

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE  
L'UNIVERS  
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



AR / SEN

## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie - Ecologie

Spécialité/Option : Microbiologie de l'environnement: Santé, Eau et Environnement

**Thème : Microbiologie des fientes de quelques espèces aviaires nicheuses  
dans la région de Guelma**

Présenté par : **BENSOUILAH Taqiyeddine**

**KIRATI Hanane**

**TOUATI Hadjer**

Devant le jury composé de :

Président :	Mme AOUISSI Mouna	(M.A)	Université de Guelma.
Examineur :	M. NEDJAH Riad	(M.C)	Université de Guelma.
Examineur :	M. ROUBI Abdelhakim	(M.C)	Université de Guelma.
Encadreur :	M. HOUHAMDI Moussa	(Pr.)	Université de Guelma.
Co-Encadreur:	M. BENTORKI A.Aymen	(Dr.)	Hôpital Ibn Zohr Guelma.
Invité:	M. KEBIECHE Hassan		Direction de la santé Guelma.

Juin 2012

## *Remerciements*

Ce mémoire nous a donnée l'occasion de rencontrer et de travailler avec des personnes absolument épatantes. Au terme de ce travail, nous remercions profondément :

En premier lieu, **M. HOUHAMDI M.** Professeur à l'université 8 Mai 1945 de Guelma, qui nous a ouvert les portes et nous a généreusement accueillis au sein de son unité de recherche. C'est grâce à son aide, ses conseils et ses recommandations pertinentes ainsi que sa gentillesse que nous avons pu mener à bien ce modeste travail.

Nous lui devons aussi une construction personnelle rendue possible par la confiance qu'il a placée en nous et la grande liberté qu'il nous a donnée.

**M. BENTORKI A.** Docteur en microbiologie à l'hôpital Ibn Zohr de Guelma, pour ses conseils, son aide et ses orientations.

**M<sup>me</sup> ALLIOUT N.** Chef département d'écologie et du génie de l'environnement pour sa collaboration, sa disponibilité et ses conseils durant toute notre période Universitaire.

A **M<sup>me</sup> AOUISSI M., M. NDJEH R.** et **M. ROUIBI A.H.** qui ont accepté de participer à notre jury. Soyez assurée de notre reconnaissance.

Le présent travail n'aurait pas pu avoir lieu sans **M. KEBIECHE H.** Chef service de laboratoire de la direction de la santé de la wilaya de Guelma, il nous est impossible de lui exprimer notre reconnaissance et nos remerciements pour son aide, son soutien, ses encouragements et sa bonne humeur.

A **M. ABDAOUI M.S.** et **M. BENSOUILAH A.** pour leurs serviabilités. Merci pour tous leurs efforts avec nous. Soyez assurée de notre reconnaissance.

A tous nos collègues de la promotion et surtout : **ABDELLIOUI S., BOUKHDIM A.** et **HAMZAOUI H.** en leurs souhaitant la réussite.

Aux doctorants : **BARA M., BERGAL A., BOUDRAA W., GUEROUI Y., HADDAD S., KAFT F., MERZOUG S., ROUAIGIA M** et **TABET M.**

A tout le personnel du labo de la direction de santé et surtout : **M.** et **M<sup>me</sup> DJIRADI,** **ATHAMNIA M., BAHALIL M.** et **HAMLAOUI B.**

*Merci infiniment !*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*Aux deux êtres les plus chers, mes parents pour tout ce qu'ils m'ont offert  
d'amour et d'affection.*

*A mon époux et mes deux filles.*

*À ma famille qui m'a soutenue.*

*A tous mes sœurs, frères, oncles, tantes, cousins, cousines.*

*A tous mes chères amies.*

*A tous mes professeurs.*

*A tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.*

*A toute ma promotion*

*Hadjer*

Produced with Scantopdf

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.*

*A ma grand-mère*

*A tous mes oncles et tantes, cousins et cousines.*

*A mes chères sœurs et mon frère.*

*A Mes meilleurs amis.*

*Mes proches et toute ma famille, et tous les gens qui m'aiment.*

*A tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.*

*A tous mes collègues de la promotion.*

*Hanane*

Produced with ScanTopDF

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*A mes parents, qui m'ont soutenue, guidée et encouragée.*

*J'espère ne jamais vous décevoir, je vous aime tant.*

*A mes sœurs et mon unique frère Hani.*

*A ma famille, en particulier Fares, Ali, Mdjid, Nacer eddine*

*et à tous mes oncles, tantes, cousins, cousines...*

*A tous mes amis, Hamza en particulier.*

*A toute ma promotion.*

*Taqiyeddine*

Produced with ScanTopDF

# SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction ..... 1

## *Partie I : Etude bibliographique*

### **Chapitre I : Description de site**

1. Description de la région d'étude .....	3
2. Relief .....	4
3. Réseau hydrographique .....	5
4. Cadre biotique .....	7
5. Etude climatologique .....	7
5.1 La précipitation .....	8
5.2. La température .....	10
5.3 Synthèse climatique .....	10

### **Chapitre II : Les bactéries potentiellement présentes dans les fientes**

1. Les entérobactéries .....	13
2. Les <i>Clostridium</i> .....	14
3. Les <i>Campylobacter</i> .....	16
4. Les Mycobactéries .....	17
5. Les Staphylocoques .....	18
6. Les Streptocoques .....	20
7. Les Enterocoques .....	21

8. Les Lactobacilles .....	22
9. Les <i>Bacillus</i> .....	23

### **Chapitre III : Les zoonoses aviaires et les dangers d'origine infectieuse**

1. La campylobactériose .....	25
2. La chlamydie aviaire .....	26
3. La listériose .....	26
4. la mycoplasmosse .....	27
5. La pasteurellose .....	27
6. Le rouget .....	28
7. La salmonellose .....	29
8. Les staphylococcies .....	29
9. La tuberculose aviaire .....	30
10. La tularémie .....	32
11. l'aspergillose .....	32
12. la candidose .....	33

### ***Partie II : Etude expérimentale***

#### **Chapitre IV : Matériel et méthodes**

1. Echantillonnage .....	35
2. Analyses microbiologiques .....	36
2.1. La solution mère .....	36
2.2. Recherche bactérienne et isolement .....	37
2.3. Les milieux de cultureensemencés .....	41
2.4. Recherche des levures et champignons .....	47
3. L'identification .....	48
3.1. Examen macroscopique .....	48
3.2. Examen microscopique .....	48

3.3. Examen liés aux caractères biochimiques	49
3.4. Antibiogramme	63

## **Chapitre V : Résultats et discussion**

I. Résultats	65
1. Caractères morphologiques et coloration de Gram	65
2. Résultats de l'identification biochimique	65
3. Evaluation de l'antibiorésistance	70
3.1. L'hirondelle rustique	70
3.2. L'hirondelle de fenêtre	76
II. Discussion	80
Conclusion	83

## Références bibliographiques

## Annexes

Produced with Scantopdf

## Liste des abréviations

°C	: Degré Celsius
ADH	: Arginine dihydrolase
API	: Analytical profile index
ASR	: Anaérobies sulfite-réductrice
BEA	: Bile esculine azide
BCP	: Pourpre de bromocrésol
CIT	: Citrate
CO <sub>2</sub>	: Dioxyde de carbone
D.O	: Densité optique
E	: Entérobactérie
Fig	: Figure
GEL	: Gélatinase
GLU	: Glucose
h	: Heur
H <sub>2</sub>	: Hydrogène
H <sub>2</sub> S	: Sulfure d'hydrogène
IND	: Indole
LDC	: Lysine décarboxylase
MH	: Mueller Hinton
ml	: Millilitre
mm	: Millimètre
NaCl	: Chlorure de sodium
NE	: Non entérobactérie
NIT	: Nitrate
nm	: Nanomètre

NO<sub>3</sub> : Nitrate  
ODC : Ornithine décarboxylase  
OMS : Organisation mondiale de santé  
ONM : Organisation National Météorologique  
ONPG: Ortho Nitro Phényl Galactopyranoside  
OIE : Organisation internationale des épizooties  
PAC : Acide phényl acétique  
PNPG : Para-nitrophényl-βD-galactopyranosidase  
pH : potentiel d'hydrogène  
RM : Rouge de méthyle  
SS : *Salmonella-Shigella*  
Tab: Tableau  
TCBS: Thiosulfate citrate bile saccharose  
TDA : Tryptophane désaminase  
TIAC : Toxi Infection Alimentaire Collective  
TSI: Triple sugar iron  
URF: Urease  
VF : Viande foie  
VP : Voges-Proskauer

Produced with ScanTOPDF

## Liste des figures

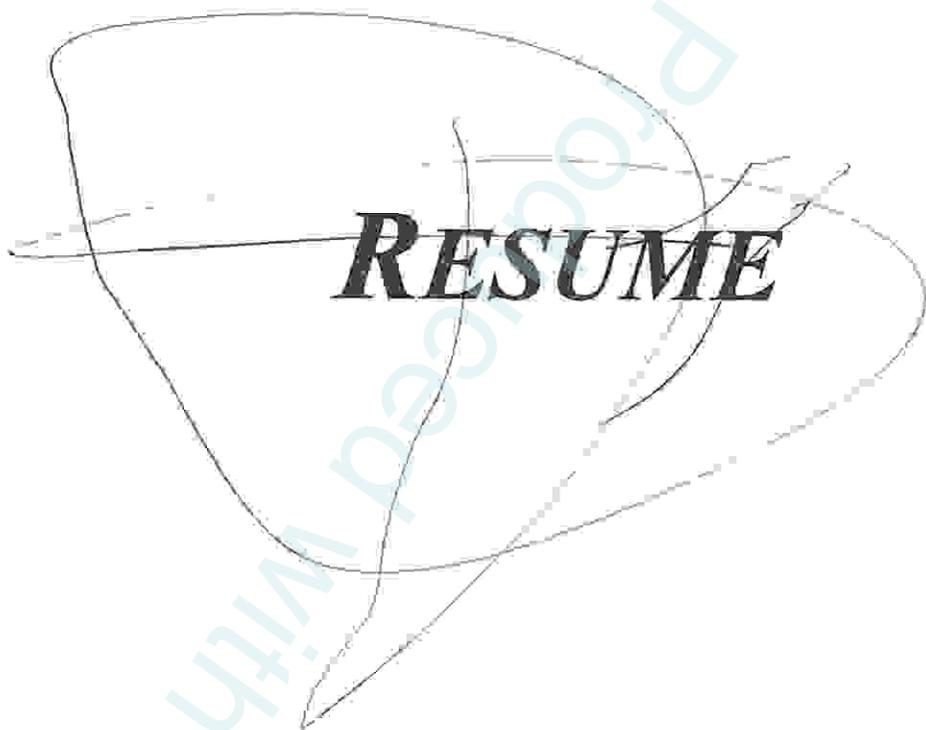
Figure 01 : Situation géographique de la zone d'étude .....	3
Figure 02 : Géomorphologie de la région de Guelma .....	4
Figure 03 : Réseau hydrographique de la wilaya de Guelma .....	6
Figure 04 : Diagramme pluviométrique saisonnier de la ville de Guelma .....	9
Figure 05 : Diagramme pluviothermique de la ville de Guelma .....	11
Figure 06 : Situation de la ville de Guelma dans le climagramme d'Emberger .....	12
Figure 07 : Estimation de l'incidence de la tuberculose dans les pays surveillés par l'OMS en 2001 .....	31
Figure 08 : Schéma de la démarche de l'analyse bactériologique .....	35
Figure 09 : la souche à des caractéristiques qui semblent à être une <i>Pasteurella</i> spp .....	68
Figure 10 : la souche à des caractéristiques qui semblent à être une <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	68
Figure 11 : Taux de résistance de <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	70
Figure 12 : Taux de résistance de <i>Burkholderia cepacia</i> .....	71
Figure 13 : Taux de résistance de <i>Buttiauxella agrestis</i> .....	71
Figure 14 : Taux de résistance de <i>Citrobacter amalonaticus</i> .....	72
Figure 15 : Taux de résistance de <i>Citrobacter braaki</i> .....	73
Figure 16 : Taux de résistance de <i>Enterobacter aerogenes</i> .....	73
Figure 17 : Taux de résistance de <i>Kluyvera</i> spp .....	74
Figure 18 : Taux de résistance de <i>Serratia liquefaciens</i> .....	75
Figure 19 : Taux de résistance de <i>Shewanella putrefaciens</i> .....	75
Figure 20 : Taux de résistance de <i>Escherichia coli</i> .....	76
Figure 21 : Taux de résistance de <i>Enterobacter amnigenus</i> .....	77
Figure 22 : Taux de résistance de <i>Shigella</i> spp .....	77
Figure 23 : Taux de résistance de <i>Citrobacter koseri</i> .....	78
Figure 24 : Taux de résistance de <i>Pantoea</i> spp .....	79
Figure 25 : Taux de résistance de <i>Providencia rettgeri</i> .....	79

