

COMMUNICATIONS

Campylobacter et sécurité des aliments : analyse, évaluation et gestion du danger

Campylobacter and food safety: analysis, assessment and risk management

Par Amélie GARENAUX, Magali RITZ-BRICAUD, Michel FEDERIGHI⁽¹⁾
(communication présentée le 26 mai 2005)

RÉSUMÉ

Les *Campylobacter* thermotolérants (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* et *C. upsaliensis*) sont désignés comme l'une des causes principales de gastro-entérites bactériennes humaines. *C. jejuni* est à l'origine de la majorité des cas de campylobactériose. Les sources de contamination sont nombreuses, particulièrement au sein du réservoir animal où l'on note des portages sains chez les animaux d'élevage. La transmission à l'homme se fait rarement par contact direct avec un réservoir mais est souvent due à l'ingestion d'aliments contaminés (poulet, lait cru, eau...). Des contrôles fréquents et des mesures d'hygiène adaptées à chaque étape de la chaîne agro-alimentaire, depuis l'éleveur jusqu'au consommateur lui-même, permettent de limiter le risque *Campylobacter*.

Mots-clés : *Campylobacter* ; prévention/gestion de risques microbiologiques ; contamination des aliments ; détection/identification.

SUMMARY

Thermotolerant *Campylobacter* species (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* et *C. upsaliensis*) are considered as one of the main causes of bacterial gastroenteritis in man. Most of campylobacteriosis cases are caused by *C. jejuni*. Contamination sources are numerous, especially in the animal reservoir with its population of asymptomatic carriers among farm animals. Transmission to man is rarely due to direct contact with a reservoir and more often to ingestion of contaminated products (chicken, raw milk, water...). Frequent controls and appropriate hygiene measures adapted to every level of the food chain, from farmer to consumer, limit the *Campylobacter* risk.

Key words: *Campylobacter*; prevention/microbiological risk management; food contamination; detection/identification.

(1) UMR-INRA 1014, Sécurité des Aliments, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, route de Gachet, BP 40706, 44307 Nantes cedex 03

• INTRODUCTION

Le genre *Campylobacter* appartient à la Superfamille VI de bacilles à Gram négatif et à la famille des Campylobacteraceae, comprenant également les genres *Arcobacter* et *Sulfurospirillum*. Il est composé de bacilles incurvés, microaérophiles, cultivant à des températures allant de 25°C à 48°C. Aujourd'hui, le genre *Campylobacter* rassemble une variété d'espèces très hétérogènes ayant des habitats divers, tels la cavité buccale de l'homme (*C. concisus*, *C. curvus*, ou *C. showae*), la cavité préputiale des taureaux (*C. fetus ssp. venerealis* ou *C. sputorum biovar bubulus*) ou le tube digestif des oiseaux (*C. jejuni*, *C. lari*). Parmi ces espèces, le groupe des *Campylobacter* thermotolérants présente la particularité de croître dans une gamme de température de 30 à 48°C (optimum 40-41°C) et non à 25°C (caractère différentiel d'identification). C'est dans ce groupe des *Campylobacter* thermotolérants que l'on trouvera les quatre espèces d'intérêt médical en hygiène des aliments : *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* et *C. upsaliensis*. Elles sont toutes impliquées dans des Toxi-Infections Alimentaires (TIA) chez l'homme, qui se manifestent par des troubles digestifs, dont majoritairement une diarrhée liquide. *C. jejuni* est l'espèce la plus souvent incriminée dans ces TIA. Il est reconnu que la fréquence des campylobactérioses digestives a augmenté durant ces dix dernières années et est aujourd'hui comparable, voire supérieure, à celle des salmonelloses. Ce fait est avéré pour tous les pays développés, y compris la France, comme l'a mis en exergue le rapport *Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France*⁽²⁾.

Cette constatation est d'autant plus préoccupante qu'on assiste depuis peu, à l'émergence rapide de souches résistantes aux antibiotiques (ALLOS, 2001). Cette prise de conscience de l'émergence de ce pathogène alimentaire, largement partagée à travers le monde, a conduit les organisations internationales intervenant en sécurité des aliments (OMS, *Codex Alimentarius*,...), à multiplier les appréciations quantitatives du risque *Campylobacter* dans les aliments. Ces démarches débutent obligatoirement par l'établissement d'un profil de risque (Risk Profile), objet principal de cet article.

