

Université de Montréal

**ÉTUDE DE LA DISTRIBUTION DE *CAMPYLOBACTER* À DIFFÉRENTES  
ÉTAPES DE LA TRANSFORMATION PRIMAIRE DE LA VOLAILLE DANS  
DES ABATTOIRS DU QUÉBEC**

Par  
Alexandre Quessy

Département de pathologie et microbiologie  
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire  
en vue de l'obtention du grade de *Maîtrise ès sciences* (M. Sc.)  
en sciences vétérinaires option hygiène vétérinaire et innocuité des aliments

Mai 2020

© Alexandre Quessy, 2020

Université de Montréal  
Faculté de médecine vétérinaire

Ce mémoire intitulé

ÉTUDE DE LA DISTRIBUTION DE *CAMPYLOBACTER* À DIFFÉRENTES ÉTAPES DE LA  
TRANSFORMATION PRIMAIRE DE LA VOLAILLE DANS DES ABATTOIRS DU QUÉBEC

Présenté par

**Alexandre Quessy**

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

**André Ravel**

Président-rapporteur

**Philippe Fravalo**

Directeur de recherche

**Alexandre Thibodeau**

Codirecteur

**Marie-Lou Gaucher**

Codirectrice

**Mohamed Rhouma**

Membre du jury

## Résumé

*Campylobacter* est la principale cause de gastro-entérite bactérienne d'origine alimentaire à travers le monde. Chez les consommateurs, les campylobactérioses d'origine alimentaire sont en grande majorité dues au contact et à la consommation de produits de volaille, le poulet à griller étant particulièrement mis en cause. La contamination de la carcasse se fait souvent lors de l'abattage des oiseaux. Bien que plusieurs données concernant la distribution de *Campylobacter* à l'abattoir soient disponibles dans certains pays, aucune étude récente visant à décrire la présence et la distribution de ce pathogène, tout au long de la chaîne d'abattage, n'a été réalisée au niveau des établissements d'abattage canadiens. Notre hypothèse était que l'on pouvait identifier des étapes clés d'intervention pour contrôler la contamination par *Campylobacter* sur les carcasses de volaille à l'abattoir en étudiant la présence de ce pathogène sur les produits de viande et dans l'environnement de production. Il y avait deux objectifs principaux dans cette étude. Premièrement, nous voulions décrire la distribution de *Campylobacter* lors des différentes étapes de production dans deux établissements de transformation québécois. Deuxièmement, nous voulions déterminer si les moyens de gestion du risque mis en place au moment de l'étude étaient suffisants pour prévenir la contamination du produit de viande destiné au consommateur. Pour répondre à ces objectifs, un oiseau par lot d'élevage a été échantillonné par rinçat de carcasse pour chaque étape suivante de la transformation (n=4) : avant l'abattage, tout juste après la saignée, au transfert entre les chaînes d'abattage et d'éviscération, après l'éviscération et après l'étape du refroidissement dans deux abattoirs québécois. Cette procédure fut répétée pour un total de 379 échantillons de rinçats de carcasses de poulets de chair qui ont été collectés à l'occasion de multiples visites à l'abattoir et ce, de février à juillet 2017. Un total de 217 échantillons environnementaux pouvant être impliqués dans la contamination croisée des oiseaux ont aussi été récupéré pendant les diverses visites. Les échantillons ont été dilués dans de l'eau peptonée et une identification de *Campylobacter* par PCR a été faite à l'aide d'amorces spécifiques au gène codant pour l'ARN ribosomal 16S. Les résultats obtenus pour la période étudiée indiquent que la positivité des carcasses de poulets de chair à *Campylobacter* est significativement plus élevée pour les échantillons effectués l'été comparé au printemps. En revanche, la présence de la bactérie dans l'environnement des abattoirs étudiés apparaît plus élevée durant

l'hiver. Puisque la présence de la bactérie sur les carcasses de poulets a diminué tout au long de la chaîne de production, qu'aucune carcasse positive n'a été retrouvée après un refroidissement à l'air et que la positivité des carcasses suite au refroidissement à l'eau était aussi très basse, nos résultats suggèrent, malgré certains enjeux associés à la sensibilité de la méthode d'identification des échantillons positifs, que les mesures actuelles de gestion du risque sont efficaces pour contrôler *Campylobacter* dans les deux abattoirs québécois suivis.

**Mots-clés :** *Campylobacter*, Poulet à griller, Abattoirs, Étapes critiques, Évaluation et gestion du risque

## **Abstract**

*Campylobacter* is responsible of the highest number of bacterial gastroenteritis worldwide. Most diseases in humans attributed to meat can be associated to consumption of or contact with poultry derived products; broiler chicken being involved in the majority of cases. The contamination of carcasses often occurs during the slaughter process. While many studies from various countries reported the distribution of *Campylobacter* among various critical steps of the slaughter process, none has been published, to our knowledge, in Canada regarding the presence and distribution of this bacterium within the abattoir. Our hypothesis was that it would be possible to identify key steps to control the contamination of carcasses by this bacterium by studying the presence and distribution of *Campylobacter* on carcasses and within the environment during the slaughter process. This study had two objectives. The first objective was to describe the distribution of *Campylobacter* within two selected slaughterhouses in Quebec in order to understand which processing step(s) play(s) a critical role in carcasses contamination. In the second objective, we aimed to verify if actual management procedures applied in these abattoirs were efficient in preventing consumer's exposition. To meet these goals, four birds by production lot, one at each of the following steps (after bleeding, at transfer between killing and evisceration chain, after evisceration and after the cooling process) were sampled for a total of 379 birds from February 2017 to July 2017 in two slaughterhouses located in the province of Quebec. Furthermore, 217 environmental samples were collected during these visits in various sites possibly in contact with birds. Samples were suspended in peptone water and submitted to a PCR assay, using a specific 16S ribosomal probe, for detection of *Campylobacter*. Overall, for the year of the study, we observed a significantly higher number of positive carcasses in summer compared to spring, while the environmental samples were more often positive in winter compared with summer. Furthermore, our results indicated that the number of positive carcasses decreased over the various processing steps, being either negative (air chilling) or low (water chilling) after the cooling process. Although we experienced some issues associated with the sensitivity of the procedure we used in this

study to recover *Campylobacter*, taken together, these results suggest that the actual management procedures of *Campylobacter* in studied slaughterhouses are efficient.

**Keywords:** *Campylobacter*, Broiler chicken, Slaughterhouses, Critical steps, Risk management

## TABLE DES MATIÈRES

Résumé .....	3
Abstract.....	5
TABLE DES MATIÈRES.....	7
LISTE DES TABLEAUX .....	10
LISTE DES ABRÉVIATIONS .....	11
CHAPITRE 1. INTRODUCTION .....	12
CHAPITRE 2. RECENSION DE LA LITTÉRATURE .....	15
2.1 <i>Campylobacter</i> .....	16
2.1.1 Taxonomie .....	16
2.1.2 Caractéristiques phénotypiques de <i>Campylobacter</i> .....	16
2.1.3 Conditions de croissance .....	16
2.1.4 Infection à <i>Campylobacter</i> chez l'humain .....	17
2.1.4.1 Données épidémiologiques .....	17
2.1.4.2 Populations à risque .....	17
2.1.4.3 Causes et sources de contamination.....	18
2.1.4.4 La campylobactériose .....	18
2.1.4.5 Complications de la campylobactériose .....	18
2.1.4.6 La pathogénèse et les principaux facteurs de virulence .....	19
2.1.5 La volaille : le réservoir de <i>Campylobacter</i> .....	20
2.2 La filière avicole et le contrôle des campylobactérioses .....	21
2.3 Présence de <i>Campylobacter</i> aux différentes étapes du procédé d'abattage de volailles .....	24
2.3.1 Importance relative de chacune de ces étapes dans la dissémination de <i>Campylobacter</i> .....	24
2.3.2 L'échaudage.....	25
2.3.3 La plumaison.....	26
2.3.4 L'éviscération .....	26
2.3.5- Les étapes de lavage et de refroidissement.....	27
2.3.6 Les deux méthodes de refroidissement des carcasses.....	28

2.3.7 L'abattage logistique et son influence sur le risque de contamination par <i>Campylobacter</i> .....	28
2.3.8 Les données Canadiennes sur la distribution de <i>Campylobacter</i> à travers les étapes d'abattage .....	29
2.3.9 Les données internationales sur la distribution de <i>Campylobacter</i> à travers les étapes d'abattage .....	30
2.4 Recherche et quantification de <i>Campylobacter</i> sur les produits de volaille.....	31
2.4.1 Méthode de culture primaire avec ou sans enrichissement.....	31
2.4.2 Méthode de détection moléculaire par Polymerase Chain Reaction (PCR) .....	31
2.4.2.1 Limites identifiées à la méthode d'échantillonnage réglementaire .....	32
2.4.3 L'utilité de quantifier <i>Campylobacter</i> chez la volaille .....	33
2.4.4 Méthodes de quantification utilisées pour <i>Campylobacter</i> .....	34
2.4.4.1 Énumération par culture directe .....	34
2.4.4.2 La Polymerase Chain Reaction quantitative (qPCR).....	34
2.5 Quels sont les outils de typage des souches de <i>Campylobacter</i> ? .....	36
2.5.1 Particularité du génome de <i>Campylobacter</i> .....	36
2.5.2 Méthodes phénotypiques .....	36
2.5.2.1 Généralités .....	36
2.5.2.2 Description de certaines techniques phénotypiques et de leurs limites.....	36
2.5.3 Méthodes génotypiques .....	38
2.5.3.1 Généralités .....	38
2.5.3.2 Techniques combinant la PCR et le séquençage des amplicons .....	38
2.5.3.3 Technique de Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE).....	39
2.5.3.4 Séquençage de génome entier.....	39
2.6 Contamination de l'environnement de production par <i>Campylobacter</i> .....	40
2.6.1 Survie de <i>Campylobacter</i> dans l'environnement des établissements d'abattage et de transformation de la volaille .....	40
2.6.2 Capacité de <i>Campylobacter</i> à coloniser les ateliers de découpe.....	42
2.7 Cibles de positivité pour limiter l'infection chez l'être humain.....	42
2.8 Problématique générale et objectifs.....	44
CHAPITRE 3. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	46
3.1 Échantillonnage .....	47
3.1.1 Échantillonnage des volailles en abattoir.....	47
3.1.2 Étapes du procédé d'abattage échantillonnées pour les liquides de rinçage de carcasses.....	47



3.2 Points d'échantillonnage et caractéristiques des différents abattoirs. ....	48
3.2.1 Points d'échantillonnage de l'abattoir A .....	48
3.2.2 Points d'échantillonnage de l'abattoir B.....	48
3.3 Recherche et culture de <i>Campylobacter</i> dans les liquides de rinçage des carcasses...	49
3.4 Échantillonnage de l'environnement des abattoirs.....	50
3.5 Recherche et culture de <i>Campylobacter</i> dans les échantillons provenant de l'environnement des abattoirs.....	51
3.6 Extraction de l'ADN des échantillons positifs sur culture .....	51
3.7 Analyse statistique des résultats .....	53
CHAPITRE 4. RÉSULTATS .....	55
4.1- Description des données.....	56
CHAPITRE 5. DISCUSSION GÉNÉRALE .....	66
5.1 Rappel du contexte général de l'étude et des objectifs.....	67
5.2 Établissements participant au projet de recherche.....	67
5.3 Comparaison des principaux résultats de l'étude à la littérature existante.....	69
5.3.1 Résultats relatifs aux liquides de rinçage de carcasses .....	69
5.3.2 Résultats relatifs aux échantillons de l'environnement des abattoirs .....	72
5.4 Facteurs influençant la réduction des charges de <i>Campylobacter</i> à l'abattoir .....	73
5.5 Limites de notre projet de recherche .....	75
5.6 Perspectives .....	77
CHAPITRE 6. Conclusion .....	79
Bibliographie .....	81

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b> Caractéristiques des abattoirs A et B.....	49
<b>Tableau 2.</b> Séquence des amorces utilisées pour la PCR.....	53
<b>Tableau 3.</b> Nombre total de carcasses positives à <i>Campylobacter</i> (PCR+) vs nombre de carcasses échantillonnées aux différentes étapes d’abattage dans deux abattoirs de volaille au Québec.....	56
<b>Tableau 4.</b> Nombre d’échantillons positifs (%) à <i>Campylobacter</i> (PCR +) aux différentes étapes d’abattage par date d’échantillonnage dans deux abattoirs de volaille au Québec.....	57
<b>Tableau 5.</b> Tableau des rapports de cotes (RC) des nombres d’échantillons de carcasses positifs pour <i>Campylobacter</i> en lien avec les dates d’échantillonnage dans deux abattoirs au Québec.....	60
<b>Tableau 6.</b> Nombre et % d’échantillons environnementaux positifs sur différentes surfaces positives à <i>Campylobacter</i> selon la date et l’abattoir.....	60
<b>Tableau 7.</b> Présence de <i>Campylobacter</i> dans l’environnement selon le moment d’échantillonnage (ensemble des échantillons).....	64
<b>Tableau 8.</b> Tableau des rapports de cotes (RC) des nombres d’échantillons environnementaux positifs à <i>Campylobacter</i> en lien avec les dates d’échantillonnage dans deux abattoirs au Québec.....	64

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS**

ACIA : agence canadienne d'inspection des aliments

ATB : antibiotique

CPC : chlorure de cétylpyridinium

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay; méthode immuno-enzymatique ELISA

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations; Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

**FSIS** : The Food Safety and Inspection Service

g : gramme

LPS : lipopolysaccharide

mCCDA : Modified Charcoal-Cefoperozone-Deoxycholate Agar

mL: millilitre

NMDS : non-metric Multidimensional Scaling; positionnement multidimensionnel non métrique

°C : degré Celsius

OIE: Organisation mondiale de la santé animale

PCR : polymerase chain reaction; l'amplification en chaîne par polymérase

PFGE : pulsed-field gel electrophoresis; électrophorèse sur gel en champs pulsé

ppm: partie par million

qPCR : quantitative PCR; PCR quantitatif

RDP : Ribosomal Database Project

SPF : specific-pathogen-free; animal sans pathogène particulier

UE : Union Européenne

UFC : unité formatrice de colonies

VNC: viable non cultivable

µL: microlitre

## **CHAPITRE 1. INTRODUCTION**

*Campylobacter* est un genre de bactéries Gram-négatif qui peut infecter le tractus gastro-intestinal chez l'humain et causer la campylobactériose (1). Cette maladie est caractérisée par de la fièvre, des crampes abdominales et de la diarrhée. Le poulet est considéré comme le réservoir principal de la bactérie. *Campylobacter* est responsable du plus grand nombre d'infections d'origine alimentaire dans les pays industrialisés (2, 209). Cette bactérie se distingue des autres pathogènes alimentaires par sa nature fastidieuse, sa sensibilité relative à la dessiccation et sa difficulté de croître dans les produits de viande. Les produits de viande de volaille sont parmi les viandes couramment consommées et les plus souvent reliés aux infections alimentaires causées par *Campylobacter* (209, 210, 211).

Paradoxalement, même si l'impact de cette bactérie en santé publique n'est plus à documenter, on en sait relativement peu sur sa prévalence et sa distribution dans des établissements de transformation de la volaille. Cette information est pourtant capitale, dans une perspective de contrôle de la ferme à la table. Ceci est particulièrement vrai en ce qui concerne le Canada, où il n'existe que très peu d'études nous permettant de mieux comprendre à quelle étape de la transformation les produits de la volaille se contaminent. Certaines études, réalisées auparavant dans notre laboratoire (3), et dans d'autres pays (81, 213, 214, 215, 216), ont montré que les lots de poulets à griller qui entrent à l'abattoir sont fréquemment contaminés par *Campylobacter*, le plus souvent par un génotype particulier. Au Canada, on ne connaît toutefois que peu de choses sur l'importance relative des différentes étapes de la transformation primaire sur le statut final de la carcasse. Pourtant, cette carcasse sera souvent offerte directement au consommateur, qui pourra alors être infecté par la bactérie, généralement par contamination croisée lors de la manipulation de la viande pendant la préparation du repas.

Ces données quant à l'impact des différentes étapes de l'abattage et de la transformation sont cependant cruciales pour les autorités réglementaires quand vient le temps de mettre en place des mesures de gestion du risque cohérentes et adaptées à la réalité industrielle. De plus, le contrôle de *Campylobacter* lors des différentes étapes de transformation est particulièrement important si l'on considère certaines caractéristiques physiologiques de cette bactérie. En effet, *Campylobacter* ne se multiplie pas dans les aliments contrairement aux entérobactéries comme *Salmonella* (212, 220, 229). En conséquence, la charge bactérienne retrouvée sur les carcasses suite à la transformation

primaire est étroitement reliée à l'exposition du consommateur. Une meilleure compréhension des points de contamination et l'application de meilleures mesures de gestion du risque ont de fortes chances d'avoir un impact direct sur les taux d'exposition du consommateur (218, 219). Des études européennes suggèrent même que de maintenir le niveau de contamination en dessous d'un certain seuil au niveau de la transformation primaire permettrait de réduire significativement la prévalence des infections à *Campylobacter* chez l'humain (90). Néanmoins, les doses infectieuses pour l'être humain étant basses, il convient d'être prudent avant d'en venir à tolérer une certaine charge microbienne sur le produit final (2, 209).

L'approche généralement recommandée pour mieux définir le risque associé à un pathogène pour l'être humain est une évaluation des risques, laquelle se situe au cœur de l'analyse du risque (191). À la lumière de cette évaluation, il devient alors possible d'élaborer des mesures de gestion et de communication du risque qui soit cohérentes avec celle-ci. Nous nous sommes penchés particulièrement, lors de ce projet, sur les étapes de caractérisation du danger et de l'évaluation de l'exposition. Pour les fins de ce mémoire, le danger identifié est *Campylobacter jejuni*. Cette espèce de *Campylobacter* est en effet beaucoup plus prévalente et importante du point de vue de son impact sur la santé humaine (2, 7, 209).

L'objectif premier de ce projet de recherche était de décrire la distribution de *Campylobacter* lors des différentes étapes de production dans deux établissements de transformation québécois. Deuxièmement, nous voulions déterminer si les moyens de gestion du risque mis en place au moment de l'étude étaient suffisants pour prévenir la contamination du produit de viande destiné au consommateur.

## **CHAPITRE 2. RECENSION DE LA LITTÉRATURE**

## **2.1 *Campylobacter***

### **2.1.1 Taxonomie**

*Campylobacter* est une bactérie Gram négatif microaérophile qui fait partie de la famille des *Campylobacteriaceae*, découverte en 1963 (4, 6). Vingt-six espèces, neuf sous-espèces et trois biovars ont été recensées à ce jour (7). *Campylobacter* est thermotolérant, possède une croissance optimale à 42 °C, colonise les animaux à sang chaud au niveau des cryptes intestinales (8) et est un organisme particulièrement menaçant pour la santé publique (7). *Campylobacter* inclut entre autres les espèces *jejuni*, *coli*, et *lari* (7, 9). Deux autres espèces de *Campylobacter*, *consisus* et *upsaliensis*, sont également de plus en plus identifiées dans des cas de campylobactériose humaine à travers le monde (5, 10).

### **2.1.2 Caractéristiques phénotypiques de *Campylobacter***

Malgré certaines distinctions entre les différentes espèces du genre *Campylobacter*, des caractéristiques communes peuvent être observées chez ces bactéries. En effet, les *Campylobacter* sont des bâtonnets à Gram négatif, de forme ondulée ou spiralée (7), non sporulés et positifs aux tests de l'oxydase, ainsi que de la catalase (7, 11, 13). Leur longueur est comprise entre 0,2 à 5,0 µm, tandis que leur largeur se situe entre 0,2 et 0,9 µm (4). De plus, la majorité des espèces de *Campylobacter* disposent d'un à deux flagelles polaires, ce qui contribue, entre autres, à conférer à ces organismes bactériens une excellente motilité (14).

### **2.1.3 Conditions de croissance**

La croissance optimale des *Campylobacter*, lesquels sont thermotolérants, survient dans des conditions microaérophiles alors qu'il n'y a pratiquement pas de croissance à la température ambiante (7). Plus précisément, 5% d'oxygène, 10% de dioxyde de carbone ainsi que 85% d'azote sont les proportions requises de ces composants dans l'atmosphère d'un milieu pour favoriser la croissance optimale de ce pathogène (11). En plus de ces conditions, la composition du milieu nutritionnel nécessaire pour faire croître les *Campylobacter* n'est pas simple : plusieurs nutriments spécifiques doivent s'y retrouver pour favoriser la culture de ce pathogène, par exemple le pyruvate (5, 15). Parmi les milieux



sélectifs les plus utilisés en laboratoire pour isoler cette bactérie, notons : Campylobacter CSM (Charcoal-Based Selective Medium) agar et Mueller Hinton (MH) agar supplémenté avec CSS (Campylobacter Specific Supplement), incubé à 42°C en condition microaérophile.

#### **2.1.4 Infection à *Campylobacter* chez l'être humain**

##### **2.1.4.1 Données épidémiologiques**

L'infection bactérienne d'origine alimentaire à *Campylobacter*, la campylobactériose, se transmet le plus de l'animal à l'humain à travers le monde entier (16). La morbidité associée à *Campylobacter* est équivalente à celle de *Salmonella* et elle est plus élevée que celle associée aux autres bactéries impliquées dans les entérites humaines (18). Une étude américaine a aussi identifié *Campylobacter* comme la bactérie constituant la plus grande menace à la santé publique en termes de nombre d'hospitalisations et de coûts pour l'économie (209). Les principales espèces impliquées dans les infections humaines sont *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli* (19), isolées respectivement dans 89% et 8% des cas cliniques, tandis que les autres espèces du genre ne sont mises en cause que dans seulement 3% des campylobactérioses chez l'être humain (7). De plus, la majorité des infections humaines à *Campylobacter* se produisent sporadiquement, c'est-à-dire qu'elles surviennent de manière isolée (8, 20). Toutefois, certaines épidémies sont observées de temps à autre et peuvent être reliées à la consommation de poulet (222), d'eau ou de lait cru contaminés par *Campylobacter* (8, 16).

##### **2.1.4.2 Populations à risque**

*Campylobacter* cause généralement des infections sans danger grave pour des personnes en bonne santé (16, 23). Néanmoins, certaines populations sont plus susceptibles de faire face à des conséquences sérieuses à la suite d'une campylobactériose (16). En effet, les enfants en très bas âge, les aînés, ainsi que les personnes ayant un système immunitaire affaibli peuvent décéder des complications reliées à cette infection par *Campylobacter* (7, 16, 21). Les enfants de cinq ans et moins constituent d'ailleurs le groupe d'âge le plus infecté par ce pathogène et l'incidence de l'infection chez les personnes de 60 ans et plus est plus élevée qu'auparavant (7).

#### **2.1.4.3 Causes et sources de contamination**

Le phénomène de contamination croisée par lequel la viande contaminée par *Campylobacter* entre en contact avec des aliments ne nécessitant pas de cuisson (par exemple, les crudités) avant d'être consommés est un mécanisme mis en cause dans les campylobactérioses humaines (4, 11). Le fait de consommer de la viande de volaille contaminée qui n'a pas été cuite complètement est aussi impliqué dans les infections humaines par *Campylobacter* (11, 224). La consommation de lait et de produits à base de lait crus, ainsi que d'eau contaminée par le pathogène sont aussi des sources potentielles de campylobactérioses chez l'être humain (8, 20, 225, 226).

#### **2.1.4.4 La campylobactériose**

Les symptômes d'une campylobactériose humaine sont multiples et varient selon le stade de la maladie. Dans la grande majorité des cas, l'infection est limitée au tractus gastro-intestinal et la bactérie utilise des facteurs de virulence pour causer les signes cliniques. Ceux-ci incluent la fièvre, de vives douleurs abdominales, de la diarrhée parfois sanglante accompagnée de crampes, ainsi que des nausées et des vomissements (4, 5, 7, 21, 223). Chez les jeunes enfants, parfois le seul symptôme de la campylobactériose est une diarrhée sanglante. L'apparition des premiers symptômes se fait généralement de 2 à 5 jours après l'exposition à la bactérie (7) et la période d'incubation est comprise entre 1 et 10 jours (4). De plus, la dose infectieuse est très faible, de l'ordre de 500 à 800 CFU alors que la sévérité de l'infection est variable selon la souche de *Campylobacter* impliquée ainsi que le statut immunitaire de la personne infectée (23).

#### **2.1.4.5 Complications de la campylobactériose**

L'humain parvient normalement à contrôler l'infection à *Campylobacter* après 5 à 7 jours. Habituellement, il n'y a pas de conséquences graves et généralement aucun traitement antibiotique n'est requis pour combattre la bactérie (7, 24). Toutefois, certains cas plus rares de campylobactériose présentent des complications pouvant être sérieuses. En effet, les conséquences les plus préoccupantes d'une campylobactériose incluent la bactériémie, les abcès au système digestif, la méningite (4, 6), les hémorragies intestinales, le syndrome du côlon irritable et de mégacôlon toxique (4). D'autres complications

incluent le syndrome de Guillain-Barré, l'arthrite réactive, le syndrome de Miller-Fisher et la méningite (2, 4, 6, 7, 8, 20, 25).