## Liste des tableaux

Tableau 01 : Données météorologique de la région de Guelma (ONM) .....	8
Tableau 02 : Répartition des précipitations moyennes mensuel .....	9
Tableau 03 : Température moyenne mensuelle la région de Guelma .....	10
Tableau 04 : Caractères principaux des entérobactéries .....	13
Tableau 05 : Caractères de principales espèces de <i>Clostridium</i> .....	15
Tableau 06 : Caractéristiques de base des principaux <i>Campylobacter</i> .....	17
Tableau 07 : Les principaux caractères d'identification du <i>M. avium</i> .....	18
Tableau 08 : Classification des staphylocoques .....	19
Tableau 09 : Caractères principaux des entérocoques .....	21
Tableau 10 : Caractéristiques des trois sous-genres de <i>Lactobacillus</i> .....	22
Tableau 11 : Caractères principaux des <i>Bacillus</i> .....	24
Tableau 12 : La couleur des colonies isolées à partir des géloses SS et Hektoen ....	37
Tableau 13 : Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées .....	65
Tableau 14 : Résultats de l'identification par la galerie API 20 E et la galerie classique .....	66
Tableau 15 : Résultats de l'identification par la galerie API 20 C AUX .....	67
Tableau 16 : Résultats des staphylocoques et des microcoques .....	68
Tableau 17 : Résultats des streptocoques .....	69
Tableau 18 : Résultats de l'identification de <i>Listeria</i> .....	69
Tableau 19 : Résultats de l'identification de <i>Bacillus</i> .....	69
Tableau 20 : Résultats de l'identification de <i>Bacillus cereus</i> .....	69
Tableau 21 : Résultat de l'antibiogramme pour <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	70
Tableau 22 : Résultat de l'antibiogramme <i>Burkholdria cepacia</i> .....	70
Tableau 23 : Résultat de l'antibiogramme <i>Buttiauxella agrestis</i> .....	71
Tableau 24 : Résultat de l'antibiogramme <i>Citrobacter amalonaticus</i> .....	72
Tableau 25 : Résultat de l'antibiogramme <i>Citrobacter braaki</i> .....	72

Tableau 26 : Résultat de l'antibiogramme <i>Enterobacter aerogenes</i> .....	73
Tableau 27 : Résultat de l'antibiogramme <i>Kluyvera</i> spp .....	74
Tableau 28 : Résultat de l'antibiogramme <i>Serratia liquefaciens</i> .....	74
Tableau 29 : Résultat de l'antibiogramme <i>Shewanella putrefaciens</i> .....	75
Tableau 30 : Résultat de l'antibiogramme <i>Escherichia coli</i> I .....	76
Tableau 31 : Résultat de l'antibiogramme <i>Enterobacter amnigenus</i> .....	76
Tableau 32 : Résultat de l'antibiogramme <i>Shigella</i> spp .....	77
Tableau 33 : Résultat de l'antibiogramme <i>Citrobacter koseri</i> .....	78
Tableau 34 : Résultat de l'antibiogramme <i>Pantoea</i> spp .....	78
Tableau 35 : Résultat de l'antibiogramme <i>Providencia rettgeri</i> .....	79

Produced with Scantopdf



Processed with ScantOPDF

## RESUME :

Les oiseaux sont responsables de nombreuses zoonoses aviaires et de maladies infectieuses affectant l'être humain ce qui peut conduire à l'apparition des épidémies comme celle de la grippe aviaire de l'année 2005.

L'objectif de cette étude consiste à identifier les microorganismes pathogènes (bactéries et champignons) faisant partie de la microflore des fientes d'oiseaux. Ce travail étalé sur une période de six mois a été réalisé dans la région de Guelma, au niveau du laboratoire de la direction de santé de la wilaya de Guelma.

Les analyses ont révélé une microflore diversifiée représentée principalement par les espèces suivantes : *E. coli*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Y. enterocolitica*, *A. hydrophila*, *P. multocida*, *S. maltophilia*, *S. aureus*, *Bacillus* spp, *Listeria* spp et *C. albicans*. Ces résultats mettent en évidence le rôle des oiseaux étudiés dans la propagation de certaines maladies soit comme disséminateur de germes, soit comme amplificateur de maladies.

**Mots clés :** zoonoses aviaires, maladies infectieuses, microorganismes, épidémie, fientes, oiseaux, Guelma.

Produced with Scantopdf

## SUMMARY:

Birds are responsible for many avian zoonoses and infectious diseases affecting humans which can lead to the appearance of epidemics like avian flu of the year 2005.

The objective of this study is to identify the pathogenic microorganisms (bacteria and fungi) part of the microflora, of the bird droppings. This work was conducted in a period over of six months at the laboratory of health of the province of Guelma.

The analysis revealed a diverse microflora represented especially by the following species: *E. coli*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Y. enterocolitica*, *A. hydrophila*, *P. multocida*, *S. maltophilia*, *S. aureus*, *Bacillus* spp, *Listeria* spp and *C. albicans*. These results elucidate the role of birds in the spread of certain diseases, as a disseminator of germs or diseases amplifier.

**Key word(s):** avian zoonoses, infectious diseases, microorganisms, epidemic, droppings, birds, Guelma.

Produced with Scantopdf

## ملخص

تصيب الطيور في العديد من الأمراض حيوانية المصدر و أخرى معدية تصيب الإنسان مما يمكن أن يؤدي إلى ظهور أوبئة مثل إنفلونزا الطيور عام 2005 م.

إن الهدف من هذه الدراسة يمثل في تحديد الكائنات الحية الدقيقة الممرضة ( البكتيرية منها و الفطرية ) التي تشكل جزء من روث الطيور.

نخص بالذكر بأن هذا العمل المنجز على مدى ستة أشهر على مستوى ولاية قالمة، قد تم في محجر مديرية الصحة للولاية السالف ذكرها.

كشفت التحاليل عن العديد من أنواع البكتيريا أهمها ما يلي :

إشريشيا كولاي، كلابسيلا أوكسيتوكا، كلابسيلا ينومونيا، سالمونيلا، شيغلا، يارسينيا أونجروكوليتيكا، أيروموناس هيدروفيللا، باكتيرويدا ميلتوسيدا، ستينوتروفوموناس مالتوفيللا، ستافيلوكوكيس أوريوس، باسيلس، لستيريا و كوتريدا أليكاتز.

تسلط هذه النتائج الضوء على دور الطيور المدروسة في انتشار بعض الأمراض سواء بنشر البكتيريا أو تضخم الأمراض بحاد عنها.

**كلمات مفتاحية :** أمراض حيوانية المصدر، أمراض معدية، الكائنات الحية الدقيقة، أوبئة،

روث الطيور، الالتهاب.

# ***INTRODUCTION***

Produced with Scan PDF

## Introduction

Les oiseaux ont longtemps enchanté les gens partout dans le monde en raison de leur beauté et la puissance de leur vol. Plusieurs espèces colonisent des milieux différents. Le partage de l'espace en milieu urbain se faisant au détriment de la nature, apparaît nécessaire à l'homme d'organiser la vie des animaux qui ont réussi à s'adapter à cet environnement (Schochat et *al.*, 2006). Les enjeux actuels sur la gestion de la biodiversité nécessitent d'appréhender les espaces anthropisés et plus seulement les zones dites « naturelles », tant pour des raisons d'occupation spatiales que pour les ressources disponibles (Marzluff et *al.*, 2001).

Un certain nombre d'espèces présentes en ville sont des espèces généralistes, autrement dit ayant une grande tolérance environnementale pour leur reproduction, leur survie, leur régime alimentaire ou pour tout autres paramètres écologiques. Elles peuvent ainsi s'adapter aux caractéristiques physico-chimiques de la ville qui sont particulières : la température moyenne y est plus élevée, le régime de pluviométrie y est différent, l'alternance des jours et des nuits est perturbée par les éclairages publics (Dehay, 2008).

Ces dernières décennies, l'effectif des oiseaux a fortement augmenté dans les villes, vu que plusieurs critères interviennent dans leur présence à un endroit. Une niche écologique pour une catégorie d'individus dans un espace donné, dépend de plusieurs facteurs : l'habitat (permettant la nidification), les ressources alimentaires, la compétition (intra et inter spécifique) et la maladie, etc.

La quantité, la qualité ou la virulence de chacun de ces paramètres vont déterminer un équilibre qui permettra à un certain nombre d'individus de vivre dans un endroit donné. Le développement croissant de nos cités conduit les animaux commensaux de l'homme à s'adapter à nos nouveaux environnements.

La science moderne utilise les oiseaux et les perturbations de la santé des populations comme des avertissements relatifs à des problèmes dans leur environnement. De nos jours, il existerait plus de 100 maladies contagieuses transmises par les oiseaux, certaines sont fatales. Ils sont directement en rapport avec les oiseaux urbains (Dehay, 2008), c'est le cas de la grippe aviaire qui a pris ampleur en 2005. Elle est causée par le virus H5N1, ce dernier peut se transmettre par l'intermédiaire des oiseaux migrateurs.

Depuis longtemps, différentes espèces d'oiseaux ont été incriminés dans l'épidémiologie de certaines maladies, soit comme disséminateurs de germes, soit comme amplificateurs de maladies. Ainsi, les oiseaux peuvent être le maillon essentiel de diverses maladies humaines...

Ce présent manuscrit qui a pour objectif d'étudier la microflore chez quelques espèces d'oiseaux est structuré en chapitre interdépendants.

- Le premier expose des généralités sur le site d'étude.
- Le second en ce nuire les bactéries potentiellement présentes dans les fientes.
- Le troisième expose les zoonoses aviaires et dangers qu'ils présentent.
- Le quatrième relate la méthodologie suivie pour l'élaboration de ce travail.
- Le cinquième expose sous forme de graphiques tous les résultats obtenus au cours de la réalisation pratique de ce sujet.

***ETUDE  
BIBLIOGRAPHIQUE***

Produced with ScantOPDF

# *CHAPITRE I*

Produced with ScantOPDF

## 1. Description de la région d'étude

### 1.1. Situation géographique

La région de Guelma est située au Nord - Est de L'Algérie à 60 Kilomètres au sud de la Méditerranée et élevée 279 mètres par rapport au niveau de la mer (Fig. 01).

Elle regroupe une population de 494. 079 habitants en 2009 dont 25 % sont concentrés au niveau du Chef-Lieu de wilaya et s'étend sur une superficie de 3.686,84 Km<sup>2</sup> (DPAT, 2008).

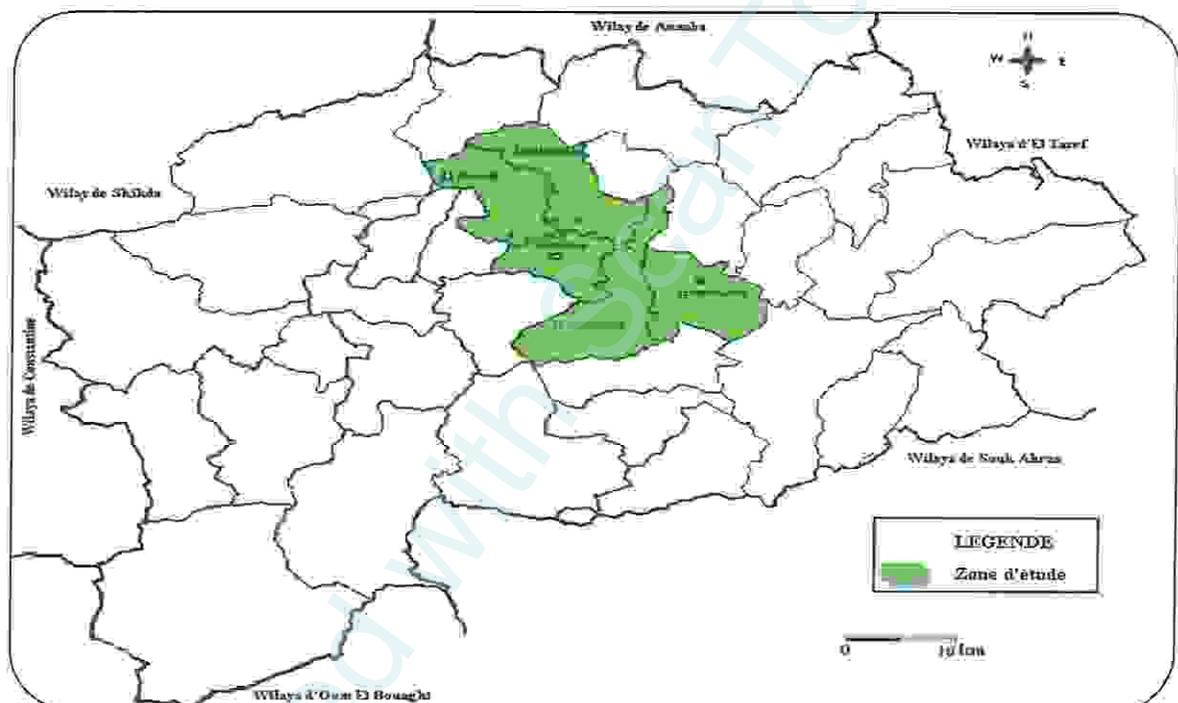


Figure 01 : Situation géographique de la zone d'étude.

