



Etude des facteurs de risque de la contamination par *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli* des élevages de poulets de chair standard*

Julie REFRE'GIER-PETTON, Martine DENIS, Nicolas ROSE, Gilles SALVAT
AFSSA-Ploufragan, BP 53, 22440 Ploufragan

* Article publié aux 4^e Journées de la Recherche Avicole (Nantes, 27 au 29 mars 2001)

RESUME

Les objectifs de cette étude étaient d'identifier et de quantifier les facteurs de risque de contamination des élevages de poulets de chair standard par *Campylobacter*. Cette étude a été menée d'août 1999 à mai 2000 sur 75 élevages de l'ouest de la France. Pour chaque élevage visité, 142 questions relatives à la conduite de l'élevage ont été posées et des échantillons de fientes fraîches prélevés. 42,7 % des élevages se sont avérés contaminés par *Campylobacter* ; *C.jejuni* a été retrouvée dans 29 élevages alors que *C.coli* dans 8 élevages seulement. Les risques de contamination des élevages par *Campylobacter* sont augmentés en été / automne, dans les bâtiments à ventilation statique, lorsque plusieurs personnes s'occupent de l'élevage, dans les grandes exploitations avicoles (≥ 3 poulaillers) et lorsque l'eau de boisson des poulets est acidifiée. La présence de ténébrions dans le sas augmente aussi le risque de contamination. L'administration d'un traitement antibiotique suite à une maladie quant à elle diminue le risque de contamination par *Campylobacter*. Aucun facteur lié aux mesures sanitaires n'est ressorti.

SUMMARY

Our objectives were to identify risk factors for contamination of French broiler flocks by *Campylobacter*. We used 75 broiler farms in western France. A questionnaire was administered to the farmers and samples of fresh droppings were taken to assess the *Campylobacter* status of the broiler flocks. 42,7% of the flocks were positive for *Campylobacter* spp. The risk of contamination of the broiler flocks by *Campylobacter* was increased in summer / autumn, in houses with static air distribution, when two or more people took care of the flock, in poultry farms with three or more houses and when the drinking water for the chickens was acidified. The presence of litter-beetles in the change-room also increased the risk of contamination. The administration of an antibiotic treatment following a disease decreased the risk of a flock being contaminated by *Campylobacter*.

Introduction

Les campylobactérioses sont de plus en plus fréquentes et dépassent le nombre de salmonelloses en comptant les cas sporadiques (Phillips, 1995). La source principale des infections à *Campylobacter* est l'ingestion d'aliments contaminés et en particu-

lier les viandes crues ou non suffisamment cuites. Parmi ces viandes, la principale est celle de volaille (Deming et al., 1987).

L'analyse des facteurs de risques de contamination des élevages de poulets de chair standard français par *Campylobacter* avait pour objectifs :

- une meilleure compréhension de l'épidémiologie de la bactérie dans la filière poulet de chair standard nécessaire à l'établissement d'un plan de maîtrise de cette contamination.
- une meilleure connaissance du statut de la filière poulet standard française vis à vis de la contamination par *Campylobacter*.

1. Matériel et Méthodes

1.1. Matériel

Cette étude a été menée d'Août 1999 à Mai 2000 et a impliqué 75 élevages affiliés à 6 groupements de production avicole de l'ouest de la France.

1.2. Méthodes

Pour évaluer les facteurs de risques de la contamination des élevages de poulets de chair par *Campylobacter*, l'intérêt a été porté sur l'état de contamination par *Campylobacter* des lots de volailles en fin de bande. Une seule visite par élevage a été effectuée. Elle concernait un lot de volailles par éleveur entre le 30^e et le 48^e jour d'élevage (moyenne : 35 jours). Cette visite avait pour but :

- la récolte de données issues d'un questionnaire posé à l'éleveur. Ce questionnaire comprenait environ 100 questions relatives à la conduite de l'élevage (vide sanitaire, litière, poussins, la mise en place,...) aux mesures sanitaires pratiquées (nettoyage, désinfection, gestion du sas,...), au bâtiment d'élevage (structure, système de ventilation,...) et à l'étape de détassage (date,...) et ce uniquement pour le lot visité.
- la récolte d'échantillons afin de déterminer le statut du lot de volailles vis à vis de la contamination par *Campylobacter*.