Une infection préalable à *Campylobacter jejuni* est reliée à 30% des cas du syndrome de Guillain-Barré, une maladie auto-immune inflammatoire du système nerveux périphérique (27), ce qui en fait la principale cause bactérienne de ce syndrome (26). Un cas de campylobactériose parmi 1000 provoque le syndrome de Guillain-Barré (4, 27). Certains génotypes de *Campylobacter jejuni* possèdent des lipopoligosaccharides (LPS) spécifiques et sont plus susceptibles de déclencher ce syndrome (27). Le syndrome de Miller-Fisher est une autre affection neurologique de nature similaire, avec des signes cliniques encore plus sévères pouvant inclure des atteintes oculaires (28). L'arthrite réactive peut être observée chez 2 à 5% des patients guéris de l'infection. On rapporte également que 33% des personnes infectées développent le syndrome du côlon irritable suite à une campylobactériose (7, 29, 30). De plus certaines souches spécifiques de *Campylobacter* ont aussi été isolées chez des patients souffrant de la maladie de Crohn (21, 31). Finalement, dans 0,1 % des cas, la campylobactériose peut s'avérer fatale, par exemple lors d'un abcès au cerveau chez des patients immuno-compromis (21, 32).

#### **2.1.4.6 La pathogénèse et les principaux facteurs de virulence**

Suite à l'ingestion, *Campylobacter* doit d'abord survivre aux mécanismes de défense non spécifiques de l'hôte, comme le bas pH de l'estomac (231). De plus, la bactérie doit aussi parvenir à se frayer un chemin à travers le mucus intestinal pour parvenir à s'attacher (232).

D'une manière générale, l'entrée dans l'hôte va activer une quarantaine de gènes qui seront utiles à certaines étapes de l'infection (227, 228). Certains gènes, comme *cadF*, sont impliqués au niveau de l'attachement de la bactérie à la paroi intestinale. Ce gène code pour une protéine qui s'attache à la fibronectine, une glycoprotéine présente dans la matrice extra-cellulaire, ce qui favorise la colonisation intestinale (233). Les gènes *flaA* et *flaB*, qui codent quant à eux pour des protéines majeures de la flagelline, sont étroitement associées au pouvoir invasif de *Campylobacter*.

Pour l'invasion, la bactérie peut emprunter deux voies distinctes. Elle peut utiliser la voie para-cellulaire ou trans-cellulaire. Pour la voie para-cellulaire, c'est-à-dire entre les cellules, *Campylobacter* sécrète à cette fin une protéase, la HtrA, qui lui permet de scinder

une des protéines de l'hôte composant les jonctions serrées, l'occludine. Ainsi, la bactérie rejoint la lamina propria (227). Une autre protéine, la FlpA, serait également nécessaire pour que cette voie soit empruntée de manière optimale (234).

Pour la voie transcellulaire, la bactérie entre dans la cellule par la voie apicale pour s'évader au niveau de la membrane baso-latérale. Des expérimentations utilisant la mutagenèse ont permis de déterminer que plusieurs gènes tels que *ciaB*, *capA* et *flgB* sont impliqués dans l'attachement et l'invasion par cette voie. L'envahissement des tissus est alors suivi par une réponse inflammatoire de la personne infectée qui se traduit par la production de cytokines inflammatoires, comme l'interleukine 8, ce qui entraîne le recrutement de neutrophiles et phagocytes. De plus, *Campylobacter* sécrète une toxine pro-inflammatoire, la CDT, pour cytholethal-distending-toxin, qui exacerbera cette réponse inflammatoire. Les signes cliniques qui résultent de l'invasion par la bactérie sont donc en bonne partie associés à la réponse immunitaire de l'hôte.

### **2.1.5 La volaille : le réservoir de *Campylobacter***

Chez les volailles vivantes comme sur les carcasses, l'espèce de *Campylobacter* la plus retrouvée est *Campylobacter jejuni* (33, 35). Cette espèce, qui semble particulièrement bien adaptée au milieu intestinal des volailles (36), ne déclenche pas de conséquences graves sur la santé de ces hôtes. En effet, les volailles ne présentent généralement pas de symptômes cliniques lorsqu'elles sont infectées par *Campylobacter* (4, 20, 376) et cela peut s'expliquer par le fait que les gènes exprimés par la bactérie, incluant ceux codant pour la virulence, varient selon l'hôte que *Campylobacter* colonise. Selon ces chercheurs, l'organisme bactérien est ainsi pathogène pour l'humain, mais majoritairement sans danger pour les animaux (36). Une autre explication possible de ce phénomène peut être due au fait que *Campylobacter*, durant la phase de colonisation, se contente de se loger dans le mucus des cryptes intestinales des volailles, sans toutefois envahir les cellules épithéliales de l'intestin, ainsi ne causant pas de manifestations de l'infection pour la plupart des oiseaux (20). D'autres chercheurs ont même affirmé que la bactérie fait partie du microbiote habituel des oiseaux en tant que bactérie commensale (11, 20, 38). Toutefois, deux autres études tempèrent la notion de commensalisme pour *Campylobacter* chez la volaille. En effet, l'infection par ce pathogène chez les oiseaux peut être liée à un impact

négalif sur leur santé, notamment en causant des dommages aux muqueuses intestinales et en haussant l'incidence des pododermatites, ainsi que des marques de brûlures sur les jarrets des volailles (21, 39, 40). Ces effets indésirables sont d'ailleurs plus fréquemment observés chez des lots de volailles à croissance rapide (21, 39, 40). Somme toute, même si *Campylobacter* ne semble pas engendrer de graves répercussions sur la santé des volailles, le fait que ce pathogène soit si bien adapté à ces hôtes n'est pas sans conséquence pour l'humain puisque la bactérie peut survivre jusque dans les cuisines (4).

Finalement, les études qui nous permettent d'estimer les comptages en *Campylobacter jejuni* dans les matières fécales ou le contenu caecal nous proviennent principalement de suivis d'infections expérimentales réalisées pour vérifier l'efficacité de différentes stratégies de contrôle. Il n'est pas rare de voir persister des charges de  $10^4$  à  $10^6$  CFU/g de *Campylobacter jejuni* dans les matières fécales pendant plusieurs jours suite à la colonisation chez l'oiseau (235). Une étude réalisée par l'ACIA sur la quantité de bactéries retrouvées au niveau des caeca à l'abattoir confirme cet ordre de grandeur puisque des charges de plus de  $10^8$  CFU/g sont parfois retrouvées, bien que la majorité soit en-dessous de  $10^4$  CFU/g de contenu caecal (236).

## **2.2 La filière avicole et le contrôle de *Campylobacter***

Il est important de porter une attention particulière à la filière avicole lorsque l'on veut limiter les infections à *Campylobacter* chez l'être humain étant donné que la volaille est le principal vecteur de transmission de ce pathogène zoonotique, le poulet à griller étant particulièrement mis en cause (4, 20, 41, 45). Le transfert de la bactérie dans la chaîne alimentaire, de l'élevage jusqu'à la vente de viande de poulet au détail, est d'ailleurs l'origine principale des infections humaines engendrées par ce pathogène (8, 18, 20, 21, 46, 49). En effet, les campylobactérioses humaines sont majoritairement causées par la manipulation et la consommation de viande de poulet contaminée par la bactérie (20, 21, 42, 44, 50, 54). En fait, la viande de poulet contaminée est associée à 40% des infections à *Campylobacter* chez l'humain, tandis que le réservoir aviaire commercial comme tel constitue la source dans près de 80% des cas (55, 56). Cela peut s'expliquer par le fait que le pathogène provenant initialement du réservoir de volailles possède la capacité d'infecter l'être humain par d'autres sources alimentaires ou d'autres moyens que la consommation

de nourriture contaminée (21, 55, 57). La portée des mesures de gestion du risque potentielles sur la filière aviaire est donc large, d'autant plus qu'actuellement, peu de plans de contrôle s'avèrent fructueux pour abaisser significativement la colonisation des poulets par *Campylobacter* (21, 58). Cela s'illustre conséquemment par une incidence des campylobactérioses humaines qui se maintient à des niveaux semblables depuis quelques années, de la même manière que la prévalence de la bactérie dans le poulet à griller sur le marché (18, 59, 60). Une portion du problème réside dans le fait que le pathogène semble avoir une grande facilité à coloniser le tractus gastro-intestinal des poulets qui sont des hôtes privilégiés pour les *Campylobacters* thermotolérants (59). Le niveau de colonisation le plus important se situe dans le caecum des oiseaux, site où le pathogène se loge dans le mucus des cryptes caecales (20, 42, 61, 62). L'adhérence de *Campylobacter jejuni* aux cryptes caecales dans les intestins des oiseaux est en partie favorisée par un chimiotactisme envers la glycoprotéine mucine, la composante majeure du mucus intestinal (36), chimiotactisme sans lequel la colonisation de l'intestin des volailles par *Campylobacter* ne pourrait être aussi efficace (36). De plus, une réaction immunitaire déficiente à la suite de l'infection par *Campylobacter* chez les poulets favorisait un haut niveau de colonisation des intestins par la bactérie qui se retrouve à des niveaux allant jusqu'à 10 fois dans l'intestin des volailles (20, 61). La température corporelle des volailles, se rapprochant de 42 °C, favorise également une haute colonisation étant donné qu'il s'agit d'une température idéale pour la croissance des espèces thermotolérantes de *Campylobacter* (8). Le processus par lequel *Campylobacter* colonise et s'implante chez le poulet demeure toutefois nébuleux à maints égards (36) et implique plusieurs facteurs qui sont régulés par des gènes liés à la colonisation du pathogène en question dans cet hôte (36, 63). Les systèmes de défense de *Campylobacter jejuni* contre le stress oxydatif, de même que ceux reliés à son métabolisme du fer ont toutefois été identifiés comme des facteurs clés impliqués dans la colonisation (36).

En ce qui a trait à l'origine de la contamination, les premiers poulets colonisés en élevages se contaminent le plus souvent par le biais de l'environnement (exemple : litière) et donc par un mécanisme de transmission horizontale (4, 20, 42). Le matériel de travail à la ferme tel que l'équipement, les véhicules, les cageots de transport de même que les bottes des employés peuvent également agir comme vecteurs inanimés (21, 64). Une transmission

horizontale entre différentes espèces animales, par exemple du bovin au poulet, est aussi possible (20, 21, 65, 66). De plus, durant l'été, les mouches sont susceptibles de transmettre *Campylobacter* aux volailles (20, 21, 67, 68). Il a d'ailleurs été démontré que l'installation de moustiquaires permet de réduire considérablement le nombre de lots de volailles infectés par la bactérie dans certains types de production (20, 67, 68). Les rongeurs présents à la ferme sont aussi reconnus comme vecteurs de transmission de *Campylobacter* envers les volailles (22). Également, de par le comportement coprophage des oiseaux (21, 69, 70), la vitesse de propagation du pathogène entre les volailles est très grande à partir du moment où *Campylobacter* est détecté, vers 3 semaines d'âge, dans un lot de poulets (4, 20, 21, 69, 71). La nourriture et l'eau à partir desquelles se nourrit un groupe d'oiseaux sont aussi impliquées de manière considérable dans le mécanisme de transmission fécal-oral de *Campylobacter* entre les volailles (21, 70, 72). D'ailleurs, les souches de *Campylobacter jejuni* retrouvées dans l'eau où s'abreuvent les poulets seraient parfois identiques à celles identifiées chez les oiseaux infectés dans un lot, ce qui souligne l'influence de cette source de contamination dans la dissémination de la bactérie (42, 72).

En dehors de la ferme, le transport des volailles vers l'abattoir contribue à l'élévation des taux de *Campylobacter* dans le caecum des oiseaux en provoquant un stress chez ces derniers (42, 74). Les procédures de nettoyage des cages utilisées pour le transport sont la plupart du temps infructueuses pour éliminer *Campylobacter* (20, 75, 78) et les cageots contaminés peuvent constituer une autre source de contamination des volailles (20, 70, 79, 80).

Il est possible de relier la charge bactérienne présente sur les poulets par *Campylobacter* durant la période d'élevage à la quantité de bactéries présente sur la peau de leur carcasse à la suite du procédé de transformation bien que celle-ci ait tendance à diminuer en quantité au cours de l'abattage (33, 42, 81, 82). En ce qui concerne la prévalence, les résultats d'une enquête à travers l'Europe ont par ailleurs démontré que *Campylobacter* colonisait 71.2% des lots de poulets transformés en abattoir, tandis que la prévalence des carcasses positives à ce pathogène à la fin des étapes de transformation était de 75.8% (83). La moyenne mondiale de cette prévalence est de 60% à 80% pour les poulets en âge d'être abattus, avec une grande disparité entre certains pays (20, 35, 42, 84). Au Canada, il y aurait aussi une grande diversité entre les abattoirs et même entre les



différentes étapes de l'abattage (51). Au Québec, une étude réalisée par Arsenault et collaborateurs (238), a estimé qu'environ un tiers des lots entrant à l'abattoir étaient positifs à *Campylobacter*. Également, il a été constaté qu'une relation pouvait être établie entre les souches de *Campylobacter* isolées chez le poulet et celles causant des entérites chez l'humain (20, 42, 85). En outre, il est possible d'établir un lien entre les taux de *Campylobacter* détectés sur la viande de poulet crue vendue au détail et le risque pour la santé du consommateur (86, 87).

### **2.3 Présence de *Campylobacter* aux différentes étapes du procédé d'abattage de volailles**

Le processus actuel d'abattage chez les volailles comporte plusieurs étapes avec différentes variantes plus ou moins automatisées selon l'abattoir. Généralement, au Canada, les oiseaux sont rendus inconscients à l'aide d'un courant électrique (48). Une fois insensibilisés, les volailles tuées par exsanguination sont alors échaudées dans de grandes cuves d'eau chaude, puis déplumées mécaniquement. Ensuite vient l'étape d'éviscération qui consiste à retirer l'ensemble des organes internes des oiseaux. Finalement, les volailles sont lavées, juste avant le refroidissement. Un rinçage des carcasses a donc lieu en utilisant une douche qui comprend souvent du chlore ou un autre type de désinfectant et qui utilise un jet puissant à l'intérieur et à l'extérieur de la carcasse. Celles-ci sont par la suite refroidies dans une chambre à air poussé ou bien dans les bassins d'eau glacée (20, 51). Chaque étape du processus peut être l'occasion de contamination par *Campylobacter*.

#### **2.3.1 Importance relative de chacune de ces étapes dans la dissémination de *Campylobacter***

Avant tout, il est important de tenir compte du fait que l'influence relative des différentes étapes de transformation des volailles dans la contamination des carcasses à *Campylobacter* peut varier selon l'abattoir (20, 156). De plus, les concentrations initiales de *Campylobacter* retrouvées sur un lot d'oiseaux au début du processus d'abattage peuvent faire varier l'influence de chacune des étapes. Cela suggère aussi que l'influence relative des étapes du procédé d'abattage varie aussi selon le lot de volailles (19). Par exemple, si le niveau de contamination initial des volailles est important, les étapes de plumaison et d'éviscération, où le niveau de contamination est en général élevé,



n'engendreront probablement pas une hausse marquée de la contamination des carcasses, celle-ci étant déjà très élevée. À l'inverse, l'effet de ces étapes sur la contamination des carcasses sera plus important si le niveau de contamination initial est faible (19). Il existe néanmoins une tendance générale relative à la diminution de la prévalence de *Campylobacter* à travers les diverses étapes du procédé d'abattage des volailles et certaines étapes apparaissent plus à risque.

### 2.3.2 L'échaudage

Les recherches convergent pour montrer que l'échaudage réduit la prévalence et les niveaux de contamination des carcasses de volailles de ce pathogène (2, 20, 50, 51, 157, 158). De plus, accroître la température des réservoirs d'échaudage lors de cette étape est propice à la réduction de *Campylobacter* (45, 159, 161), en gardant toutefois en tête qu'une température trop élevée (dépassant les 65 degrés Celsius) peut provoquer des déchirures à la peau des carcasses (45, 161). Ces lésions constituent alors de nouveaux endroits où différentes bactéries peuvent s'attacher, en plus de procurer au produit une apparence non souhaitée (162, 163). Également, *Campylobacter* n'aurait pas la capacité de survivre dans l'eau à des températures au-delà de 54 °C, la température de l'eau circulant dans les derniers bassins d'échaudage avoisinant cette valeur (49). Il est toutefois important de mentionner que la durée d'immersion des volailles est un paramètre à prendre en considération dans la survie de la bactérie sur les plumes et sur la peau des oiseaux (45, 49). Cela peut être expliqué par le fait que la température à la surface de la peau des oiseaux serait moins élevée que celle de l'eau d'échaudage lorsque l'exposition est de trop courte durée (4). D'ailleurs, *Campylobacter* survit sur les carcasses même si la température de la cuve d'échaudage est le plus souvent située entre 52 et 55 °C (19). Aussi, les matières fécales provenant des oiseaux peuvent constituer un milieu qui protège le pathogène et par conséquent, favoriser sa survie dans l'eau de la cuve d'échaudage (45). Un pH plus élevé de l'eau d'échaudage semble plus efficace pour réduire les concentrations de *Campylobacter* sur les carcasses (20, 164, 165). Également, un système d'échaudage multi-segments permet d'exposer graduellement les carcasses à de l'eau de plus en plus chaude et de moins en moins contaminée par des pathogènes (160, 166). Une diminution de la contamination des carcasses a d'ailleurs été observée fréquemment en présence d'un tel

système (51, 159, 160). De plus, les réservoirs d'échaudage dans lesquels l'eau circule à contre-courant, ainsi que les systèmes à cuves multiples (multi-segments) sont déjà acceptés comme points de contrôle critiques (CCP) essentiels par certains pays ainsi que par les programmes HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) (51). En investissant à moyen terme, l'étape de l'échaudage peut donc s'avérer une clé dans la réduction de *Campylobacter* si l'on optimise les systèmes d'échaudage, la température à laquelle les poulets sont échaudés, le taux de renouvellement de l'eau propre et également la durée pendant laquelle on immerge les carcasses (45, 160). L'utilisation d'eau électrolysée oxydante dans les cuves d'échaudage a aussi été évoquée, quoique de manière équivoque, pour amenuiser les concentrations de *Campylobacter* sur les volailles transitant par cette étape (89).

### **2.3.3 La plumaison**

En ce qui concerne la plumaison, il est généralement accepté qu'elle élève les concentrations, ainsi que la prévalence de *Campylobacter* sur les carcasses de volailles et cela peut être expliqué par une fuite du contenu de l'intestin lors de cette étape dû à la pression exercée sur les carcasses traitées par ces équipements (2, 4, 20, 42, 50, 51, 157, 158). De récentes études mentionnent d'ailleurs que cette phase fait partie de l'un des deux endroits principaux qui accentuent les niveaux de *Campylobacter* sur les carcasses (49, 158). Cela serait le résultat de la nature brutale du processus déplumant les oiseaux, puisque ce processus engendre des pressions telles sur l'oiseau que le contenu du cloaque est souvent expulsé et contamine à la fois la carcasse et l'appareil qui devient alors difficile à nettoyer en cours d'opération et à désinfecter par la suite (49).

### **2.3.4 L'éviscération**

Lors de l'éviscération, il a été démontré que les charges de *Campylobacter* sont en hausse ou restent stables (81, 102, 158, 160). La prévalence des oiseaux contaminés, quant à elle, est accentuée lors de cette phase (51). Puisqu'à cette étape une traction mécanique est exercée, il peut y avoir une proportion élevée de déchirures au niveau des intestins retirés durant cette opération. (20, 49, 81) L'intestin, s'il est infecté par *Campylobacter*, contamine alors les carcasses puisqu'il y a un déversement de son contenu (20, 49, 50, 51,

81, 167). Cette contamination est possible même lorsqu'un faible volume de matière intestinale entre en contact avec celles-ci (168). Ainsi, l'identification d'un PCC à l'étape de l'éviscération, associée aux mesures de surveillance appropriées, apparaît utile pour protéger la santé publique, puisque l'influence de cette étape sur la prévalence de *Campylobacter* et sur le taux de contamination des carcasses serait considérable (51).

### **2.3.5- Les étapes de lavage et de refroidissement**

Finalement, les étapes de lavage et de refroidissement sont souvent synonymes de diminution de *Campylobacter* spp. sur les carcasses de poulets (2, 20, 51, 81, 91, 102). Une diminution considérable des nombres d'UFC comparativement à des carcasses échantillonnées après la plumaison peut être atteinte en effectuant le rinçage des carcasses tout de suite après l'éviscération, en inspectant les carcasses pour déceler toute présence de matière fécale observable à l'œil nu, ainsi qu'en demandant aux travailleurs de l'abattoir d'asperger d'eau la peau des poulets à la suite de l'éviscération et du dernier rinçage (49, 102). Aussi, la submersion des carcasses dans une solution contenant de l'acide lactique à la suite du rinçage final est une solution adéquate pour réduire les concentrations de *Campylobacter* (89, 169) et devrait être analysée pour application en conditions commerciales lors de recherches futures (89, 170). D'autres substances, telles que l'acide peracétique et le chlore, sont prometteuses pour réduire *Campylobacter* lorsqu'elles sont utilisées dans les dernières étapes du procédé d'abattage (2, 20, 70, 102, 171). De plus, une récente étude soulève l'hypothèse que la pression d'eau utilisée dans les installations pourrait potentiellement avoir un impact sur les concentrations de *Campylobacter* (102). Également, le fait de refroidir les carcasses pendant trois jours permet de diminuer en moyenne les concentrations de *Campylobacter* par un facteur de 4.5 (49, 172, 173), et cette diminution est accrue d'environ un tiers lors de la congélation des carcasses (49, 90, 172, 173). Une étude islandaise a d'ailleurs démontré que la congélation des carcasses de poulets, testés positifs à *Campylobacter*, avait permis de réduire la prévalence des produits de viande contaminés de manière marquée, allant jusqu'à réduire l'incidence des campylobactérioses de 72% (8, 56, 174). De plus, le refroidissement permet généralement de diminuer la prévalence des carcasses de poulets contaminées par *Campylobacter* (51) et même de réduire la diversité génétique des souches de *Campylobacter* sur des carcasses de

dindes (175). Finalement, aux États-Unis, le département des services d'inspection de l'agriculture en sécurité alimentaire (USDA-FSIS) impose deux CCP à l'étape du refroidissement: les carcasses doivent être dépourvues de contamination fécale et leur température doit être inférieure à 4,44 °C (70). Au Canada, on retrouve celui relié au contrôle de la température de la carcasse.

### **2.3.6 Les deux méthodes de refroidissement des carcasses**

Il existe deux méthodes principalement utilisées pour refroidir les carcasses de volailles (176). La première, utilisée dans la majorité des abattoirs de poulets à griller aux États-Unis et au Canada, est l'immersion des carcasses dans l'eau glacée. La seconde, quant à elle, aussi beaucoup exploitée en Europe, consiste à effectuer le refroidissement des volailles à l'air (176). Alors que certaines études ont suggéré que le refroidissement à l'air était plus performant pour éliminer *Campylobacter* sur la peau des poulets en desséchant celle-ci (177, 178), d'autres chercheurs affirment qu'il n'y a pas d'avantage à prioriser une des deux méthodes et que les deux approches sont efficaces pour réduire les quantités de la bactérie sur les carcasses (81, 176). En contradiction avec ces résultats, une autre recension de la littérature propose que l'immersion des carcasses dans l'eau glacée résulte systématiquement en des concentrations plus faibles de *Campylobacter*, malgré un risque de contamination croisée entre les carcasses dans le réservoir de refroidissement (50, 179). Il est à noter que plusieurs établissements utilisent également à cette étape des agents technologiques, tels que des ammoniums quaternaires comme le chlorure de cétylpyridinium ou Cecure<sup>MD</sup> dans le but de réduire davantage la quantité de microorganismes présents dans l'eau. Ce produit peut également être utilisé pour le refroidissement à l'air où il sera appliqué sur les carcasses sous forme de douche de rinçage. La présence ou l'absence d'utilisation d'agent technologique est donc un élément important à considérer lorsqu'on évalue les mesures mises de l'avant pour contrôler *Campylobacter* dans un établissement.