### 1.2. Limites administrative

La wilaya de Guelma constitue un axe stratégique de part sa situation géographique. Elle est limitrophe des wilayas suivantes :

- La wilaya d'Annaba, au Nord : Avec son port et aéroport, ainsi qu'une base industrielle aussi importante, distante à quelques 60 Km.
- La wilaya de Skikda, au Nord - Ouest : Avec son port et sa base pétrochimique, est à moins de 80 Km.
- La wilaya de Constantine, à l'Ouest : Son aéroport, ses potentialités de capital de l'Est du pays est à une 100 de Km.

- La wilaya d'Oum-El-Bouaghi, au Sud: Porte des hauts plateaux, est à 120 Km.
- La wilaya de Souk-Ahras, à l'Est : Région frontalière à la Tunisie, est à 70 Km.
- La wilaya d'El-Tarf, au Nord - Est: wilaya agricole et touristique, port de pêche, frontalière à la Tunisie.

## 2. Relief

La géographie de la wilaya se caractérise par un relief diversifié (Fig. 02) dont on retient essentiellement une importante couverture forestière et le passage de la Seybouse qui constitue le principal cours d'eau. Les mouvements tectoniques du plio-quaternaire ont joué un rôle important dans la morphogenèse de la région.

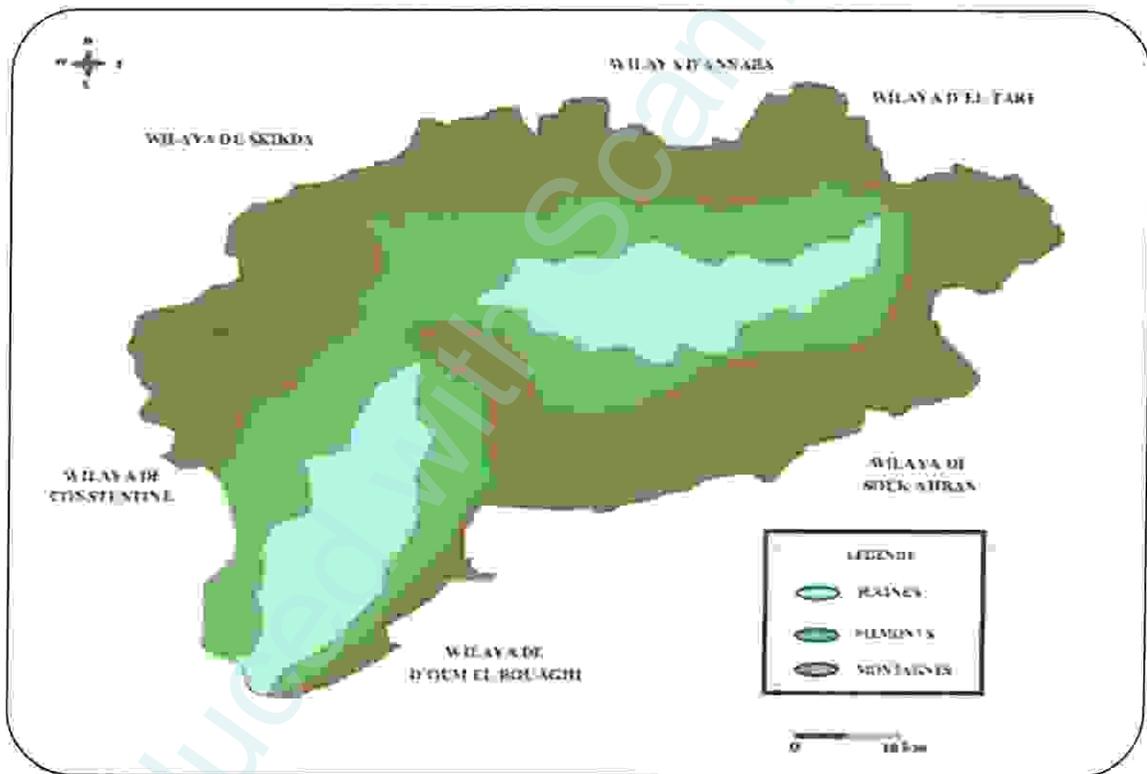


Figure 02 : Géomorphologie de la région de Guelma (Benmarce, 2007).

Ce relief est composé de :

- ❖ Montagnes : 37,82 % dont les principales sont :
  - Mahouna (Ben Djerrah) : 1.411 M d'altitude ;
  - Houara (Ain Ben Beidha) : 1.292 M d'altitude ;
  - Taya (Bouhamdane) : 1.208 M d'altitude ;
  - D'bagh (Hammam Debagh) : 1.060 M d'altitude

- ❖ Plaines et Plateaux : 27,22 %
- ❖ Collines et Piémonts : 26,29 %
- ❖ Autres : 8,67 %

Le sud de Guelma comporte la chaîne centrale de la Medjerda où s'impose l'important massif du Ras El Alia : série d'entablements de calcaires éocènes, dont les principaux sont : le djebel Bardou (1261 m) et le djebel Zouara (1292 m). Vers le Sud – Est, la haute chaîne se poursuit par les massifs calcaires sénoniens du djebel El Arous (1160 m) et calcaires éocènes du djebel Safiet, puis par les monts d'Ain Seymour couverts par les grès numidiens. Tout le massif constituant la haute chaîne centrale des monts de la Medjerda s'envoie sous les plaines de Sellaoua au Sud - Ouest de la wilaya (Benmarce, 2007).

A l'Est de la wilaya, les montagnes boisées du versant septentrional des monts de la Medjerda s'abaissent rapidement par gradins vers la vallée de l'Oued Seybouse, dont Kef Erramoul (797 m) et Kef Djemmel (812 m). La majeure partie du versant est recouverte par l'épaisse formation grés-argileuse du Numidien qui caractérise le paysage jusqu'à la frontière algéro-tunisienne. Les sommets sont arrondis sans alignement net, les formes massives et les vallées peu profondes. Il en est de même pour les formations triasiques d'Ain Seymour-Nador qui élève en massif sans vigueur au-dessus de la plaine de Bouchegouf. Au Nord, s'étendent les monts d'Ain Berda qui séparent la dépression de Guelma de celle du lac Fetzara, au-delà des limites septentrionales de la wilaya (Benmarce, 2007).

Au Nord - Ouest, les derniers abrupts calcaires du chaînon du Débar (1060 m) viennent s'envoyer dans les formations marneuses ou gréseuses à relief plus mou. Un autre calcaire, djebel Taya (1208 m) continue vers l'Ouest, séparant le bassin d'Oued Safsaf au Nord de l'Oued Bouhamdane au Sud (Benmarce, 2007).

L'Ouest de la zone d'étude comprend des régions très variées, allant de large et profonde vallée de l'Oued Cherf qui s'écoule du Sud au Nord, aux plaines élevées de la région de Ras El Agba (700 – 800 m) et vallées profondes en aval et amont de Bordj Sabath (Benmarce, 2007).

### 3. Réseau hydrographique

Le réseau hydrographique est très dense (Fig. 03). Il est composé de trois Oueds majeurs qui sont :

- L'Oued Bouhamdane, qui draine la partie Ouest du territoire, dont l'écoulement général est d'Ouest en Est.
- L'Oued Cherf, qui draine la partie Sud du territoire, dont l'écoulement général est du Sud vers le Nord.
- L'Oued Seybouse, qui draine la partie Nord et Est du territoire, autrement dit presque la totalité de la wilaya de Guelma, avec une superficie de 6471 km<sup>2</sup>, pour se jeter dans la Méditerranée à l'Est de la ville d'Annaba.

Ces Oueds qui drainent les eaux pluviales vers la mer, sont alimentés par un important chevelu hydrographique composé de petits Oueds et de quelques affluents importants. Notamment, en ce qui concerne l'Oued Seybouse (57,15 km), ces principaux affluents sont d'amont en aval : l'Oued Bouhamdane (45,37 km), l'Oued Cherf (36,46 km), l'Oued Boussora, l'Oued Mellah, l'Oued Halia et l'Oued Cheham.

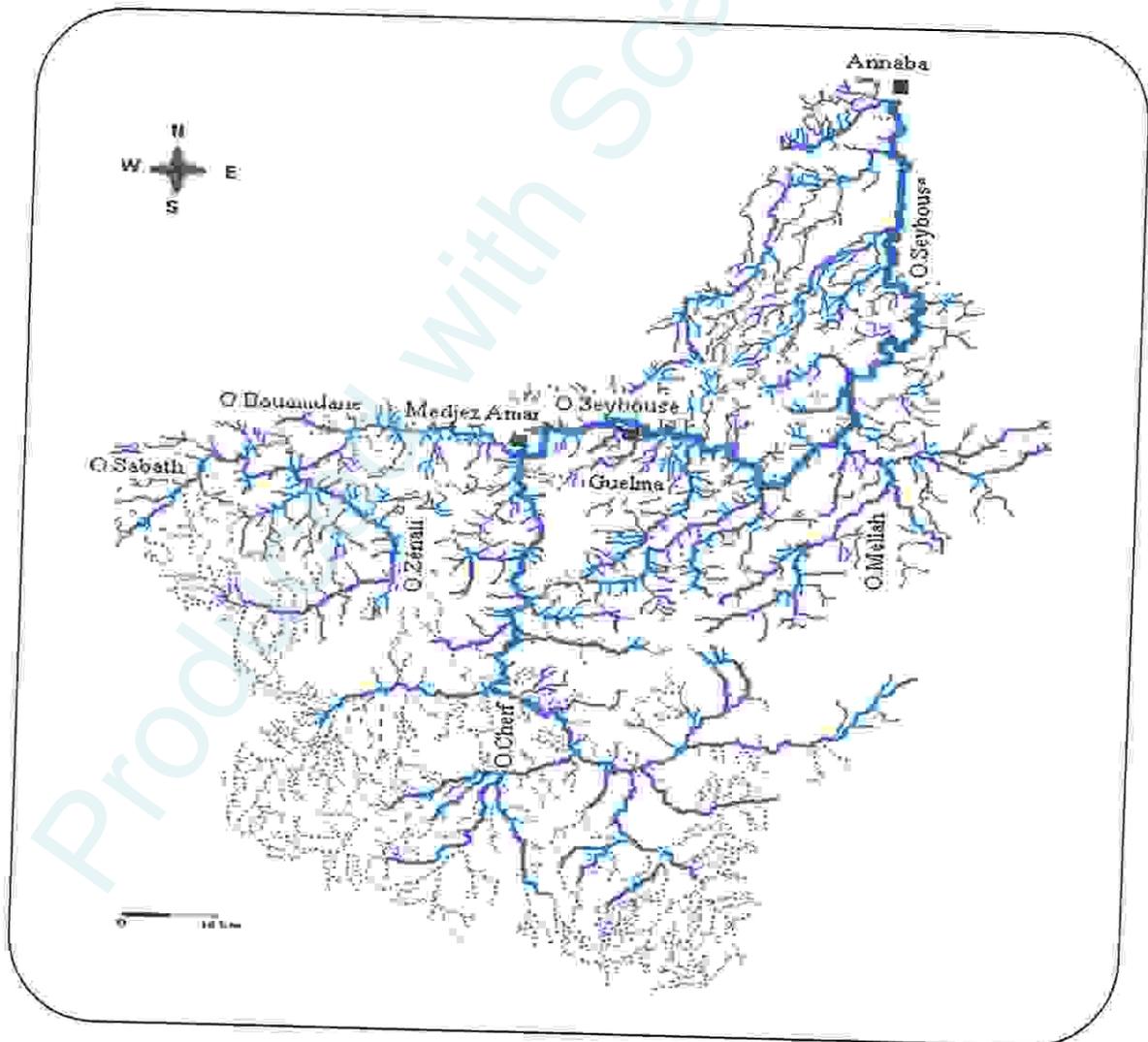


Figure 03 : Réseau hydrographique de la wilaya de Guelma.