1.3. Analyse des échantillons

Les échantillons consistaient en 15 pools de 5 fientes fraîches. Les 75 fientes sont prises au hasard et de façon à balayer la plus grande surface du bâtiment. L'analyse bactériologique des échantillons a été réalisée selon la norme AFNOR en rigueur. Les échantillons sont mis en présence de bouillon Preston et un isolement (dit direct) sur les milieux Virion et Karmali est réalisé. Un deuxième isolement (dit après enrichissement) sur les mêmes milieux est effectué après 24 heures d'incubation du bouillon à 42°C. La présence de *Campylobacter* est notifiée par repérage des colonies caractéristiques sur les boîtes après incubation (48 h et 72 h). Elle est confirmée par l'observation des bac-

téries au microscope et par PCR. L'identification des espèces *jejuni* et *coli* se fait par multiplex PCR selon la procédure décrite par Denis et al. (1999).

1.4. Analyses statistiques

Analyse descriptive

Une Analyse Factorielle des Correspondances Multiples (AFCM) suivie d'une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) a été réalisée.

Les variables actives introduites dans l'analyse ont été sélectionnées au cours d'une première étape consistant à comparer chacune des variables potentiellement explicatives avec la variable objectif (*Campylobacter* + vs. *Campylobacter* -). Les variables candidates ont été retenues au seuil de $p < 0,20$ (test du χ^2 , procédure FREQ de SAS). La variable objectif a été introduite en tant que variable illustrative dans l'AFCM.

La Classification Ascendante Hiérarchique a permis de constituer des groupes d'élevages présentant de fortes similitudes au regard des variables explicatives. Ces groupes en fonction de leur proximité avec la variable objectif permettent de définir une typologie des élevages contaminés et non contaminés par *Campylobacter*. Les variables associées constituent les premières hypothèses de facteurs de risque utilisées dans l'analyse suivante par modélisation.

Modélisation

Une procédure à deux niveaux a été utilisée pour étudier la relation entre les variables explicatives et le statut du lot vis à vis des *Campylobacter*. Le traitement des données a été réalisé par la méthode de régression logistique (proc LOGISTIC ; SAS Institute Inc., 1989) selon Hosmer et Lemeshow (1989).

La première étape est une description univariée des données pour relier chaque variable explicative à la contamination du lot par *Campylobacter*. Le but est de sélectionner un pool de variables qui sera introduit dans le modèle. Le seuil de sélection (test du χ^2) est de $p < 0,25$.

De plus pour éliminer le problème de collinéarité qui engendre une surestimation des paramètres, une

étude des relations entre les variables explicatives sélectionnées a été menée. Seules les variables statistiquement indépendantes ont été retenues.

La deuxième étape consiste à introduire toutes les variables sélectionnées dans la précédente étape dans un modèle de régression logistique. La contribution de chaque facteur dans le modèle est testée par le test du rapport de vraisemblance (Mc Cullagh et Nelder, 1989). Une procédure descendante a été entreprise (la variable avec la probabilité la plus grande est éliminée et le modèle est relancé) jusqu'à obtenir un modèle où tous les facteurs sont significatifs au seuil de $p < 0,10$. Les Odds ratios sont convertis en risques relatifs selon la méthode de Beaudeau et Fourichon (1998). Les interactions n'ont pas été testées à cause de la faible taille de l'échantillon.

2. Résultats

Sur les 75 élevages étudiés, 32 se sont avérés contaminés par *Campylobacter*, ce qui donne un taux de contamination des élevages français de poulets de chair standard de 42,7 %. *Campylobacter jejuni* est l'espèce la plus représentée ; elle a été retrouvée dans 29 élevages alors que *Campylobacter coli* seulement dans 8 élevages. Le tableau 1 récapitule ces résultats.

