humaine.

Espèces	Hôtes	Infections humaines
<i>C. avium</i>	Poulets, dindes	Non rapportées
<i>C. canadensis</i>	Grues blanches, bernaches du Canada	Non rapportées
<i>C. coli</i>	Porc, bovins, moutons, chèvres, singes, chiens, poulets, canards, mouettes	Gastroentérites, septicémies, méningites, abcès rétropéritonéaux
<i>C. concisus</i>	Chats, chiens, hommes	Gastroentérites, maladie périodontale, abcès oraux et extra-oraux, maladies inflammatoires de l'intestin
<i>C. corcagiensis</i>	Singes	Non rapportées
<i>C. cuniculorum</i>	Lapins	Non rapportées
<i>C. curvus</i>	Chiens, hommes	Abcès oraux et extra-oraux, maladie périodontale ; gastroentérites
<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	Bovins, moutons, chevaux, kangourous	Septicémies, avortement, méningites, endocardites
<i>C. fetus</i> subsp. <i>testudinum</i>	Tortues, reptiles	Septicémies, gastroentérites, spondilodiscites
<i>C. fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	Bovins, moutons	Septicémies
<i>C. gracilis</i>	Chiens, hommes	Septicémies, abcès oraux et extra-oraux, maladie périodontale
<i>C. helveticus</i>	Chats, chiens, hommes	Non rapportées
<i>C. hominis</i>	hommes	Non rapportées
<i>C. hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i>	Porcs, bovins, chiens, hamsters, cerfs, rennes	Septicémies, gastroentérites
<i>C. hyointestinalis</i> subsp. <i>lawsonii</i>	Porcs	Non rapportées
<i>C. iguaniorum</i>	Reptiles	Non rapportées
<i>C. insulaenigrae</i>	Phoques, lions de mer, marsouins	Gastroentérites, septicémies
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> et subsp. <i>doylei</i>	Poulets, bovins, moutons, oiseaux sauvages, porcs, hommes	Gastroentérites, septicémies, méningites, cholécystites aiguës, infections urinaires, myocardites, syndrome de Guillain Barré, syndrome de Miller Fisher, arthrites réactives, possible maladie inflammatoire de l'intestin, syndrome du côlon irritable
<i>C. lanienae</i>	Porcs, bovins, moutons	Non rapportées
<i>C. lari</i> subsp. <i>concheus</i>	Fruits de mer	Gastroentérites
<i>C. lari</i> subsp. <i>lari</i>	Mouettes, volailles, chiens, chats	Gastroentérites, septicémies, infections urinaires
<i>C. mucosalis</i>	Porcs	Non rapportées
<i>C. peloridis</i>	Fruits de mer	Gastroentérites
<i>C. rectus</i>	Chiens, hommes	Maladie périodontale, abcès oraux extra-oraux
<i>C. showae</i>	Chiens, hommes	Maladie périodontale, abcès oraux extra-oraux
<i>C. sputorum</i> bv. <i>sputorum</i> et <i>C. sputorum</i> bv. <i>paraureolyticus</i>	Bovins, porcs	Gastroentérites, abcès septicémies
<i>C. sputorum</i> biovar. <i>faecalis</i>	Moutons, taureaux	Non rapportées
<i>C. subantarcticus</i>	Albatros, pingouins	Non rapportées
<i>C. upsaliensis</i>	Chiens, chats	Gastroentérites, abcès septicémies
<i>C. ureolyticus</i>	Chats, chiens, porcs, bovins, hommes	Gastroentérites, septicémies, abcès, ulcères superficiels, gangrène, vaginoses, urérites, maladie périodontale
<i>C. volucris</i>	Mouettes	Bactériémies