## 4. Cadre biotique

La région de Guelma recèle des écosystèmes différents (Forêt, Oueds, couvert végétal,...), on y trouve une biodiversité significative.

### 4.1. La faune

La faune dans cette région est très diversifiée, parmi les espèces existantes, on peut citer:

- ♣ Les mammifères : le Sanglier, le Chacal, le Renard, le Lièvre, le Lapin, le Gerboise, le Cerf de Berberie qui est une espèce protégée.
- ♣ Les oiseaux : la Perdrix, la Caille des blés, la Tourterelle, le Chardonneret (espèce protégée), le Moineau, l'Hirondelle, le Pigeon, la Cigogne blanche, le Héron garde-bœufs,...
- ♣ Les reptiles : la Tortue, le Lézards et la Couleuvre (Aouissi, 2010).

### 4.2. La flore

La couverture végétale est représentée par une dominance de peuplements forestiers qui occupent une superficie de 107.704 hectares avec un pourcentage de 28 % de la superficie de la wilaya. Cette étendue de végétation abrite des espèces floristiques représentées essentiellement par : le Chêne liège, le Chêne vert, l'Eucalyptus, le Cyprès, le Pin d'Alep, le Pin Maritime, le Bruyère, l'Arbousier, le Lentisque, le Filaire, le Myrte, le Genet, le Cuhcotum et le Ronce (DPAT, 2008).

## 5. Etude climatologique

Les facteurs climatiques jouent un rôle déterminant dans le régime des cours d'eau, et dans l'alimentation éventuelle des nappes souterraines (Solter, 1999).

C'est un fait bien établi que l'Algérie fait partie de « l'aire isoclimatique méditerranéenne », puisque son climat est partout caractérisé par l'existence d'une période de sécheresse axée sur la période chaude et imposant à la végétation en place un stress hydrique de durée variable. D'après la récente classification de Rivas-Martinez (2005), l'Algérie fait partie intégrante du « macroclimat méditerranéen ».

Les données météorologiques récoltées de la station de Guelma ONM sont résumées dans le tableau 01.

**Tableau 01 : Données météorologique de la région de Guelma (ONM).**

Latitude	Altitude (m)	Longitude	Période d'observation
36° 28'	227	07°28'E	1994 - 2009

Ces coordonnées nous permettent de caractériser le climat de la région.

### 5.1. La précipitation

La précipitation désigne tout type d'eau qui tombe de ciel, sous forme liquide ou solide. Elle représente un facteur climatique très important qui conditionne l'écoulement saisonnier et par conséquent le régime des cours d'eau (Dajoz, 2000).

Les pluies qui tombent en Algérie sont d'origines orographiques et torrentielles. Elles varient selon l'altitude.

Divers facteurs contribuent à déterminer les zones de précipitations en Algérie, en particulier l'orientation des chaînes de montagnes et la direction des vents dominants porteurs d'humidité. Dans tout le littoral et le Tell, la direction des vents, pendant la saison pluvieuse, est franchement Nord - Ouest. Avec une fréquence moyenne de 50 fois par an, ce sont les vents du Nord - Ouest qui apportent les précipitations de l'hiver (Meddour, 2010).

En plus de l'orientation des versants, la pluviosité varie en Algérie sous l'influence de plusieurs paramètres géographiques, altitude, latitude, longitude et distance à la mer :

- ❖ La quantité de pluie augmente avec l'altitude, elle est plus abondante sur les reliefs qu'en plaine ; mais, elle est plus élevée sur les versants bien orientés face aux vents pluvieux du Nord - Ouest, que sur les autres.
- ❖ La pluviométrie est plus importante sur le littoral, que dans les régions situées plus au sud.
- ❖ A cette décroissance des pluies du Nord au Sud se superpose une décroissance de l'Est à l'Ouest (selon la longitude) ; cette loi étant particulière à l'Algérie (Meddour, 2010).

### 5.1.1. Régime mensuel des précipitations

Les variations des quantités pluviométriques de la station météorologique de la wilaya de Guelma enregistrées durant la période allant 1994 à 2008 révèlent une plus forte chute de pluies durant la période humide avec un maximum de 102.03 mm au mois de janvier, puis une diminution jusqu'au mois de juillet, le mois le plus sec avec une précipitation moyenne de 2.96 mm (Tab. 02).

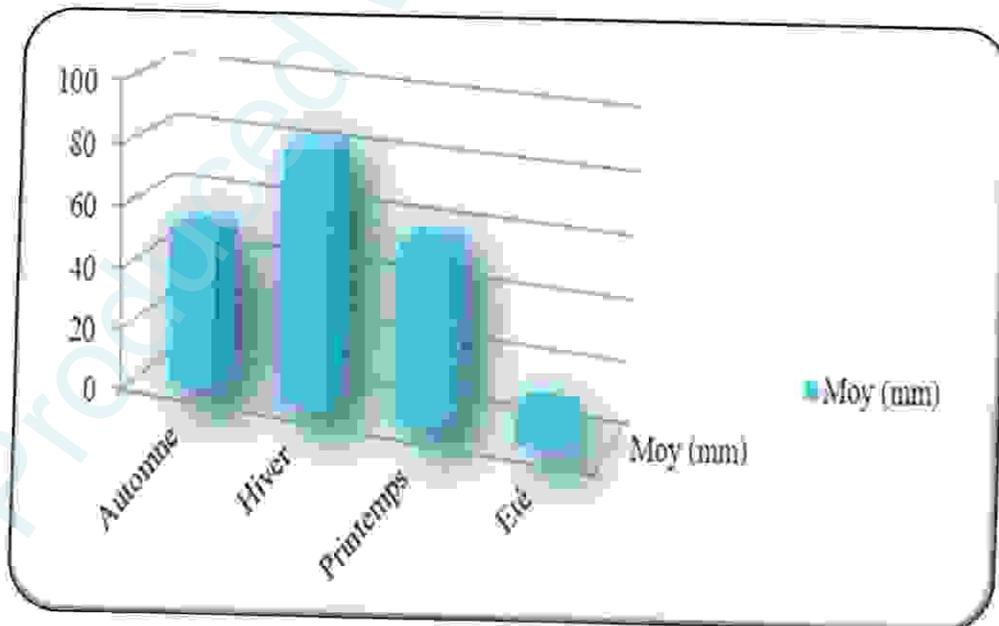
**Tableau 2 : Répartition des précipitations moyennes mensuel (Station météorologique de Guelma, 1994 à 2008).**

Mois	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jun	Jui	Août	Sep	Oct	Nov	Dec
P (mm)	102.03	62.77	60.12	67.71	45.05	16.45	2.96	12.47	46.41	37.05	71.25	81.8

### 5.1.2. Régime saisonnier des précipitations

L'année pluviométrique a été divisée en quatre saisons conventionnelles. Le régime saisonnier de notre région d'étude durant la période (1994 - 2008) est de type H. P. A. E. (Hiver, Printemps, Automne, Eté).

L'existence d'une période de sécheresse estivale est l'un des facteurs essentiels permettant d'expliquer les caractéristiques des forêts méditerranéennes.



**Figure 04 : Diagramme pluviométrique saisonnier de la ville de Guelma (1999 - 2008).**

Ce diagramme (Fig. 04) montre que la saison hivernale est la plus pluvieuse avec une moyenne de 82.20 mm/mois, ce qui produit une charge de la nappe, tandis que l'été est sec avec une faible recharge de 10.63 mm/mois, ce qui produit une évaporation.

## 5.2. La température

La température est l'un des facteurs les plus importants du climat. Elle agit sur les répartitions d'eau qui s'opèrent par le phénomène de l'évapotranspiration.

Les données des températures moyennes mensuelles mesurées au niveau de la station de Guelma (1994 - 2009), sont consignées dans le tableau 03.

**Tableau 03 : Température moyenne mensuelle la région de Guelma (1994 - 2009).**

Mois	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jun	Jui	Août	Sep	Oct	Nov	Dec
T (°C)	9.76	10.19	12.47	14.84	19.65	24.25	27.16	27.51	23.56	19.83	14.33	10.87

Les températures moyennes mensuelles les plus élevées sont observées pendant la période allant de juin à octobre, avec des températures variantes de 20 à 27.51°C. Par contre les températures les plus basses (9 à 12.47°C) sont observées pendant la période hivernale (décembre à mars) avec un minimum enregistré pendant le mois de janvier 9.76°C.

## 5.3 Synthèse climatique

L'établissement d'une synthèse des facteurs climatiques à savoir la pluviométrie et la température fait appel à l'étude des deux paramètres suivants :

- Le diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen ;
- Le quotient pluviométrique d'Emberger.

### a) Diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN

Le diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN nous permet de mettre en évidence la période sèche et humide de notre zone d'étude (Bagnouls et Gaussen, 1957).

Un mois est biologiquement sec lorsque le rapport précipitation (P) sur température (T) est inférieur à 2 ( $P/T < 2$ ). Sur la base de l'équation  $P = 2T$ , nous avons réalisé le diagramme ombrothermique de la région de Guelma.

Selon Bagnouls et Gaussen, une période sèche est due aux croisements des courbes de température et des précipitations. Cette relation permet d'établir un histogramme pluviométrique sur lequel les températures sont portées à une échelle double des précipitations.

L'analyse du diagramme (Fig. 05) montre que la période sèche est d'environ 05 mois. Elle s'étend du mois de juin jusqu'à le mois d'octobre, tandis que la période humide, s'étend du mois de novembre jusqu'au mois de mai.

D'après ce diagramme, on peut distinguer deux périodes :

- La première froide et humide s'étale sur 7 mois.
- La seconde chaude et sèche s'étale sur 5 mois.

La détermination de cette période est une grande importance pour la connaissance de la période déficitaire en eau.

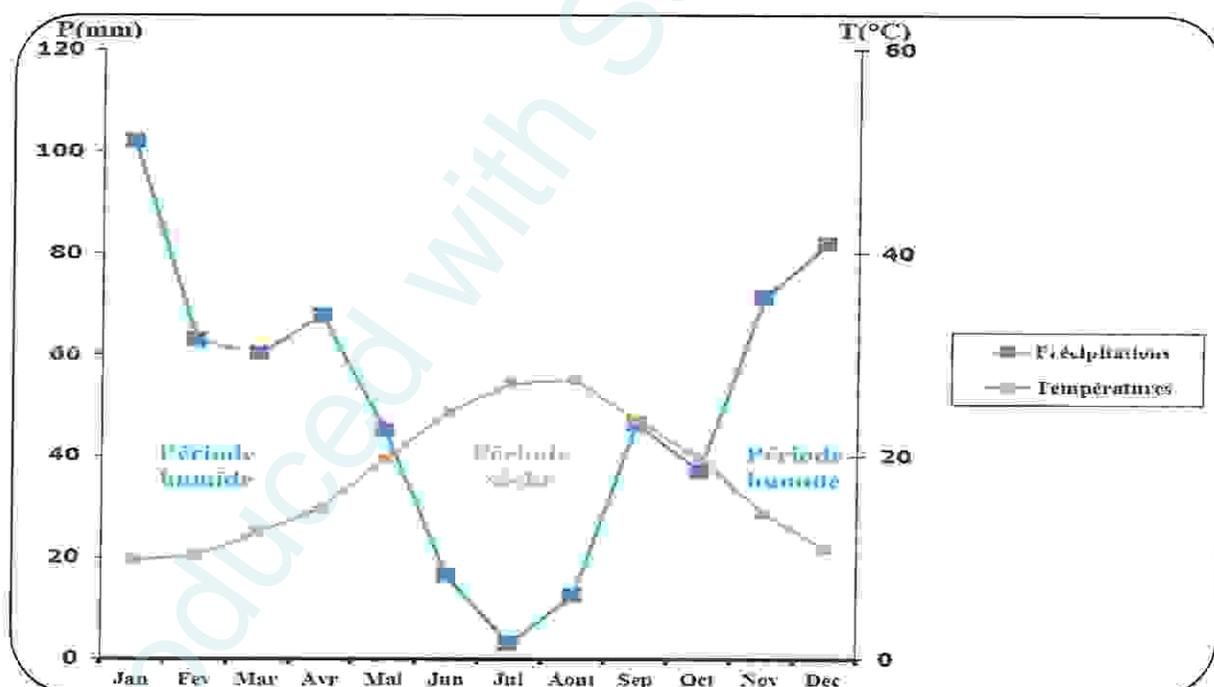


Figure 05 : Diagramme pluviothermique de la ville de Guelma (1999 - 2009).