Le tableau 2 indique les facteurs associés à la contamination des élevages de volailles par *Campylobacter*. Sur 13 variables testées dans la régression logistique, 7 se sont révélées être significativement liées à l'état de contamination des élevages par *Campylobacter*.

Les variables retenues dans le modèle final concernent principalement 3 paramètres (qui sont apparus comme hypothèses par l'AFCM et l'ACH) :

- la saisonnalité,
- la maîtrise de l'ambiance dans l'élevage,
- l'environnement.

Les risques de contamination des élevages par *Campylobacter* sont augmentés en été / automne, dans les bâtiments à ventilation statique, lorsque plusieurs personnes s'occu-

pent de l'élevage, dans les grandes exploitations avicoles (≥ 3 poulaillers) et lorsque l'eau de boisson des poulets est acidifiée. La présence de ténébrions dans le sas augmente aussi le risque de contamination.

L'administration d'un traitement antibiotique suite à une maladie quant à elle diminue le risque de contamination par *Campylobacter*. Les mesures sanitaires concernant le nettoyage et désinfection du poulailler et des abords et celles prises par l'éleveur (sas en deux aires, changement de bottes, dératisation) ne sont pas ressortis comme facteurs d'augmentation ou de diminution du risque.

3. Discussion

Plusieurs enquêtes épidémiologiques ont été réalisées dans l'Union Européenne sur les facteurs de risques de contamination par *Campylobacter* des élevages avicoles (Kapperud *et al.*, 1993 ;

Jacobs - Reitsma *et al.*, 1995 ; Van de Giessen *et al.*, 1996 ; Berndtson *et al.*, 1996b ; Jacobs - Reitsma, 1997) mais aucune en France à ce jour. Cette enquête montre donc un réel intérêt.

Pour la période 1999 / 2000, la fréquence de contamination des lots de poulets de chair standard de l'ouest de la France par *Campylobacter* est de 42,7 %. Les données de la littérature confortent ce résultat. La fréquence varie de 27 à 100 % (Neill *et al.* 1984 ; Engvall *et al.*, 1986 ; Humphrey *et al.* 1993 ; Berndtson *et al.* 1996b ; Nielsen *et al.*, 1997 ; Atanassova *et al.*, 1998).

La période été / automne est apparue comme un facteur d'augmentation du risque de contamination (RR = 2,85 [1,29 - 6,49]). Cette saisonnalité se retrouve dans plusieurs autres études (Berndtson *et al.* 1996, Jacobs-Reitsma *et al.* 1994).

Trois paramètres relatifs à cette maîtrise de l'ambiance sont ressortis comme facteurs d'augmentation du risque de contamination. Ces paramètres sont :

- le système statique de la ventilation du bâtiment
(RR = 3,9 [1,83 - 3,69]).
- l'absence de traitement antibiotique curatif
(RR = 3,81 [1,32 - 13,85]).
- l'acidification de l'eau de boisson des volailles
(RR = 2,10 [1,01 - 3,73]).

Le système statique de ventilation ou ventilation naturelle est un système pouvant montrer des problèmes de circulation / renouvellement de l'air à l'intérieur du bâtiment et de température en particulier pendant les saisons chaudes. Or les conditions favorables de développement des *Campylobacter* sont la faible teneur en oxygène et des températures élevées. Ceci pourrait expliquer la raison pour laquelle un système de ventilation statique augmente le risque de contamination.