Annexe 2

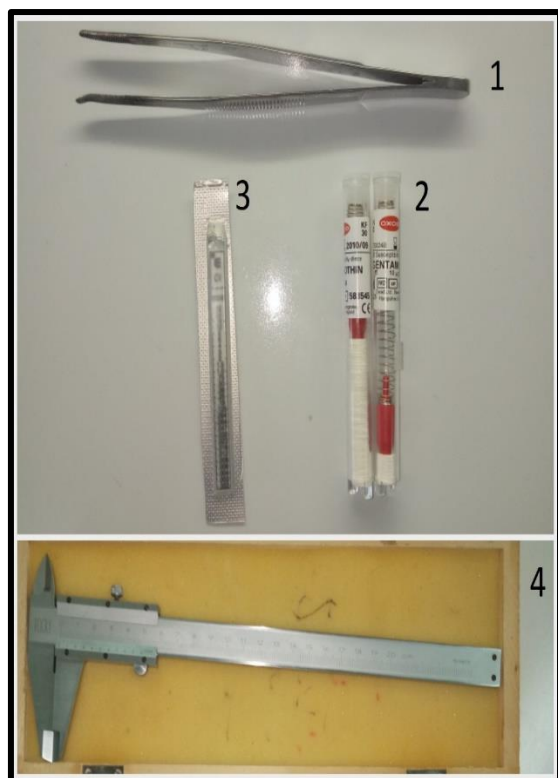
Tableau 1. Matériel usuel de microbiologie

Appareillage	Kits et disques.	Réactifs utilisés	Autres
-Bain marie. -autoclave. -densitomètre. -étuve. -vortex. -Microscope photonique. -Jarres d'incubation. -Réfrigérateur. -Trans illuminateur à UV. -Cuve d'électrophorèse. -Thermocycleur. -hôte a flux luminaire. -Balance de précision.	-Kit d'agglutination. -cassette de test direct. -Disques d'oxydases. -kit pour PCR pure linkgenomicdna.	-Réactifs 1 &2 d'agglutinations. -réactifs 1 & 2 pour test direct. -poids moléculaire industriel. -Eau oxygénée. -Tampon PCR - MgCl ₂ . -dNTPs. -Taq polymérase. -GC enhancer. -Réactifs de la galerie api campy.	-Sang de cheval. -Glycérol. -Gants à usage unique. -Genbox. -huile à immersion. -Alcool. -Tubes à essai. -micro pipettes. -Cryotubes. -Eppendorf. -Amorces F/R.



1. Pipettes Pasteur.
2. Bec bunsen.
3. Ecouvillon.
4. Gélose nutritive.
5. Eau physiologique stérile.
6. Bouillon B.H.I.B
7. Eau distillée.
8. Poire.
9. Portoir.
10. Filtre seringue.
11. Filtre 0.45µm.
12. Lamelles.
13. Lames.

Figure1. Matériel de laboratoire de microbiologie utilisé.



1. Pince.
2. Disques d'antibiotiques.
3. Bandelettes E-test.
4. Pied à coulisse.

Figure 2. Matériel utilisé pour l'antibiogramme.



1. Agarose.
2. BET.
3. Bromure d'éthidium.
4. Cuve de gel d'agarose.

Figure 3. Matériel utilisé pour l'extraction d'ADN.



1. Cuve d'électrophorèse.
2. Trans-illuminateur à UV.
3. Centrifugeuse.
4. Thermocycleur.

Figure4. Matériel utilisé pour la PCR.

Annexe 4

Préparation et composition des milieux utilisés

1-Milieu CHROMagar™

On ajoute 51.2 mg du milieu déshydraté CAC a 1L D'eau distillée, Mettre le flacon sur une plaque chauffante en y incluant un barreau magnétique pour homogénéiser laisser chauffer jusqu'à 100°C.Laisser refroidir jusqu'à 45-50°C.Préparer le réactif sélectif de CAC a raison de 21mg/mL d'eau distillé, le déposer dans le flacon à l'aide d'une seringue stérile muni d'un filtre à 10mL/L.



Figure 1. Milieu CAC déshydraté.