### **2.3.7 L'abattage logistique et son influence sur le risque de contamination par *Campylobacter***

Une autre mesure affectant l'ensemble des étapes du procédé d'abattage a été proposée pour tenter de diminuer la propagation de *Campylobacter* dans les établissements

de transformation. En effet, le fait d'abattre les lots de poulets positifs à *Campylobacter* en fin de journée, postérieurement aux groupes de poulets négatifs, a été suggéré en Europe comme solution pour limiter la propagation du pathogène entre les différents lots par contamination croisée (55). Cette procédure, qui porte le nom d'abattage logistique, a d'abord été écartée en raison d'un faible impact sur la santé publique, en l'occurrence sur l'incidence des campylobactérioses humaines (90, 180). En effet, des études ont aussi suggéré que le processus de contamination croisée ne se produisait de manière considérable que sur les premières carcasses négatives à *Campylobacter* et subséquentes au lot contaminé par la bactérie, limitant ainsi l'influence positive de l'abattage logistique sur une diminution éventuelle de risque (43, 181). Toutefois, d'autres chercheurs se sont penchés sur la question de la contamination croisée entre deux lots de poulets respectivement positif et négatif à *Campylobacter*. À travers une autre étude s'intéressant à ce phénomène, Seliwiorstow et ses collègues ont rapporté que la contamination croisée affectait plus de carcasses que les estimations des études précédentes et suggèrent encore à ce jour l'abattage logistique comme solution visant à réduire cette contamination (86). Également, diverses études ont démontré que dans certains pays, l'abattage logistique permettrait de réduire la prévalence des produits contaminés (181, 183). En conclusion, l'abattage logistique permettrait d'empêcher la contamination croisée, mais n'aurait pas d'impact marqué sur les concentrations de *Campylobacter* retrouvées sur les carcasses (161).

### **2.3.8 Les données canadiennes sur la distribution de *Campylobacter* à travers les étapes d'abattage**

Bien qu'il y ait eu un nombre considérable d'études européennes sur la contamination par *Campylobacter* à travers les diverses étapes du procédé de transformation des volailles en abattoir, très peu d'études canadiennes se sont intéressées au phénomène. Il y a toutefois eu des études provinciales, fédérales et universitaires pour évaluer la prévalence moyenne de ce pathogène chez différentes espèces animales à la ferme, à l'abattoir et dans les aliments (8, 184, 187). Par exemple, la prévalence moyenne des volailles infectées à *Campylobacter*, incluant les dindes et les poulets à griller, varie de 10 à 88% au Canada et cette haute fluctuation est en partie due aux diverses méthodes employées pour échantillonner et analyser les échantillons en laboratoire (8). En résumé,

les trop peu nombreuses études canadiennes s'intéressant à *Campylobacter* n'ont pas mis en lumière le phénomène de la dispersion de cette bactérie dans l'environnement de production de viande de volaille.

### **2.3.9 Les données internationales sur la distribution de *Campylobacter* à travers les étapes d'abattage**

Au niveau international, plusieurs études rapportent que les efforts requis pour réduire la présence de *Campylobacter* devraient également être concentrés dans les élevages, étant donné que la présence dans les abattoirs serait en grande partie associée à une contamination fécale (188, 189). Par ailleurs, plusieurs données supportent qu'un temps de transport prolongé vers l'abattoir peut diminuer la charge de ce pathogène sur les oiseaux (179). Une étude visant à quantifier et à caractériser *Campylobacter* dans les carcasses de poulets et de canards dans des abattoirs de volailles en Corée du Sud a démontré que 54,5% des échantillons étaient positifs pour cette bactérie (190). Cette même étude, ainsi que plusieurs autres effectuées en Irlande, en Italie et en Espagne rapportent que la présence de *Campylobacter coli* était majoritaire, suivi par *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter lari* (102). De plus, selon cette étude, l'étape qui contribuait le plus à la contamination était celle de l'éviscération, étape lors de laquelle on observait une prévalence de *Campylobacter* fluctuant entre 15 et 20%. Une diminution importante du nombre d'échantillons positifs, soit de 50% à 75%, a été observée suite au refroidissement des carcasses (102). Finalement, les résultats de cette étude ont décrit un taux d'isolement pour *Campylobacter* plus élevé avec la culture directe qu'avec l'ensemencement sélectif nécessitant une étape d'enrichissement. Cette conclusion est également supportée par d'autres études qui affirment que la prolifération d'autres bactéries était probable dans le milieu d'enrichissement, limitant ainsi la croissance de *Campylobacter* (198, 199). Ainsi, ils rapportent qu'une modification à ce qui a trait à la sélectivité de l'enrichissement est nécessaire pour augmenter les taux de détection (190) tel qu'abordé dans un chapitre précédent.

## **2.4 Recherche et quantification de *Campylobacter* sur les produits de volaille**

### **2.4.1 Méthode de culture primaire avec ou sans enrichissement**

La recherche et l'identification de *Campylobacter* par des moyens de culture conventionnels, c'est-à-dire l'enrichissement avec culture sur gélose sélective et les tests de confirmation biochimiques ou d'agglutination, sont encore considérées par plusieurs comme la référence à cette fin. Étant donné l'importance donnée au statut de la carcasse dans les différentes réglementations, plusieurs auteurs se sont intéressés à vérifier la sensibilité et la spécificité de différents bouillons d'enrichissement ou de géloses variées pour le recouvrement de *Campylobacter* provenant d'échantillons de volailles. Par exemple, Repérant et coll. (207) ont comparé la performance de différentes matrices (cous, matières fécales) et ont constaté que l'ensemencement direct est plus efficace pour récupérer *Campylobacter* à partir d'échantillons fortement contaminés comme des fèces. Aussi, l'ensemencement sur gélose Butzler après enrichissement en bouillon Bolton se révèle légèrement supérieur aux autres géloses (Campyfood agar, mCCDA et Karmali) et combinaisons de milieux de culture pour des échantillons moins contaminés. Ces études soulignent clairement la nécessité d'adapter la méthode de culture au type d'échantillon et à la matrice étudiée. Par contre, il semble que l'intérêt pour la méthode de culture soit relativement limité dans des études réalisées en contexte réglementaire, car les méthodes d'analyse sont prescrites par les autorités.

### **2.4.2 Méthode de détection moléculaire par la Polymerase Chain Reaction (PCR)**

Étant donné la nature fastidieuse du microorganisme et le temps nécessaire aux procédures de culture classique, plusieurs épreuves PCR ont été développées pour détecter la présence de la bactérie, identifier le genre bactérien (en utilisant le gène codant pour les séquences d'ADN codant l'ARN de la fraction 16S du ribosome) et identifier à l'espèce celle-ci (ciblant *hipO* et *glyA*) (192). Ces méthodes, particulièrement lorsqu'elles sont combinées à des enrichissements en bouillon ou à un pré-enrichissement par billes magnétiques, donnent en général des résultats égaux ou supérieurs à la culture standard (94). Toutefois, ces techniques posent un défi considérable avec *Campylobacter*, tant pour leur validation que pour leur utilisation. La possibilité de détecter de l'ADN provenant de



cellules bactériennes non viables est toujours présente, comme pour tout autre microorganisme. Ceci fait en sorte que la PCR peut générer des faux-positifs. Pour *Campylobacter*, c'est le phénomène des formes viables non cultivables qui vient amplifier la possibilité que la PCR et la culture donnent des résultats différents. En effet, le phénomène de cellules bactériennes non cultivables pouvant néanmoins causer une infection a été rapporté par plusieurs auteurs (96, 97). La culture conventionnelle générera alors autant de faux négatifs. De plus, lorsque celle-ci est considérée comme étalon dans la validation de la PCR, on aura tendance à attribuer erronément des faux positifs au PCR lorsqu'il s'agit en fait de la détection de ces formes viables non cultivables.

Pour répondre à ce problème, Rodgers et collègues (208) ont fait la comparaison de la sensibilité des différentes méthodes de détection de *Campylobacter*. Les auteurs ont conclu que pour les lots positifs à au moins une des méthodes de détection testées, la culture après enrichissement en bouillon Exeter sans polymyxine B s'est révélée la plus sensible, en détectant 100% des lots positifs alors que la PCR en a identifié 80%.

#### **2.4.2.1 Limites identifiées à la méthode d'échantillonnage réglementaire**

Aux États-Unis d'Amérique, la méthode exigée par les autorités réglementaires s'appuie sur le rinçage des carcasses, la récolte et l'analyse d'une partie de ce liquide de rinçage (203). Cette méthode peut affecter la sensibilité de détection de *Campylobacter* par un effet de dilution de la contamination totale de la carcasse. De plus, seulement une fraction de la quantité totale de rinçat récupéré est analysée en laboratoire, ce qui peut causer des faux négatifs si l'échantillon n'est pas bien homogénéisé. Également, il se trouve que la présence de produits antimicrobiens sur le poulet avant son immersion dans le liquide de récolte peut influencer la possibilité de récupérer *Campylobacter*. Il est en effet permis d'ajouter à l'eau des refroidisseurs des agents antimicrobiens, pour aider à contrôler la charge totale microbienne et celle des pathogènes alimentaires comme *Campylobacter* et *Salmonella*. Ainsi, pendant le passage dans le refroidisseur, le poulet peut se gorger d'une partie de l'eau contenant des agents technologiques antimicrobiens tels l'acide peroxyacétique et le chlorure de sodium acidifié. Ceci doit toutefois se faire dans les limites réglementaires, soit de 8% pour un poulet de moins de 2,3 kg (241). D'ailleurs, la réglementation quant à la possibilité d'ajouter différents agents antimicrobiens a évolué de



manière significative au cours des années. Alors, que seuls les agents chlorés à des concentrations de moins de 20 ppm ou les acides organiques n'étaient permis il y a une vingtaine d'années, de nouveaux produits à base d'ammoniums quaternaires, comme le Cecure<sup>MD</sup>, ou à base d'acide organiques, sont permis dans l'eau de refroidissement ou les douches utilisées à différents endroits sur la chaîne de transformation. Il est donc possible que ces produits puissent non seulement avoir un effet sur le taux de recouvrement de *Campylobacter*, mais aussi sur la quantité des microorganismes récupérés et donc sur les seuils de détection du microorganisme. En effet, il est possible que l'ajout de ces substances puisse avoir diminué les prévalences dans les abattoirs au fil du temps et que la prévalence actuelle soit notablement moindre que celle rapportée dans des études antérieures alors que l'utilisation de ces substances était interdite ou beaucoup moins répandue. C'est d'ailleurs pourquoi, récemment, les autorités américaines (USDA) ont inclus dans leurs protocoles de détection l'ajout d'agents neutralisant afin d'atténuer l'effet potentiel des agents technologiques sur les taux de l'isolement.

#### **2.4.3 L'utilité de quantifier *Campylobacter* chez la volaille**

La quantification de *Campylobacter* chez les volailles devient très utile à partir du moment où des pays établissent un seuil pour la prévalence et le nombre de bactéries présentes dans le produit, ce qui se traduit par des critères microbiologiques réglementaires. De plus, la quantification des *Campylobacter* apparaît, pour plusieurs auteurs, une manière plus fiable de mesurer le risque associé à ce pathogène comparativement à une description qualitative qui elle ne fournit seulement qu'une réponse positive ou négative quant à la présence de la bactérie sur la viande ou bien dans un hôte vivant (37, 92). Puisque la bactérie ne se multiplie pas en dehors de l'intestin des oiseaux (14), cette quantification est plus directement associée à l'exposition que pour d'autres pathogènes où le niveau d'exposition peut tout aussi bien être dû à une croissance de la bactérie sur le produit lors d'un bris de la chaîne de froid.

En plus d'être utile pour la modélisation, la quantification de *Campylobacter* sert pour évaluer l'impact des différentes interventions mises en œuvre pour diminuer les charges de ce pathogène à travers la chaîne alimentaire. Cela permet aussi de faire émerger

de nouvelles connaissances sur la dispersion et la survie de la bactérie dans cette même chaîne de production. Comme évoqué précédemment, une réduction de deux logarithmes des concentrations de *Campylobacter jejuni* sur les carcasses de volaille apparaît une cible pertinente en santé publique (90). Ultimement, la quantification est jugée valable quel que soit les moyens employés pour maîtriser le pathogène dans la chaîne de production alimentaire (37, 93).

#### **2.4.4 Méthodes de quantification utilisées pour *Campylobacter***

##### **2.4.4.1 Énumération par culture directe**

La technique la plus utilisée pour quantifier *Campylobacter* est celle de la dilution en série de l'échantillon initial suivie d'une culture directe. Des échantillons prélevés sur des volailles sont alors dilués à différentes concentrations et ensemencés sur des milieux de cultures qui favorisent la croissance du pathogène que l'on veut énumérer, comme le milieu mCCDA (Modified Charcoal-Cefoperazone-Deoxycholate Agar) (94). Cette méthode a toutefois tendance à sous-estimer le risque associé à *Campylobacter* étant donné qu'elle ne permet pas de quantifier les bactéries viables mais non cultivables, lesquelles peuvent demeurer pathogène pour l'humain (95, 97). De plus, l'énumération par culture directe requiert un temps considérable, et n'est donc pas assez rapide pour fournir en temps réel l'information quant au niveau de la contamination des différents lots de poulets avant qu'ils soient abattus (94). En effet, le moment où l'on doit quantifier *Campylobacter* au sein des lots de volailles devrait idéalement être très rapproché du moment d'abattage si l'on veut obtenir des données représentatives concernant les charges bactériennes à l'intérieur de l'abattoir pour ces groupes d'oiseaux (94).

##### **2.4.4.2 La Polymerase Chain Reaction quantitative (qPCR)**

Pour compenser la lenteur de la culture directe, la technique impliquant une approche par PCR quantitative (qPCR), laquelle consiste à amplifier des fragments spécifiques d'ADN bactérien de manière exponentielle (98), peut être employée. Une des forces de cette méthode est la vitesse de réalisation des analyses quantitatives, plus grande que la méthode d'énumération par culture (94). Pour ce faire, l'ADN bactérien préalablement extrait des échantillons testés est dénaturé à une haute température, ce qui le sépare en deux brins simples d'ADN. L'étape de l'hybridation suit la dénaturation et

implique l'attachement des amorces correspondant aux gènes ciblés à des sections spécifiques de ces brins. Finalement, l'élongation se produit où la polymérase thermostable comble les sections entre les amorces en utilisant les bases azotées disponibles en solution. Plusieurs cycles se produisent ainsi et mènent à l'amplification de l'ADN (98). Un marqueur fluorescent s'intercalant uniquement dans de l'ADN double brin et ajouté à la réaction permet de déduire la quantité d'ADN amplifié (98, 99). La qPCR, bien que largement utilisée, n'est toutefois pas sans faille. En effet, l'une des faiblesses de cette approche est qu'elle ne distingue pas l'ADN des cellules vivantes et des cellules mortes alors que d'autre part, sa sensibilité est plus faible que la culture (8, 95, 100). Si cela peut s'avérer utile pour quantifier les cellules viables mais non cultivables de *Campylobacter* (101) qui conservent potentiellement leur pathogénicité envers l'humain (96, 97), cela peut aussi engendrer des résultats surestimant les concentrations réelles de bactéries vivantes dans les échantillons (95). Pour répondre à ce problème, la combinaison de la qPCR avec une substance nommée propidium monazide (PMA) peut être considérée (95, 100). En effet, le PMA ajouté aux échantillons de volailles permettrait, en combinaison avec la qPCR, de ne quantifier que l'ADN des bactéries vivantes. En effet, cette substance agit comme agent intercalant de l'ADN des cellules mortes, c'est-à-dire qu'il ne peut pénétrer que dans ces dernières, ce qui empêche par la suite l'amplification de cet ADN par PCR (94, 95, 100).

La technique de rep-PCR fut grandement utilisée pour la caractérisation de souches de nombreux agents pathogènes, incluant les isolats de *Campylobacter*. Cette technique est basée sur l'amplification de séquences répétitives du génome bactérien d'où le nom de rep-PCR. Sur la base des profils obtenus, on attribue un groupe génétique aux isolats qui possèdent des éléments répétitifs similaires. La technique aurait un pouvoir discriminant équivalent au PFGE avec une meilleure répétabilité (239). Une étude visant à décrire la distribution et la caractérisation moléculaire des différentes espèces de *Campylobacter* à différentes étapes d'abattage dans des abattoirs de volailles en Corée du Sud a démontré une capacité limitée à typer des espèces de *Campylobacter* (*jejuni*, *coli* et *lari*) à l'aide de la rep-PCR par l'observation d'une faible valeur d'indice de similarité de 47 espèces de *Campylobacter coli* (102).

## **2.5 Quels sont les outils de typage des souches de *Campylobacter* ?**

Lorsque l'on cherche à mieux comprendre l'importance relative de différentes sources de contamination, que ce soit à l'intérieur d'un abattoir ou encore lors d'une enquête épidémiologique, des méthodes de caractérisation des microorganismes peuvent être d'une grande utilité. L'utilisation de ces méthodes comporte toutefois différents défis pour un microorganisme tel que *Campylobacter*.

### **2.5.1 Particularité du génome de *Campylobacter***

Généralement, deux grandes catégories de méthodes de typage des microorganismes sont utilisées. En effet, les méthodes phénotypiques et génotypiques constituent deux avenues possibles pour caractériser le pathogène et peuvent même être utilisées en combinaison (103, 104). Certaines caractéristiques de *Campylobacter* font toutefois en sorte que son typage représente un défi comparativement à celui de d'autres microorganismes. Cette bactérie est en effet reconnue pour son polymorphisme génétique (42, 103), sa capacité à acquérir de l'ADN par transformation, ainsi que ses taux de mutations élevés. Ces caractéristiques sont en partie responsables de cette plasticité au niveau du génome qui est importante à prendre en considération dans le choix d'une méthode de typage (103, 105, 107).

### **2.5.2 Méthodes phénotypiques**

#### **2.5.2.1 Généralités**

Les méthodes de caractérisation phénotypiques se concentrent sur des aspects qui touchent à l'expression du génome. Leur utilisation sert souvent à la fois pour des fins d'identification de la bactérie et pour des fins épidémiologiques (108). Les tests de résistance aux antibiotiques, la caractérisation par des tests biochimiques et la sérotypie font partie des méthodes les plus couramment utilisées encore de nos jours (13, 110, 192)

#### **2.5.2.2 Description de certaines techniques phénotypiques et de leurs limites**

Les patrons de résistance à différents antibiotiques, ou antibiogrammes, sont fréquemment employés, presque toujours en combinaison avec d'autres méthodes phénotypiques et génotypiques, à la fois pour caractériser les diverses espèces de *Campylobacter*, mais également parce que la résistance aux antibiotiques représente une

caractéristique très importante du point de vue clinique et permet de mieux cibler les traitements (109, 237).

La version la plus communément utilisée de cette méthode consiste essentiellement à placer des disques imprégnés de différents antibiotiques sur une gélose ensemencée de bactéries et d'évaluer les zones d'inhibition de croissance. Selon le diamètre de la zone d'inhibition (ou l'absence de zone d'inhibition), on pourra déterminer le profil de résistance.

La sérotypie, qui se base essentiellement sur une réaction entre des anticorps et des antigènes de surface spécifiques, comme des lipopolysaccharides, se révèle une méthode simple et relativement accessible si l'on possède les banques d'antisérums nécessaires. Cette méthode permet souvent de distinguer différents isolats d'une même espèce bactérienne et est particulièrement utilisée pour les genres *Escherichia* et *Salmonella*, mais relativement peu pour *Campylobacter* (192).

Les profils biochimiques, tels qu'établis par une batterie de tests se basant sur l'utilisation de différents substrats reliés au métabolisme de la bactérie, servent à la fois pour l'identification au genre et à l'espèce des différents isolats et à des fins de caractérisation phénotypique lorsqu'ils sont utilisés en série. C'est le cas pour les tests miniaturisés comme les galeries de type API (<https://www.biomerieux-usa.com/clinical/api>). Toutefois, le pouvoir de discrimination de ces trois techniques, tout comme pour la majorité des méthodes phénotypiques, est assez faible (13, 110, 111). En effet, bien que les méthodes typant selon le phénotype se soient révélées utiles historiquement, leurs limites sont assez rapidement atteintes lorsqu'on porte attention à ce qu'on attend d'une méthode de caractérisation (110).

Entre autres, plus une méthode parvient à être discriminante à l'intérieur d'un phénotype ou d'un génotype, plus elle risque d'être utile à des fins épidémiologiques (103, 110). D'autres caractéristiques sont souvent requises pour se retrouver en présence d'une bonne méthode de caractérisation, telles que la reproductibilité des résultats, ainsi que la capacité à distinguer tous les isolats d'une bactérie (110, 113). Puisque les méthodes phénotypiques parviennent rarement à rencontrer ces critères (4, 13, 109, 110, 114), il n'est pas étonnant que les méthodes de typage génotypiques se soient révélées de plus en plus utiles et ont remplacées en bonne partie les méthodes phénotypiques qui sont toutefois

encore utilisées comme méthodes de discrimination préliminaires souvent au niveau de l'espèce bactérienne (13, 103).

### **2.5.3 Méthodes génotypiques**

#### **2.5.3.1 Généralités**

Les méthodes génotypiques ciblent quant à elles le génome bactérien (115). Les techniques les plus communes utilisées pour la caractérisation (typage) de *Campylobacter* sont les suivantes; les PCRs combinées à différentes méthodes de séquençage des amplicons, le Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) et le Whole genome sequencing (WGS) (13, 103).

#### **2.5.3.2 Techniques combinant la PCR et le séquençage des amplicons**

Plusieurs méthodes utilisent la PCR pour amplifier une ou des parties du génome, le plus souvent en combinaison avec des techniques de séquençage des amplicons (103). Nous avons décrit plus haut que la technique du rep-PCR possède un très bon pouvoir discriminant et permet le regroupement d'isolats. Par ailleurs le séquençage d'un gène codant une protéine de surface variable, comme celui codant pour le flagelle (SLST : *flaA*) a régulièrement été utilisé, le plus souvent comme méthode secondaire de typage (110). Toutefois, l'utilisation d'un gène unique pour la caractérisation d'un microorganisme s'avère insuffisamment discriminante, particulièrement chez *Campylobacter*, étant donné la plasticité de son génome (107). Si elle n'utilise qu'une portion minimale du génome, cette technique peut néanmoins être très utile lorsqu'on a besoin d'une étape de caractérisation supplémentaire pour un groupe de souches qui possèdent un profil génétique similaire à la suite du typage avec une autre méthode. Une autre technique associée à la PCR, souvent utilisée, est le multi locus sequence typing (MLST) (103). Des amorces ciblant des gènes conservés qui codent souvent pour des fonctions biochimiques de base (dits gènes de ménage) sont utilisées; les amplicons sont alors séquencés et une lettre est attribuée aux différents profils d'allèles obtenus. En faisant de même pour les 7 à 11 gènes ciblés généralement, on parvient à avoir un profil pour chacune des souches (13). Toutefois, puisque cette technique utilise des gènes conservés, celle-ci possède un pouvoir discriminant limité (103). Par contre, étant donné la plasticité du génome de

*Campylobacter*, elle s'est révélée très utile comme première méthode de discrimination afin de limiter le nombre d'isolats à typer par des méthodes plus performantes. Finalement, le comparative genome fingertyping (CGF), plus récemment mis au point, apparaît attrayant puisque son pouvoir de discrimination est plus grand que celui du MLST, que ses coûts seraient moindres et que ses résultats seraient rapidement générés (103). Cette méthode, issue de l'analyse par séquence de génomes entiers de nombreux *Campylobacter*, cible une quarantaine d'endroits sur le génome qui sont reconnus pour la variabilité de leur présence (116). Des PCRs multiplex peuvent alors cibler ces gènes précis, ce qui se traduira par une utilisation de différentes combinaisons quant à la présence ou d'absence des gènes ciblés (116).

### **2.5.3.3 Technique de Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)**

La technique du PFGE repose sur l'utilisation d'enzymes de restriction qui coupent le génome à un nombre restreint d'endroits (13). Les enzymes les plus utilisés pour *Campylobacter* sont *SmaI*, *KpnI*, *SalI* et *ApaI* (103, 117, 119). La migration de ces gros fragments d'ADN est ensuite réalisée sur gel d'agarose dans un champ électrique d'orientation variable (13, 103, 120). Le patron ainsi obtenu est « typique » de la souche. Cette technique est considérée comme très discriminante et a été utilisée à maintes reprises avec succès pour caractériser *Campylobacter* (110, 121, 123). Par contre, selon le contexte spatio-temporel, elle peut parfois être trop discriminante et il est alors difficile de faire des regroupements d'isolats lors d'études regroupant des isolats provenant de plusieurs régions géographiques ou réalisées sur une longue période de temps. Elle est par contre plutôt laborieuse et sa standardisation est plutôt difficile (103, 124). De plus, cette méthode est nettement moins utilisée depuis l'avènement du WGS.