#### b) Climagramme d'EMBERGER

Pour caractériser un bioclimat, EMBERGER (1952), a établi un quotient représenté par le rapport entre les précipitations moyennes annuelles et les températures moyennes. L'expression de ce quotient est la suivante :

$$Q_2 = 2000 * P / M^2 - m^2$$

$Q_2$  est l'indice pluviométrique qui se fonde sur les critères liés aux précipitations annuelles moyennes  $P$  (mm), à la moyenne des minima du mois le plus froid de l'année ( $m$ ), et à la moyenne des maxima du mois le plus chaud ( $M$ ).

Selon Emberger, la région méditerranéenne est subdivisée en cinq étages bioclimatiques. Pour déterminer l'étage bioclimatique de la région d'étude (Guelma), il faut procéder au calcul du quotient pluviométrique d'Emberger ( $Q_2$ ).

- $P = 606,07$  mm : Précipitations annuelles en mm ;
- $M = 36.34^\circ\text{C} = 309.34$  K : Moyenne des maxima du mois le plus chaud ;
- $m = 4.62^\circ\text{C} = 277.62$  K : Moyenne des minima du mois le plus froid.

Pour la région de Guelma, le  $Q_2$  calculé est de 65.10. En rapportant les valeurs de  $Q_2$  et de  $m$  sur le climagramme d'EMBERGER nous trouvons que notre région est sous l'influence d'un climat semi-aride à hiver tempéré (Fig. 6).

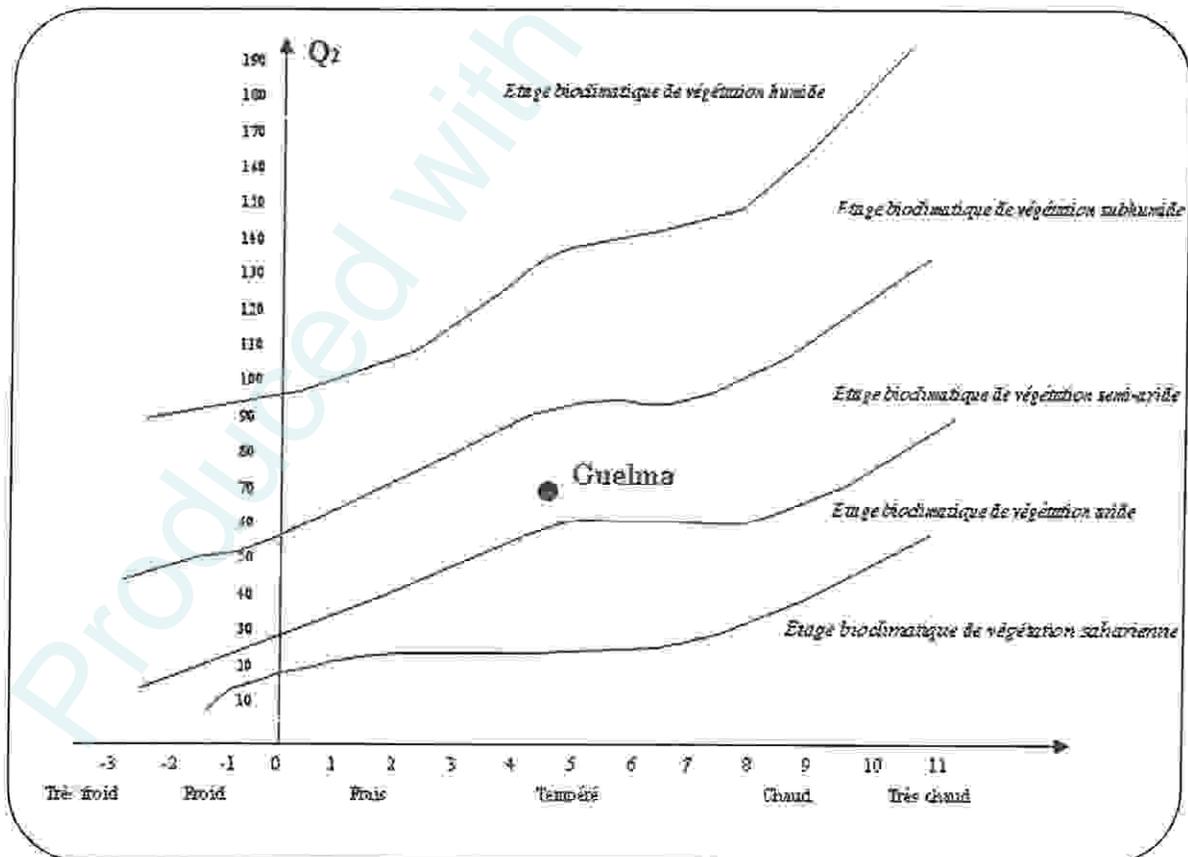


Figure 06: Situation de la ville de Guelma dans le climagramme d'Emberger (1999-2009).

# *CHAPITRE II*

Produced with ScantOPDF

## 1. Les entérobactéries

La famille des *Enterobacteriaceae* est constituée de genres bactériens qui sont rassemblés en raison de caractères bactériologiques communs :

- Ce sont des bacilles à Gram négatif ;
- Mobiles par ciliature péritriche ou immobiles ;
- Se développent en aéro-anaérobiose et sur milieux nutritifs ;
- Acidifient le glucose par voie fermentative avec souvent production de gaz ;
- Ne possèdent pas d'oxydase ;
- Réduisent les nitrates en nitrites (Avril et al., 1992).

Le diagnostic en routine des entérobactéries se base essentiellement sur les caractères présentés dans le tableau 04.

**Tableau 04 : Caractères principaux des entérobactéries (Delarras, 2007).**

<b>Morphologie</b>	Bacilles 0.5 à 3 µm environ à extrémités arrondies
<b>Mobilité</b>	+ : à ciliature péritriche chez la majorité des entérobactéries courantes
	- : chez les <i>Klebsiella</i> , <i>Shigella</i> spp., <i>Yersinia</i>
<b>Catalase</b>	+ sauf <i>Shigella dysenteriae</i> sérotype 1
<b>Condition de culture</b>	Température optimale : 30 à 37 °C
<b>Milieux de culture</b>	Milieux d'usage courant
<b>Milieux d'enrichissement</b>	Pour les <i>Salmonella</i> : bouillon SFB
	Pour les <i>Yersinia</i> : bouillon PSB
<b>Milieux d'isolement sélectif</b>	Très nombreux et variés
<b>Identification biochimique</b>	Plusieurs micro-galeries dont API <sup>®</sup> 20 E bioMérieux <sup>®</sup>

Les bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* sont pour la plupart des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux. Ces bactéries représentent la majorité de la flore intestinale aéro-anaérobie (Avril et al., 1992).

Leurs exigences nutritionnelles sont, en général, réduites et la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple comme le glucose.

Les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires occupent une place très importante en pathologie humaine infectieuse.

La fréquence, la gravité des infections dont elles sont responsables (septicémies, infections nosocomiales, méningites...), traduisent des difficultés de prise en charge liées entre autres à des difficultés d'identification et à leur résistance aux antibiotiques.

Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*.

## 2. Les *Clostridium*

Les *Clostridium* sont des bacilles à Gram positif, dont la paroi contient habituellement de l'acide méso-diaminopimélique. Ils sont mobiles par ciliature pérित्रiche ou immobiles. Ils produisent des endospores ovales ou sphériques qui peuvent déformer la bactérie.

La plupart des espèces de *Clostridium* sont des bactéries telluriques, mais sont également isolées dans l'intestin et les selles de l'homme et de divers animaux.

Ce sont des bactéries anaérobies strictes, dont la tolérance vis-à-vis de l'oxygène varie selon les espèces, quelques espèces peuvent (sans sporuler) pousser en présence d'oxygène (Avril et al., 1992).

Les *Clostridium* sont usuellement dépourvus de catalase. Ils produisent habituellement des acides organiques et des alcools à partir des hydrates de carbone et des peptones (Avril et al., 1992).

Les diverses espèces de *Clostridium* sont avant tout différenciées par les caractères de leurs voies métaboliques (Vuilleumoz, 2005).

La connaissance du comportement des espèces (Tab. 05) sur le plan :

- De la protéolyse, de la production d'indole, la possession d'une uréase ;
- Des fermentations sucrées : glucose, esculine, lactose, saccharose, mannitol... ;
- De la production d'acides caproïque, butyrique, isovalérique, propionique... ;
- Des lipides et phospholipides (Avril et *al.*, 1992).

**Tableau 05 : Caractères de principales espèces de *Clostridium***  
(Vuillermoz, 2005).

	<i>C. tetani</i>	<i>C. botulinum</i>				<i>C. perfringens</i>
		I	II	III	IV	
Lécithinase	-	-	-	v	-	+
Lipase	-	+	+	+	-	-
Hydrolyse de la glycérine	+	+	+	+	+	+
Digestion de la caséine	-	+	-	-	+	+
Production d'indole	v	-	-	v	-	-
Glucose	-	+	+	+	-	+
Lactose	-	-	-	-		+
Sucrose	-	-	-	-	-	+
Maltose	-	+	+	v		+
Autre Caractéristiques	Spore terminale, endospore sphérique	Spore subterminale				Non motile

v : variable

En laboratoire, la croissance optimale s'obtient à une température comprise entre 30 et 37°C à pH neutre en anaérobiose avec 2% de dioxyde de carbone. La croissance s'effectue en un à deux jours. Les colonies obtenues sur milieu solide sont lisses, légèrement bombées, translucides ou semi opaques, blanches ou grises, entourées d'une étroite zone d'hémolyse et présentent des contours irréguliers. Elles ont un diamètre de 1 à 6 mm. Les bactéries sont très sensibles aux stress environnementaux (Vuillermoz, 2005).

### 3. Les *Campylobacter*

Les *Campylobacter* sont des bacilles à Gram négatif, appartenant à la famille des *Campylobacteriaceae* caractérisés par (Tab. 06) :

- Leur morphologie : Bacilles fins, incurvés en forme de virgule, en forme de S, de « vol de mouette » ou de forme hélicoïdale pour les formes longues.
- Leur mobilité : Elle est très vive due à une ciliature polaire monotriche. Elle est classiquement décrite comme un « vol de moucheron ». Les formes longues peuvent être flagellées aux deux extrémités.
- Leur métabolisme respiratoire micro-aérophile, une réaction oxydase (+).
- Ils ont besoin pour leur croissance d'une atmosphère ayant une teneur réduite en oxygène, mais ils ont un métabolisme respiratoire et ne se développent pas en anaérobiose, ils se développent sur gélose Columbia additionnée de 5 % de sang (Avril et al., 1992).

Le genre *Campylobacter* regroupe de nombreuses espèces que l'on peut classer en trois grands groupes :

- Le groupe « thermotolérant » avec en particulier, les deux espèces les plus fréquemment rencontrées en clinique humaine et chez les animaux : *C. coli* et *C. jejuni* ;
- Le groupe « fetus » avec *C. fetus* ;
- Le groupe « anaérobic » avec par exemple, *C. sputorum* (Lchours, 2005).

Les deux sous-espèces pathogènes pour l'homme sont *C. jejuni* et *C. fetus* responsables de septicémies. *C. jejuni* est une bactérie entéro-invasive de l'intestin grêle et du côlon (Pressanti, 2007).

*C. jejuni* peut être trouvé en fonction des conditions environnementales sous forme de bâtonnets spiralés, ou sous un aspect coccoïde pour les formes de résistance ou en phase de dégénérescence. *C. jejuni* présente fréquemment des flagelles à l'un ou aux deux pôles (PoLy, 2005).

Les caractères qui permettent de distinguer les principales espèces de *Campylobacter* rencontrés en médecine humaine sont indiquées dans le tableau 06.

Tableau 06 : Caractéristiques de base des principaux *Campylobacter*

Espèce	Croissance à		Sensibilité à		Hydrolyse	
	25°C	42°C	NA	CEF	L'hippurate	L'acétate d'indoxyl
<i>C. jejuni</i>		+	S	R	+	+
<i>C. coli</i>		+	S	R	-	+
<i>C. fetus</i>	+		R	S	-	-
<i>C. lari</i>		+	d	R	-	-

NA : acide nalidixique, CEF : céfalotine (R= résistant, S = sensible).