1.1. Composition

Tableau. Composants du milieu CAC et leurs volumes.

Agar	15g/l.
Peptone et l'extrait de Levure	25g/l.
Sels minéraux	9g/l.
Mix chromogénique et sélectif	2.2g/l.
pH	7.4 +/- 0.2.

2. Milieu Columbia

Faire fondre un flacon de gélose Columbia de 225mL au bain marie puis laisser refroidir jusqu'à 45°C approximativement, auquel on y ajoute 10 gouttes de supplément Growth de Campylobacter et 18mL de sang de cheval stérile et défibriné. Après homogénéisation on les coule sur des boites de pétri en raison de 4mm par boite.

2.1. Composition

Tableau. Composants du milieu Columbia et leurs volumes.

Enzyme pancréatique de caséine	10 gramme (g)/litre (l).
Enzyme peptique de viande	5g/l.
Chlorure de sodium	5g/l.
Peptone pancréatique de cœur	3g/l.
Extrait de levure	5g/l.
Amidon	1g/l.
Agar bactériologique	13.5g/l.
pH	7.3 +/- 2.2 à 25°C.

2.2. Composition du supplément de croissance et d'aérotolérante de Campylobacter

Tableau. Composants du supplément de croissance et d'aérotolérante et leurs volumes

Pyruvate de sodium	0.125g/l
Métabisulfite de sodium	0.125g/l
Sulfate ferreux (sel hydraté)	0.125g/l
Eau	2mL

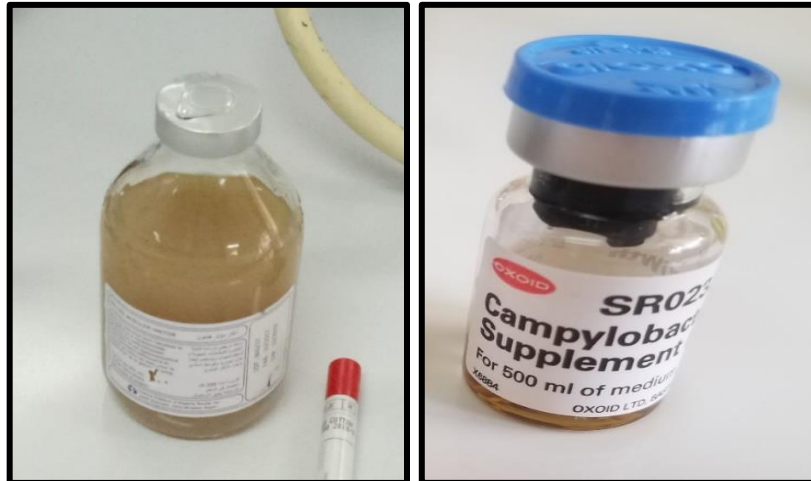


Figure 2. Gélose Columbia **Figure3.** Supplément Growth.

3. Milieu Skirrow

Faire fondre un flacon de gélose Columbia de 225mL au bain marie puis laisser refroidir jusqu'à 45°C approximativement, auquel on y ajoute 10 gouttes de supplément Growth de Campylobacter, 10 gouttes du réactif Skirrow et 18mL de sang de cheval stérile et défibriné.

3.1. Composition du Supplément sélectif de Campylobacter Skirrow

Tableau. Composants du Supplément sélectif de Campylobacter Skirrow et leurs volumes.

Vancomycine	5 mg
Triméthoprime	2.5 mg
Polymyxine B	1250 µl



Figure 3. Supplément Skirrow

4. Milieu Preston

On Ajoute 450mL de bouillon Preston 10 gouttes du réactif Growth de Campylobacter et 18mL de sang de cheval stérile et défibriné, après homogénéisation on conserve a 4°C.

4.1Composition

Tableau. Composants du milieu Preston et leurs volumes.