### **2.5.3.4 Séquençage de génome entier**

Le fait de pouvoir séquencer complètement le génome représente la méthode parfaite afin de distinguer tous les isolats d'une bactérie (103). L'utilisation de la séquence complète du génome de la bactérie permet également d'effectuer des études phylogénétiques, qui établissent la parenté génétique des différentes souches de *Campylobacter* (103). Des difficultés liées à cette technique sont toutefois encore significatives. En effet, la gestion des données générées pour les différentes souches et la

comparaison de génomes entiers représentent des défis importants pour la majorité des chercheurs (125). Les analyses se font en général dans des laboratoires références et peuvent prendre un certain temps. Ces considérations font en sorte qu'à l'heure actuelle, on utilise souvent cette technique qu'en deuxième approche après l'utilisation d'une première méthode moins discriminante qui permet de distinguer les isolats de manière préliminaire (103).

Les différentes méthodes de typage épidémiologique, particulièrement le typage génétique, permettent une meilleure compréhension de la distribution des souches de *Campylobacter*. Elles peuvent permettre, par exemple, lors d'enquêtes épidémiologiques, d'identifier un établissement impliqué dans des toxi-infections d'origine alimentaire lorsqu'on retrouve le même génotype dans l'aliment consommé et chez les personnes qui ont été malades. Ces méthodes peuvent également être utilisées afin de mieux comprendre la distribution et la persistance des pathogènes dans des établissements d'abattage et de transformation.

## **2.6 Contamination de l'environnement de production par *Campylobacter***

### **2.6.1 Survie de *Campylobacter* dans l'environnement des établissements d'abattage et de transformation de la volaille**

Les diverses espèces de *Campylobacter* ont la capacité de persister d'assez longues périodes de temps à l'extérieur d'un hôte puisqu'elles sont capables de s'adapter aux stress environnementaux (145). Le pathogène peut en effet réagir favorablement pour sa survie à des changements de pH, d'oxygène disponible dans le milieu auquel il est exposé, ainsi qu'à des variations de température (4). De plus, cette survie des *Campylobacter* à l'extérieur d'un hôte peut aussi s'expliquer en partie par leur capacité de passer à un état différent lorsqu'elles se retrouvent dans l'environnement. En effet, les *Campylobacter* adoptent une configuration cellulaire viable mais non cultivable lorsqu'elles se retrouvent confrontées aux conditions adverses présentes à l'extérieur d'un hôte (72). Cette conformation, aussi infectieuse pour l'être humain (96, 97), peut rendre difficile la détection de *Campylobacter jejuni* (146). De plus, ce stade passif n'empêche pas le pathogène de s'attacher facilement aux surfaces (11, 146, 147) et permet la réintroduction



de la bactérie sur les produits de la chaîne de production alimentaire (146). En outre, de par la grande variabilité génétique de *Campylobacter*, les mécanismes par lesquels *Campylobacter jejuni* résiste aux stress auxquels il fait face peuvent même varier à l'intérieur d'un même biotype (4). *Campylobacter* peut donc demeurer vivant dans l'environnement de l'abattoir même après que des procédures désinfectantes aient été réalisées sur les surfaces des équipements de découpe (148). Les procédures de nettoyage ne sont donc pas suffisantes dans certains cas (37, 149). De plus, il est aussi possible de détecter le pathogène sur des surfaces où la viande de poulet est préparée et ce, 24 heures après les procédures de préparation (4). Alors que le processus d'adhésion de *Campylobacter* aux surfaces est complexe et n'est pas encore très bien compris à ce jour, certaines structures ont toutefois été identifiées comme des clés dans le processus d'adhésion : les flagelles, les polysaccharides extracellulaires et les protéines membranaires, entre autres (147). D'autres paramètres comme la rugosité des surfaces et leur hydrophobicité sont aussi impliqués dans le processus d'adhésion (150). La présence de jus de poulet sur une surface favoriserait également l'adhérence de la bactérie en offrant aux bactéries des ponts, probablement de nature protéique, pour s'attacher indirectement à la surface (150).

Les travailleurs d'abattoir peuvent aussi contribuer à la propagation de *Campylobacter* durant les procédures de transformation et le pathogène peut également être retrouvé dans l'eau utilisée pour laver les carcasses (36). En fait, plusieurs études réalisées dans d'autres pays indiquent que la bactérie peut même être isolée à partir d'échantillons environnementaux dans chacune des étapes de transformation à l'abattoir (151). Cela a pour conséquence d'engendrer de la contamination croisée entre les différents lots de carcasses lorsque l'un d'eux est positif à la bactérie (33, 37, 51, 88, 152, 154). D'ailleurs, le moment de la journée où les volailles sont abattues influence les comptages totaux de *Campylobacter* sur les carcasses. En effet, les derniers groupes d'oiseaux prévus à l'horaire de l'abattoir sont souvent ceux qui sont les plus contaminés aux points d'échantillonnage se situant après la plumaison et à la suite de l'éviscération (49). De plus, la diversité génétique des isolats de *Campylobacter* présents sur les carcasses d'un groupe précis de volailles est accentuée par les procédures de transformation en abattoir, supportant l'affirmation précédente (155). Ainsi, la prévalence des carcasses contaminées

par le pathogène dépasse parfois celle des oiseaux vivants infectés par *Campylobacter* (37). Somme toute, ces différentes observations renforcent l'hypothèse que la contamination croisée existe bel et bien en abattoir et que, conséquemment, la survie de *Campylobacter* dans l'usine de transformation et la contamination croisée qui en résulte est une réalité.

### **2.6.2 Capacité de *Campylobacter* à coloniser les ateliers de découpe**

Même si la survie de *Campylobacter* dans l'atelier d'abattage et de transformation de la volaille ne fait plus de doute, cet organisme thermophile ne peut pas croître dans des environnements où la température est plus basse que 30 °C (11, 14). De plus, ce pathogène est vulnérable face aux stress environnementaux et ceux générés par le procédé de transformation (145). En effet, le stress osmotique et les variations de la température, ainsi que du pH sont nocives pour cet organisme bactérien (11, 145). La capacité du pathogène à s'établir dans l'environnement dépend donc beaucoup de ses mécanismes d'adaptation aux stress (144, 145), de son aptitude à tirer profit des biofilms mixtes, ainsi que celle d'entrer dans le stade viable non cultivable et de s'associer à des souillures. Plus d'études doivent toutefois éclaircir ces mécanismes dans des milieux de transformation alimentaire (11). De plus, la persistance des souches dans un l'environnement de découpe n'est toujours pas observée.

### **2.7 Cibles de positivité pour limiter l'infection chez l'être humain**

Étant donné ce qui précède, il devient intéressant d'explorer les seuils ou cibles de positivité que l'on devrait viser dans la perspective de réduire l'exposition chez l'humain. Ceci peut être considéré de deux manières. D'abord, en portant attention à la prévalence au niveau des carcasses. Deuxièmement, en regardant le niveau de contamination, c'est-à-dire la charge bactérienne ou le nombre de bactéries par carcasse contaminée.

Si l'on s'attarde à la prévalence, il faut considérer que contrairement aux autres entérobactéries qui peuvent profiter d'un bris de la chaîne de froid pour augmenter leur potentiel d'infection, *Campylobacter* ne croît que très peu suite à la mort de l'animal (14). Cela suggère que la diminution de la prévalence au niveau des carcasses se répercutera directement par une réduction de l'exposition. Même si, comme nous le verrons plus loin, certains auteurs, à la lumière de modélisations réalisées dans un contexte européen (90),

avancent que la diminution des cas passe principalement par une diminution du nombre de bactéries, il est permis de croire, étant donné le nombre peu élevé de bactéries nécessaire pour causer la maladie, que la diminution du nombre de carcasses positives est aussi d'une grande importance. Cependant, la prévalence de *Campylobacter* sur les carcasses de volaille au Québec dans les plus récentes études (187) s'est élevée. Les facteurs de risque, tant à la ferme qu'en abattoir, sont mal connus dans le contexte canadien, ce qui motive notamment la présente étude.

En Amérique du Nord, certaines autorités gouvernementales, en se basant sur le principe général à l'effet que l'amélioration des critères d'hygiène devrait se répercuter par une diminution des taux de contamination et une diminution de l'exposition, ont, par le passé, mis en place des programmes de contrôle en fixant des objectifs ciblés des taux de contamination des carcasses. Par exemple, *The Food Safety Inspection Service* (FSIS) des États-Unis d'Amérique a notamment mis en place une politique visant une réduction de la prévalence de *Salmonella*. Le FSIS a aussi fixé des seuils maximums de positivité des carcasses et les a réduits avec le temps (passant de 20 à 9,8% pour les carcasses de poulet) pour assurer une diminution de la prévalence dans le produit fini. Cet organisme a également mis en place, en différentes phases au fil des années, un programme de réduction de la prévalence de *Campylobacter* dans le produit fini. Lorsque la prévalence observée dépassait la prévalence maximale, un plan d'intervention devait être mis en place. Des prévalences maximales ont aussi été fixées pour différents types de produits transformés comme le poulet haché (25%) et le dindon entier (7,1%) ou haché (13,5%). Plus récemment, une notion de charge bactérienne a été introduite dans la réglementation (230, 240) en se servant du volume de rinçât pour estimer ce qui constitue une carcasse « fortement » contaminée. Cette approche possède donc le bénéfice de considérer à la fois les taux (prévalence) et la charge (quantité) de contamination des carcasses.

D'autres chercheurs d'Europe se sont particulièrement intéressés, en plus de la prévalence dans le produit fini, au niveau de contamination de celui-ci. Cette approche se base sur le principe que si l'on met en place des mesures de gestion de la contamination, toujours basées sur l'amélioration du procédé de production au niveau de l'hygiène, il sera également possible de réduire le nombre de bactéries par carcasse et donc d'être en-dessous de la dose minimale infectieuse lorsque le produit final sera en contact avec le

consommateur. En effet, il a été suggéré qu'une diminution de 1 à 2 logarithmes des concentrations de *Campylobacter* sur les carcasses des poulets à griller équivaldrait à une atténuation considérable des occurrences de campylobactérioses humaines (88, 89). Par exemple, une étude danoise a estimé que la diminution de 2 logarithmes de *Campylobacter jejuni* sur les carcasses pourrait équivaloir à 30 fois moins d'infections humaines reliées à la consommation de viande poulet à griller contaminée (90).

Ainsi, selon l'instruction technique DGAL/SDSSA/2018-23 du Ministère Français de l'Agriculture et de l'Alimentation, émise le 09/01/2018, un décompte maximal de 1000 UFCs/g de produit (analyses à partir de cous de poulets) est admise, en plus de devoir respecter un nombre maximal de 20 échantillons positifs sur une série de 50, dont cinq doivent être prélevés chaque semaine. Cette notion d'une charge maximale par unité de produit est importante et est directement reliée à la méthodologie pour isoler et quantifier les *Campylobacter*. En effet, la possibilité de trouver des échantillons positifs sera modifiée selon la méthode et la matrice choisie. Par exemple, au Canada et aux États-Unis, le fait d'utiliser des liquides de rinçage des carcasses induit *de facto* un effet de dilution, puisque seule une fraction de l'échantillon est récupérée, diminuant par le fait même la quantité de bactéries récupérées par échantillon.

Finalement, plusieurs tentatives visant à identifier et contrôler les facteurs de risque reliés à *Campylobacter* à la ferme ont été réalisées, sans toutefois avoir un impact significatif (19, 58, 91). Même si ceci est encore l'objet de débats parmi les experts, plusieurs auteurs suggèrent qu'il est donc plus efficace de concentrer les efforts de décontamination au niveau de la transformation des carcasses en abattoir (89).

## **2.8 Problématique générale et objectifs**

Aucune étude systématique visant à décrire quantitativement et qualitativement la distribution et les sources de contamination par *Campylobacter* n'a été réalisée à l'intérieur des établissements d'abattage et de transformation de volaille québécois. On peut émettre l'hypothèse qu'une meilleure compréhension des niveaux de contamination des carcasses et de la distribution de *Campylobacter* dans l'environnement lors des différentes étapes d'abattage permettrait de mieux contrôler la contamination du poulet à griller par ce pathogène. Ainsi, les objectifs de notre étude étaient de décrire la distribution de

*Campylobacter* lors des différentes étapes de production dans deux établissements de transformation québécois et de déterminer si les moyens de gestion du risque mis en place au moment de l'étude étaient suffisants pour prévenir la contamination du produit de viande destiné au consommateur.

## **CHAPITRE 3. MATÉRIEL ET MÉTHODES**

### **3.1 Échantillonnage**

Un total de 379 poulets de chair de race Cobb ou Ross provenant de deux abattoirs de poulets à griller au Québec, ici nommés A et B, ont été échantillonnés sur une période de 6 mois, du 2 février au 6 juillet 2017, de façon à couvrir trois saisons, soit l'hiver, le printemps et l'été (Tableau 4). Les deux abattoirs ont été sélectionnés pour leur proximité géographique et à la demande de l'industrie, dans un projet de collaboration visant à améliorer la salubrité des établissements de transformation sélectionnés. Les visites à chaque abattoir pour échantillonnage ont été planifiées selon le nombre d'éleveurs à l'ordre du jour, avec un minimum de cinq éleveurs par journée d'échantillonnage. Seuls les oiseaux provenant du dernier tiers du premier camion de transport assigné pour chaque éleveur ont été échantillonnés. Un total de 79 lots de poulets de chair a été échantillonné, à raison d'un lot par éleveur par jour, ce qui correspond donc à 79 éleveurs différents de poulets de chair. À chaque visite, différentes étapes du procédé d'abattage des volailles ont été échantillonnées pour chacun des lots, dans le but d'identifier les étapes les plus critiques quant à la contamination des carcasses par *Campylobacter*.

#### **3.1.1 Échantillonnage des volailles en abattoir**

Chaque carcasse de poulet de chair fut décrochée de la ligne d'abattage pour être introduite dans un sac stérile (Fisher Scientific, Ottawa, Nasco Poultry Rinse Sample Bag). Un volume de 550 ml d'eau peptonée stérile furent ajoutés dans le sac. Chaque sac fut secoué vigoureusement pendant 1 minute. L'eau peptonée fut ensuite entreposée dans une glacière à 0°C pour être apportée au laboratoire pour analyses. Les échantillons furent conservés à basse température pendant la nuit et analysés le lendemain de chaque visite en abattoir.

#### **3.1.2 Étapes du procédé d'abattage échantillonnées pour les liquides de rinçage de carcasses.**

Pour chacun des lots de poulets de chair échantillonnés, les liquides de rinçage de carcasses furent récoltés à quatre grandes étapes de la ligne d'abattage: 1- la saignée, 2- le transfert entre le département d'abattage et d'éviscération, 3- l'éviscération et 4- le refroidissement. Pour le refroidissement des poulets à griller, deux modalités ont été

échantillonnées par abattoir lorsque disponibles, 1- le refroidissement à l'eau et 2- le refroidissement en chambre froide.

### **3.2 Points d'échantillonnage et caractéristiques des différents abattoirs.**

#### **3.2.1 Points d'échantillonnage de l'abattoir A**

Pour l'abattoir A, la première volaille de chacun des lots à l'étude a été échantillonnée directement après la saignée. Pour des questions de sécurité, l'employé de l'abattoir responsable de la saignée des volailles fournissait lui-même l'oiseau en le décrochant de la chaîne d'abattage. Des gants propres furent fournis à cet employé entre chacun des lots échantillonnés. L'oiseau suivant, échantillonné au lieu de transfert entre les départements d'abattage et d'éviscération, a été prélevé au département d'éviscération, à la sortie de la plumeuse et juste au-dessus d'un convoyeur servant à récupérer les volailles chutant en bas de la chaîne d'abattage. Ce deuxième oiseau a été échantillonné avant d'être aspergé par la première douche à l'eau de la chaîne. Le troisième oiseau a été échantillonné à la sortie de l'éviscérateur, avant d'être aspergé par les autres douches présentes sur la ligne de transformation. Finalement, les derniers liquides de rinçage de carcasse furent prélevés à partir des carcasses circulant sur un convoyeur à la sortie du refroidisseur à l'eau ou sur la ligne de transformation à l'intérieur de la chambre froide pour certains lots spécifiques de volailles<sup>1</sup> pour lesquels des carcasses refroidies à l'air étaient disponibles. Les lots refroidis à l'air en chambre froide furent uniquement refroidis par cette modalité et non pas par une combinaison des deux modes de refroidissement. Les caractéristiques de l'abattoir A sont résumées dans le tableau 1.

#### **3.2.2 Points d'échantillonnage de l'abattoir B**

Pour l'abattoir B, l'ensemble des volailles furent échantillonnées comme pour l'abattoir A. Les caractéristiques de l'abattoir B sont résumées dans le tableau 1.

---

<sup>1</sup> Certains lots de volailles furent refroidis à l'aide de la chambre froide pour obtenir un produit final plus sec, mais ce ne fut pas le cas pour tous les lots.



**Tableau 1.** Caractéristiques des abattoirs A et B

Paramètres de transformation et d'assainissement de chaque abattoir		
Paramètres	Abattoir A	Abattoir B
Nombre moyen d'oiseaux abattus par jour	180 000	80 000
Vitesse de ligne	225 oiseaux/min	230 oiseaux/min
Température d'échaudage	De 53.3 à 57.2 (°C)	De 50 à 61.7 (°C)
Temps d'échaudage	1 min 30s	1 min 20 s
Temps de plumage	35 secondes	26 secondes
Nombre de douches à carcasses	6	Entre 4 (en immersion) et 9 (en chambre froide)
Assainisseur de carcasses	Ammonium quaternaire <sup>1</sup>	Acide peracétique
Type de refroidisseur à l'eau	Non à contre-courant	À contre-courant
Température du refroidisseur à l'eau	Entre 1 et 3 (°C)	1 (°C)
Temps de refroidissement à l'eau	1h30 min	1h50 min
Température de la chambre froide	-2 à -3 (°C)	0,6 (°C)
Temps de refroidissement en chambre froide	1h30 min	1h47 min
Assainisseur(s) d'usine	Acides organiques et inorganiques, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Ammonium quaternaire

1 : L'ammonium quaternaire constituait en effet pour l'abattoir A un assainisseur de carcasse, mais seulement pour la chambre froide, ce n'était pas le cas pour le refroidisseur à l'eau.

### 3.3 Recherche et culture de *Campylobacter* dans les liquides de rinçage des carcasses

La méthode utilisée fut basée sur une contamination attendue élevée des carcasses, en se basant sur différentes études portant sur le sujet qui indiquaient qu'une étape d'enrichissement ne serait pas nécessaire pas détecter les carcasses positives à *Campylobacter* (187,195). Un échantillon de 15 ml a été prélevé en duplicata des 550 ml d'eau peptonée recueillis après le rinçage, et transféré dans des tubes coniques de 15 ml (Sarstedt Inc Tube 15 ml, ThermoFisher Scientific, Ottawa, ON, Canada) Une première centrifugation fut réalisée à 300 g (ThermoFisher Sorvall Legend XTR) pendant 5 minutes. Pour obtenir le culot bactérien, une centrifugation de 25 minutes à une vitesse de rotation de 4500 g a été exécutée. Pour chaque échantillon, deux tubes coniques de 15 ml contenant les culots bactériens furent donc obtenus. Un premier culot a été congelé à -80°C dans un milieu de congélation contenant 20% de glycérol (1mL). Le second culot bactérien contenu dans le deuxième tube conique a été homogénéisé dans 100 µL 0,85% NaCl, puis

ensemencé directement sur gélose Modified Charcoal-Cefoperozone-Deoxycholate Agar (mCCDA) et incubé à 42° C pendant 48 heures, en milieu microaérobie à l'aide de sachets générateurs de conditions microaérobies (CampyGen, Oxoid, ThermoFisher Scientific, Ottawa, ON, Canada). Seuls les échantillons suspectés positifs à *Campylobacter spp.* ont été sélectionnés pour validation par PCR.

### 3.4 Échantillonnage de l'environnement des abattoirs

Différentes surfaces de l'environnement de chaque abattoir ont été échantillonnées à l'aide de lingettes préparées au laboratoire et placées dans un sac stérile de marque WHIRL-PAK<sup>MD</sup> (Fisher Scientific, Ottawa, Nasco). Un tampon contenant du liquide neutralisant<sup>2</sup> fut ajouté stérilement à chaque lingette avant chaque échantillonnage, dans le but de neutraliser l'effet antibactérien des produits assainissants utilisés lors du lavage et de la désinfection. Une surface de 1800 cm<sup>2</sup> fut échantillonnée avec chaque lingette, à l'aide de gants propres à usage unique. Chaque sac contenant l'échantillon prélevé par la lingette fut placé sur glace jusqu'à son analyse au laboratoire. Les endroits d'échantillonnage furent les mêmes pour chacun des abattoirs. Tout d'abord, le plexiglas de la plumeuse fut échantillonné dans le département d'abattage. En deuxième lieu, la surface du convoyeur servant au transfert entre les départements d'abattage et d'éviscération fut prélevée. Pour le département de l'éviscération, le plexiglass de l'éviscérateur, le plancher de la section de l'éviscération ainsi que le convoyeur acheminant les carcasses vers le refroidisseur à l'eau furent échantillonnés. Finalement, le convoyeur acheminant les carcasses vers le département d'emballage, situé immédiatement après le refroidisseur à l'eau, ainsi qu'une surface en acier inoxydable au département d'emballage faisaient partie des surfaces d'environnement échantillonnées pour analyse. Au total, 224 échantillons d'environnement ont été prélevés. Les échantillons ont été prélevés en deux temps; après les activités de nettoyage et assainissement, juste avant le début des opérations, puis à la fin des activités d'abattage, après les opérations.

---

<sup>2</sup> Le neutralisant consistait en un bouillon coloré de pourpre de Bromocresol 3,9% selon la recette de Difco<sup>MD</sup> [http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco\\_BBL/268610.pdf](http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco_BBL/268610.pdf).

### **3.5 Recherche et culture de *Campylobacter* dans les échantillons provenant de l'environnement des abattoirs**

Les échantillons environnementaux ont été analysés dans le but de constituer une collection de souches de *Campylobacter* représentative de ces environnements de production et d'effectuer ensuite une comparaison entre les souches retrouvées dans l'environnement des abattoirs et celles contaminant les carcasses. Pour ce faire, chaque échantillon fut traité de la même manière. À la flamme, 25 ml d'un milieu d'enrichissement<sup>3</sup> préalablement préparé fut ajouté à chaque sac WHIRL-PAK<sup>MD</sup> (Fisher Scientific, Ottawa, Nasco) contenant la lingette ayant servi à l'échantillonnage des surfaces d'environnement des abattoirs. Chacun des échantillons fut ensuite homogénéisé au Stomacher<sup>MD</sup> (Canadawide Scientific, Nasco, Canada) puis le liquide homogénéisé fut récolté par Pipet-Aid<sup>MD</sup> (ThermoFisher Scientific, Ottawa) et placé à l'intérieur d'une flasque pour culture cellulaire de marque Sarstedt (ThermoFisher Scientific, Ottawa, ON, Canada). Les échantillons furent incubés à une température de 42° C pendant 48 heures, en milieu microaérobie à l'aide de sachets générateurs d'atmosphères de la marque CampyGen<sup>MD</sup> du laboratoire Oxoid. L'utilisation des bouchons perméables des flasques de culture cellulaire avait l'avantage de permettre l'exposition de l'échantillon à l'atmosphère microaérophile générée, essentielle pour la croissance de *Campylobacter*. Après homogénéisation, 100 µL de la culture furent transférés par étalement sur gélose sélective *mCCDA* et incubés de nouveau dans les mêmes conditions. À la lecture des géloses, 48 heures plus tard, les isolats présumés positifs ou considérés suspects au regard de la typicité des colonies furent congelés dans un milieu à 20% de glycérol pour future analyse par PCR.

### **3.6 Extraction de l'ADN des échantillons positifs sur culture**

Une extraction au Chelex 10% (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) dans un tampon phosphate salin (Phosphate-buffered saline; PBS) fut réalisée sur les isolats suspectés positifs à la culture. Un volume de 100 µL de Chelex 6% ou 10% fut utilisé pour un

---

<sup>3</sup> Le milieu d'enrichissement était constitué de bouillon Bolton, auquel furent ajoutés des suppléments sélectifs pour *Campylobacter*, contenant 4 antibiotiques : de la vancomycine, du cefoperazone, du triméthoprim ainsi que de la natamycine. (C.V.T.N, X132, Lab M)

maximum de dix colonies de chacun des isolats en culture pure présumées *Campylobacter* et ce par échantillon. Les tubes Eppendorfs furent chauffés à 90°C pendant 15 minutes. Finalement, les échantillons furent centrifugés à une vitesse de 14000 rpm pendant cinq minutes et le surnageant fut conservé pour l'analyse.