• PATHOGÉNIE

Dans une expérience sur volontaires humains, le pouvoir pathogène de *C. jejuni* s'est exprimé suite à l'absorption d'une dose infectieuse faible de quelques centaines de cellules (BLACK et al., 1988), corroborant les quelques données quantitatives faisant suite à une investigation post TIAC (Toxi-Infection Alimentaire Collective) au Canada. L'enquête a ainsi révélé la présence de 800 *C. jejuni* cultivables dans 120 grammes de rôti de bœuf à l'origine d'une dizaine de cas de campylobactérioses digestives (FEDERIGHI, 1999a). La présence de flagelles polaires à l'une ou aux deux extrémités les rend particulièrement mobiles. Cette mobilité ainsi que la chimiotaxie et la forme hélicoïdale des bactéries leur permettent de se mouvoir dans la muqueuse intestinale (VANDAMME, 2000). Il est à noter que le niveau de virulence varie selon les souches. Une infection par *Campylobacter* se manifeste, dans certains cas, par une simple gastro-entérite, provoquée par l'adhésion de la bactérie à la muqueuse intestinale, la colonisation et la sécrétion de toxines. Dans d'autres cas, la pénétration et la prolifération dans la muqueuse intestinale entraînent une affection plus grave de quelques semaines, accompagnée de douleurs abdominales et d'une diarrhée sanglante. De rares complications peuvent suivre après contamination par certains sérogroupes particuliers de *C. jejuni* et passage dans le système circulatoire, notamment des neuropathies comme les syndromes de Guillain-Barré et de Miller-Fisher, entraînant une paralysie le plus souvent réversible du patient (figure 1).

• SOURCES OU RÉSERVOIRS

Réservoir animal

L'animal constitue le principal réservoir de *Campylobacter*, caractérisé par une fréquence élevée du portage sain chez les animaux d'élevage ou sauvages, sa nature digestive et son importance quantitative (10^3 à 10^7 cellules/g de fèces). Ce portage entraîne un risque élevé de contamination des produits animaux. La température du tractus intestinal des oiseaux est supérieure à 40°C et proche de 42°C, température optimale de développement des *Campylobacter* thermotolérants. Qu'il

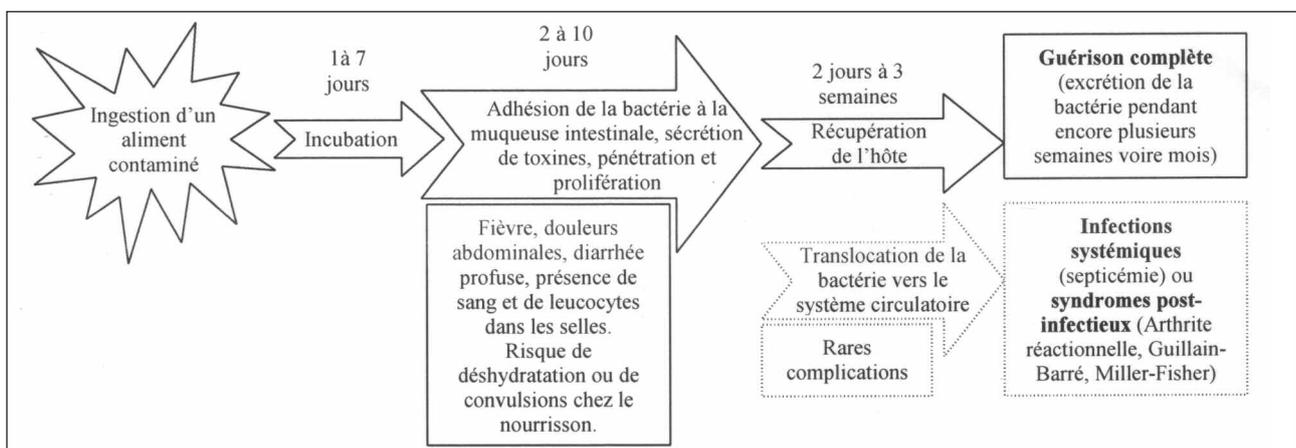


Figure 1 : Tableau et évolution cliniques d'une campylobactériose digestive.

(2) <http://www.invs.sante.fr/recherche/index2.asp?txtQuery=campylobacter>.