Polymyxine B	2500 µl
Rifamycine	5mg
Triméthoprime	5mg
Amphotéricine	5mg

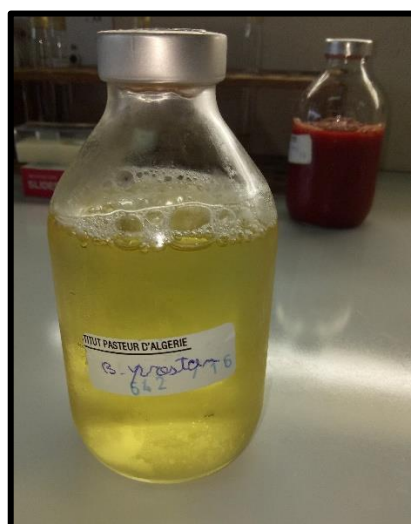


Figure 4. Bouillon Preston.

5. Milieu Mueller Hinton

Cette gélose est utilisée selon les recommandations de Ca-SFM, EUCAST et CLSI pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux ATB.

Faire fondre un flacon de gélose Mueller Hinton de 225mL au bain marie puis laisser refroidir jusqu'à 45°C approximativement, auquel on y ajoute 18mL de sang de cheval stérile et défibriné.

5.1. Composition

Tableau. Composants du milieu Mueller Hinton et leurs volumes.

Infusion de viande de bœuf	300
Peptone de caséine	17.5g
Amidon de maïs	1.5g
Agar	17g
pH	7.4



Figure 5. Gélose Mueller Hinton

Annexe 5

Générateur de micro-aérobiose (GenBox)

Principe

Les sachets générateurs d'atmosphère micro aérophiiles GenBox, fonctionne sans addition d'eau ni de catalyseur. Ils assurent à l'utilisateur une manipulation rapide, pratique et une parfaite sécurité.

Utilisation

Nous plaçons les boîtes de pétri dans une jarre hermétique. Ensuite nous faisons sortir le sachet GenBox de l'aluminium. Nous le déposons immédiatement à l'intérieur de la jarre, un générateur pour la jarre GenBox 2.5L ou bien 3 générateurs dans la jarre de 7 L. Enfin nous fermons hermétiquement la jarre et nous incubons.

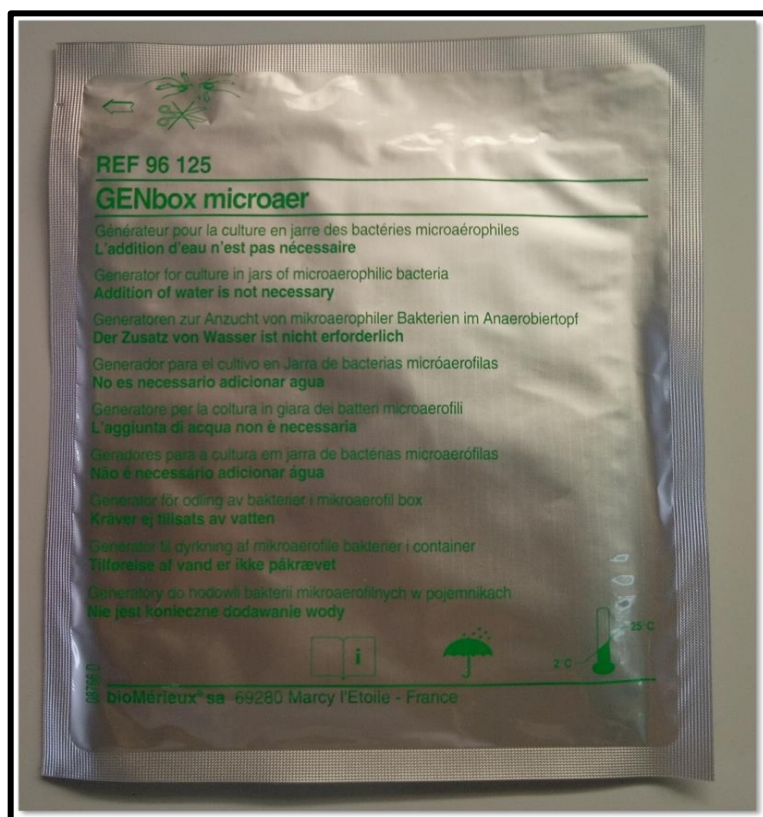


Figure. Générateur d'atmosphère micro-aérophile ou GenBox.