#### 4. Les Mycobactéries

Il s'agit de bactéries appartenant à la famille des *Mycobacteriaceae* qui ne renferme qu'un seul genre : le genre *Mycobacterium* subdivisé actuellement en 54 espèces (Avril et *al.*, 1992).

Ces bactéries sont dites acido-alcoolo-résistantes (Nouvel, 2005).

Les mycobactéries sont des bacilles légèrement incurvés ou droits, de 1 à 10  $\mu\text{m}$  de long et de 0,2 à 0,6  $\mu\text{m}$  de diamètre. Les bactéries sont parfois assemblées en filaments ou pseudo-mycélium qui se fragmentent en bâtonnets sous agitation. Elles ne forment pas de flagelle ni d'autre appendice de type pili ou fimbriae, pas de capsule ni de spore. Les mycobactéries synthétisent des catalases et produisent des acides à partir des sucres par la voie oxydative (Nouvel, 2005).

Elles sont immobiles, non sporulées et sans capsule ; leur métabolisme est aérobic strict (Nouvel, 2005 ; Avril et *al.*, 1992). Leur croissance est lente ou très lente (2 jours à 8 semaines) et leur température optimale de croissance est variable selon les espèces ; ces germes synthétisent souvent des pigments caroténoïdes (jaune, orangé ou rosé) et contiennent beaucoup de lipides dans la composition desquels entrent des acides gras hydroxylés et ramifiés de 60 à 90 atomes de carbone appelés acides mycoliques (Avril et *al.*, 1992).

Chez l'homme le complexe avium-intracellulare est responsable d'affections pulmonaires, Le germe s'isole chez les oiseaux atteints de tuberculose aviaire, et il semble rester viable et virulent dans le sol pendant plusieurs années.

Les principaux caractères d'identification du *M. avium* sont présentés dans le tableau 07.

**Tableau 07 : Les principaux caractères d'identification du *M. avium***  
(Avril et al., 1992).

Caractères		<i>M. avium</i>
Hydrolyse du Tween 80	5 jours	-
	10 jours	-
Nitrate réductase		-
Catalase thermo-stable		+
Aryl-sulfatase		-
Croissance à 43 °C		v
Uréase		-
Réduction du tellurite (3 jours)		+

## 5. Les Staphylocoques

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Staphylococcaceae*. Il présente des cellules immobiles de forme sphérique de 0,5 à 2,5 µm de diamètre, ce sont des cocci à Gram positif (Hennekinne, 2009) ; ce n'est qu'au cours de la lyse ou de la dégénérescence (veilles cellules), que parfois les cellules perdent leur affinité tinctoriale et peuvent devenir à Gram variable (Aouati, 2009).

Ainsi, ils sont groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative, ne possédant pas de capsule visible au microscope optique sauf pour de très rares souches, d'autres forment des colonies mucoïdes et sont entourées d'une pseudo capsule (Aouati, 2009).

La classification du genre *Staphylococcus* ne cesse d'évoluer. Ainsi, un grand nombre d'espèces a pu être identifié. Des sous espèces existent également. Parmi les

27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus* (Arnal, 2003).

Baird-Parker en 1974 a proposé une classification en trois espèces (Tableau 08).

Tableau 08 : Classification des staphylocoques (Arnal, 2003).

	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Coagulase	+	-	-
Acidification aérobie du mannitol	+	d	d
Acidification anaérobie du mannitol	+	-	-
Production d' $\alpha$ -toxine	+	-	-
Nucléase thermostable	+	-	-
Exigence en biotine	-	+	NT
Acide ribitol teichoïque pariétal	+	-	+
Acide glycérol teichoïque pariétal	-	+	+
Protéine A pariétale	+	-	-
Sensibilité à la novobiocine	S	S	R

d : différent, NT : non testé, S : sensible, R : résistant

*Staphylococcus aureus* est un germe aérobie-anaérobie facultatif. Il croît abondamment sur milieu gélosé (colonies de 1 à 2 mm de diamètre) ; certaines souches produisent un pigment jaune-orange, mais cette production est irrégulière, car certaines donnent des colonies blanches, le caractère pigmentaire n'est donc pas propre à l'espèce (Avril et al., 1992).

Certains facteurs de croissance sont indispensables (Vitamine B<sub>1</sub>, acide nicotinique) mais ils n'exigent pas de biotine ni de tryptophane, ils poussent en milieu synthétique contenant des sels, du glucose et un de quatorze acides aminés dont la cystéine, la thiamine et l'acide nicotinique. La température optimale de croissance est de 37°C et le pH optimal est de 7.5, mais de grandes variations sont tolérées (Aouati, 2009).

À + 4°C, le Staphylocoque conserve sa vitalité pendant 3 mois dans le pus, pendant 1 an sur gélose, il est détruit à 58°C au bout de 60 minutes. Sa croissance est inhibée par les androgènes et la progestérone (Arnal, 2003).

## 6. Les Streptocoques

Les streptocoques sont des cocci à Gram positif ; les cellules peuvent être ovoïdes, sphériques ou rarement allongées en bâtonnets, et se divisent en un seul plan pour former des paires ou plus souvent des chaînettes. Ils sont dépourvus de cytochromes et de catalase, immobiles, non encapsulés et non sporulés (Avril et al., 1992).

Dans les milieux artificiels, la formation des chaînettes est la règle. Ils peuvent se développer en aérobiose, ont un métabolisme fermentatif et sont à considérer comme des anaérobies tolérant l'oxygène (Avril et al., 1992) mais l'eau oxygénée, produite lors du métabolisme respiratoire, lui est nuisible.

La température optimale de croissance se situe entre 35° et 37°C. Le pH qui doit être voisin de 7,2, impose d'utiliser des milieux tamponnés.

Il n'existe pas de critère unique qui permette de classer en pratique les différentes espèces du genre *Streptococcus*. La classification fait appel à l'étude de plusieurs types de caractères bactériologiques.

Selon leur pouvoir hémolytique, on distingue :

- Des souches  $\alpha$  hémolytiques : hémolyse incomplète ;
- Des souches  $\beta$  hémolytiques : hémolyse complète ;
- Des souches non hémolytiques ( $\gamma$ ) : pas d'hémolyse.

Ce critère ancien n'a plus aujourd'hui qu'une valeur d'orientation.

Selon l'équipement antigénique on distingue la classification de Lancefield (1933).

## 7. Les Enterocoques

Le genre *Enterococcus* se rapproche du groupe des streptocoques. Toutes les espèces possèdent un antigène de surface qui correspond au sérotype D dans la classification de Lancefield.

Les entérocoques sont des cocci à Gram positif, catalase négative, disposés en diplocoques, à métabolisme anaérobie facultatif, sont des germes habituellement retrouvés dans la flore du tube digestif (selles) et colonisent fréquemment la peau et les voies génito-urinaires.

Les entérocoques poussent sur milieu ordinaire, sur milieu hostile (NaCl 6,5%, bile). Ils sont bien moins sensibles aux antibiotiques que les autres streptocoques.

Les principaux caractères d'identification des entérocoques sont présentés dans le tableau 09.

**Tableau 09 : Caractères principaux des entérocoques (Delarras, 2007).**

<b>Morphologie</b>	Cocci de 0.6 à 1 µm en moyenne, ovulaire, isolé, en diplocoques, chaînettes ou chaînes
<b>Mobilité</b>	Immobiles
<b>Condition de culture</b>	Température générale : de 10 à 43 °C Température optimale : 30 à 37 °C pH optimale : 7.2 à 7.4 ; croissance à pH 9.6 Croissance dans les milieux hostiles à 6.5 % de NaCl
<b>Caractères spécifiques</b>	Test esculine : 99 à 100 % positif Test Pyra : 98 à 100 % positif
<b>Milieux de culture d'usage courant</b>	Gélose nutritive, gélose trypticase soja
<b>Milieux d'enrichissement</b>	Bouillon de Rothe et bouillon de Litsky
<b>Milieux d'isolement sélectif</b>	Gélose BEA Gélose de Slanetz et Bartley
<b>Identification biochimique</b>	API® 20 Strep bioMérieux® Rapid ID 32 Strep bioMérieux®

### 8. Les Lactobacilles

Le genre des *Lactobacillus* contient près de 80 espèces. Les *Lactobacillus* sont des bâtonnets non sporulant et parfois des coccobacilles à Gram positif, dépourvus de catalase et de cytochrome. Ils sont généralement facultatifs ou microaérophiles, utilisant les hydrates de carbone comme principale source d'énergie, le produit de ce métabolisme étant uniquement ou majoritairement l'acide lactique (Prescott et al., 2003).

Les lactobacilles réalisent la fermentation homolactique suivant la voie d'Embden Meyerhof ou la fermentation hétérolactique suivant la voie des pentoses phosphates. Ils se développent au mieux dans des conditions légèrement acides, quand le pH avoisine les 4,5 à 6,4 (Prescott et al., 2003).

Ce genre est classiquement divisé en trois sous-genres : *Thermobacterium*, *Streptobacterium* et *Betabacterium*. Cette séparation est basée sur des différences au niveau des voies de fermentation (Tab. 10).

Tableau 10 : Caractéristiques des trois sous-genres de *Lactobacillus* (Denis et al., 2007).

Caractéristiques	Sous-genre		
	<i>Thermobacterium</i>	<i>Streptobacterium</i>	<i>Betabacterium</i>
Voie fermentaire	Homofermentaire stricte	Hétérofermentaire facultative	Hétérofermentaire stricte
Voie de fermentation du glucose	Homofermentation	Homofermentation	Hétérofermentation
Voie de fermentation des pentoses	Non fermentés	Hétérofermentation	Hétérofermentation
Production de gaz carbonique	Non	Oui pour les pentoses	Oui
Culture à 45 °C	+	-	-
Culture à 45 °C	-	+	+

Résistance naturelle aux glycopeptides	Non	Oui	Oui
Principales espèces	<i>L. acidophilus</i> <i>L. delbrueckii</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. jensenii</i> <i>L. salivarius</i>	<i>L. casei</i> <i>L. curvatus</i> <i>L. paracasei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. rhamnosus</i>	<i>L. brevis</i> <i>L. cellobiosus</i> <i>L. confusus</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. reuteri</i>

L'optimum thermique de la plupart des espèces est de 37 °C. Leur métabolisme exclusivement fermentaire fait que leur culture s'accompagne d'une forte acidification à laquelle ils sont bien adaptés : le pH optimal de croissance de la plupart des espèces est de 5.5 (Denis et al., 2007).

Leurs besoins nutritionnels sont très complexes. Le milieu le plus adapté à leur culture est le milieu MRS. Sur ce milieu, les colonies se développent en 24 - 48 heures, sont incolores ou blanchâtres et crémeuses ou granuleuses (Denis et al., 2007).

### 9. Les *Bacillus*

Les *Bacilli*, classés dans le nouveau genre *Bacillus* avec plus de 90 espèces sont des bactéries saprophytes, quelques espèces sont pathogènes pour l'homme (*Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*) (Delarras, 2007).

Le genre *Bacillus* comprend des bactéries en forme de bâtonnets, généralement mobiles, sporogènes. Ces bacilles sont à Gram positif, aérobies stricts ou anaérobies facultatifs (Avril et al., 1992).

Les caractères principaux sont présentés dans le tableau II.

Les espèces du genre *Bacillus* sont classées sur leur morphologie et la position de leurs spores. Cette classification divise le genre *Bacillus* en 3 groupes :

- Groupe 1 : Bacilles à spores ne déformant pas le corps microbien ;
- Groupe 2 : Bacilles à spores déformantes, ovales ;
- Groupe 3 : Bacilles à spores déformantes, rondes.

A l'intérieur de ces groupes, les espèces et les variétés se distinguent par des caractères morphologiques et physiologiques (Avril et al., 1992).

Une gélose sans peptone est le milieu le plus favorable à la sporulation. La spore mûre est ovale ou ronde. Son diamètre est inférieur ou supérieur à celui du bacille. Sa localisation est centrale, paracentrale, subterminale ou terminale.