Il est apparu que le traitement antibiotique donné aux volailles suite à un problème pathologique diminue le risque de contamination par *Campylobacter*. Deux hypothèses peuvent être avancées : 1) le traitement à but thérapeutique est à des doses suffisantes pour stopper le développement ou pour détruire les agents pathogènes. Comme les autres micro-organismes, *Campylobacter* pourrait être sensible au traitement ; 2) le traitement antibiotique modifie l'écologie de la flore intestinale des poulets dans le sens où elle est tota-

Tableau 1 : **Pourcentage d'élevages de poulets de chair contaminés par *C. jejuni* et *C. coli***

Statut du lot vis à vis des <i>Campylobacter</i>	Pourcentage d'élevage	Pourcentage d'élevage ayant un type d'espèce de <i>Campylobacter</i> *		
		<i>jejuni</i> uniquement	<i>coli</i> uniquement	<i>jejuni</i> et <i>coli</i>
Positif	42,7 %	74,2 %	6,4 %	19,4 %
Négatif	57,3 %			

*la très faible contamination d'un élevage ne nous a pas permis d'identifier l'espèce.

Tableau 2 : **Variables et modalités associées dans le modèle final de régression logistique**

Variables		% de lots C+ ^a	modèle de la régression logistique			
			OR ^c	90% CI ^d (OR)	RR ^b	90% CI ^d (RR)
saison	Eté/automne	57,14	6,35*	1,570-25,66	2,85	1,29-6,49
	Printemps	38,46	0,17	0,022- 1,26	0,28	0,04-1,13*
	Hiver	25,93	1,00	-	1,00	-
traitement antibiotique curatif	Oui	22,73	1,00	-	1,00	-
	Non	50,94	7,72*	1,60-32,10	3,81	1,32-13,85
ventilation	Statique	70,59	20,84*	3,40-126,70	3,09	1,83-3,69
	Dynamique	34,48	1,00	-	1,00	-
nombre de bâtiments	≤ 2	38,10	1,00	-	1,00	-
	> 2	66,67	13,22*	2,43-72,00	2,55	1,56-3,01
Acidification de l'eau	Oui	56,00	4,190	1,01-17,4	2,10	1,01-3,73
	Non	36,00	1,00	-	1,00	-
nombre de personnes s'occupant du bâtiment	≤ 1	35,71	1,00	-	1,00	-
	> 1	51,52	3,046	1,02-9,1	1,87	1,01-3,39
présence de ténébrions dans le sas	Oui	66,67	4,986	1,1-22,6	2,03	1,06-2,76
	Non	38,10	1,00	-	1,00	-

^a élevage contaminé par *Campylobacter*

^b Risque Relatif obtenu selon Beaudou et Fourichon (1998)

^c Odds Ratio

^d Intervalle de Confiance

* significatif aussi à $p < 0,05$ (test de rapport de vraisemblance)

lement déséquilibrée. Cet environnement ne serait pas favorable à l'implantation de *Campylobacter*.

Notre étude a mis en évidence un effet de l'acidification dans le sens où une acidification de l'eau de boisson serait favorable à la contamination par *Campylobacter*. Résultat qui à notre connaissance n'est pas apparu dans d'autres études. L'hypothèse d'une modification de la flore intestinale due à l'acidification peut être avancée. Cette modification avantagerait les *Campylobacter* par rapport aux autres micro-organismes présents dans la flore intestinale naturelle des volailles.

Les trois facteurs suivants sont impliqués dans la contamination des élevages par *Campylobacter* :

- le nombre de personnes s'occupant du bâtiment : lorsque 2 personnes gèrent le bâtiment, le risque est augmenté

(RR = 1,87 [1,01 - 3,39]),

- le nombre de bâtiment sur le site : un nombre égal ou supérieur à 3

est un facteur d'augmentation du risque (RR = 2,55 [1,56 - 3,01]),

- la présence de ténébrions dans le sas est liée à la contamination par *Campylobacter*

(RR = 2,03 [1,06 - 2,76]).

La terre environnante est considérée comme un réservoir de *Campylobacter*. 68 % des échantillons de terre prélevés autour des bâtiments par Studer *et al.* (1999) se sont révélés contaminés par *Campylobacter jejuni* ou coli. Plus le nombre de personnes (éleveurs, techniciens,...) à pénétrer dans l'élevage est grand, plus le risque d'introduire les *Campylobacter* est augmenté : l'homme étant le vecteur de transport de l'environnement dans l'élevage. La gestion de plusieurs poulaillers sur le même site implique un passage régulier d'un bâtiment à l'autre. L'éleveur peut là encore être vecteur de la contamination d'un poulailler à l'autre. Le personnel s'occupant de plusieurs poulaillers est décrit

comme facteur d'augmentation du risque dans 2 autres études (Kapperud *et al.*, 1993 ; Berndtson *et al.*, 1996b).