Annexe 6

TABLEAU DE LECTURE					
TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
URE	urée	0.216	UREase	jaune	orange / rouge
NIT	potassium nitrate	0.1	Réduction des NITrates	NIT 1 + NIT 2 / 5 min	
				incolore	rose / rouge
EST	5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-acétate	0.029	ESTérase	incolore bleu-pâle	turquoise
HIP	sodium hippurate	0.2	HIPpurate	NIN / 5 min	
				incolore gris-bleuté	violet
GGT	Acide γ L-glutamique- β -naphtylamide	0.0272	Gamma Glutamyl Transférase	FB / 5 min	
				incolore	Orange intense
TTC	triphényltétrazolium chlorure	0.02	Réduction du chlorure de triphényl-Tétrazolium (TriphénylTétrazolium Chlorure)	incolore rose pâle	rose / rouge ou dépôt au fond de la cupule
PyrA	acide pyroglutamique- β -naphtylamide	0.038	Pyrrolidonyl Arylamidase	FB / 5 min (PyrA \rightarrow PAL)	
				incolore	orange
ArgA	L-arginine-4-méthoxy- β -naphtylamide	0.056	L-Arginine Arylamidase	incolore	orange
AspA	acide aspartique- β -naphtylamide	0.039	L-Aspartate Arylamidase	incolore	orange
PAL	2-naphtyl phosphate	0.024	Phosphatase ALcaline	incolore	pourpre
H2S	sodium thiosulfate	0.076	production d'H2S	incolore	noir
<u>GLU</u>	D-glucose	1.56	assimilation (GLUcose)	transparence (absence de croissance ou sensibilité)	trouble (même très faible) (croissance ou résistance)
<u>SUT</u>	sodium succinate	1.36	assimilation (sodium SUccinaTe)		
<u>NAL</u>	acide nalidixique	0.084	inhibition de croissance (acide NALidixique)		
<u>CFZ</u>	sodium céfazoline	0.224	inhibition de croissance (sodium CéFaZoline)		
<u>ACE</u>	sodium acétate	1.1	assimilation (sodium ACEtate)		
<u>PROP</u>	acide propionique	1.16	assimilation (PROPionate)		
<u>MLT</u>	acide malique	1.56	assimilation (MaLaTe)		
<u>CIT</u>	trisodium citrate	2.28	assimilation (trisodium CITrate)		
<u>ERO</u>	érythromycine	0.014	sensibilité - prédiction thérapeutique (ErythrOmycine)		

• Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
• Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

METHODOLOGIE	p. I	TABLEAU D'IDENTIFICATION	p. VI
LISTE DES PROFILS NUMERIQUES	p. II	BIBLIOGRAPHIE	p. VII
		TABLES DES SYMBOLES	p. VIII

Figure. Tableau de lecture de la galerie Api Campy.