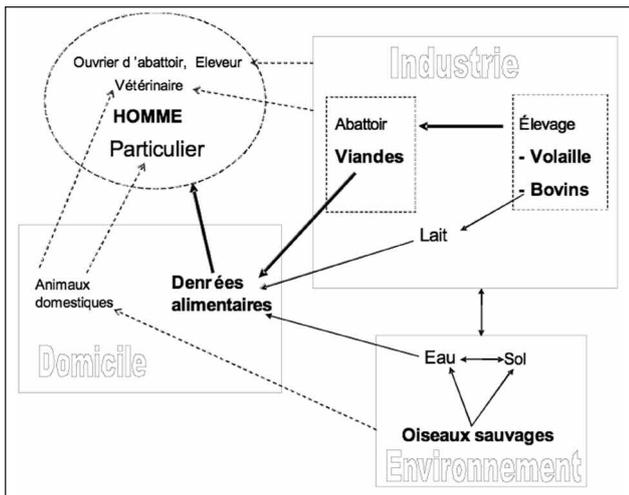


Figure 2 : Voies de transmission de *C. jejuni*.

s'agisse d'espèces sauvages (pies, mouettes, moineaux ...) ou de volailles domestiques, les oiseaux constituent largement la source principale de contamination. *C. jejuni* est majoritairement isolé à partir de poulets et *C. lari*, à partir de mouettes. *C. jejuni* et *C. coli* sont également présents chez les mammifères d'élevage, principalement chez les porcins (avec une prédominance de *C. coli*), à moindre niveau chez les bovins et les ovins. *C. upsaliensis* est principalement retrouvé chez les animaux domestiques (chiens et chats) (FOUTS *et al.*, 2005).

Réservoir hydrotellurique

Le réservoir hydrotellurique semble mineur. En effet, la charge en *Campylobacter* des eaux et des boues d'égouts non traitées est comprise entre 10 et 10³ cellules/100 mL, celle des eaux de rivière, entre 10 et 230 cellules/100 mL. Il est à noter que la présence, en amont des rivières, d'élevages d'animaux producteurs, est souvent corrélée avec la présence de ces germes dans les échantillons d'eau.

Il existe une véritable interaction entre les différents réservoirs (figure 2). La contamination du réservoir animal et de l'homme agit sur celle du réservoir hydrotellurique, dans la mesure où des *Campylobacter* sont diffusés dans l'environnement par l'intermédiaire des eaux de ruissellement, des égouts et des boues d'épandage. Ces eaux contaminées entrent ensuite de nouveau en contact avec le réservoir animal.

Il est rare que la transmission à l'homme se fasse par contact direct avec un réservoir. Des cas de contamination sont, néanmoins, possibles chez des personnes exposées régulièrement à des animaux porteurs de la bactérie, chez eux ou dans le cadre de leur profession : personnes en contact avec des animaux domestiques atteints de diarrhée (chien, chat), vétérinaires, éleveurs ou ouvriers d'abattoirs. La transmission interhumaine par contact avec un malade est rare. Les eaux de baignades constituent également un risque réel mais mineur.

• MODES DE CONTAMINATION DES ALIMENTS

Contamination primaire

La contamination primaire des viandes se fait principalement pendant l'étape d'éviscération à l'abattoir. Chez les poulets, le transport et la plumaison, provoquant une aug-

mentation de l'excrétion, sont également à l'origine de contaminations. Ces étapes peuvent être auto- ou inter-contaminantes. Pour ce qui est du lait, la contamination peut être due au contact avec des matières fécales lors de la traite ou, plus rarement, à des cas de mammites à *Campylobacter* chez les vaches laitières. L'eau contaminée des effluents et le portage intestinal des oiseaux de mer, sont à l'origine de la contamination des coquillages.

Contamination secondaire

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

Transmission à l'homme

Dans la grande majorité des cas, la transmission à l'homme se fait de manière indirecte par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. Les cas de campylobactériose les plus souvent rencontrés sont des cas sporadiques dus à la consommation de poulet contaminé. Une étude menée en Belgique pendant la crise de la dioxine a montré que le nombre de campylobactérioses avait diminué de 40% durant la période de retrait de la vente des volailles (VELLINGA et VAN LOOCK, 2002). Le lait cru, les viandes et abats rouges de boucherie, ainsi que les coquillages, ont également été identifiés comme étant à l'origine de cas sporadiques. Il est, par ailleurs, fréquent que des campylobactérioses se déclarent suite à un voyage dans un pays en voie de développement. Il s'agit de pays où le germe est très répandu et où les enfants, après plusieurs infections, développent une immunité et un portage asymptomatique. La consommation d'aliments crus (légumes contaminés par la planche à découper ou les ustensiles, steak tartare, fruits de mer...) et la mauvaise cuisson des aliments (cuisson au barbecue ou en bouillon) sont souvent citées comme cause d'infection chez l'homme. De nos jours, les cas groupés de campylobactériose de grande envergure sont rares. Ils étaient principalement dus à la consommation d'eau de distribution, mal traitée ou recontaminée après traitement, ou à la consommation de lait cru.