### 3.7 Confirmation du statut des échantillons par PCR et électrophorèse

Pour chaque échantillon positif à la culture classique, 1 µL d'ADN bactérien provenant des colonies suspectes fut transféré dans une solution maîtresse pour PCR. Cette préparation contenait : 11,8 µL d'eau distillée stérile, 2,5 µL de liquide tampon, 0,5 µL d'acides nucléiques de l'isolat à tester à une concentration de 10nM, 2,5 µL de MgSO<sub>4</sub> à une concentration de 20nM, 2 µL d'amorces (voir tableau 2) pour *Campylobacter jejuni* à concentration de 10 µM, 0,5 µL d'amorces pour *Campylobacter coli* à concentration de 10 µM, 0,75 µL d'amorces ciblant la région hypervariable V4 de l'ARN ribosomal 16S (*Campylobacter spp.*) à concentration de 10 µM et une Taq polymérase (Taq Polymerase M0267x, New England Biolabs, Ontario) à concentration de 5 unités par µL. Les deux sens du brin d'ADN étaient inclus pour chacune des amorces employées. (Forward et Reverse). Le cycle initial du PCR réalisé à l'aide d'un appareil LightCycler<sup>MD</sup> 96 (Roche diagnostics) fut effectué à 95 °C pendant 10 minutes, suivi de 35 cycles. L'étape de dénaturation de l'ADN fut réalisée à 95°C pendant 30 secondes, l'hybridation à 55°C pendant 20 secondes et l'élongation à 72°C pendant 60 secondes suivis d'une élongation finale à 72°C pendant 10 minutes avant l'analyse de leur statut. La confirmation de la positivité des échantillons fut réalisée à l'aide d'un gel d'agarose 1,2%, dans lequel circulait un courant de 100 Volt sur une période d'une heure. L'agent révélant la présence d'ADN utilisé fut le SYBR Safe<sup>MD</sup> DNA Gel Stain (Invitrogen, Burlington, Canada).

**Tableau 2.** Séquence des amorces utilisées pour la PCR

Séquence (5' to 3')	Amorce
ggatgacactttcgggagc	C412F_16S
cattgtagcacgtgltgc	C1228R_16S
ggatgatlttctacaaagcgag	CC18F_coli
ataaaagactatcgtcgcgtg	CC519R_coli
caataaagttagaggtagaatgt	C1_jejuni
ccataagcactagctagctgat	C3_jejuni

### 3.7 Analyse statistique des résultats

D'une manière générale, deux approches ont été utilisées pour vérifier l'association entre le statut des carcasses (positif/négatif) ou des lingettes environnementales et les différentes variables que nous voulions étudier, comme par exemple, l'étape de l'abattage ou le mois d'échantillonnage. Puisque les mesures se sont effectuées de manière répétées dans le temps pour les 2 abattoirs, nous avons utilisé une régression logistique longitudinale (pour mesures répétées) pour vérifier, dans un premier temps, une possible association entre la présence de *Campylobacter* sur les carcasses (les deux abattoirs étant regroupés) et le mois d'échantillonnage<sup>4</sup>. Puisque le nombre d'échantillons par mois était limité, nous avons aussi vérifié une possible association avec des strates (ou périodes) de 2 mois. Ainsi, pour la variable « période d'échantillonnage », trois classes (classe 1 : mois 2 et 3, classe 2 : mois 4 et 5, classe 3 : mois 6 et 7) ont été constituées. Les mois ont été assignés selon le mois correspondant sur le calendrier. Ainsi, le mois No.2 correspond au mois de février, c'est-à-dire au premier mois d'échantillonnage et le mois No.7 au mois de juillet, donc au dernier mois d'échantillonnage. Les classes de mois ont été donc été réalisées afin d'améliorer la puissance statistique des résultats et afin de comparer également les différentes saisons échantillonnées pour l'année de collecte des échantillons.

La deuxième approche employée pour vérifier l'association entre la présence de la bactérie sur les carcasses et les différentes variables étudiées (étape d'abattage ou mois d'échantillonnage) est l'utilisation du test de Cochran-Mantel-Hansezal (CMH). Ce test compare les rapports de cote de plusieurs variables et effectue à la fois, sur plusieurs tables « deux par deux », des tests d'indépendance pour différentes variables stratifiées, comme c'est le cas dans notre étude. Des contrastes ont donc été réalisés entre les différentes catégories pour produire les rapports de cote et les valeurs-p. Comme il y avait plusieurs catégories à l'étude, soit les étapes d'abattage ou le mois de l'année échantillonné, un ajustement séquentiel de Benjamini-Hochberg a été ajouté à l'analyse pour éviter de faire des associations qui seraient générées « par hasard » étant donné le nombre élevé d'associations possibles.

---

<sup>4</sup> C'est-à-dire les résultats présentés dans le tableau 5.

La même approche a été utilisée pour les échantillons environnementaux<sup>5</sup>. En ce qui a trait à l'analyse de la présence de *Campylobacter* dans les échantillons d'environnement en fonction du mois d'échantillonnage (strates de 1 ou 2 mois), du statut des carcasses (strates en lien avec le rang du lot abattu de la journée) ou du type de surface, le test d'association CMH a également été utilisée.

Aussi, pour analyser l'association entre la positivité des carcasses et des échantillons environnementaux, le test CMH a de nouveau été utilisé. Ce test a été réalisé en considérant chaque étape de transformation des carcasses, cette fois en rapport avec chaque abattoir compte tenu que les données pour un même abattoir ne sont probablement pas indépendantes dans le temps et propres à chaque abattoir. En effet, les caractéristiques propres à un abattoir, comme le type de refroidissement, les agents technologiques utilisés, les concentrations de ces agents et la fréquence des assainissements nous apparaissaient plutôt différentes d'un abattoir à l'autre et même de nature à varier dans le temps pour le même abattoir.

---

<sup>5</sup> C'est-à-dire pour les résultats présentés au tableau 8

## **CHAPITRE 4. RÉSULTATS**

#### 4.1- Description des données

Un total de 16 visites (8 par abattoir) a été effectué pour les deux abattoirs, A et B, sur une période de six mois, entre le 2 février 2017 et le 6 juillet 2017. Entre 18 et 25 échantillons de liquide de rinçage de carcasses par visite ont pu être prélevés pour chacune des visites, pour un total de 379 carcasses. Pour l'abattoir A, 40 lots ont été échantillonnés, tandis que ce nombre fut de 39 pour l'abattoir B. Pour le nombre de carcasses échantillonnées, il fut de 200 pour l'abattoir A et de 179 pour l'abattoir B. En ce qui concerne l'environnement d'abattage, 14 échantillons de lingettes par visite furent prélevés, pour un total de 224 lingettes. Ainsi, ce sont 112 lingettes qui furent prélevées pendant les opérations de transformation des volailles, tandis que 112 furent échantillonnées avant le début des opérations, immédiatement après les procédures de lavage et désinfection des abattoirs. Ainsi, 56 lingettes par abattoir pour chaque modalité furent prélevées.

Les tableaux 3 à 8 présentent les principaux résultats obtenus et les analyses statistiques reliées.

**Tableau 3.** Nombre total de carcasses positives à *Campylobacter* (PCR+) vs nombre de carcasses échantillonnées aux différentes étapes d'abattage dans deux abattoirs de volaille au Québec

Étapes	Abattoir A		Abattoir B	
	N (40)	%	N (39)	%
Saignée	7	17.5	10	25.6
Transfert chaînes	3	7.5	4	10.2
Éviscération	3	7.5	5	12.5
Refroidissement à l'eau	1	2.5	2	5.1
Refroidissement à l'air	0 <sup>6</sup>	0	0 <sup>6</sup>	0

6 : Un nombre de 23 volailles a été échantillonné dans la chambre froide, puisque ce ne sont pas tous les éleveurs qui utilisaient cette méthode de refroidissement.

Le tableau 3 rapporte les résultats associés à la positivité des liquides de rinçage de carcasses aux différentes étapes. Il est important de noter que les oiseaux échantillonnés après le refroidissement à l'air (n=23) se sont tous révélés négatifs pour chacun des deux abattoirs. Le nombre de carcasses positives est plus élevé pour les premières étapes du procédé d'abattage. Il diminue à l'étape du transfert des oiseaux entre les lignes d'abattage et d'éviscération, puis reste plutôt stable lors de l'éviscération et devient très faible à la fin



de la chaîne d'abattage après le refroidissement. Toutefois, ces résultats ne sont pas statistiquement significatifs.

**Tableau 4.** Nombre d'échantillons positifs (%) à *Campylobacter* (PCR +) aux différentes étapes d'abattage par date d'échantillonnage dans deux abattoirs de volaille au Québec

Mois No	Date 2017	Étape	Abattoir A		Abattoir B	
			Nb éch.	Positif (%)	Nb éch.	Positif (%)
2	2 février	Total	25	2 (8.0)		
		Saignée				
		Transfert		1		
		Éviscération		1		
		Refroid eau				
		Refroid air				
	9 février	Total	25	2 (8.0)		
		Saignée		1		
		Transfert		1		
		Éviscération				
		Refroid eau				
		Refroid air				
3	21 mars	Total			24	3 (12.5)
		Saignée				2
		Transfert				
		Éviscération				1
		Refroid eau				
		Refroid air				
	24 mars	Total			25	3 (12.0)
		Saignée				1
		Transfert				1
		Éviscération				1
		Refroid eau				
		Refroid air				
	29 mars	Total	25	0 (0)		
		Saignée				
		Transfert				
		Éviscération				
		Refroid eau				
		Refroid air				

---

4	6 avril	Total			23	0 (0)
		Saignée				
		Transfert				
		Éviscération				
		Refroid eau				
		Refroid air				
	20 avril	Total	25	0 (0)		
		Saignée				
		Transfert				
		Éviscération				
		Refroid eau				
		Refroid air				
	27 avril	Total			23	0 (0)
		Saignée				
		Transfert				
		Éviscération				
		Refroid eau				
		Refroid air				
5	11 mai	Total	25	0 (0)		
		Saignée				
		Transfert				
		Éviscération				
		Refroid eau				
		Refroid air				
	18 mai	Total			23	0 (0)
		Saignée				
		Transfert				
		Éviscération				
		Refroid eau				
		Refroid air				
	31 mai	Total	25	2 (8)		
		Saignée		1		
		Transfert		1		
		Éviscération				
		Refroid eau				
		Refroid air				
6	8 juin	Total			23	7 (30.4)

---

		Saignée		3	
		Transfert		2	
		Éviscération		2	
		Refroid eau			
		Refroid air			
	27 juin	Total	25	4 (16.0)	
		Saignée		1	
		Transfert		1	
		Éviscération		1	
		Refroid eau		1	
		Refroid air			
	29 juin	Total	25	2 (8.0)	
		Saignée			
		Transfert			
		Éviscération		1	
		Refroid eau		1	
		Refroid air			
7	4 juillet	Total		20	0 (0)
		Saignée			
		Transfert			
		Éviscération			
		Refroid eau			
		Refroid air			
	6 juillet	Total		18	1 (5.5)
		Saignée		1	
		Transfert			
		Éviscération			
		Refroid eau			
		Refroid air			

Le tableau 4 présente les résultats obtenus à chacune des visites pour l'ensemble des échantillons de carcasses, et pour chaque étape d'abattage, dans chacun des deux abattoirs, A et B. Le nombre d'échantillons positifs est plus élevé à partir de la fin mai comme le confirme le tableau 5 qui compare les résultats des rinçats de carcasses, regroupés par période de deux mois. En effet, les rapports de cote montrent que le pourcentage d'échantillons positifs des carcasses dans les mois 6 et 7 est plus élevé qu'aux mois 4 et 5 pour l'année de l'étude, un résultat significatif après ajustement du seuil alpha à la baisse avec l'ajustement séquentiel de Benjamini-Hochberg.

**Tableau 5.** Tableau des rapports de cotes (RC) de la positivité des carcasses à *Campylobacter* en lien avec les dates d'échantillonnage dans deux abattoirs au Québec

Comparaison	RC (IC 95%)	Valeur-p	Significatif après l'ajustement
Mois 4-5 vs. Mois 2-3	0.11 (0.011, 1.05)	0.055	non
Mois 6-7 vs. Mois 2-3	1.49 (0.54, 4.12)	0.45	non
Mois 6-7 vs. Mois 4-5	13.59 (3.92, 47.16)	<0.0001	oui

Les tableaux suivants exposent les résultats obtenus pour les échantillons environnementaux. Le convoyeur au transfert entre les lignes d'abattage et d'éviscération apparaît comme l'échantillon le plus contaminé, suivi du plexiglass de l'éviscérateur.

**Tableau 6.** Nombre et % d'échantillons environnementaux positifs sur différentes surfaces positives à *Campylobacter* selon la date et l'abattoir.

Mois No	Date 2017	Échantillons environnementaux	Abattoir A			Abattoir B		
			PL	OP	%(+)	PL	OP	%(+)
2	2 février	PLU	0	0	0%	Non visité à cette date		
		CT	0	0				
		PEV	0	0				
		PLA	0	0				
		CAR	0	0				
		CPR	0	0				
		EMB	0	0				
2	9 février	PLU	0	0	OP : 14%	Non visité à cette date		
		CT	0	1				
		PEV	0	0				
		PLA	0	0				
		CAR	0	0				
		CPR	0	0				
		EMB	0	0				

3	21 mars	PLU	Non visité à cette date		0	0	OP : 29%
		CT			0	1	
		PEV			0	0	
		PLA			0	0	
		CAR			0	1	
		CPR			0	0	
		EMB			0	0	
3	24 mars	PLU	Non visité à cette date		0	0	OP : 29%
		CT			0	0	
		PEV			0	1	
		PLA			0	1	
		CAR			0	0	
		CPR			0	0	
		EMB			0	0	
3	29 mars	PLU	0	0	0%	Non visité à cette date	
		CT	0	0			
		PEV	0	0			
		PLA	0	0			
		CAR	0	0			
		CPR	0	0			
		EMB	0	0			
4	6 avril	PLU	Non visité à cette date		0	0	0%
		CT			0	0	
		PEV			0	0	
		PLA			0	0	
		CAR			0	0	
		CPR			0	0	
		EMB			0	0	
4	20 avril	PLU	0	0	OP : 43%	Non visité à cette date	
		CT	0	1			
		PEV	0	1			
		PLA	0	0			
		CAR	0	0			
		CPR	0	1			
		EMB	0	0			
4	27 avril	PLU			0	0	
		CT			0	0	

		PEV	Non visité à cette date		0	0	OP : 14%
		PLA			0	0	
		CAR			0	0	
		CPR			0	0	
		EMB			0	1	
5	11 mai	PLU	0	0	0%	Non visité à cette date	
		CT	0	0			
		PEV	0	0			
		PLA	0	0			
		CAR	0	0			
		CPR	0	0			
		EMB	0	0			
5	18 mai	PLU	Non visité à cette date		0	0	0%
		CT			0	0	
		PEV			0	0	
		PLA			0	0	
		CAR			0	0	
		CPR			0	0	
		EMB			0	0	
5	31 mai	PLU	0	0	0%	Non visité à cette date	
		CT	0	0			
		PEV	0	0			
		PLA	0	0			
		CAR	0	0			
		CPR	0	0			
		EMB	0	0			
6	8 juin	PLU	Non visité à cette date		0	1	OP : 43%
		CT			0	1	
		PEV			0	1	
		PLA			0	0	
		CAR			0	0	
		CPR			0	0	
		EMB			0	0	
6	27 juin	PLU	0	0	0%	Non visité à cette date	
		CT	0	0			
		PEV	0	0			
		PLA	0	0			
		CAR	0	0			

		CPR	0	0		
		EMB	0	0		
6	29 juin	PLU	0	0	0%	Non visité à cette date
		CT	0	0		
		PEV	0	0		
		PLA	0	0		
		CAR	0	0		
		CPR	0	0		
		EMB	0	0		
7	4 juillet	PLU	Non visité à cette date	0	0	0%
		CT		0	0	
		PEV		0	0	
		PLA		0	0	
		CAR		0	0	
		CPR		0	0	
		EMB		0	0	
7	6 juillet	PLU	Non visité à cette date	0	0	0%
		CT		0	0	
		PEV		0	0	
		PLA		0	0	
		CAR		0	0	
		CPR		0	0	
		EMB		0	0	

---

PLU : plexiglass de la plumeuse, CT : convoyeur au transfert entre l'abattage et l'éviscération, PEV : plexiglass de l'éviscérateur, PLA : plancher du département d'éviscération, CAR : convoyeur avant refroidissement, CPR : convoyeur après refroidissement, EMB : surface d'acier inoxydable à l'emballage. PL : après lavage/désinfection, OP : pendant les opérations de transformation.

---

**Tableau 7.** Présence de *Campylobacter* dans l’environnement selon le moment d’échantillonnage (ensemble des échantillons).

Moment	Après Assainissement	Durant les opérations
Positifs (%)	0	10.71

Des échantillons furent récoltés à chaque visite avant les opérations (post-lavage et assainissement) et pendant les opérations. Les résultats du tableau 7 montrent une absence de positivité avant les opérations. Ils indiquent que la présence du pathogène dans l’environnement est significativement plus élevée pendant les activités de l’abattage en comparaison avec la période suivant l’assainissement (test Cochran-Mantel-Hansezal). Même si le test CMH, qui analyse essentiellement dans ses calculs les différences entre des cellules « deux par deux » et donc qui est équivoque avec des données de positivité à zéro, l’analyse descriptive nous semblent assez probante à ce niveau.

**Tableau 8.** Tableau des rapports de cotes (RC) de la positivité des échantillons environnementaux à *Campylobacter* en lien avec les dates d’échantillonnage dans deux abattoirs au Québec

Comparaison	RC (IC 95%)	Valeur-p	Significatif *
Mois 4-5 v. Mois 2-3	0.78 (0.098, 6.29)	0.82	non
Mois 6-7 v. Mois 2-3	0.59 (0.56, 0.61)	<0.0001	oui
Mois 6-7 v. Mois 4-5	0.75 (0.098, 5.72)	0.78	non

\*Après ajustement Benjamini-Hochberg

Enfin, les rapports de cotes entre la positivité des échantillons environnementaux et la période de temps, indiqués au tableau 8, montrent que les échantillons environnementaux sont significativement plus souvent positifs à *Campylobacter* l’hiver (février et mars) en comparaison avec les mois les plus chauds (juin ou juillet), pour l’année d’échantillonnage en question.



En ce qui a trait à la présence de *Campylobacter* sur les carcasses, selon l'étape de transformation, il n'y a pas de différence significative malgré un nombre d'échantillons positifs plus élevé à l'étape de la saignée. Pour ce qui est de la positivité selon le lot échantillonné, c'est-à-dire la différence entre le niveau de contamination du premier lot de volailles abattu dans la journée et les lots subséquents, une augmentation de 19% a été observée pour chaque nouveau lot, sans toutefois que ce résultat ne soit statistiquement significatif. Finalement, en ce qui concerne l'association entre la positivité des carcasses et celle des échantillons environnementaux, le test CMH, même avec les limites préalablement évoquées et associées aux faibles nombres, n'a pas montré d'association statistiquement significative, peu importe l'étape de transformation testée.

## **CHAPITRE 5. DISCUSSION GÉNÉRALE**

## 5.1 Rappel du contexte général de l'étude et des objectifs

*Campylobacter* est de nos jours l'un des pathogènes les plus étudiés étant donné qu'il cause chaque année un nombre considérable de toxi-infections alimentaires partout dans le monde (32). Malgré cela, il n'y a jamais eu d'étude canadienne portant sur la distribution de *Campylobacter* lors des étapes de transformation primaire dans le produit de consommation reconnu comme étant la plus importante source de ce pathogène pour l'humain; le poulet à griller.

Ce projet de recherche visait donc à documenter cette situation en étudiant la présence de *Campylobacter* aux grandes étapes du procédé d'abattage dans des abattoirs de poulets québécois. Le premier objectif de ce projet de recherche était de décrire la distribution de *Campylobacter* dans les établissements d'abattage et de transformation québécois. Deuxièmement, nous voulions déterminer si les moyens de gestion du risque mis en place au moment de l'étude étaient suffisants pour prévenir la contamination du produit de viande destiné au consommateur.

## 5.2 Établissements participant au projet de recherche

Idéalement, pour choisir les établissements dans lesquels nous voulions réaliser ce projet de recherche, un échantillonnage aléatoire, possiblement stratifié quant au volume d'abattage et tenant compte de la localisation géographique, aurait été préférable dans le but de pouvoir faire des inférences pour les autres établissements de même nature au Canada. Dans le même ordre d'idée, en misant sur une grande diversité d'établissements, on peut obtenir une vision plus globale de la situation, vision qui tient aussi compte des particularités propres à chacun de ces abattoirs, ce qui a d'ailleurs été observé dans les deux abattoirs étudiés. Ce type d'échantillonnage stratifié aurait permis, entre autres, une meilleure capacité à faire des inférences basées sur les résultats de l'étude, puisque des établissements sélectionnés selon différentes caractéristiques ont plus de chances d'être représentatifs de l'ensemble des établissements de transformation au Canada. Par contre, pour des raisons logistiques et financières, il ne fut pas possible d'opter pour ce genre d'échantillonnage. En outre, les plans d'échantillonnage ont été réalisés à la demande d'un partenaire industriel. En revanche, avec le type d'étude que l'on a réalisée, on peut en

général obtenir une vision plus détaillée de la situation et tenir aussi compte des particularités propres à chacun des établissements dans lesquels les plans d'échantillonnage ont été réalisés.

Un échantillonnage de convenance a donc été utilisé dans le cadre de ce projet. En effet, dans le but d'obtenir des réponses concernant l'efficacité de leur gestion du risque et par rapport à la présence de *Campylobacter* dans leurs produits de viande de volaille, les deux abattoirs participants ont eux-mêmes contacté notre groupe de recherche afin de collaborer à cette étude. Malgré le fait que ces établissements n'aient pas été choisis aléatoirement, il n'en demeure pas moins qu'ils possèdent des techniques de transformation assez typiques de ce qu'on peut retrouver au Canada. Ainsi, à l'aide des données recueillies sur ces établissements d'abattage et de transformation, il est certainement possible de faire un bilan de la situation de ces abattoirs, mais aussi de transposer certains des résultats obtenus à d'autres établissements de transformation canadiens similaires.

Ceci est d'autant plus vrai pour la province de Québec, puisque que le transformateur impliqué dans le projet est de loin le plus important de cette province en termes de volume d'abattage et que les pratiques d'abattage sont relativement uniformes dans tous ses établissements. À titre d'exemple, les programmes préalables reliés à l'entretien et l'assainissement des bâtiments et équipements, éléments essentiels des modèles HACCP de ces établissements, sont très similaires puisqu'ils appartiennent à la même entreprise mère. Malgré tout, une certaine prudence s'impose puisque les caractéristiques propres à chacun des établissements peuvent influencer la contamination des carcasses. Par exemple, les modalités d'application des programmes préalablement évoqués et leur efficacité peuvent varier sensiblement selon la manière dont ils sont appliqués par les employés des divers établissements.

De plus, en fonction des contraintes souvent reliées à la configuration des lieux physiques, notamment aux espaces disponibles, des variations significatives quant à la nature et la disposition des différents équipements peuvent être observées. De manière plus spécifique, on remarque que dans l'abattoir A, les douches contenant du chlorure de cétylpyridinium (CPC, Cecure<sup>MD</sup>) étaient localisées à la sortie du refroidissement à l'eau et dans la chambre de refroidissement à sec. Par contre, pour l'établissement B, les douches de CPC étaient utilisées uniquement lors du refroidissement à sec. Une autre variation entre

les deux abattoirs concerne les systèmes de refroidissement à l'eau, notamment par le fait que l'abattoir B utilisait de l'acide peracétique dans l'eau de refroidissement. Des différences au niveau du type de refroidisseur sont aussi à considérer dans l'analyse des résultats, différences qui seront discutées plus loin.

### **5.3 Comparaison des principaux résultats de l'étude à la littérature existante**

#### **5.3.1 Comparaison et analyse des résultats relatifs aux liquides de rinçat de carcasses**

La moyenne mondiale de la prévalence de *Campylobacter* sur les carcasses de poulet à griller est de 60 à 80% (20, 35, 42, 84). Toutefois, la prévalence moyenne rapportée sur le produit fini au Canada fluctue de 10 à 88% selon l'étude et notamment, selon la méthode d'échantillonnage et/ou d'analyse employée (8). Une étude réalisée par l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) en 2012 et 2013 rapportait quant à elle une prévalence moyenne au niveau des carcasses (échantillonnées majoritairement en abattoir mais également dans les commerces au détail) de 15,7% (IC 13,4 – 18,0) au Québec, alors que la moyenne nationale se situait à 19,8 au printemps et à 31,2 % à l'été (236). Cette étude, qui a aussi démontré une prévalence légèrement plus élevée sur des portions de poulet positives pour *Campylobacter* (31,6%), a toutefois été réalisée avec une méthode de détection de bactériologie classique comparativement à notre étude qui utilisait le PCR. De plus, une étude réalisée en Alberta, utilisant également la méthode de rinçat de carcasses et donc semblable à notre projet avait documenté la prévalence de *Campylobacter* à 75% dans les liquides échantillonnés. Il faut toutefois mentionner qu'un enrichissement avait été réalisé préalablement à la culture dans cette étude (242).