Annexe 7

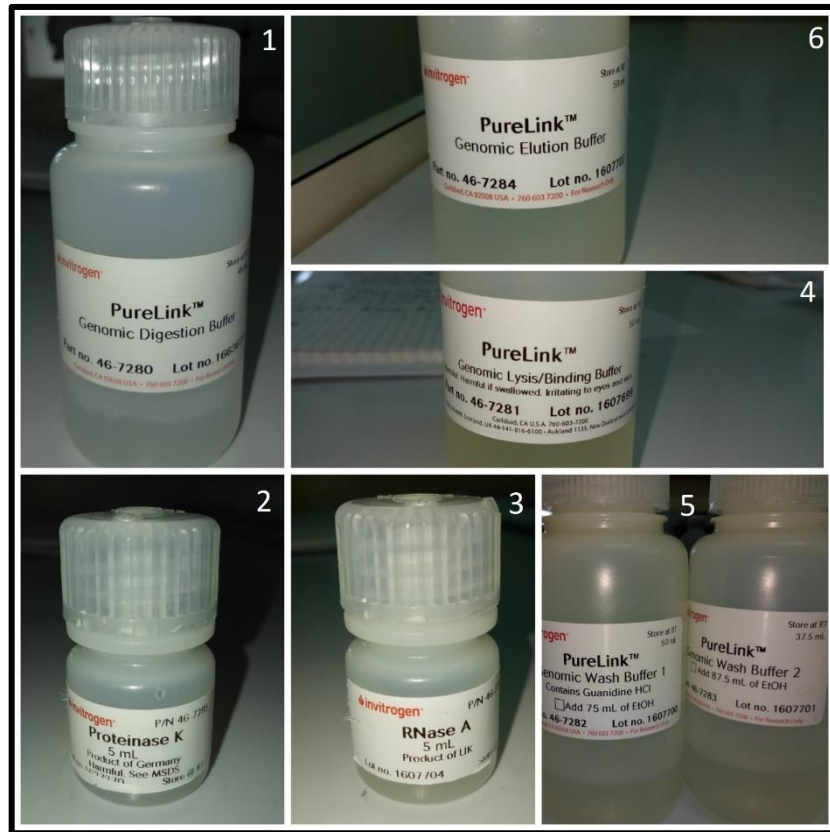


Figure . Ensemble des réactifs utilisés pour l'extraction d'ADN pour la PCR.

1-Pure link Genomic digestion buffer.

2-Proteinase K.

3-RNase A.

4-PureLink Genomic Lysis/Binding Buffer.

5-PureLink Genomic Wash Buffer 1 /PureLink Genomic Wash Buffer 2.

6-Pure Genomic Elution Buffer.

Annexe 8

Liste standard						Liste complémentaire	
Ampicilline Amoxicilline - acide clavulanique Erythromycine Ciprofloxacine Tétracycline						Ertapénème Gentamicine	

113

Remarques : selon les antibiotiques, la corrélation entre CMI et diamètres est parfois difficile à établir. En cas de doute sur les résultats obtenus par diffusion en milieu gélosé, il y a lieu de déterminer les CMI par une méthode de référence ou toute méthode ayant montré, pour les antibiotiques concernés, son équivalence avec la méthode de référence.*

Bêta-lactamines	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Ampicilline *	4	16	10	19	14	
Amoxicilline / ac. clavulanique *	4/2	16/2	20/10	19	14	
Ertapénème *	1 ¹	1 ¹				1. Les souches sensibles à l'ertapénème sont sensibles à l'ensemble des carbapénèmes.

V1.0 Février 2018

113

Campylobacter spp.

V1.0 Février 2018

114

Campylobacter spp.

Aminosides*	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Gentamicine *	2	2	10	17	17	

* Proposition du Centre National de Référence des *Campylobacter*.

Fluoroquinolones	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition Chiffres romains pour les règles d'experts
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Ciprofloxacine excepté <i>C. fetus</i> *	0,5	0,5	5	26	26	
Ciprofloxacine <i>C. fetus</i> *	0,5	0,5	5	22	22	

114

Macrolides	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Azithromycine	Note ¹	Note ¹		Note ^A	Note ^A	1/A. L'érythromycine peut être utilisée pour déterminer la sensibilité à l'azithromycine et la clarithromycine.
Clarithromycine	Note ¹	Note ¹		Note ^A	Note ^A	
Erythromycine *	4 ¹	4 ¹	15	20 ^A	20 ^A	

Tétracyclines	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Doxycycline	Note ¹	Note ¹		Note ^A	Note ^A	1/A. La tétracycline peut être utilisée pour déterminer la sensibilité à la doxycycline.
Tétracycline	2 ¹	2 ¹	30	30 ^A	30 ^A	

* Proposition du Centre National de Référence des *Campylobacter*.