La présence de ténébrions dans le sas est facteur d'augmentation de risque de contamination. Les insectes comme les rongeurs sont décrits comme vecteurs potentiels de *Campylobacter* (Shane *et al.*, 1984 ; Van de Giessen *et al.*, 1996).

Les différentes études sur les facteurs de risque ont montré que la mesure la plus efficace pour maintenir les poulets exempts de *Campylobacter* est d'avoir de bonnes pratiques d'hygiène et de désinfection (Kazwala *et al.* 1990 ; Berndtson *et al.*, 1996b ; Van de Giessen *et al.*, 1998). Cependant, aucune variable relative aux mesures d'hygiène (changement de bottes,...) et aux barrières sanitaires (sas en 2 aires,...) n'est ressortie comme facteur de risque à partir du modèle de régression logistique.

Références bibliographiques

Atanassova, V., Altemeier, J., Kruse, P., et Dolzenski, M., 1998. *Flaishwirtschaft*, 78 : 364-366.
Berndtson, E., Emanuelson, U., Engvall, A., et Danielsson-Tham, M.L., 1996b. *Preventive Veterinary Medicine*, 26 : 167-185.
Deming, M.S., Tauxe, R.V. and Blake, P.A. 1987. *American Journal of Epidemiology* 126, 526-534.
Denis M., Soumet C., Rivoal K., Ermel G., Blivet D., Salvat G., et Colin P. 1999. *Letters in Applied Microbiology* 29 : 406-410.
Engvall, A., Bergqvist, A., Sandstedt, K., et Danielsson-Tham, M.L., 1996. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 27 : 540.
Hosmer D.W. et Lemeshow S. 1989. *Applied logistic regression*, Wiley, New York, pp 307.
Humphrey, T.J., Henley, A., et Lanning, D.G., 1993. *Epidemiology and Infection*, 110 : 601-607.

Jacobs-Reitsma, W.F., 1997. *Veterinary Quarterly*, 19 : 113-7.
Jacobs-Reitsma, W.F., van de Giessen, A.W., Bolder, N.M., et Mulder, R.W., 1995. *Epidemiology and Infection*, 114 : 413-421.
Kapperud, G., Skjerve, E., Vik, L., Hauge, K., Lysaker, A., Aalmen, I., Ostroff, S.M., et Potter, M., 1993. *Epidemiology and Infection*, 111 : 245-255.
Kazwala, R.R., Collins, J.D., Hannan, J., Crinion, R.A.P. et O'Mahony, G., 1990. *The Veterinary record*, 31 : 305-306.
Mc Cullagh P. et Nelder J.A., 1989. *Generalized Models*, second edn. Chapman and Hall, London. pp.114-119.
Neill, S.D., Campbell, J.N., et Greene, J.A., 1984. *Avian Pathologie*, 13 : 777-785.
Nielsen, E.M., Engberg, J., et Madsen, M., 1997.

FEMS Immunology Medical Microbiology, 19 : 47-56.
Philipps C.A., 1995. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 83-87.
Shane, S.M., Montrose, M.S., et Harrington, K.S., 1984. *Avian Disease*, 29 : 384-391.
Studer E, Lüthy J., et Hübner P (1999) *Res. Microbiol.* 150 : 213-219
Van de Giessen, A., Heuvelman, C.J., Abec, T., et Hazeleger, W.C., 1996. *Epidemiology and Infection*, 117 : 463-470.
Van de Giessen, A., Tilburg, J.J., Ritsmeester, W.S., et Van der Plas, J., 1998. *Epidemiology and Infection*, 121 : 57-66.