Les résultats de notre recherche sont donc en dessous des prévalences rapportées par les autres études portant sur le sujet. Il faut toutefois considérer que nous avons utilisé une méthode de détection avec un faible volume (15 mL) de rinçat. Par surcroit, rappelons que la détection fût réalisée sans enrichissement préalable. Il est en donc probable que nos résultats comportent plusieurs faux négatifs considérant ce faible inoculum. Il est toujours délicat de comparer différentes études de prévalence puisque les résultats peuvent varier sensiblement selon la méthode utilisée. Une variation dans les résultats peut par exemple être associée à la détection, ou non, des formes viables non cultivables (72) qu'utilise

*Campylobacter* pour se protéger des stress environnementaux. En effet, les études utilisant la technique de la PCR permettent normalement de détecter ces formes alors que, par définition, les méthodes de culture classiques ne le permettent pas. Les taux de détection de *Campylobacter* par culture peuvent donc être moindres puisque la bactérie est alors impossible à isoler sur milieux de culture, alors qu'elle demeure potentiellement pathogène pour l'être humain. En revanche, la détection par PCR est de nature à détecter de l'ADN de bactéries mortes et peut accroître le nombre de faux positifs. Dans notre projet de recherche, la culture ayant été utilisée comme première méthode de détection, une approche par PCR ne venant que confirmer les échantillons présumés positifs à la culture, la contribution de forme VNC à l'établissement des résultats ne doit donc pas être considérée.

En ce qui a trait à la fin de la chaîne de transformation, aucun échantillon de rinçat de carcasse n'a été trouvé positif à la sortie des chambres froides des deux abattoirs. Ce résultat concorde avec deux études portant sur la prévalence de *Campylobacter* à différentes étapes d'usines d'abattage et de transformation. En effet, certains auteurs ont mentionné que le pathogène semble être sensible à la dessiccation (177, 178), c'est-à-dire le processus par lequel les carcasses s'assèchent, comme c'est le cas en partie pour notre étude alors que certaines carcasses ont été refroidies à sec dans une chambre froide. Il faut tout de même souligner que notre étude ne porte que sur deux abattoirs et une période limitée de temps. Puisqu'il y a toujours des cas de campylobactériose régulièrement rapportés par les autorités, on ne peut inférer que la faible prévalence observée dans ces abattoirs se manifestera par une diminution des cas dans la population.

En ce qui concerne les tentatives de quantification par qPCR à partir des culots récupérés des 15 mL de rinçat des carcasses, ces dernières ont été effectuées sans succès. Il apparaît alors que la quantité de bactéries présentes dans un volume de 15 mL était insuffisante pour espérer un dénombrement, ce qui nous situait possiblement près du seuil de détection de l'épreuve PCR. Ceci nous a incité à nous fier aux résultats de la culture classique, avec les mêmes limites quant au volume de rinçat utilisé, en plus de la PCR, pour établir le statut positif à *Campylobacter*. Nos résultats sont compatibles avec les résultats obtenus dans une étude de l'ACIA (236) qui rapportait un dénombrement de *Campylobacter* au niveau de liquides de rinçats de carcasses. Ce niveau se situait en

dessous de 10 CFU par mL dans près de 50% des cas pour les 701 carcasses où il était possible d'effectuer un dénombrement. En somme, même si ces considérations tendent à démontrer que le nombre de positifs que nous avons obtenu est inférieur à celui normalement retrouvé, ceci suggère néanmoins que le nombre de cellules bactériennes dans le liquide de rinçage initial était relativement faible. En soi, cela constitue un indice intéressant dans une perspective d'évaluation du risque, particulièrement quant à l'exposition du consommateur.

Somme toute, malgré ces réserves quant à notre méthodologie, la présence de *Campylobacter* est faible, ce qui nous porte à croire que le niveau de contamination du pathogène est contrôlé par les moyens de gestion du risque mis en place. Tout ceci met en perspective l'importance de procéder à une quantification. En effet, la très faible positivité des échantillons observée aux dernières étapes de la production se situe néanmoins dans le bas du spectre des différentes études réalisées au Canada. Puisque les deux abattoirs avaient recours à des produits chimiques, tel que le CPC, qui n'est autorisé que depuis quelques années au Canada, il est possible que ce facteur, du moins en partie, puisse expliquer le faible nombre d'échantillons positifs obtenus dans notre étude comparativement aux études antérieures.

Pour ce qui est de la variation de la positivité des rinçats de carcasse selon la période de l'année, nos résultats indiquent que la présence de *Campylobacter* est plus élevée l'été qu'au printemps pour l'année d'échantillonnage. Cela concorde avec certaines études sur le sujet qui affirment un pic de positivité des échantillons au pathogène durant la saison chaude. En revanche, certaines études stipulent que le plus grand taux de toxi-infections alimentaires chez l'humain se situe au printemps, alors que d'autres auteurs mentionnent une plus forte hausse des infections à l'été (193,194).

Aussi, l'étape où le plus grand nombre d'échantillons positifs a été trouvé est celle de la saignée, sans que ce ne soit toutefois statistiquement significatif. Une plus forte contamination dans ce secteur de l'abattoir a toutefois été rapportée à maintes reprises dans la littérature (20, 70, 79, 80). Ceci serait, entre autres, relié au fait que les volailles qui arrivent de la ferme sont souvent souillées par des matières fécales et possiblement hautement contaminées par la bactérie.

### 5.3.2 Comparaison et analyse des résultats relatifs aux échantillons de l'environnement des abattoirs

Pour les échantillons environnementaux, le nombre d'échantillons détectés positifs à *Campylobacter* est significativement plus élevé pendant la transformation en comparaison avec la période suivant l'assainissement. Ce résultat n'est pas surprenant et confirme l'efficacité et l'importance de procédures d'assainissement performantes. Les carcasses ou le contenu digestif des volailles demeurent des sources importantes de contamination par cette bactérie. Il est donc attendu que l'environnement de l'abattoir soit plus contaminé pendant les activités d'abattage des volailles. Il est d'ailleurs démontré que la bactérie tire avantage de la production de son propre biofilm et celui des autres bactéries pour survivre dans ce milieu (217). Cela renforce l'idée que les étapes de lavage et d'assainissement sont des composantes essentielles pour une bonne gestion du risque.

En ce qui a trait à la variation de la positivité des échantillons d'environnement selon la période de l'année, cette dernière était significativement moins élevée l'été que l'hiver pour la période du projet de recherche. Ce résultat est surprenant et n'est mentionné dans aucune étude portant sur ce sujet. Il est de plus en sens opposé à ce qui a été observé pour les carcasses, où la présence de *Campylobacter* était plus élevée l'été que le printemps. Nous pouvons émettre quelques hypothèses pour expliquer ces résultats. D'une part, la bactérie est sensible à la dessiccation alors que l'environnement est plus sec durant l'été. Autrement, avec réserve puisque notre étude ne s'est déroulée que sur une année, on peut aussi émettre l'hypothèse que l'équipe responsable de l'assainissement, souvent renouvelée pendant la période des vacances estivales, soit plus performante et respecte mieux les consignes, diminuant ainsi le niveau de la charge bactérienne dans l'environnement.

De plus, l'une des questions les plus importantes et non résolue en ce qui a trait à la contamination du produit final par *Campylobacter* est la contribution respective de la contamination intrinsèque, apportée par l'oiseau, comparativement à la contamination indirecte qui est apportée par l'environnement immédiat de production. La disparité des résultats observés, c'est-à-dire une présence plus élevée dans l'environnement durant l'hiver alors que le produit est plus contaminé en été suggère que c'est plutôt le statut intrinsèque de l'oiseau qui est important, d'autant plus qu'il n'y avait pas d'association



statistiquement significative entre la positivité des carcasses et des échantillons de l'environnement.

Dans un autre ordre d'idée, la surface possédant le plus haut taux de contamination, sans toutefois que ce soit statistiquement significatif, est le convoyeur du transfert entre le département d'abattage et d'éviscération. Ce résultat concorde avec plusieurs études qui affirment que l'étape de la plumaison, située juste avant ce convoyeur, est hautement contaminante (2, 4, 20, 42, 50, 51, 157, 158).

#### **5.4 Facteurs influençant la réduction des charges de *Campylobacter* à l'abattoir**

Tout d'abord, malgré nos réserves quant à la sensibilité de notre méthode, la faible présence de *Campylobacter* observée dans les deux abattoirs participant au projet de recherche est plutôt rassurante et nettement en dessous des exigences réglementaires. Cela tend à démontrer que les mesures mises en place actuellement au sein de ces établissements d'abattage et de transformation sont adéquates pour maintenir le pathogène à un niveau acceptable sur les carcasses (sous la limite de détection de la méthodologie utilisée) et ainsi limiter l'exposition du consommateur. D'ailleurs, plusieurs facteurs identifiés dans les deux abattoirs qui ont participé à la présente étude peuvent contribuer à expliquer le faible nombre retrouvé d'échantillons positifs à *Campylobacter*. En premier lieu, les deux abattoirs échantillonnés possèdent un système d'échaudage à contre-courant. Ainsi, les carcasses qui circulent dans le système d'échaudage finissent leur séjour dans une eau plus propre en fin de bassin comparativement à une eau plus contaminée au début du système. L'étape de l'échaudage est importante dans la diminution des charges de la bactérie et le fait d'être équipé d'un mécanisme à contre-courant est reconnu pour réduire la contamination par *Campylobacter*. En effet, ce mécanisme permet de diminuer les charges de bactéries présentes sur les carcasses lors de leur cheminement le long de la cuve d'échaudage (51, 201).

De plus, le fait d'installer de multiples douches sur la ligne d'abattage est une mesure contribuant à réduire le taux de *Campylobacter* sur les carcasses. En effet, asperger les volailles avec de l'eau potable ou une solution d'antimicrobien permet de réduire la contamination fécale de ces dernières (49, 102). Les deux abattoirs participant au projet de recherche ont d'ailleurs installé plusieurs douches sur leurs lignes d'abattage respectives.

Pour l'abattoir A, une douche de CPC était présente en sus des cinq autres douches d'eau de ville présentes sur la ligne d'abattage. Cet antimicrobien a été rapporté dans certaines études comme étant un agent efficace pour le contrôle de *Salmonella* et de *Campylobacter* à l'abattoir (70). Il n'est donc pas surprenant de retrouver cet agent dans l'abattoir qui possède le plus faible nombre d'échantillons positifs à *Campylobacter* de la présente étude. Le CPC est d'ailleurs utilisé également dans l'abattoir B pour les volailles cheminant sur la ligne de refroidissement à sec et le nombre de positifs retrouvé était nul comparé à celui des carcasses prélevées sur la ligne de refroidissement à l'eau.

Mis à part ces deux caractéristiques importantes pour réduire la dispersion de *Campylobacter*, soit un bon système d'échaudage et de rinçage des carcasses, une étape au cœur du contrôle de ce pathogène est le refroidissement des carcasses de volailles. En effet, cette étape est cruciale pour réduire les charges de la bactérie pour l'établissement de transformation avant la vente au détail. Ainsi, en ce qui concerne les systèmes de refroidissement des abattoirs étudiés, les deux abattoirs possèdent une portion de leur refroidisseur servant au pré-refroidissement des carcasses. Cette portion est importante puisqu'elle permet d'éliminer les derniers résidus organiques comme les matières fécales, pouvant se retrouver sur les carcasses avant qu'elles transitent dans le refroidisseur principal, en plus de permettre d'abaisser la température des carcasses de manière graduelle (202). Le fait d'avoir des carcasses dépourvues de matière fécale à l'étape du refroidissement constitue d'ailleurs un point de contrôle critique établi par le département des services d'inspection de l'agriculture en sécurité alimentaire des États-Unis (70).

De plus, en ce qui a trait à la portion principale du refroidissement, l'abattoir A est équipé d'un refroidisseur à palans dans lequel les carcasses sont immergées pendant 90 minutes à une température de 1-3°C. Pour l'abattoir B, le temps d'immersion des carcasses est de 60 minutes, à la même température. Même s'il n'y pas de temps optimal de refroidissement recommandé pour le contrôle de *Campylobacter* dans la littérature scientifique, les experts s'entendent pour dire que la température des carcasses ne doit pas excéder 4,4 °C après quatre heures de transformation pour contrôler adéquatement le pathogène (203). Les deux refroidisseurs des abattoirs étudiés favorisent donc le respect de cette recommandation par leurs températures respectives puisque les températures des

carcasses sont régulièrement vérifiées et jugées conformes par les employés responsables de l'assurance qualité.

Enfin, pour l'abattoir B, un assainisseur composé d'acide peracétique 15-23 ppm est ajouté au refroidisseur à l'eau, permettant ainsi un contrôle encore plus serré afin de diminuer les taux de *Campylobacter* sur le produit fini. En effet, l'ajout d'un assainisseur dans le processus de refroidissement est évoqué comme prometteur pour réduire les charges du pathogène (2, 20, 70, 102, 171). Finalement, la température des chambres froides fluctue de -2°C à 3°C pour l'abattoir A et est de 0,6°C pour l'abattoir B, ce qui est donc plus bas que le refroidissement en eau froide.

Mises à part ces trois étapes cruciales dans le contrôle de *Campylobacter*, le procédé d'assainissement des abattoirs peut possiblement expliquer le bon contrôle des bactéries pathogènes parce que ces dernières sont moins susceptibles de persister dans l'environnement de l'abattoir quand un haut niveau d'hygiène général est observé dans un établissement de transformation (70,196). En ce qui concerne l'abattoir A dans notre projet de recherche, deux assainisseurs sont utilisés. Premièrement, un mélange d'acide phosphorique et d'acide sulfonique constitue l'assainisseur appliqué entre les différentes journées d'abattage. Puis, à raison de deux fois par semaine, on se sert d'une substance contenant de l'acide acétique, de l'acide peroxyacétique et du peroxyde d'hydrogène. Pour l'abattoir B, un assainisseur constitué d'ammonium quaternaire (chlorure de cétylpyridinium) est utilisé. Bien que ces multiples assainisseurs possèdent des mécanismes d'action différents, ils sont tous mentionnés dans la littérature comme faisant partie de méthodes de désinfection efficaces (204, 205, 206).

## **5.5 Limites de notre projet de recherche**

Premièrement, étant donné qu'un échantillonnage de convenance a été utilisé dans le cadre de ce projet de recherche, cela limite la généralisation des résultats à d'autres établissements que ceux étudiés. Aussi, étant donné qu'un des objectifs initiaux de notre projet de recherche était de quantifier *Campylobacter* à chaque étape distincte de l'abattage à l'aide d'une PCR quantitative, un enrichissement n'a pas été réalisé sur les échantillons de carcasses. La raison principale pour laquelle les échantillons n'ont pas été enrichis est qu'il n'était pas souhaitable de faire fluctuer les charges du pathogène avant de le

quantifier, ce qui aurait invalidé par le fait même tout résultat quantitatif. L'abstention de procéder à un enrichissement a toutefois pu diminuer la détection du pathogène lors de notre analyse des échantillons en laboratoire, et donc diminuer le nombre d'échantillons détectés positifs. Par contre, certains auteurs suggèrent que l'enrichissement peut aussi faire en sorte de diminuer la détection de *Campylobacter* en favorisant la croissance d'autres microorganismes compétitifs, ce qui inhiberait par le fait même la croissance de la bactérie (197, 198, 199). Également, si l'on considère le fait que nous avons trouvé à plusieurs reprises, en utilisant des géloses mCCDA, des colonies ayant les caractéristiques visuelles typiques des *Campylobacters*, mais qui se sont révélées négatives par PCR, soulève certaines interrogations quant à la pertinence de l'utilisation de celui-ci par rapport à d'autres milieux.

De plus, la quantité de liquide de rinçat de carcasse analysée pour chaque échantillon de 550 mL fut de 15 mL. Un volume plus élevé pour chaque échantillon aurait très probablement permis d'augmenter le seuil de détection. *Campylobacter* est un pathogène difficile à isoler (200). C'est pour cette raison que de diminuer le facteur de dilution par échantillon apparaît une bonne suggestion pour améliorer la méthodologie de ce projet de recherche.

Également, l'analyse des liquides de rinçat de carcasses en laboratoire comportait trois centrifugations, la première étant à basse vitesse pour éliminer les débris cellulaires trop volumineux. Le culot de cette centrifugation à basse vitesse fut ensuite versé dans un bocal pour déchets biomédicaux et détruit à l'autoclave. Or, il est possible que des bactéries aient été perdues dans ce processus, le culot de cellules eucaryotes entraînant des microorganismes par son passage dans le liquide du tube de centrifugation. D'autre part, la culture a été préférée à l'analyse par PCR comme première méthode de détection pour déceler les échantillons positifs à *Campylobacter*. Le fait de procéder ainsi comporte l'avantage de ne pas surestimer le risque associé au pathogène en ne détectant pas comme positifs les échantillons contaminés par des bactéries mortes et donc non pathogènes pour l'être humain. Par contre, l'utilisation de la culture plutôt que de la PCR comme première méthode de détection ne permet pas de détecter les bactéries dans le stade VNC, ce qui diminue la sensibilité de notre méthodologie et peut aussi expliquer en partie pourquoi la présence de *Campylobacter* dans les abattoirs échantillonnés est faible. Certaines autres

limites de la présente étude peuvent être mentionnées : le lien entre la contamination des carcasses et l'environnement n'a pas été établi, la capacité de formation de biofilms des isolats de *Campylobacter* identifiés n'a pas été évaluée et la résistance phénotypique et génotypique de ces isolats aux désinfectants utilisés dans les deux abattoirs n'a pas été investiguée.

Finalement, dans des conditions idéales, un plus grand nombre d'oiseaux par lot prélevés dans le cadre de cette recherche aurait certainement amélioré la puissance statistique de certains de nos résultats, en particulier en ce qui a trait au statut des lots, et aurait permis plus de conclusions quant aux étapes les plus contaminantes du procédé de transformation des abattoirs. Ultimement, un échantillonnage sur une plus grande période de temps aurait pu être réalisé pour mieux comprendre la fluctuation de la positivité des échantillons à *Campylobacter* dans les établissements de transformation québécois en fonction des quatre saisons présentes au Québec.

## **5.6 Perspectives**

De futures études s'intéressant à la distribution de *Campylobacter* tout au long de la chaîne d'abattage dans les établissements de transformation canadiens sont nécessaires pour voir si la faible présence du pathogène retrouvée parmi les carcasses échantillonnées au Québec s'applique aussi aux autres établissements de volaille localisés dans les autres provinces au Canada. Ces études, en prenant soin de considérer la sensibilité de la méthode de détection utilisée, devraient se concentrer sur les objectifs suivants : premièrement, l'identification des CCP à travers des différentes étapes de transformation de la volaille. Les CCP identifiés pourraient être différents de ceux déjà identifiés dans les modèles HACCP existants dépendamment de l'usine de transformation. De plus, l'examen attentif de l'efficacité des mesures de gestion du risque par une analyse du risque permettrait de comprendre si les mesures d'hygiène actuellement mises en place dans les établissements étudiés préviennent efficacement la contamination du produit final et ainsi l'exposition du consommateur au pathogène. Finalement, il serait intéressant de voir si certaines des souches de *Campylobacter* isolées dans ce projet possèdent des facteurs de virulence ou d'attachement, augmentant ainsi leur capacité à résister au processus de transformation comparativement à d'autres souches ne possédant pas ces dits facteurs. La

résistance aux agents assainisseurs devrait aussi être considérée. Des études futures pourraient caractériser les souches isolées dans ce projet pour savoir si elles possèdent ces facteurs, les aidant à survivre et à contaminer l'être humain. L'identification des facteurs de virulences importants dans la survie de la bactérie permettrait de comprendre quelles souches sont les plus aptes à résister au procédé de transformation et de persister dans l'environnement. Cela permettrait ainsi d'identifier les souches les plus susceptibles de causer l'infection chez l'humain.

## **CHAPITRE 6. Conclusion**

La diminution de la contamination des produits de volailles par *Campylobacter* passe par une meilleure compréhension de son épidémiologie, particulièrement de sa distribution en abattoir lors des différentes étapes de transformation des volailles. Historiquement, au Canada et ailleurs, des pourcentages élevés de contamination des carcasses ont été rapportés dans les produits de volaille, ce qui fait en sorte que le poulet à griller est considéré comme la source d'infection alimentaire principale de ce microorganisme. La présente étude montre toutefois que les mesures mises en place dans les deux abattoirs du Québec étudiés permettent de maintenir la présence de *Campylobacter* à des niveaux relativement bas voire acceptables, ne serait-ce que par rapport aux cibles réglementaires. Entre autres, des systèmes d'échaudage, de rinçage et de refroidissement efficaces, jumelé à l'utilisation d'agents technologiques, peuvent expliquer la faible présence du pathogène dans les établissements de transformation suivis. Finalement, plus d'études doivent s'intéresser à la dissémination de *Campylobacter* dans les établissements de transformation canadiens pour être en mesure de dresser un portrait global de la situation au pays en ce qui a trait à la présence de ce pathogène sur la viande de poulet crue vendue au détail. Une estimation des charges de *Campylobacter* à travers les diverses étapes de transformation par PCR alternative, en utilisant des billes magnétiques couvertes d'immunoglobulines spécifiques, pourrait par exemple permettre d'identifier plus de points de contrôle critiques dans les abattoirs canadiens et permettre de réduire le nombre de consommateurs atteints par la campylobactériose.

Malgré le fait que nous ayons concentré nos analyses à l'abattoir pour la présente étude, il conviendrait également d'approfondir notre connaissance des facteurs de risque au niveau de la ferme. Cela permettrait possiblement de diminuer davantage le nombre de lots positifs à *Campylobacter* entrant à l'abattoir, lequel demeure élevé comme il a été observé dans ce projet.



## **Bibliographie**

1. Igwaran A, Okoh AI. Human campylobacteriosis: A public health concern of global importance. *Heliyon*. 2019;5(11): e02814.
2. Duffy LL, Blackall PJ, Cobbold RN, Fegan N. Quantitative effects of in-line operations on *Campylobacter* and *Escherichia coli* through two Australian broiler processing plants. *Int J Food Microbiol*. 2014;188:128-34.
3. Nadeau E. Étude de la distribution, de la clonalité et caractérisation des *Campylobacters* isolés de poulets à griller et d'humains [thèse]. Saint-Hyacinthe (CA) ; Université de Montréal ; 2003.
4. Humphrey T, O'Brien S, Madsen M. *Campylobacter* as zoonotic pathogens: a food production perspective. *Int J Food Microbiol*. 2007;117(3):237-57.
5. Man SM. The clinical importance of emerging *Campylobacter* species. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;8(12):669-85.
6. Moore JE, Corcoran D, Dooley JS, Fanning S, Lucey B, Matsuda M, et al. *Campylobacter*. *Vet. Res*. 2005;36(3):351-82.
7. Fitzgerald C. *Campylobacter*. *Clin Lab Med*. 2015;35(2):289-98.
8. Huang H, Brooks BW, Lowman R, Carrillo CD. *Campylobacter* species in animal, food, and environmental sources, and relevant testing programs in Canada. *Can J Microbiol*. 2015;61(10):701-21.
9. On SL. Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. *Symp Ser Soc Appl Microbiol*. 2001(30):1s-15s.
10. Labarca JA, Sturgeon J, Borenstein L, Salem N, Harvey SM, Lehnkering E, et al. *Campylobacter upsaliensis*: Another pathogen for consideration in the United States. *Clin Infect Dis*. 2002; 34(11):E59-60.
11. Teh AH, Lee SM, Dykes GA. Does *Campylobacter jejuni* form biofilms in food-related environments? *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(17):5154-60.
12. Perez-Perez GI, Blaser MJ. Chapter 23: *Campylobacter* and *Helicobacter*. *Med Micr*, 4th ed. 1996.
13. Eberle KN, Kiess AS. Phenotypic and genotypic methods for typing *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in poultry. *Poult Sci*. 2012;91(1):255-64.