Figure. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition des disques et des cmi pour *C.jejuni* et *C.coli* selon Ca-SFM/EUCAST.

Annexe 9

Test et IC pour 2 variances : N° et Résultats CHROMagar

Méthode

σ_1 : écart type de N° lorsque Résultats CHROMagar = Neg

σ_2 : écart type de N° lorsque Résultats CHROMagar = Pos

Rapport : σ_1/σ_2

La méthode F de Fisher a été utilisée. Elle est exacte uniquement pour des données normales.

Statistiques descriptives

Résultats CHROMagar	N	EcTyp	Variance	IC à 95% pour σ^2
Neg	195	57,835	3344,855	(2767,587; 4124,702)
Pos	5	62,520	3908,700	(1403,069; 32275,394)

Rapport des variances

Rapport estimé	IC à 95% pour le rapport utilisant F
0,855746	(0,103; 2,441)

Test

Hypothèse nulle $H_0 : \sigma_1^2 / \sigma_2^2 = 1$

Hypothèse alternative $H_1 : \sigma_1^2 / \sigma_2^2 \neq 1$

Seuil de signification $\alpha = 0,05$

Méthode	Statistique du test	DL1	DL2	Valeur de P
F	0,86	194	4	0,652

Test et IC pour 2 variances : N° et Résultats Skirrow

Méthode

σ_1 : écart type de N° lorsque Résultats Skirrow = Neg

σ_2 : écart type de N° lorsque Résultats Skirrow = Pos

Rapport : σ_1/σ_2

La méthode F de Fisher a été utilisée. Elle est exacte uniquement pour des données normales.

Statistiques descriptives

Résultats Skirrow	N	EcTyp	Variance	IC à 95% pour σ^2
Neg	196	57,878	3349,913	(2773,056; 4128,599)
Pos	4	45,523	2072,333	(665,033; 28809,712)

Rapport des variances

Rapport estimé	IC à 95% pour le rapport utilisant F
1,61649	(0,116; 5,146)

Test

Hypothèse nulle $H_0 : \sigma_1^2 / \sigma_2^2 = 1$

Hypothèse alternative $H_1 : \sigma_1^2 / \sigma_2^2 \neq 1$

Seuil de signification $\alpha = 0,05$

Méthode	Statistique du test	DL1	DL2	Valeur de P
F	1,62	195	3	0,793

Test de l'égalité des variances : N° en fonction de ... ; CHROMagara_R1

Méthode

Hypothèse nulle	Toutes les variances sont égales
Hypothèse alternative	Au moins une variance est différente
Seuil de signification	$\alpha = 0,05$

La méthode de Bartlett est utilisée. Elle est exacte uniquement pour les données normales.

Intervalle de confiance de Bonferroni à 95 % pour les écarts types

Skirrow_R1	CHROMagara_R1	N	EcTyp	IC
Faux Pos	Faux pos	8	26,7017	(15,9159; 68,5256)
Faux Pos	Neg	39	26,0558	(20,1999; 36,1689)
Neg	Faux pos	1	*	(*; *)
Neg	Neg	147	56,6138	(49,3483; 66,1874)
pos	Neg	1	*	(*; *)
Pos	Neg	4	1,8257	(0,8995; 10,9488)

Niveau de confiance individuel = 98,75 %

Tests

Méthode	Statistique du test	Valeur de P
Bartlett	44,81	0,000

Figure. Résultat de comparaison entre les résultats de CAC et Skirrow, sur Minitab 18.

Le facteur P enregistré est inférieur à 0.0001.