La cuisson des aliments représente donc un point important dans la maîtrise du risque *Campylobacter*. D'autres mesures, prises dès l'élevage, permettent de limiter les contaminations, par adoption de mesures d'hygiène et de traitement technologiques adaptés.

• MOYENS DE MAÎTRISE

Prévention des contaminations

Les sources de contamination par *Campylobacter* sont nombreuses. Il est donc essentiel de contrôler tous les points de contamination possibles, du lieu d'élevage ou de traitement de l'eau jusqu'au consommateur.

Pour éviter toute prolifération dans les réseaux de distribution d'eau, il est nécessaire que les installations soient à la fois bien conçues et bien entretenues. Le traitement des eaux doit être adapté à la contamination et son efficacité, régulièrement testée.

Le réservoir animal et notamment aviaire étant la principale source de contamination, des mesures doivent être prises dès l'élevage pour prévenir la colonisation. Il a été démontré que le changement de tenue du personnel avant l'accès au bâtiment d'élevage, ainsi que des mesures de nettoyage et de désinfection adaptées, permettaient de réduire significativement la contamination (VAN DE GIESSEN *et al.*, 1998). Aujourd'hui, outre les bonnes pratiques générales d'élevage, les cahiers des charges et les chartes « qualité », relatives à l'élevage aviaire, incluent différentes mesures concernant la conception des bâtiments et l'hygiène du personnel et des locaux. Les bâtiments d'élevages doivent être isolés pour empêcher tout contact avec d'autres animaux, l'élevage se fait en bande unique avec élimination régulière des déchets et litières, désinfection entre chaque bande, changement de tenue du personnel, limitation des allers et venues et mise à jeun avant transport, afin de limiter la charge intestinale et les contaminations durant l'éviscération à l'abattoir. Des mesures doivent également être prises pour lutter contre l'intrusion de nuisibles (insectes, rongeurs ou oiseaux sauvages).

Des mesures spécifiques aux abattoirs ont été décrites lors de la mise au point de démarches HACCP (= Hazard Analysis Critical Control point, ou analyse des dangers - points critiques pour leur maîtrise) ou de bonnes pratiques hygiéniques. Elles préconisent la vérification des matières premières et l'absence de croisement des différents lots. Les équipements et les surfaces doivent être régulièrement désinfectés et la maintenance des machines régulièrement effectuée. Il est important de veiller à ce que les différents barèmes d'échaudage et de refroidissement soient bien respectés. Tout au long de la chaîne, le personnel doit respecter les conditions d'hygiène et systématiquement éliminer les carcasses non conformes.

Le transporteur et le distributeur doivent veiller à appliquer les bonnes conditions de stockage et à ne jamais entreposer de la viande crue avec d'autres denrées non contaminées. A défaut, l'utilisation de films protecteurs est préconisée.

Enfin, les dernières précautions concernent le consommateur. Il est essentiel de nettoyer son réfrigérateur régulièrement et de bien séparer la viande crue des autres denrées. Les ustensiles utilisés pour le découpage de la viande doivent être systématiquement lavés avant toute autre utilisation. Il faut éviter de consommer du lait cru ou de l'eau non traitée, et bien cuire à cœur la viande (on peut par exemple envisager de cuire ou pré-cuire la viande avant de la passer au barbecue).

Traitements et conservation post-transformation

Les traitements subis pendant la transformation, le transport et la distribution de l'aliment, ainsi que les caractéristiques bactériologiques de ce micro-organisme, s'opposent au développement des *Campylobacter* dans le produit fini. En l'absence de recontamination, le danger ne s'accroît donc

pas. Une diminution du nombre de bactéries est même généralement observée. Cependant, la survie peut être plus ou moins importante selon les traitements, mais aussi selon les souches qui présentent des capacités de résistance variées face aux différents stress subis.

La température :

Aux températures de congélation (-20°C) et de réfrigération (0 à 10°C), la survie reste importante. Une étude menée sur du poulet a montré que la réfrigération à 4°C entraînait une diminution de la population de 0,31 à 0,81 log₁₀ UFC/g en 3 à 7 jours, tandis que la congélation entraînait une diminution de 0,56 à 3,39 log₁₀ UFC/g en 2 semaines (BHADURI et COTTRELL, 2004). Durant ces traitements, l'augmentation de la vitesse de l'air permet de diminuer la survie dans le produit en augmentant sa dessiccation, même si la texture de la peau des poulets semble protéger les bactéries de cet effet.