14. Bolton DJ. *Campylobacter* virulence and survival factors. Food Microbiol. 2015; 48:99-108.
15. Corry JE, Post DE, Colin P, Laisney MJ. Culture media for the isolation of *Campylobacters*. Int J Food Microbiol. 1995; 26(1):43-76.
16. WHO, World Health Organisation, 2011. *Campylobacter*. Fact Sheet No. 255. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/fr/> (dernier accès 10.06.19)
17. Kaakoush NO, Castano-Rodriguez N, Mitchell HM, Man SM. global epidemiology of *Campylobacter* infection. Clin Microbiol Rev. 2015; 28(3):687-720.
18. Hazards EPoB. Scientific opinion on quantification of the risk posed by broiler meat to human campylobacteriosis in the EU. EFSA J. 2010; 8(1):1437-n/a.
19. Seliwiorstow T, Bare J, Van Damme I, Uyttendaele M, De Zutter L. *Campylobacter* carcass contamination throughout the slaughter process of *Campylobacter*-positive broiler batches. Int J Food Microbiol. 2015; 194:25-31.
20. Sahin O, Kassem II, Shen Z, Lin J, Rajashekara G, Zhang Q. *Campylobacter* in poultry: ecology and potential interventions. Avian Dis. 2015; 59(2):185-200.
21. Meunier M, Guyard-Nicodeme M, Dory D, Chemaly M. Control strategies against *Campylobacter* at the poultry production level: biosecurity measures, feed additives and vaccination. J Appl Microbiol. 2016; 120(5):1139-73.
22. Allain V, Chemaly M, Laisney MJ, Rouxel S, Quesne S, Le Bouquin S. Prevalence of and risk factors for *Campylobacter* colonisation in broiler flocks at the end of the rearing period in France. Br Poult Sci. 2014; 55(4):452-9.
23. Tribble DR, Baqar S, Scott DA, et al. Assessment of the duration of protection in *Campylobacter jejuni* experimental infection in humans. Infect Immun. 2010; 78:1750-9.
24. Blaser MJ. Epidemiologic and clinical features of *Campylobacter jejuni* infections. J Infect Dis. 1997; 176 Suppl 2:S103-5.
25. Skirrow MB, Blaser MJ: Clinical aspects of *Campylobacter* infection. In *Campylobacter*, edn 2. Edited by Nachamkin I, Blaser MJ. Washington, DC: ASM Press; 2000:69-88.
26. Yuki N, Hartung HP. Guillain-Barre syndrome. N Engl J Med. 2012; 366(24):2294-304.

27. Heikema AP, Islam Z, Horst-Kreft D, Huizinga R, Jacobs BC, Wagenaar JA, et al. *Campylobacter jejuni* capsular genotypes are related to Guillain-Barre syndrome. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21(9):852.e1-9.
28. Salloway S, Mermel LA, Seamans M, Aspinall GO, Nam Shin JE, Kurjanczyk LA, et al. Miller-Fisher syndrome associated with *Campylobacter jejuni* bearing lipopolysaccharide molecules that mimic human ganglioside GD3. *Infect Immun.* 1996; 64(8):2945-9.
29. Pope JE, Krizova A, Garg AX, Thiessen-Philbrook H, Ouimet JM. *Campylobacter* reactive arthritis: a systematic review. *Semin Arthritis Rheum.* 2007; 37(1): 48-55.
30. Marshall JK. Post-infectious irritable bowel syndrome following water contamination. *Kidney Int Suppl.* 2009(112): S42-3.
31. Janssen R, Krogfelt KA, Cawthraw SA, van Pelt W, Wagenaar JA, Owen RJ. Host-pathogen interactions in *Campylobacter* infections: the host perspective. *Clin Microbiol Rev.* 2008; 21(3): 505-18.
32. Elaine S, Robert MH, Frederick JA, Robert VT, Marc-Alain W, Sharon LR, et al. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17(1): 7.
33. Rasschaert G, Houf K, Van Hende J, De Zutter L. *Campylobacter* contamination during poultry slaughter in Belgium. *J Food Prot.* 2006; 69(1): 27-33.
34. Kuana SL, Santos LR, Rodrigues LB, Borsoi A, Moraes HL, Salle CT, et al. Occurrence and characterization of *Campylobacter* in the Brazilian production and processing of broilers. *Avian Dis.* 2008; 52(4): 680-4.
35. Suzuki H, Yamamoto S. *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products in the world: a literature survey. *J Vet Med Sci.* 2009; 71(3): 255-61.
36. Hermans D, Van Deun K, Martel A, Van Immerseel F, Messens W, Heyndrickx M, et al. Colonization factors of *Campylobacter jejuni* in the chicken gut. *Vet Res.* 2011; 42: 82.
37. Josefsen MH, Bhunia AK, Engvall EO, Fachmann MS, Hoorfar J. Monitoring *Campylobacter* in the poultry production chain—from culture to genes and beyond. *J Microbiol Methods.* 2015; 112: 118-25.

38. Reeser RJ, Medler RT, Billington SJ, Jost BH, Joens LA. Characterization of *Campylobacter jejuni* biofilms under defined growth conditions. *Appl Environ Microbiol.* 2007; 73(6): 1908-13.
39. Humphrey S, Chaloner G, Kemmett K, Davidson N, Williams N, Kipar A, et al. *Campylobacter jejuni* is not merely a commensal in commercial broiler chickens and affects bird welfare. *mBio.* 2014; 5(4): e01364-14.
40. Williams LK, Sait LC, Trantham EK, Cogan TA, Humphrey TJ. *Campylobacter* infection has different outcomes in fast- and slow-growing broiler chickens. *Avian Dis.* 2013; 57(2): 238-41.
41. Han Z, Pielsticker C, Gerzova L, Rychlik I, Rautenschlein S. The influence of age on *Campylobacter jejuni* infection in chicken. *Dev Comp Immunol.* 2016; 62: 58-71.
42. Hermans D, Pasmans F, Messens W, Martel A, Van Immerseel F, Rasschaert G, et al. Poultry as a host for the zoonotic pathogen *Campylobacter jejuni*. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012; 12(2): 89-98.
43. Nauta M, Hill A, Rosenquist H, Brynstad S, Fetsch A, van der Logt P, et al. A comparison of risk assessments on *Campylobacter* in broiler meat. *Int J Food Microbiol.* 2009; 129(2): 107-23.
44. Friedman CR, Hoekstra RM, Samuel M, Marcus R, Bender J, Shiferaw B, et al. Risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in the United States: A case-control study in FoodNet sites. *Clin Infect Dis.* 2004; 38 Suppl 3: S285-96.
45. Lehner Y, Reich F, Klein G. Influence of process parameter on *Campylobacter* spp. counts on poultry meat in a slaughterhouse environment. *Curr Microbiol.* 2014; 69(3): 240-4.
46. Hakkinen M, Nakari UM, Siitonen A. Chickens and cattle as sources of sporadic domestically acquired *Campylobacter jejuni* infections in Finland. *Appl Environ Microbiol.* 2009; 75(16): 5244-9.
47. Thakur S, White DG, McDermott PF, Zhao S, Kroft B, Gebreyes W, et al. Genotyping of *Campylobacter coli* isolated from humans and retail meats using multilocus sequence typing and pulsed-field gel electrophoresis. *J Appl Microbiol.* 2009; 106(5): 1722-33.
48. Damjanova I, Jakab M, Farkas T, Meszaros J, Galantai Z, Turcsanyi I, et al. From farm to fork follow-up of thermotolerant *Campylobacters* throughout the broiler production

chain and in human cases in a Hungarian county during a ten-months period. *Int J Food Microbiol.* 2011; 150(2-3): 95-102.

**49.** Gruntar I, Biasizzo M, Kusar D, Pate M, Ocepek M. *Campylobacter jejuni* contamination of broiler carcasses: population dynamics and genetic profiles at slaughterhouse level. *Food Microbiol.* 2015; 50: 97-101.

**50.** Berrang ME, Buhr RJ, Cason JA, Dickens JA. Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. *J Food Prot.* 2001; 64(12): 2063-6.

**51.** Guerin MT, Sir C, Sargeant JM, Waddell L, O'Connor AM, Wills RW, et al. The change in prevalence of *Campylobacter* on chicken carcasses during processing: a systematic review. *Poult Sci.* 2010; 89(5): 1070-1084.

**52.** Lubber P, Brynestad S, Topsch D, Scherer K, Bartelt E. Quantification of *Campylobacter* species cross-contamination during handling of contaminated fresh chicken parts in kitchens. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72(1): 66-70.

**53.** Pires SM, Vigre H, Makela P, Hald T. Using outbreak data for source attribution of human salmonellosis and campylobacteriosis in Europe. *Foodborne Pathog Dis.* 2010; 7(11): 1351-61.

**54.** Havelaar AH, Mangen MJ, de Koeijer AA, Bogaardt MJ, Evers EG, Jacobs-Reitsma WF, et al. Effectiveness and efficiency of controlling *Campylobacter* on broiler chicken meat. *Risk Anal.* 2007; 27(4): 831-44.

**55.** Hazards EPoB. Scientific Opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. *EFSA J.* 2011; 9(4): 2105-n/a.

**56.** Wagenaar JA, French NP, Havelaar AH. Preventing *Campylobacter* at the source: why is it so difficult? *Clin Infect Dis.* 2013; 57(11): 1600-6.

**57.** Wilson DJ, Gabriel E, Leatherbarrow AJ, Cheesbrough J, Gee S, Bolton E, et al. Tracing the source of campylobacteriosis. *PLoS Genet.* 2008; 4(9): e1000203.

**58.** Hermans D, Van Deun K, Messens W, Martel A, Van Immerseel F, Haesebrouck F, et al. *Campylobacter* control in poultry by current intervention measures ineffective: urgent need for intensified fundamental research. *Vet Microbiol.* 2011; 152(3-4): 219-28.

59. European Food Safety A, European Centre for Disease P, Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. *EFSA J.* 2011: 9(3): 2090-n/a.
60. European Food Safety A, European Centre for Disease P, Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. *EFSA J.* 2015: 13(12): 4329-n/a.
61. Meade KG, Narciandi F, Cahalane S, Reiman C, Allan B, O'Farrelly C. Comparative in vivo infection models yield insights on early host immune response to *Campylobacter* in chickens. *Immunogenetics.* 2009: 61(2): 101-10.
62. Cason JA, Hinton A, Jr., Northcutt JK, Buhr RJ, Ingram KD, Smith DP, et al. Partitioning of external and internal bacteria carried by broiler chickens before processing. *J Food Prot.* 2007: 70(9): 2056-62.
63. Newell DG. The ecology of *Campylobacter jejuni* in avian and human hosts and in the environment. *Int J Infect Dis.* 2002: 6 Suppl 3: 3S16-20: discussion 3S-1, 3S53-8.
64. Ramabu SS, Boxall NS, Madie P, Fenwick SG. Some potential sources for transmission of *Campylobacter jejuni* to broiler chickens. *Lett Appl Microbiol.* 2004: 39(3): 252-6.
65. Allen VM, Ridley AM, Harris JA, Newell DG, Powell L. Influence of production system on the rate of onset of *Campylobacter* colonization in chicken flocks reared extensively in the United Kingdom. *Br Poult Sci.* 2011: 52(1): 30-9.
66. Ridley AM, Morris VK, Cawthraw SA, Ellis-Iversen J, Harris JA, Kennedy EM, et al. Longitudinal molecular epidemiological study of thermophilic *Campylobacters* on one conventional broiler chicken farm. *Appl Environ Microbiol.* 2011: 77(1): 98-107.
67. Hald B, Skovgard H, Pedersen K, Bunkenborg H. Influxed insects as vectors for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Danish broiler houses. *Poult Sci.* 2008: 87(7): 1428-34.
68. Hald B, Skovgard H, Bang DD, Pedersen K, Dybdahl J, Jespersen JB, et al. Flies and *Campylobacter* infection of broiler flocks. *Emerg Infect Dis.* 2004: 10(8): 1490-2.
69. Katsma WE, De Koeijer AA, Jacobs-Reitsma WF, Mangen MJ, Wagenaar JA. Assessing interventions to reduce the risk of *Campylobacter* prevalence in broilers. *Risk Anal.* 2007: 27(4): 863-76.

70. Wideman N, Bailey M, Bilgili SF, Thippareddi H, Wang L, Bratcher C, et al. Evaluating best practices for *Campylobacter* and *Salmonella* reduction in poultry processing plants. *Poult Sci.* 2016: 95(2): 306-15.
71. Van Gerwe T, Miflin JK, Templeton JM, Bouma A, Wagenaar JA, Jacobs-Reitsma WF, et al. Quantifying transmission of *Campylobacter jejuni* in commercial broiler flocks. *Appl Environ Microbiol.* 2009: 75(3): 625-8.
72. Sparks NHC. The role of the water supply system in the infection and control of *Campylobacter* in chicken. *Worlds Poult Sci J.* 2009: 65(3): 459-74.
73. Gellynck X, Messens W, Halet D, Grijspeerdt K, Hartnett E, Viaene J. Economics of reducing *Campylobacter* at different levels within the Belgian poultry meat chain. *J Food Prot.* 2008: 71(3): 479-85.
74. Stern NJ, Clavero MR, Bailey JS, Cox NA, Robach MC. *Campylobacter* spp. in broilers on the farm and after transport. *Poult Sci.* 1995: 74(6): 937-41.
75. Ridley A, Morris V, Gittins J, Cawthraw S, Harris J, Edge S, et al. Potential sources of *Campylobacter* infection on chicken farms: contamination and control of broiler-harvesting equipment, vehicles and personnel. *J Appl Microbiol.* 2011: 111(1): 233-44.
76. Allen VM, Weaver H, Ridley AM, Harris JA, Sharma M, Emery J, et al. Sources and spread of thermophilic *Campylobacter* spp. during partial depopulation of broiler chicken flocks. *J Food Prot.* 2008: 71(2): 264-70.
77. Bull SA, Allen VM, Domingue G, Jorgensen F, Frost JA, Ure R, et al. Sources of *Campylobacter* spp. colonizing housed broiler flocks during rearing. *Appl Environ Microbiol.* 2006: 72(1): 645-52.
78. Hansson I, Ederoth M, Andersson L, Vagsholm I, Olsson Engvall E. Transmission of *Campylobacter* spp. to chickens during transport to slaughter. *J Appl Microbiol.* 2005: 99(5): 1149-57.
79. Patriarchi A, Fox A, Maunsell B, Fanning S, Bolton D. Molecular characterization and environmental mapping of *Campylobacter* isolates in a subset of intensive poultry flocks in Ireland. *Foodborne Pathog Dis.* 2011: 8(1): 99-108.
80. Hastings R, Colles FM, McCarthy ND, Maiden MC, Sheppard SK. *Campylobacter* genotypes from poultry transportation crates indicate a source of contamination and transmission. *J Appl Microbiol.* 2011: 110(1): 266-76.



- 81.** Rosenquist H, Sommer HM, Nielsen NL, Christensen BB. The effect of slaughter operations on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant *Campylobacter*. *Int J Food Microbiol.* 2006: 108(2): 226-32.
- 82.** Reich F, Atanassova V, Haunhorst E, Klein G. The effects of *Campylobacter* numbers in caeca on the contamination of broiler carcasses with *Campylobacter*. *Int J Food Microbiol.* 2008: 127(1-2): 116-20.
- 83.** EFSA, 2010. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses, in the EU, 2008. *EFSA J.* 8, 1503-1602.
- 84.** Mullner P, Collins-Emerson JM, Midwinter AC, Carter P, Spencer SE, van der Logt P, et al. Molecular epidemiology of *Campylobacter jejuni* in a geographically isolated country with a uniquely structured poultry industry. *Appl Environ Microbiol.* 2010: 76(7): 2145-54.
- 85.** Sheppard SK, Dallas JF, Strachan NJ, MacRae M, McCarthy ND, Wilson DJ, et al. *Campylobacter* genotyping to determine the source of human infection. *Clin Infect Dis.* 2009: 48(8): 1072-8.
- 86.** Seliwiorstow T, Bare J, Van Damme I, Gisbert Algaba I, Uyttendaele M, De Zutter L. Transfer of *Campylobacter* from a Positive Batch to Broiler Carcasses of a Subsequently Slaughtered Negative Batch: A Quantitative Approach. *J Food Prot.* 2016: 79(6): 896-901.
- 87.** Callicott KA, Hargardottir H, Georgsson F, Reiersen J, Frigriksdottir V, Gunnarsson E, et al. Broiler *Campylobacter* contamination and human campylobacteriosis in Iceland. *Appl Environ Microbiol.* 2008: 74(21): 6483-94.
- 88.** Rosenquist H, Nielsen NL, Sommer HM, Norrung B, Christensen BB. Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis associated with thermophilic *Campylobacter* species in chickens. *Int J Food Microbiol.* 2003: 83(1): 87-103.
- 89.** Rasschaert G, Piessens V, Scheldeman P, Leleu S, Stals A, Herman L, et al. Efficacy of electrolyzed oxidizing water and lactic acid on the reduction of *Campylobacter* on naturally contaminated broiler carcasses during processing. *Poult Sci.* 2013: 92(4): 1077-84.

- 90.** Nauta MJ, Sanaa M, Havelaar AH. Risk based microbiological criteria for *Campylobacter* in broiler meat in the European Union. *Int J Food Microbiol.* 2012: 158(3): 209-17.
- 91.** Berghaus RD, Thayer SG, Law BF, Mild RM, Hofacre CL, Singer RS. Enumeration of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. in environmental farm samples and processing plant carcass rinses from commercial broiler chicken flocks. *Appl Environ Microbiol.* 2013: 79(13): 4106-14.
- 92.** Nauta MJ, van der Wal FJ, Putirulan FF, Post J, van de Kasstele J, Bolder NM. Evaluation of the "testing and scheduling" strategy for control of *Campylobacter* in broiler meat in The Netherlands. *Int J Food Microbiol.* 2009: 134(3): 216-22.
- 93.** Gosselin-Theberge M, Taboada E, Guy RA. Evaluation of real-time PCR assays and standard curve optimisation for enhanced accuracy in quantification of *Campylobacter* environmental water isolates. *J Microbiol Methods.* 2016: 129: 70-7.
- 94.** Seliwiorstow T, Duarte A, Bare J, Botteldoorn N, Dierick K, Uyttendaele M, et al. Comparison of sample types and analytical methods for the detection of highly *Campylobacter*-colonized broiler flocks at different stages in the poultry meat production chain. *Foodborne Pathog Dis.* 2015: 12(5): 399-405.
- 95.** Josefsen MH, Lofstrom C, Hansen TB, Christensen LS, Olsen JE, Hoorfar J. Rapid quantification of viable *Campylobacter* bacteria on chicken carcasses, using real-time PCR and propidium monoazide treatment, as a tool for quantitative risk assessment. *Appl Environ Microbiol.* 2010: 76(15): 5097-104.
- 96.** Oliver JD. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev.* 2010: 34(4): 415-25.
- 97.** Li L, Mendis N, Trigui H, Oliver JD, Faucher SP. The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Front Microbiol.* 2014: 5: 258.
- 98.** Poitras E, Houde A. La PCR en temps réel: principes et applications. *Biotechnol. Mol.* 2002: 2(2): 2-11.
- 99.** Brankatschk R, Bodenhausen N, Zeyer J, Bürgmann H. Simple absolute quantification method correcting for quantitative PCR efficiency variations for microbial community samples. *Appl Environ Microbiol.* 2012: 78(12): 4481-9.



- 111.** McKay D, Fletcher J, Cooper P, Thomson-Carter FM. Comparison of two methods for serotyping *Campylobacter* spp. J Clin Microbiol. 2001: 39(5): 1917-21.
- 112.** Patton CM, Barrett TJ, Morris GK. Comparison of the enner and Lior methods for serotyping *Campylobacter* spp. J Clin Microbiol. 1985: 22(4): 558-65.
- 113.** Ioannidou V, Ioannidis A, Magiorkinis E, Bagos P, Nicolaou C, Legakis N, et al. Multilocus sequence typing (and phylogenetic analysis) of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains isolated from clinical cases in Greece. BMC Res Notes. 2013: 6: 359.
- 114.** Moore JE, Madden RH. Comparison of eight phenotypic methods for subspecies characterization of thermophilic *Campylobacter* spp. isolated from pig liver. J Food Prot. 2003: 66(6): 1079-84.
- 115.** Downes FP, Ito K, Association APH. Compendium of methods for the microbiological examination of foods: American Public Health Association: 2001.
- 116.** Thibodeau A, Fravallo P, Taboada EN, Laurent-Lewandowski S, Guevremont E, Quessy S, et al. Extensive characterization of *Campylobacter jejuni* chicken isolates to uncover genes involved in the ability to compete for gut colonization. BMC Microbiol. 2015: 15: 97.
- 117.** Nakari UM, Hakkinen M, Siitonen A. Identification of persistent subtypes of *Campylobacter jejuni* by pulsed-field gel electrophoresis in Finland. Foodborne Pathog Dis. 2011: 8(10): 1143-5.
- 118.** Lahti E, Löfdahl M, Ågren J, Hansson I, Olsson Engvall E. Confirmation of a Campylobacteriosis outbreak associated with chicken liver pâté using PFGE and WGS. Zoonoses Public Health. 2016: 64(1): 14-20
- 119.** Wassenaar TM, Newell DG. Genotyping of *Campylobacter* spp. Appl Environ Microbiol. 2000: 66(1): 1-9.
- 120.** Schwartz DC, Cantor CR. Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis. Cell. 1984: 37(1): 67-75.
- 121.** Melero B, Juntunen P, Hanninen ML, Jaime I, Rovira J. Tracing *Campylobacter jejuni* strains along the poultry meat production chain from farm to retail by pulsed-field gel electrophoresis, and the antimicrobial resistance of isolates. Food Microbiol. 2012: 32(1): 124-8.

- 122.** Hanninen ML, Pajarre S, Klossner ML, Rautelin H. Typing of human *Campylobacter jejuni* isolates in Finland by pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol.* 1998: 36(6): 1787-9.
- 123.** Oyarzabal OA, Williams A, Zhou P, Samadpour M. Improved protocol for isolation of *Campylobacter* spp. from retail broiler meat and use of pulsed field gel electrophoresis for the typing of isolates. *J Microbiol Methods.* 2013: 95(1): 76-83.
- 124.** Michaud S, Menard S, Arbeit RD. Role of real-time molecular typing in the surveillance of *Campylobacter enteritis* and comparison of pulsed-field gel electrophoresis profiles from chicken and human isolates. *J Clin Microbiol.* 2005: 43(3): 1105-11.
- 125.** Kwong JC, McCallum N, Sintchenko V, Howden BP. Whole genome sequencing in clinical and public health microbiology. *Pathology.* 2015: 47(3): 199-210.
- 126.** Berlanga M, Guerrero R. Living together in biofilms: the microbial cell factory and its biotechnological implications. *Microbial cell factories.* 2016: 15(1): 165.
- 127.** Mah TF, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol.* 2001: 9(1): 34-9.
- 128.** Simões M, Simões LC, Vieira MJ. A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT-FOOD SCI TECHNOL.* 2010: 43(4): 573-83.
- 129.** Joshua GW, Guthrie-Irons C, Karlyshev AV, Wren BW. Biofilm formation in *Campylobacter jejuni*. *Microbiology.* 2006: 152(Pt 2): 387-96.
- 130.** Teh KH, Flint S, French N. Biofilm formation by *Campylobacter jejuni* in controlled mixed-microbial populations. *Int J Food Microbiol.* 2010: 143(3): 118-24.
- 131.** Kalmokoff M, Lanthier P, Tremblay TL, Foss M, Lau PC, Sanders G, et al. Proteomic analysis of *Campylobacter jejuni* 11168 biofilms reveals a role for the motility complex in biofilm formation. *J Bacteriol.* 2006: 188(12): 4312-20.
- 132.** Gunther NWt, Chen CY. The biofilm forming potential of bacterial species in the genus *Campylobacter*. *Food Microbiol.* 2009: 26(1): 44-51.
- 133.** Sanders SQ, Boothe DH, Frank JF, Arnold JW. Culture and detection of *Campylobacter jejuni* within mixed microbial populations of biofilms on stainless steel. *J Food Prot.* 2007: 70(6): 1379-85.
- 134.** Trachoo N, Frank JF. Effectiveness of chemical sanitizers against *Campylobacter jejuni*-containing biofilms. *J Food Prot.* 2002: 65(7): 1117-21.

- 135.** Asakura H, Yamasaki M, Yamamoto S, Igimi S. Deletion of *peb4* gene impairs cell adhesion and biofilm formation in *Campylobacter jejuni*. FEMS Microbiol Lett. 2007: 275(2): 278-85.
- 136.** Fields JA, Thompson SA. *Campylobacter jejuni* CsrA mediates oxidative stress responses, biofilm formation, and host cell invasion. J Bacteriol. 2008: 190(9): 3411-6.
- 137.** Ica T, Caner V, Istanbulu O, Nguyen HD, Ahmed B, Call DR, et al. Characterization of mono- and mixed-culture *Campylobacter jejuni* biofilms. Appl Environ Microbiol. 2012: 78(4): 1033-8.
- 138.** Reuter M, Mallett A, Pearson BM, van Vliet AH. Biofilm formation by *Campylobacter jejuni* is increased under aerobic conditions. Appl Environ Microbiol. 2010: 76(7): 2122-8.
- 139.** Hanning I, Jarquin R, Slavik M. *Campylobacter jejuni* as a secondary colonizer of poultry biofilms. J Appl Microbiol. 2008: 105(4): 1199-208.
- 140.** Trachoo N, Frank JF, Stern NJ. Survival of *Campylobacter jejuni* in biofilms isolated from chicken houses. J Food Prot. 2002: 65(7): 1110-6.
- 141.** Lehtola MJ, Pitkanen T, Miebach L, Miettinen IT. Survival of *Campylobacter jejuni* in potable water biofilms: a comparative study with different detection methods. Water Sci Technol. 2006: 54(3): 57-61.
- 142.** O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. Annu Rev Microbiol. 2000: 54: 49-79.
- 143.** Poulsen LV. Microbial biofilm in food processing. LWT-FOOD SCI TECHNOL. 1999: 32(6): 321-6.
- 144.** Bronowski C, James CE, Winstanley C. Role of environmental survival in transmission of *Campylobacter jejuni*. FEMS Microbiol Lett. 2014: 356(1): 8-19.
- 145.** Murphy C, Carroll C, Jordan KN. Environmental survival mechanisms of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni*. J Appl Microbiol. 2006: 100(4): 623-32.
- 146.** Duffy LL, Dykes GA. The ability of *Campylobacter jejuni* cells to attach to stainless steel does not change as they become nonculturable. Foodborne Pathog Dis. 2009: 6(5): 631-4.