**Tableau 11 : Caractères principaux des *Bacillus* (Delarras, 2007).**

<b>Morphologie</b>	Bacilles à extrémités plus ou moins rectangulaires de 3 à 9 µm Présence de capsules polypeptidiques chez <i>Bacillus anthracis</i>
	Spores ou endospores libres ou dans leur sporange
<b>Coloration de Gram</b>	Gram + (parfois faible)
<b>Mobilité</b>	+ à ciliation péritriche <i>Bacillus anthracis</i> immobile
<b>Type respiratoire</b>	Aérobies stricts ou anaérobies facultatifs
<b>Oxydase</b>	± (- en général)
<b>Catalase</b>	+
<b>Condition de culture</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Espèces mésophiles : se développent à 30 °C en 24 à 48 heures.</li> <li>➤ Espèces psychrotrophes (certaines souches de <i>B. cereus</i>) : se développent à 20 °C en 18 à 48 heures.</li> <li>➤ Espèces thermophiles : se développent à 55 °C en 12 à 16 heures.</li> </ul>
<b>Caractères spécifiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Exigent 3 à 12 % de NaCl suivant les espèces.</li> <li>➤ Produire des acides à partir du glucose.</li> </ul>
<b>Milieux de culture</b>	Milieux d'usage courant, donnant sur milieu gélosé des colonies de type R
<b>Milieux d'isolement sélectif</b>	Agar sélectif pour la culture du <i>Bacillus cereus</i> selon Mossel
<b>Identification biochimique</b>	API <sup>®</sup> 50 CH avec API <sup>®</sup> 50 CHB/E medium et API <sup>®</sup> 20 E bioMérieux <sup>®</sup>

# ***CHAPITRE III***

Produced with ScantOPDF

- La listériose non materno-néonatale affectant de préférence les personnes immunodéprimées, les personnes âgées ou les diabétiques. Cette maladie atteint plus rarement les enfants et les adultes en bonne santé (Delarras, 2007).

#### 4. la mycoplasmose

Les mycoplasmoses aviaires sont des maladies infectieuses largement répandues dans le monde (Aimeur et al., 2010). Ils sont des infections respiratoires, génitales ou articulaires. Ce sont des maladies insidieuses, courantes, qui ont néanmoins régressé ces dernières années (Guérin et Boissieu, 2008).

Les mycoplasmes sont des bactéries de petite taille, sans paroi, qui possèdent un génome très réduit. De par leur absence de paroi, les mycoplasmes sont résistants aux antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines, mais sont sensibles aux désinfectants. Généralement considérées comme des bactéries fragiles, les mycoplasmes aviaires peuvent survivre dans le milieu extérieur pendant plusieurs jours (Gautier et Kempf, 2008).

Les oiseaux abritent une vingtaine de sérotypes de mycoplasmes. Les espèces les plus pathogènes sont : *M. gallisepticum*, *M. synoviae*. Puis viennent, en fonction des circonstances, *M. meleagridis*, *M. iowae*. Les autres espèces sont considérées comme inoffensives la plupart du temps (Heleili, 2011).

La transmission des mycoplasmes est soit verticale par l'intermédiaire des œufs à couver, soit horizontale, principalement par voie respiratoire. La transmission horizontale résulte soit de contacts directs entre oiseaux malades ou porteurs et oiseaux sensibles, soit de contacts indirects par l'intermédiaire de l'homme, des oiseaux sauvages (Corinne et al., 2001).

#### 5. La pasteurellose

La pasteurellose est couramment appelée choléra aviaire du fait de sa forme foudroyante (Pressanti, 2007). Le choléra aviaire est une maladie infectieuse fréquente qui peut toucher tous les types d'oiseaux et qui présente une répartition mondiale. Les foyers de choléra aviaire se manifestent souvent par une septicémie aiguë fatale (Acha et Szyfres, 2005).

L'agent de la pasteurellose est *Pasteurella multocida*, bactérie Gram négatif ubiquitaire, immobile, capsulée, extracellulaire. C'est une bactérie anaérobie facultative qui pousse de préférence à 37°C (Acha et Szyfres, 2005).

C'est une bactérie facilement détruite par les désinfectants usuels, par la dessiccation et la chaleur. Dans le milieu extérieur, cette bactérie est rapidement détruite mais peut persister dans les cadavres pendant deux mois si ceux-ci sont conservés à une température comprise entre 5 et 10°C. Cette bactérie est retrouvée dans toutes les régions du monde. C'est une maladie saisonnière qui sévit principalement en automne et en hiver. Le réservoir de bactéries est constitué par les animaux infectés. La maladie se transmet par contact direct avec un animal porteur ou par contact indirect via des supports souillés (eau, aérosols) (Pressanti, 2007).

La bactérie est inoculée à l'homme le plus souvent par effraction cutanée (morsure, griffure, coup de bec). Bien que les sources de bactéries soient à la fois les animaux malades et les supports contaminés, la contamination de l'homme par la voie respiratoire reste rare. La contamination indirecte via des blessures avec des objets souillés est également possible (instruments d'autopsie...) (Pressanti, 2007).

## 6. Le rouget

C'est une maladie professionnelle grave à déclaration obligatoire qui peut être mortelle si elle n'est pas traitée. La prophylaxie de cette zoonose est rendue délicate par le portage inapparent très fréquent de cette bactérie (Pressanti, 2007).

L'agent responsable du rouget est *Erysipelothrix rhusiopathiae* ; c'est un bacille fin Gram positif qui appartient à la famille des *Lactobacillaceae*. Elle est résistante à la dessiccation, au froid et à la fumée. Par contre elle est tuée par la chaleur (70 °C) et par les désinfectants usuels. Le germe présent dans les fientes et peut survivre dans le sol pendant de longues périodes, ce qui rend son éradication difficile. La bactérie est présente partout dans le monde (Pressanti, 2007).

L'infection est souvent inapparente ou latente. Le rouget apparaît brutalement et affecte plus particulièrement les mâles. La morbidité est élevée mais la mortalité reste relativement faible (1 à 5%) (Pressanti, 2007).

Les matières infectieuses sont le sang, les produits animaux, les fientes, les urines et les organes issus d'oiseaux porteurs ou malades. La transmission de la maladie se fait par voie cutanée, suite à des bagarres ou à des blessures avec des objets souillés ou par voie digestive. Le rouget, dans un élevage, se déclare souvent suite à un stress (Pressanti, 2007).

## 7. La salmonellose

La salmonellose est une maladie infectieuse de l'homme et de l'animal provoquée par deux espèces *Salmonella enterica* et *S. bongori* (OIE, 2008) appartenant au genre *Salmonella* (Acha et Szyfres, 2005).

Certaines salmonelloses sont des maladies légalement réputées contagieuses d'importance sanitaire capitale car elles sont la principale source de TIAC dans le monde (Pressanti, 2007).

Les oiseaux les plus dangereux sont les porteurs sains à l'origine de contamination par les fèces. Les modes de contamination sont soit par contact direct avec les animaux, leur sécrétions ou excréments : voie fécale – orale, soit par voie digestive après consommation d'aliments contaminés (œufs et préparations à base d'œufs, viande...), consommés crus ou insuffisamment cuits (Weill, 2008).

Le genre *Salmonella*, de la famille des *Enterobacteriaceae*, est divisé en deux espèces: *S. enterica*, espèce majoritaire et *S. bongori*, espèce rare. L'espèce *S. enterica* est elle-même subdivisée en six sous-espèces dont un est prédominant, *S. enterica*. Ces taxons sont ensuite subdivisés sur la base du sérotypage (détermination de l'antigène somatique O et du ou des antigènes flagellaires H) en plus de 2500 sérotypes de *Salmonella* (Weill, 2008).

Les symptômes de la maladie sont multiples, les morbidités et la mortalité sont habituellement inférieures à 20% (Ganiere, 2008).

## 8. Les staphylococcies

Cette maladie doit son importance à la présence considérable des staphylocoques dans le milieu extérieur et à la possibilité de transmission à l'homme, même si elle reste rare. Ce sont des germes ubiquistes qui peuvent être ; saprophytes, représentant d'une flore normale, des germes commensaux retrouvés sur la peau et les muqueuses de nombreux oiseaux ou des germes souvent pathogènes, spécifiques ou non d'une espèce d'oiseau. Ils sont responsables

d'infections localisées (dermatites, métrites, vaginites), locorégionales (arthrites) et généralisées (septicémies, méningites, endocardites) (Pressanti, 2007).

Les staphylocoques sont très résistants et persistent facilement dans les milieux solides et les exsudats. Certaines souches peuvent même résister aux désinfectants usuels, à la chaleur ainsi qu'au sel (Pressanti, 2007).

Ces bactéries sont rencontrées dans le monde entier (Hennekinne, 2009). Toutes les espèces des oiseaux sont sensibles aux staphylocoques. Le réservoir est immense et représenté par les porteurs sains et les individus malades. Chez les oiseaux, la transmission est le plus souvent indirecte, à la suite d'un traumatisme articulaire, cutané ou bien par contamination fécale des œufs. Toute baisse du système immunitaire ou maladies intercurrentes faciliteront l'apparition de la « staphylococcie maladie ». Cependant, la transmission peut être directe suite à des bagarres ou pendant la période de reproduction quand elle est naturelle (Pressanti, 2007).

L'homme se contamine en ingérant des denrées animales infectées ou en manipulant des oiseaux infectés. Le mode de transmission est donc indirect par l'intermédiaire de l'air, des aliments ou des objets souillés (Pressanti, 2007).

## 9. La tuberculose aviaire

La tuberculose aviaire est une maladie infectieuse, contagieuse, provoquée par *Mycobacterium avium* (Acha et Szyfres, 2005).

Les oiseaux peuvent présenter des infections à *M. tuberculosis* agent principal de la tuberculose chez l'homme. Toutefois, du fait de sa contagiosité elle pose un problème de santé publique en raison de la possible transmission de la maladie de l'oiseau à l'homme (Corrand, 2009). Chez l'homme, *M. avium* est capable d'induire une maladie progressive réfractaire à tout traitement (Acha et Szyfres, 2005).

Le pouvoir pathogène de *M. avium* est variable selon l'hôte, et est dû à la faculté de multiplication du bacille et son aptitude à libérer des facteurs de virulence (Corrand, 2009).

Actuellement, plusieurs méthodes existent pour diagnostiquer l'infection par *M. avium* (Mihajlovic et al., 2011).

La répartition de la maladie est mondiale (Fig. 07) et le réservoir de bactéries est constitué par l'avifaune. La transmission entre oiseaux est horizontale et se fait par contact direct entre individus ou via des éléments contaminés (aliments, eau) et se fait par la voie orale. Néanmoins, du fait de la faible contagiosité du bacille, le contact doit être étroit et prolongé (Pressanti, 2007).

La transmission à l'homme se fait par des animaux infectés ne présentant pas de symptômes. Les substances contaminées sont les fientes, les mucosités nasales, les suppurations cutanées et osseuses et même les œufs. Sur l'oiseau mort tout le cadavre est virulent. L'homme se contamine par contact ou par inhalation. L'homme porteur du bacille, est à son tour, source de contagion pour toute espèce sensible. La transmission interhumaine de *M. avium* n'a jamais été rapportée (Pressanti, 2007).

Il fut tout d'abord suspecté que la porte d'entrée de *M. avium* était uniquement pulmonaire mais, rapidement, on réalisa que la voie digestive pouvait constituer également une excellente voie d'entrée chez les patients immunodéprimés (Legrand et al., 1999).

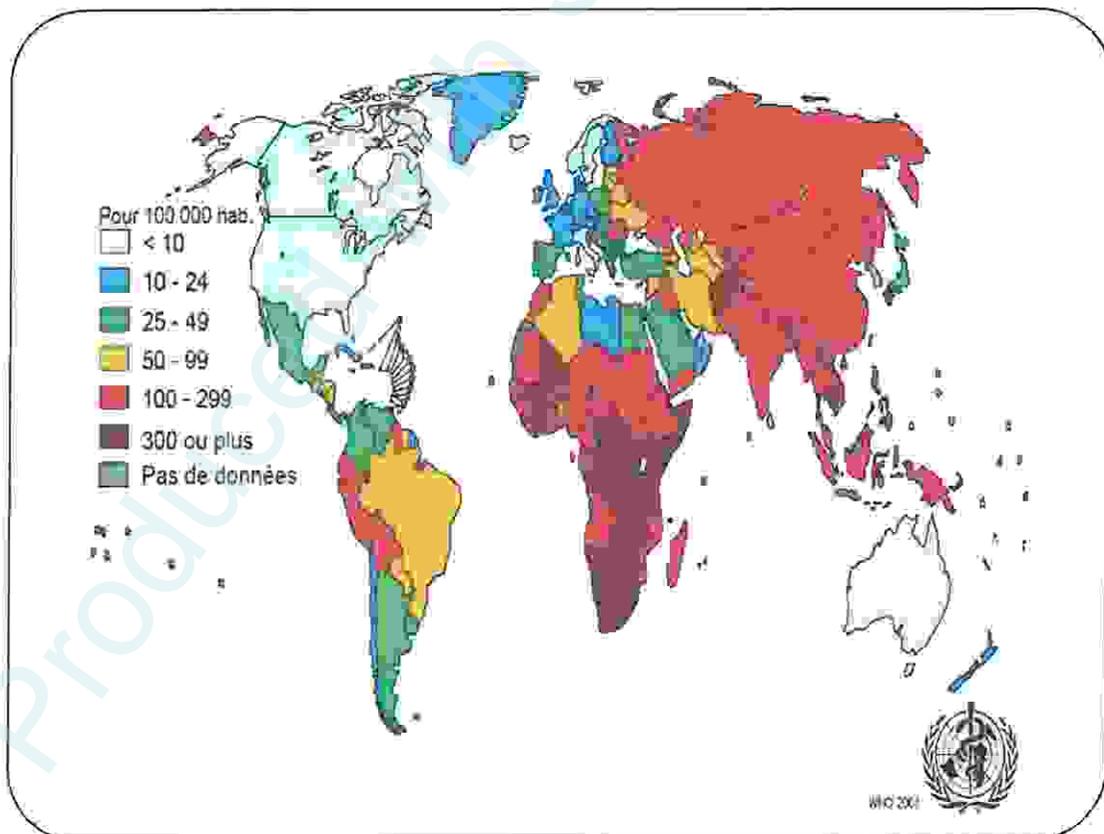


Figure 07 : Estimation de l'incidence de la tuberculose dans les pays surveillés par l'OMS en 2001.