Les *Campylobacter* sont, par ailleurs, très sensibles aux températures élevées. Quelles que soient l'importance de la population et la nature de la matrice alimentaire (liquide ou solide), l'application de températures à cœur, supérieures à 60°C, détruit en quelques minutes la totalité des cellules présentes (FEDERIGHI, 1999b) (tableau 1).

Traitements chimiques, atmosphères modifiées

La survie des *Campylobacter* est faible à des pH inférieurs à 4 ou supérieurs à 9. Les aliments et boissons les plus souvent incriminés lors de cas de campylobactérioses (viande, lait, eau) ont donc un pH compatible avec leur survie. Un effet bactériostatique important est observé à des valeurs de pH inférieures à 4, en particulier lorsque ces valeurs sont dues à la présence d'acides organiques. La salaison ou l'ajout d'acide ascorbique permet également de diminuer la survie des *Campylobacter*. L'assainissement de l'eau par un traitement par le chlore permet la destruction rapide d'une contamination par *Campylobacter*. Le chlore est également utilisé aux Etats-Unis pour le nettoyage des carcasses et permet alors une réduction partielle de la population (0,5 log₁₀ UFC/ml après nettoyage avec de l'eau chlorée à 25-35 ppm) (BASHOR *et al.*, 2004). Une étude a également démontré que

Produit	Température (°C)	Valeur D (min)	Nombre de souches testées
Milieus liquides			
Solution saline	58	0,24 - 0,28	3
Lait	53	1 - 2,2	3
	56	0,3 - 0,9	2
	60	0,2 - 0,3	3
Lait écrémé	48	7,2 - 12,8	3
Milieus solides			
Volaille	50	8,7 - 9,2	5
	55	2,12 - 2,25	5
	58	0,7 - 0,9	5

Tableau 1 : Valeurs D (soit le temps nécessaire pour diminuer la population de 90%) de différentes souches de *Campylobacter jejuni* pour quelques denrées alimentaires (d'après FEDERIGHI, 1999b).

l'ammonium quaternaire permettait une diminution plus importante de la contamination des carcasses et que son utilisation en abattoirs serait envisageable (HUDSON et MEAD, 1987). Ces procédés restent cependant interdits en Europe. Le traitement des carcasses par le passage dans un bain contenant du phosphate trisodique, utilisé aux Etats-Unis, permet une réduction importante du niveau de contamination mais son autorisation a été annulée en France à la fin de l'année 2003. Dans une atmosphère enrichie en O₂, la survie des *Campylobacter* est limitée. En revanche, le conditionnement des denrées alimentaires sous vide ou en atmosphère enrichie en CO₂, ne semble pas entraîner de diminution particulière de leur survie.

Traitements physiques

La sensibilité de *Campylobacter* aux rayonnements est très forte. Les paramètres de traitements nécessaires à leur inactivation sont largement inférieurs à ceux requis pour l'élimination d'autres entéropathogènes, comme les salmonelles ou *E. coli*, qu'il s'agisse de rayons ionisants (gamma), de traitements par lampes UV ou de micro-ondes.

Notion de formes Viables Non Cultivables

De nombreux travaux réalisés depuis une vingtaine d'année ont contribué à introduire la notion de forme Viables Non Cultivables (VNC) des bactéries entériques, désignant des formes adoptées par les bactéries dans des conditions défavorables (stress oligotrophique généralement), non détectables par les méthodes traditionnelles mais manifestant toujours une activité métabolique (FEDERIGHI, 1999c). Il a pu être démontré, chez différents modèles animaux, que certaines souches de *Campylobacter* étaient capables d'adopter cette forme en microcosme aqueux et de recouvrir leur forme cultivable (CAPPELIER *et al.*, 1999). Il est envisageable que de telles formes puissent exister sur les aliments, suite aux différents stress subis lors du « process ». Ces formes seraient capables de recouvrir leur état cultivable et donc, leur virulence chez le consommateur, mais échapperaient aux méthodes classiques de détection lors de l'analyse microbiologique.

Les méthodes de détection

En France, il n'existe pas de critères microbiologiques pour les *Campylobacter* dont la recherche dans les aliments ne revêt pas un caractère réglementaire. La détection des *Campylobacter* dans les aliments peut être réalisée soit par une méthode classique de culture bactériologique, soit par des méthodes dites alternatives.