- 147.** Nguyen VT, Fegan N, Turner MS, Dykes GA. Role of attachment to surfaces on the prevalence and survival of *Campylobacter* through food systems. *J Food Prot.* 2012: 75(1): 195-206.
- 148.** Elvers KT, Morris VK, Newell DG, Allen VM. Molecular tracking, through processing, of *Campylobacter* strains colonizing broiler flocks. *Appl Environ Microbiol.* 2011: 77(16): 5722-9.
- 149.** Peyrat MB, Soumet C, Maris P, Sanders P. Recovery of *Campylobacter jejuni* from surfaces of poultry slaughterhouses after cleaning and disinfection procedures: analysis of a potential source of carcass contamination. *Int J Food Microbiol.* 2008: 124(2): 188-94.
- 150.** Brown HL, Reuter M, Salt LJ, Cross KL, Betts RP, van Vliet AH. Chicken juice enhances surface attachment and biofilm formation of *Campylobacter jejuni*. *Appl Environ Microbiol.* 2014: 80(22): 7053-60.
- 151.** Ellerbroek LI, Lienau JA, Klein G. *Campylobacter* spp. in broiler flocks at farm level and the potential for cross-contamination during slaughter. *Zoonoses Public Health.* 2010: 57(7-8): e81-8.
- 152.** Marotta F, Garofolo G, Di Donato G, Aprea G, Platone I, Cianciavichia S, et al. Population diversity of *Campylobacter jejuni* in poultry and Its dynamic of contamination in chicken meat. *BioMed research international.* 2015: 859845.
- 153.** Miwa N, Takegahara Y, Terai K, Kato H, Takeuchi T. *Campylobacter jejuni* contamination on broiler carcasses of C. jejuni-negative flocks during processing in a Japanese slaughterhouse. *Int J Food Microbiol.* 2003: 84(1): 105-9.
- 154.** Newell DG, Shreeve JE, Toszeghy M, Domingue G, Bull S, Humphrey T, et al. Changes in the carriage of *Campylobacter* strains by poultry carcasses during processing in abattoirs. *Appl Environ Microbiol.* 2001: 67(6): 2636-40.
- 155.** Colles FM, McCarthy ND, Sheppard SK, Layton R, Maiden MC. Comparison of *Campylobacter* populations isolated from a free-range broiler flock before and after slaughter. *Int J Food Microbiol.* 2010: 137(2-3): 259-64.
- 156.** Kudirkienė E, Buneviciene J, Serniene L, Ramonaite S, Olsen JE, Malakauskas M. Importance of the producer on retail broiler meat product contamination with *Campylobacter* spp. *J Sci Food Agric.* 2013: 93(9): 2293-8.

157. Berrang ME, Dickens JA. Presence and level of *Campylobacter* spp. on broiler carcasses throughout the processing plant. J Appl Poult Res. 2000: 9(1): 43-7.
158. Pacholewicz E, Swart A, Schipper M, Gortemaker BG, Wagenaar JA, Havelaar AH, et al. A comparison of fluctuations of *Campylobacter* and *Escherichia coli* concentrations on broiler chicken carcasses during processing in two slaughterhouses. Int J Food Microbiol. 2015: 205: 119-27.
159. Hinton A, Cason JA, Hume ME, Ingram KD. Spread of *Campylobacter* spp. during poultry processing in different seasons. Int. J. Poult. Sci. 2004: 3(7): 432-7.
160. Zweifel C, Althaus D, Stephan R. Effects of slaughter operations on the microbiological contamination of broiler carcasses in three abattoirs. Food Control. 2015: 51: 37-42.
161. Klein G, Jansen W, Kittler S, Reich F. Mitigation strategies for *Campylobacter* spp. in broiler at pre-harvest and harvest level. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 2015: 128(3-4): 132-40.
162. Kim J-W, Slavik MF, Griffis CL, Walker JT. Attachment of *Salmonella typhimurium* to skins of chicken scalded at various temperatures. J. Food Prot. 1993: 56(8): 661-71.
163. Kim J-S, Kim J-W, Kathariou S. Differential effects of temperature on natural transformation to erythromycin and nalidixic acid resistance in *Campylobacter coli*. Appl Environ Microbiol. 2008: 74(19): 6121-5.
164. Berrang ME, Bailey JS, Altekruze SF, Patel B, Shaw WK, Jr., Meinersmann RJ, et al. Prevalence and numbers of *Campylobacter* on broiler carcasses collected at rehang and postchill in 20 U.S. processing plants. J Food Prot. 2007: 70(7): 1556-60.
165. Berrang ME, Windham WR, Meinersmann RJ. *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* on broiler carcasses subjected to a high pH scald and low pH postpick chlorine dip. Poult Sci. 2011: 90(4): 896-900.
166. Cason JA, Hinton A, Jr., Ingram KD. Coliform, *Escherichia coli*, and *Salmonella* concentrations in a multiple-tank, counterflow poultry scald. J Food Prot. 2000: 63(9): 1184-8.
167. Ma L, Wang Y, Shen J, Zhang Q, Wu C. Tracking *Campylobacter* contamination along a broiler chicken production chain from the farm level to retail in China. Int J Food Microbiol. 2014: 181: 77-84.



168. Berrang ME, Smith DP, Windham WR, Feldner PW. Effect of intestinal content contamination on broiler carcass *Campylobacter* counts. J Food Prot. 2004: 67(2): 235-8.
169. Rajkovic A, Tomic N, Smigic N, Uyttendaele M, Ragaert P, Devlieghere F. Survival of *Campylobacter jejuni* on raw chicken legs packed in high-oxygen or high-carbon dioxide atmosphere after the decontamination with lactic acid/sodium lactate buffer. Int J Food Microbiol. 2010: 140(2-3): 201-6.
170. Riedel CT, Brondsted L, Rosenquist H, Haxgart SN, Christensen BB. Chemical decontamination of *Campylobacter jejuni* on chicken skin and meat. J Food Prot. 2009: 72(6): 1173-80.
171. Nagel GM, Bauermeister LJ, Bratcher CL, Singh M, McKee SR. Salmonella and *Campylobacter* reduction and quality characteristics of poultry carcasses treated with various antimicrobials in a post-chill immersion tank. Int J Food Microbiol. 2013: 165(3): 281-6.
172. El-Shibiny A, Connerton P, Connerton I. Survival at refrigeration and freezing temperatures of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* on chicken skin applied as axenic and mixed inoculums. Int J Food Microbiol. 2009: 131(2-3): 197-202.
173. Bhaduri S, Cottrell B. Survival of cold-stressed *Campylobacter jejuni* on ground chicken and chicken skin during frozen storage. Appl Environ Microbiol. 2004: 70(12): 7103-9.
174. Tustin J, Laberge K, Michel P, Reiersen J, Dadadottir S, Briem H, et al. A national epidemic of campylobacteriosis in Iceland, lessons learned. Zoonoses Public Health. 2011: 58(6): 440-7.
175. Alter T, Gaull F, Froeb A, Fehlhaber K. Distribution of *Campylobacter jejuni* strains at different stages of a turkey slaughter line. Food Microbiol. 2005: 22(4): 345-51.
176. Berrang ME, Meinersmann RJ, Smith DP, Zhuang H. The effect of chilling in cold air or ice water on the microbiological quality of broiler carcasses and the population of *Campylobacter*. Poult Sci. 2008: 87(5): 992-8.
177. Lindblad M, Hansson I, Vagsholm I, Lindqvist R. Postchill campylobacter prevalence on broiler carcasses in relation to slaughter group colonization level and chilling system. J Food Prot. 2006: 69(3): 495-9.

- 178.** Klein G, Reich F, Beckmann L, Atanassova V. Quantification of thermophilic *Campylobacter* spp. in broilers during meat processing. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2007; 92(3): 267-73.
- 179.** Bailey MA, Taylor RM, Brar JS, Corkran SC, Velásquez C, Novoa Rama E, Oliver HF, Singh M. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* from antibiotic-free broilers during organic and conventional processing. United States. *Poult Sc*. 2019(98): 1447–1454.
- 180.** Nauta M, van der Fels-Klerx I, Havelaar A. A poultry-processing model for quantitative microbiological risk assessment. *Risk Anal*. 2005; 25(1): 85-98.
- 181.** Johannessen GS, Johnsen G, Okland M, Cudjoe KS, Hofshagen M. Enumeration of thermotolerant *Campylobacter* spp. from poultry carcasses at the end of the slaughter-line. *Lett Appl Microbiol*. 2007; 44(1): 92-7.
- 182.** Sasaki Y, Maruyama N, Zou B, Haruna M, Kusukawa M, Murakami M, et al. *Campylobacter* cross-contamination of chicken products at an abattoir. *Zoonoses Public Health*. 2013; 60(2): 134-40.
- 183.** Chapman B, Otten A, Fazil A, Ernst N, Smith BA. A review of quantitative microbial risk assessment and consumer process models for *Campylobacter* in broiler chickens. *Microb Risk Anal*. 2016; 2–3: 3-15.
- 184.** Johnson P, Odumeru J, Mahdi A. Final research report on microbiological baseline survey of provincially inspected meat and poultry processing plants in Ontario. Food inspection branch, Ontario Ministry of Agriculture and Food. 2003: EF5065
- 185.** Bohaychuk VM, Gensler GE, King RK, Manninen KI, Sorensen O, Wu JT, et al. 2006. Occurrence of pathogens in raw and ready-to-eat meat and poultry products collected from the retail marketplace in Edmonton, Alberta, Canada. *J. Food Prot*. 69: 2176-2182
- 186.** Bohaychuk VM, Bradbury RW, Dimock R, Fehr M, Gensler GE, King RK, et al. 2009b. A microbiological survey of selected Alberta-grown fresh produce from farmers' markets in Alberta, Canada. *J. Food Prot*. 72: 415-420.
- 187.** Arsenault J, Letellier A, Quessy S, Boulianne M. Prevalence and risk factors for *Salmonella* and *Campylobacter* spp. carcass contamination in broiler chickens slaughtered in Quebec, Canada. *J Food Prot*. 2007; 70(8): 1820-8.

- 188.** Seliwiorstow T, Baré J, Berkvens D, Damme IV, Uyttendaele M, De Zutter L. Identification of risk factors for *Campylobacter* contamination levels on broiler carcasses during the slaughter process, Belgium. *Int J Food Microbiol.* 2016(226): 26-32.
- 189.** Hutchison ML, Taylor MJ, Tchòrzewska MA, Ford G, Madden RH, Knowles TG. Modelling-based identification of factors influencing campylobacters in chicken broiler houses and on carcasses sampled after processing and chilling. United Kingdom. *J Appl Microbiol Biochem.* 2017(122): 1389-1401.
- 190.** Chon JW, Lee SK, Yoon Y, Yoon KS, Kwak HS, Joo IS, Seo KH. Quantitative prevalence and characterization of *Campylobacter* from chicken and duck carcasses from poultry slaughterhouses in South Korea. South Korea. *Poult Sci.* 2018 (97): 2909–2916.
- 191.** FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization]. Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens: interpretative summary. *Microbiological Risk Assessment Series No 11.* Geneva. 2009: 35.
- 192.** Ricke SC, Feye KM, Chaney WE, Shi Z, Pavlidis H, Yang Y. Developments in Rapid Detection Methods for the Detection of Foodborne *Campylobacter* in the United States. *Front Microbiol.* 2019: 9: 3280.
- 193.** Strachan NJ, Rotariu O, Smith-Palmer A, Cowden J, Sheppard SK, O'Brien SJ, Maiden MC, Macrae M, Bessell PR, Matthews L, Reid SW, Innocent GT, Ogden ID, Forbes KJ. Identifying the seasonal origins of human campylobacteriosis. *Epidemiol Infect.* 2013: 141(6): 1267-75.
- 194.** Djennad A, Lo Iacono G, Sarran C, et al. Seasonality and the effects of weather on *Campylobacter* infections. *BMC Infect Dis.* 2019: 19(1): 255.
- 195.** Jørgensen F, Bailey R, Williams S, Henderson P, Wareing D R A, Bolton F, Frost J A, Ward L, Humphrey T. Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. *Int. J. Food Microbiol.* 2002: 76(1-2): 151-64.
- 196.** Habib I, Berkvens D, De Zutter L, et al. *Campylobacter* contamination in broiler carcasses and correlation with slaughterhouses operational hygiene inspection. *J Food Microbiol.* 2012: 29(1): 105-112.
- 197.** Hayashi M, Kubota-Hayashi S, Natori T, Mizuno T, Miyata M, Yoshida S, Zhang J, Kawamoto K, Ohkusu K, Makino S, Ezaki T. Use of blood-free enrichment broth in the

development of a rapid protocol to detect *Campylobacter* in twenty-five grams of chicken meat. *Int.J. Food Microbiol.* 2013: 163,(1): 41-46.

**198.** Jasson V, Sampers I, Botteldoorn N, López-Gálvez F, Baert L, Denayer S, Rajkovic A, Habib I, De Zutter L, Debevere J, Uyttendaele M, Characterization of *Escherichia coli* from raw poultry in Belgium and impact on the detection, *Int. J. Food Microbiol.* 2009: 135,(3): 248–253

**199.** Moran L, Kelly C, Madden R.H. Factors affecting the recovery of *Campylobacter* spp. from retail packs of raw, fresh chicken using ISO 10272-1: 2006. *Lett. Appl. Microbiol.* 2009: 48,(5): 628–632.

**200.** Kim J, Oh E, Banting GS, et al. An Improved Culture Method for Selective Isolation of *Campylobacter jejuni* from Wastewater. *Front Microbiol.* 2016: 7: 1345.

**201.** Altekruze SF, Stern NJ, Fields PI, et al. *Campylobacter jejuni*—an emerging foodborne pathogen. *Emerg Infect Dis.* 1999: 5(1): 28-35.

**202.** Blevins R E. Effects of pre-chiller temperature on the microbial ecology of whole bird carcass rinses. 2017. Theses and Dissertations. 2552. <http://scholarworks.uark.edu/etd/2552>

**203.** FSIS Compliance Guideline. Modernization of poultry slaughter inspection microbiological sampling of raw poultry June 2015.

<https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/a18d541e-77d2-40cf-a045-b2d2d13b070d/Microbiological-Testing-Raw-Poultry.pdf?MOD=AJPERES> (consulté mars 2020)

**204.** Glenda Dvorak “Disinfection 101”, Center for Food Security and Public Health, Iowa State University, 2008.

**205.** Jang Y, Lee K, Yun S, et al. Efficacy evaluation of commercial disinfectants by using *Salmonella enterica* serovar Typhimurium as a test organism. *J Vet Sci.* 2017: 18(2): 209-216.

**206.** Stringfellow K, Anderson P, Caldwell D, Lee J B J, McReynolds J, Carey J, Nisbet D, Farnell M. Evaluation of disinfectants commonly used by the commercial poultry industry under simulated field conditions. *Poult. Sci.* 2009: 88 (6): 1151-5.

- 207.** Repérant E, Laisney MJ, Nagard B, Quesne S, Rouxel S, Le Gall F, Chemaly M, Denis M, Influence of enrichment and isolation media on the detection of *Campylobacter* spp. in naturally contaminated chicken samples. *Microbiol. Methods*. 2016: 128: 42-47
- 208.** Rodgers J D, Simpkin E, Lee R, Clifton-Hadley F A and Vidal A B. Sensitivity of Direct Culture, Enrichment and PCR for Detection of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in Broiler Flocks at Slaughter. *Zoonoses Public Health*. 2017: 64 (4): 262-271.
- 209.** Batz MB, Hoffmann S, Morris JG, Jr. Ranking the disease burden of 14 pathogens in food sources in the United States using attribution data from outbreak investigations and expert elicitation. *J Food Prot*. 2012: 75(7): 1278-91.
- 210.** Rouger A, Tresse O, Zagorec M. Bacterial Contaminants of Poultry Meat: Sources, Species, and Dynamics. *Microorganisms*. 2017: 5(3): 50.
- 211.** Umaraw P, Prajapati A, Verma AK, Pathak V, Singh VP. Control of *Campylobacter* in poultry industry from farm to poultry processing unit: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2017: 57(4) 659-665.
- 212.** Rossler, E, Signorini, ML, Romero-Scharpen, A, et al. Meta-analysis of the prevalence of thermotolerant *Campylobacter* in food-producing animals worldwide. *Zoonoses Public Health*. 2019: 66(4): 359– 369.
- 213.** Zhang X, Tang M, Zhou Q, Zhang J, Yang X, Gao Y. Prevalence and Characteristics of *Campylobacter* Throughout the Slaughter Process of Different Broiler Batches. *Front Microbiol*. 2018: 9: 2092.
- 214.** Kudirkiene E, Bunevičienė J, Brøndsted L, Ingmer H, Olsen J, Malakauskas M. Evidence of broiler meat contamination with post-disinfection strains of *Campylobacter jejuni* from slaughterhouse. *Int. J. Food Microbiol.* 2011: 145(1): 116-20.
- 215.** Garcia-Sanchez L, Melero B, Jaime I, Hanninen M-L, Rossi M, Rovira J. *Campylobacter jejuni* survival in a poultry processing plant environment. *Food Microbiol*. 2017: 65: 185-192.
- 216.** Althaus D, Zweifel C, Stephan R. Analysis of a poultry slaughter process: Influence of process stages on the microbiological contamination of broiler carcasses. *Ital J Food Saf*. 2017: 6(4): 7097.
- 217.** Melo RT, Mendonça EP, Monteiro GP, et al. Intrinsic and Extrinsic Aspects on *Campylobacter jejuni* Biofilms. *Front Microbiol*. 2017: 8: 1332.

- 218.** Perez-Arnedo I, Gonzalez-Fandos E. Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry in three spanish Farms, a slaughterhouse and a further processing plant. *Foods*. 2019: 8(3): 111.
- 219.** Hue O, Le Bouquin S, Laisney MJ, Allain V, Lalande F, Petetin I, Rouxel S, Quesne S, Gloaguen PY, Picherot M, Santolini J, Salvat G, Bougeard S, Chemaly M. Prevalence of and risk factors for *Campylobacter* spp. contamination of broiler chicken carcasses at the slaughterhouse. *Food Microbiol*. 2010: 27(8) 992-999.
- 220.** Silva J, Leite D, Fernandes M, Mena C, Gibbs PA, Teixeira P. *Campylobacter* spp. as a Foodborne Pathogen: A Review. *Front Microbiol*. 2011: 2: 200.
- 221.** Malorny B, Löfström C, Wagner M, Kramer N, Hoorfar J. Enumeration of *Salmonella* bacteria in food and feed samples by real-time PCR for quantitative microbial risk assessment. *Appl. Environ. Microb*. 2008: 74(5): 1299-1304.
- 222.** Foley SL, Nayak R, Hanning IB, Johnson TJ, Han J, Ricke SC. Population dynamics of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production. *Appl Environ Microbiol*. 2011: 77(13): 4273-4279.
- 223.** Facciola A, Riso R, Avventuroso E, Visalli G, Delia SA, Laganà P. *Campylobacter*: from microbiology to prevention. *J Prev Med Hyg*. 2017: 58(2): E79-E92.
- 224.** Costard S, Espejo L, Groenendaal H, Zagmutt FJ. Outbreak-Related disease burden associated with consumption of unpasteurized cow's milk and cheese, United States, 2009-2014. *Emerg Infect Dis*. 2017: 23(6): 957-964.
- 225.** Shrestha RD, Midwinter AC, Marshall JC, Collins-Emerson JM, Pleydell EJ, French NP. *Campylobacter jejuni* strains associated with wild birds and those causing human disease in six high-use recreational waterways in New Zealand. *Appl Environ Microbiol*. 2019: 85(24): e01228-19.
- 226.** Pedati C, Koirala S, Safraneck T, Buss BF, Carlson AV. *Campylobacteriosis* outbreak associated with contaminated municipal water supply - Nebraska, 2017. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2019: 68(7): 169-173.
- 227.** Harrer A, Bucker R, Boehm M, et al. *Campylobacter jejuni* enters gut epithelial cells and impairs intestinal barrier function through cleavage of occludin by serine protease HtrA. *Gut Pathog*. 2019: 11: 4.

- 228.** Xi, D., Alter, T., Einspanier, R. et al. *Campylobacter jejuni* genes Cj1492c and Cj1507c are involved in host cell adhesion and invasion. *Gut Pathog.*2020: 12.
- 229.** Glashower D, Snyder J, Welch D, McCarthy S. Notes from the field: outbreak of *Campylobacter jejuni* associated with consuming undercooked chicken liver Mousse - Clark County, Washington, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2017: 66(38): 1027.
- 230.** US Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service. "Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge, and raw product samples." *Microbiology laboratory guidebook.* 2016.
- 231.** Reid AN, Pandey R, Palyada K, Whitworth L, Doukhanine E, Stintzi A. Identification of *Campylobacter jejuni* genes contributing to acid adaptation by transcriptional profiling and genome-wide mutagenesis. *Appl Environ Microbiol.* 2008: 74(5): 1598-1612.
- 232.** Stahl M, Fridrich E, Vermeulen J, Badayeva Y, Li X, Vallance BA, Gaynor EC. The helical shape of *Campylobacter jejuni* promotes In Vivo pathogenesis by aiding transit through intestinal mucus and colonization of crypts. *Infect Immun.* 2016: 84(12): 3399-3407.
- 233.** Konkel ME, Talukdar PK, Negretti NM, Klappenbach CM. Taking control: *Campylobacter jejuni* binding to fibronectin sets the stage for cellular adherence and invasion. *Front Microbiol.* 2020: 11: 564.
- 234.** Talukdar PK, Negretti NM, Turner KL, Konkel ME. Molecular dissection of the *Campylobacter jejuni* CadF and FlpA virulence proteins in binding to host cell fibronectin. *Microorganisms.* 2020: 8(3): 389.
- 235.** Thibodeau A, Letellier A, Yergeau É, Larrivière-Gauthier G, Fravallo P. Lack of evidence that selenium-Yeast improves chicken health and modulates the caecal microbiota in the context of colonization by *Campylobacter jejuni*. *Front Microbiol.* 2017: 8: 451.
- 236.** Poultry C, Council E P. National microbiological baseline study in broiler chicken December 2012–December 2013. <https://www.inspection.gc.ca/food-safety-for-industry/chemical-residues-microbiology/food-safety-testing-bulletins/2016-08-17/december-2012-december-2013/eng/1471358115567/1471358175297?chap=14>  
(consulté mars 2020)

- 237.** Iglesias-Torrens Y, Miró E, Guirado P, et al. Population structure, antimicrobial resistance, and virulence-associated genes in *Campylobacter jejuni* isolated from three ecological niches: gastroenteritis patients, broilers, and wild birds. *Front Microbiol.* 2018; 9: 1676.
- 238.** Arsenault J, Letellier A, Quessy S, Normand V, Boulianne, M. Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. caecal colonization in broiler chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec, Canada. *Prev. Vet. Med.* 2007; 81(4): 250-264.
- 239.** Lee J, Jeong J, Lee H, et al. Antibiotic susceptibility, genetic diversity, and the presence of toxin producing genes in *Campylobacter* isolates from poultry. *Int J Environ Res Public Health.* 2017; 14(11): 1400.
- 240.** USDA-FSIS. Pathogen reduction-*Salmonella* and *Campylobacter* performance standards verification testing. 2019.
- 241.** ACIA. Normes d'identité canadiennes : normes d'identité canadiennes : volume 7- Produits de viande. <https://www.inspection.gc.ca/a-propos-de-l-acia/lois-et-reglements/liste-des-lois-et-reglements/documents-incorpores-par-renvoi/normes-d-identite-canadiennes-volume-7/fra/1521204102134/1521204102836> (consulté avril 2020)
- 242.** Bohaychuk VM, Checkley SL, Gensler GE, Barrios PR. Microbiological baseline study of poultry slaughtered in provincially inspected abattoirs in Alberta, Canada. *Can Vet J.* 2009 Feb; 50(2): 173-8.