La méthode classique normalisée

L'isolement des *Campylobacter* à partir d'une matrice alimentaire débute par le broyage et l'homogénéisation de l'échantillon en question. Les *Campylobacter* ayant un faible pouvoir compétiteur et étant souvent présents en plus faibles quantités que d'autres contaminants, une phase d'enrichissement est ensuite nécessaire. Les milieux d'enrichissement et ceux sélectifs les plus utilisés sont la gélose Karmali, le milieu de Skirrow et celui de Butzler.

En janvier 1996, a été décrite une norme pour la recherche des *Campylobacter* thermotolérants (NF-ISO 10272), reconvenue comme méthode de référence.

L'isolement se fait par ensemencement en surface de 2 milieux sélectifs solides. L'un des deux milieux doit obligatoirement être la gélose Karmali, l'autre est choisi librement, parmi les nombreux milieux sélectifs existants. Les boîtes sont ensuite incubées à 42°C en atmosphère microaérophile. Les géloses sont examinées après 24 heures d'incubation et jusqu'à 5 jours après isolement. Sur chaque boîte, 5 colonies suspectes sont relevées pour confirmation (ou toutes les colonies s'il y en a moins de 5). Ces colonies sont remises séparément en suspension dans 1 ml de bouillon Brucella. Les suspensions ainsi obtenues font ensuite l'objet de tests complémentaires de façon à pouvoir conclure sur le genre et l'espèce de l'isolat. L'identification à l'échelle de l'espèce peut se faire soit par la réalisation de différents tests biochimiques, soit à l'aide de « kits » commerciaux de diagnostic comme la galerie API CAMPY® (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France) ou le réactif Camp ID® (Mast Diagnostic, Amiens, France).

Malgré de nombreuses études visant à améliorer les phases d'enrichissement - isolement et d'identification - confirmation, dans le but de diminuer le délai de réponse, la recherche de *Campylobacter* thermotolérants dans les aliments par la culture bactériologique reste une méthode longue et fastidieuse. Des méthodes alternatives non normalisées permettent une identification plus rapide des *Campylobacter* thermotolérants.

Les méthodes alternatives

La petite taille des *Campylobacter* et leur grande mobilité permettent leur sélection après passage sur des membranes filtrantes spécifiques pendant la phase d'enrichissement-isolement. On peut également envisager l'utilisation de sondes nucléiques ou de tests immunologiques, pendant la phase d'identification-confirmation.

Aujourd'hui, les méthodes moléculaires, en particulier la PCR, sont de plus en plus utilisées pour la détection et l'identification des pathogènes alimentaires. Des amorces spécifiques du genre ou de l'espèce ont ainsi été construites pour l'identification des différents *Campylobacter*. L'utilisation de la PCR directement sur la matrice alimentaire permet un gain de temps considérable par rapport aux méthodes traditionnelles, mais présente des limites non négligeables : présence d'inhibiteurs de la réaction, difficultés et rendement de l'extraction d'ADN. Une PCR réalisée après enrichissement permet de contourner ces problèmes, mais le gain de temps est alors très faible. Celle réalisée sur colonies ne permet pas non plus de gain de temps, mais augmente la précision et la spécificité de l'identification.

A partir d'amorces spécifiques, il est désormais possible de réaliser une PCR multiplex pour une identification directe et la discrimination des *Campylobacter* thermotolérants (KLENA *et al.*, 2004). RAUTELIN *et al.* (1999) ont démontré que des erreurs d'identification entre *C. coli* et *C. jejuni* étaient possibles par la méthode classique normalisée, le test

d'hydrolyse de l'hippurate n'étant pas toujours fiable. La PCR, plus spécifique, permet d'éviter ces erreurs et semble plus fiable pour l'identification des espèces. Il a d'ailleurs été envisagé par un projet européen de mettre au point une méthode de PCR internationale standardisée pour l'utilisation dans les laboratoires d'analyses microbiologiques (LUBECK *et al.*, 2003). La PCR quantitative, dite aussi en temps réel, peut également être envisagée pour une détermination rapide des niveaux de contamination des aliments. Cependant, que ce soit avec ou sans enrichissement préalable, aucune méthode n'a pour l'instant pu permettre de s'affranchir des problèmes d'extraction d'ADN, d'inhibition ou de détection des cellules mortes (YANG *et al.*, 2003). RUDI *et al.*, (2005) ont proposé une méthode permettant de discriminer les cellules viables des cellules mortes. L'éthidium monoazide est utilisé pour pénétrer les cellules mortes, se lier de façon covalente à l'ADN et empêcher leur amplification. On peut ainsi envisager de déterminer le nombre de cellules viables non cultivables, en comparant les résultats obtenus par PCR à ceux obtenus par les méthodes classiques.

En ce qui concerne la recherche des voies de contamination, le typage de souches par PCR-RFLP, RAPD ou électrophorèse en champ pulsé (PFGE) permet d'aller encore plus loin et de remonter jusqu'aux sources et voies de contamination. Auparavant, ce type d'étude se basait sur des résultats obtenus par sérotypage, technique peu discriminante et non applicable à tous les isolats. Ces outils moléculaires permettent une meilleure analyse du risque et l'élaboration de réponses adaptées. Ainsi par exemple, grâce à des analyses en RAPD, il a pu être démontré en élevage de poulet que les contaminations venaient de l'extérieur et que le port de bottes propres et l'adoption de mesures d'hygiène permettaient de les limiter (VAN DE GIESSEN *et al.*, 1998).

En 2001, (DINGLE *et al.*, 2001) ont proposé un protocole pour l'application du MultiLocus Sequence Typing (MLST) à *C. jejuni*. Cette méthode permet une analyse précise de la génétique des populations et de leur évolution. Elle consiste en l'amplification et le séquençage de plusieurs régions du génome correspondant à des gènes codant pour des enzymes du métabolisme intermédiaire, dits 'gènes de ménage'. Les différentes souches étudiées sont ensuite différenciées par l'étude des différents allèles qu'elles portent.

La sensibilité et la reproductibilité de cette méthode en font un outil potentiel pour la détermination de sources de contamination. Une base de données spécialisée est disponible sur Internet pour la centralisation des résultats et l'analyse globale de la population. Il a cependant été démontré par SAILS, SWAMINATHAN et FIELDS (2003) que même si le MLST présente différents avantages (reproductibilité, standardisation, contribution à la centralisation des données), il est nécessaire de le coupler à une autre méthode pour obtenir un niveau de discrimination équivalent à celui obtenu par PFGE.

Enfin, les génomes complets de tous les *Campylobacter* thermotolérants sont désormais disponibles⁽³⁾. L'analyse de ces génomes devrait permettre d'aboutir à une meilleure compréhension des mécanismes de résistance et de virulence mis en œuvre par ces microorganismes et donc, à la mise en œuvre de réponses adaptées, aussi bien pour la maîtrise de la chaîne alimentaire que pour les suivis et traitements des campylobactérioses (FOUTS *et al.*, 2005).

• CONCLUSION

Les quatre espèces de *Campylobacter* d'intérêt en sécurité des aliments, et plus particulièrement *C. jejuni*, représentent aujourd'hui une cause majeure de Toxi-Infections Alimentaires à travers le monde. Le portage intestinal asymptomatique des animaux d'élevage fait du réservoir animal, la source principale de contamination des denrées alimentaires et ceci, à des stades divers de la chaîne de l'alimentation de l'homme, même si l'abattoir constitue un point de cristallisation de l'attention des gestionnaires du risque. Toutefois, une bonne application de mesures d'hygiène adaptées, du lieu de production au lieu de consommation, permet de diminuer la pression de contamination des produits alimentaires par *Campylobacter*. Les capacités de survie de ce micro-organisme, longtemps sous-estimées, sont aujourd'hui réévaluées à l'aune des connaissances nouvelles apportées par la génomique sur la physiologie de ce micro-organisme. En tout état de cause, une meilleure connaissance de ses possibilités de survie et la compréhension fine de son pouvoir pathogène sont nécessaires, elles permettront une juste évaluation du danger que représente ce micro-organisme et un juste dimensionnement des options de gestion du risque *Campylobacter*.

(3) http://www.sanger.ac.uk/Projects/C_jejuni/ et <http://www.tigr.org/tdb/mdb/mdbinprogress.html>.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLOS BM (2001) *Campylobacter jejuni* Infections. update on emerging issues and trends. *Clin. Infect. Dis.*, **32**, 1201-1206.
- BASHOR MP, CURTIS PA, KEENER KM, SHELDON BW, KATHARIOU S, OSBORNE JA (2004) Effects of carcass washers on *Campylobacter* contamination in large broiler processing plants. *Poultry Sci.*, **83**, 1232-1239.
- BHADURI S, COTTRELL B (2004) Survival of cold-stressed *Campylobacter jejuni* on ground chicken and chicken skin during frozen storage. *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 7103-7109.
- BLACK RE, LEVINE MM, CLEMENTS ML, HUGHES TP, BLASER MJ. (1988) Experimental *Campylobacter jejuni* infections in humans, *J. Infect. Dis.*, **157**, 472-479.
- CAPPELIER JM, MAGRAS C, JOUVE JL, FEDERIGHI M (1999) Recovery of viable but non-culturable *Campylobacter jejuni* cells in two animal models. *Food Microbiology*, **16**, 375-383.
- DINGLE KE, COLLES FM, WAREING DR, URE R, FOX AJ, BOLTON FE, BOOTSMA HJ, WILLEMS RJ, URWIN R, MAIDEN MC (2001) Multilocus sequence typing system for *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol.*, **39**, 14-23.
- FEDERIGHI M (1999a) *Campylobacter et hygiène des aliments*. Paris: Polytechnica 160 p, pp 66-68.
- FEDERIGHI M. (1999b) *Campylobacter et hygiène des aliments*. Paris: Polytechnica, 160 p, pp 110-114.
- FEDERIGHI M. (1999c). *Campylobacter et hygiène des aliments*. Paris: Polytechnica, 160 p, pp 35-53.
- FOUTS DE, MONGODIN EF, MANDRELL RE, MILLER WG, RASKO DA, RAVEL J, BRINKAC LM, DEBOY RT, PARKER CT, DAUGHERTY SC, DODSON RJ, DURKIN AS, MADUPU R, SULLIVAN SA, SHETTY JU, AYODEJI MA, SHVARTSBEYN A, SCHATZ MC, BADGER JH, FRASER CM et NELSON KE. (2005). Major structural differences and novel potential virulence mechanisms from the genomes of multiple *Campylobacter* species. *PLoS Biol.*, **3**, e15.
- HUDSON WR, MEAD GC (1987) Factors affecting the survival of *Campylobacter jejuni* in relation to immersion scalding of poultry. *Vet. Rec.*, **121**, 225-227.
- KLENA JD, PARKER CT, KNIBB K, IBBITT JC, DEVANE PM, HORN ST, MILLER WG, KONKEL ME (2004) Differentiation of *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, and *Campylobacter upsaliensis* by a multiplex PCR developed from the nucleotide sequence of the lipid A gene *lpxA*. *J. Clin. Microbiol.*, **42**, 5549-5557.
- KUSUMANINGRUM HD, RIBOLDI G, HAZELEGER WC, BEUMER RR (2003) Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. *Int. J. Food Microbiol.*, **85**, 227-236.
- LUBECK PS, COOK N, WAGNER M, FACH P, HOORFAR J (2003) Toward an international standard for PCR-based detection of food-borne thermotolerant *Campylobacters*: validation in a multicenter collaborative trial. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 5670-5672.
- RAUTELIN H, JUSUFOVIC J, HANNINEN ML (1999) Identification of hippurate-negative thermophilic campylobacters. *Diagn. Microbiol. Infect.*, **35**, 9-12.
- RUDI K, MOEN B, DROMTORP SM et HOLCK AL (2005) Use of ethidium monoazide and PCR in combination for quantification of viable and dead cells in complex samples. *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 1018-1024.
- SAILS AD, SWAMINATHAN B, FIELDS PI (2003) Utility of multilocus sequence typing as an epidemiological tool for investigation of outbreaks of gastroenteritis caused by *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol.*, **41**, 4733-4739.
- VANDAMME P (2000) Taxonomy of the family Campylobacteraceae. In: NACHAMKIN I, BLASER MJ, editors. *Campylobacter*. 2nd ed. Washington, D. C.: American Society for Microbiology, pp. 3-26.
- VAN DE GIESSEN AW, TILBURG JJ, RITMEESTER WS, VAN DER PLAS J (1998) Reduction of *Campylobacter* infections in broiler flocks by application of hygiene measures. *Epidemiol. Infect.*, **121**, 57-66.
- VELLINGA A, VAN LOOCK F (2002) The dioxin crisis as experiment to determine poultry-related *campylobacter enteritis*. *Emerg. Infect. Dis.*, **8**, 19-22.
- YANG C, JIANG Y, HUANG K, ZHU C, YIN Y (2003) Application of real-time PCR for quantitative detection of *Campylobacter jejuni* in poultry, milk and environmental water. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **38**, 265-271.