## 10. La tularémie

La tularémie est une zoonose dont le principal agent causal est *Francisella tularensis* (Guihot et al., 2005). C'est une maladie professionnelle à déclaration obligatoire affectant de nombreuses espèces animales et transmissible à l'homme. L'infection de l'homme par les oiseaux est rare et anecdotique (Pressanti, 2007).

Cette bactérie a été isolée chez 25 espèces d'oiseaux. Dans la majorité des cas la maladie est inapparente chez les oiseaux. Toutefois, il existe une forme septicémique potentiellement mortelle et une forme subaiguë évoluant en général vers la guérison et conférant alors une immunité à l'oiseau (Pressanti, 2007).

La maladie se caractérise par de la fièvre, un état de dépression et une septicémie. Chez l'homme, il peut y avoir des ulcères ou des abcès au site d'inoculation (rarement vu chez les animaux), et une hypertrophie nœuds lymphatiques (OIE, 2008).

La contamination de l'homme et des animaux peut s'effectuer, de manière directe ou indirecte, par de nombreuses voies ; voie cutanée ou muqueuse, voie respiratoire et voie digestive (Dumas, 2005).

On note que le plus souvent les professionnels se contaminent lors de la manipulation de cadavres ou lors d'autopsie d'oiseaux infectés (Pressanti, 2007).

## 11. L'aspergillose

L'aspergillose est une maladie respiratoire due au parasitisme par divers champignons du genre *Aspergillus*, décrite depuis le 19<sup>ème</sup> siècle dans le monde entier (Boissieu et al., 2009).

Elle est très fréquente et souvent mortelle chez les oiseaux. Elle concerne un grand nombre d'espèces aviaires (Guillaume, 2005).

*Aspergillus fumigatus* et, parfois, autres espèces du genre *Aspergillus* telles que *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. niger* et *A. terreus*, ces champignons (supérieurs) font normalement partie de la microflore du sol. Ils sont également de véritables exosaprophytes opportunistes présents dans l'atmosphère et une trentaine d'espèces sont impliquées en pathologie humaine et animale. *Aspergillus fumigatus* est l'espèce responsable de la majorité des infections aspergillaires (Lagneau et Houtain, 2001).

L'aspergillose n'est pas une maladie contagieuse. Elle se transmet surtout par la litière (ou de l'aliment) contaminée. L'infection se fait par voie respiratoire par inhalation de spores d'*Aspergillus*. L'infection digestive est possible en cas de lésions préexistantes de la muqueuse digestive, mais elle est sans doute marginale. La contamination peut aussi être acquise dans l'œuf, par passage des spores à travers la coquille souillée, notamment en cas de micro-lésions de la coquille (Boissieu et al., 2009).

L'aspergillose des oiseaux est une infection à tropisme respiratoire redoutable et fatale. L'*Aspergillus* a besoin pour un développement idéal de beaucoup d'oxygène, d'humidité et d'une température élevée, toutes conditions réunies chez l'oiseau (Lagneau et Houtain, 2001).

Les pigeons se contaminent soit en ingérant des graines polluées soit en respirant les moisissures en suspension dans l'air. Celles-ci sont normalement présentes en petite quantité dans les colombiers avec les poussières, sur la paille, les fientes... Quand les pigeons sont malades, c'est que la quantité de moisissures présente est trop importante ou que le système immunitaire des pigeons est déficient.

La forme aiguë, typique, atteint les jeunes oiseaux de quelques jours mais peut survenir dès les premières heures après l'éclosion. On observe des troubles respiratoires avec de la dyspnée, de la tachypnée, de la cyanose et de la polyurie. On peut observer des signes digestifs, avec une diarrhée blanchâtre, et souvent des signes nerveux ; torticolis, défaut d'équilibre (Boissieu et al., 2009).

Que ce soit en médecine humaine ou vétérinaire, l'aspergillose est un problème préoccupant lors de défaillance des systèmes de défense immunitaire et représente une cause de mortalité importante (Lagneau et Houtain, 2001).

## 12. La candidose

La candidose est une maladie connue depuis longtemps chez les oiseaux. Elle affecte surtout l'appareil digestif, notamment l'œsophage et le jabot. (Guérin et Boissieu, 2008). C'est une saprophytose due à des levures du genre *Candida* et principalement *Candida albicans*. C'est la plus fréquente des mycoses opportunistes chez l'homme (Pressanti, 2007).

C'est une infection opportuniste cosmopolite, commune à de nombreuses espèces d'oiseaux. Beaucoup d'oiseaux sont porteurs de *Candida* sans pour autant déclarer la maladie (Pressanti, 2007).

*Candida albicans* est une levure ovoïde se multiplie par bourgeonnement et peut émettre des filaments pseudo-mycéliens. Elle est un hôte normal de la flore intestinale des oiseaux. Ce germe ne peut pas se multiplier en dehors de l'hôte. Par contre, une forme végétative peut survivre plusieurs mois sur un support extérieur. Les filaments pénètrent dans la couche superficielle de la muqueuse, provoquant inflammation et douleur. Cette douleur est augmentée par la prise d'eau, d'aliment, ou par des manipulations du jabot (Guérin et Boissieu, 2008).

La maladie peut passer inaperçue dans les cas bénins. Dans les cas aigus, l'alimentation ou de l'abreuvement sont douloureux et les oiseaux vont alors réduire leur consommation. Les oiseaux deviennent apathiques, anorexiques. La croissance est ralentie et le lot devient hétérogène. La morbidité et la mortalité sont en général faibles (Guérin et Boissieu, 2008).

***ETUDE  
EXPERIMENTALE***

Produced with ScantOPDF

# *CHAPITRE IV*

Produced with ScantOPDF

Le présent travail a été réalisé au niveau de laboratoire de bactériologie de la direction de la santé à Guelma, sur une période de six mois allant du mois de juin à juillet 2011 et du mois de février à mai 2012.

Le protocole expérimental et les différentes étapes suivies sont présentés dans la figure ci-après (Fig. 08).

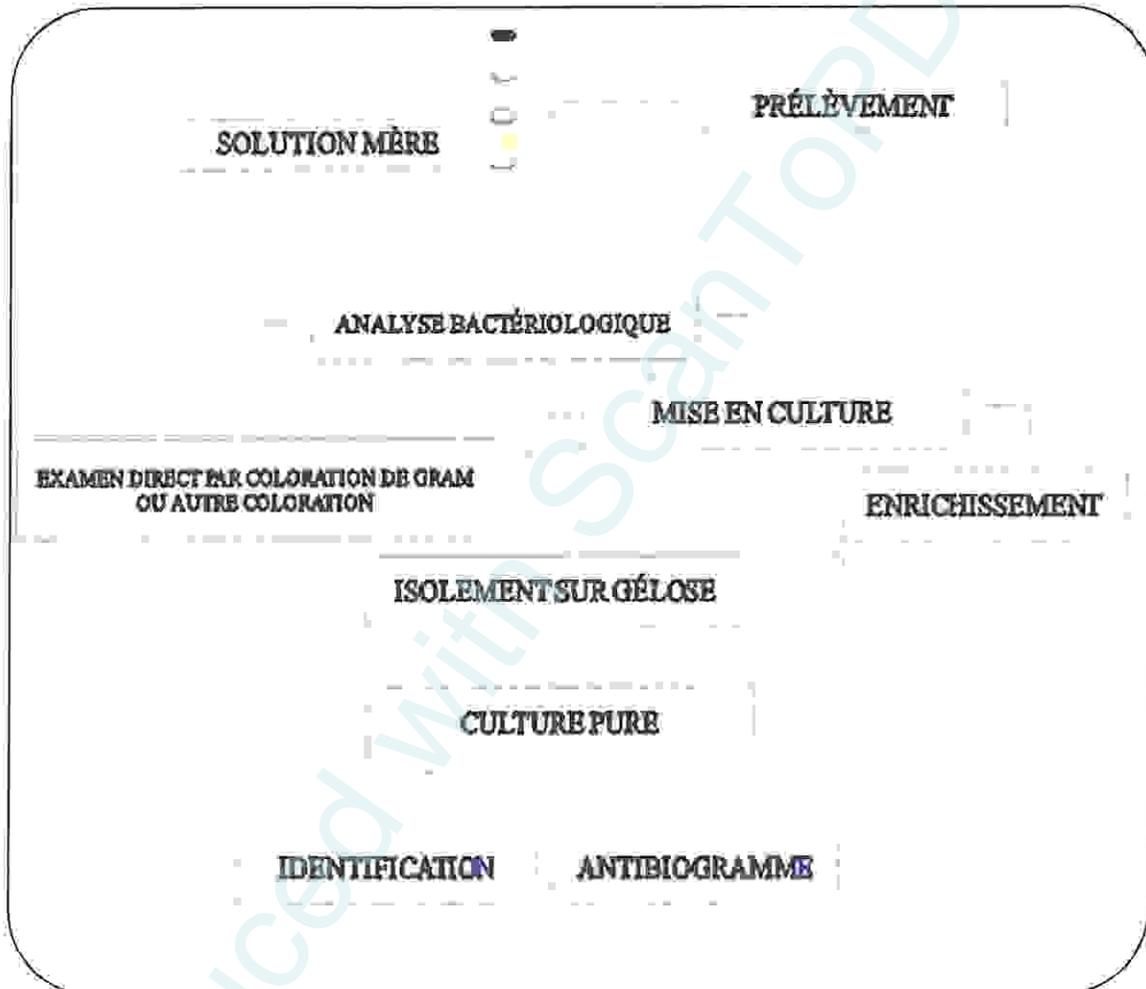


Figure 08 : Schéma de la démarche de l'analyse bactériologique

## 1. Echantillonnage

Après le repérage d'une dizaine des nids trouvés sur des arbres, des fenêtres et des plafonds des bâtiments, nous avons procédé à la collecte des fientes fraîches, qui sont conduit au laboratoire dans des règles citées dans les recommandations de l'organisation internationale des épizooties (OIE).

### 1.1. Recommandations de l'O.I.E pour la réalisation du prélèvement

Le prélèvement des fientes doit s'effectuer avec une méthode correcte afin d'éviter tout risque de contamination, pour cela un certain nombre de recommandation proposés par l'O.I.E sont à suivre :

- Les échantillons peuvent être prélevés directement à partir de l'animal ou de l'environnement pour de multiples raisons telles que : le diagnostic d'une maladie, la surveillance du statut sanitaire ou l'établissement d'un certificat sanitaire.
- Les échantillons collectés doivent être appropriés aux buts de l'analyse et suffisants en nombre et quantité pour permettre un résultat statistiquement valide.
- Les échantillons doivent être prélevés avec soin afin de ne pas perturber l'animal ou provoquer des lésions.
- Certains échantillons doivent être prélevés de manière aseptique et un soin doit être porté pour empêcher les contaminations croisées entre les échantillons.
- Le prélèvement doit être conditionné avec soin, identifié et expédié au laboratoire par le moyen le plus rapide, avec un contrôle approprié de la température.
- L'opérateur et ses aides doivent également être à l'abri de tout risque.
- Lorsque du matériel biologique est prélevé, que ce soit sur animal vivant ou mort, le risque de zoonose doit être pris en compte afin d'éviter des infections humaines (Rahal *et al.*, 2011).

## 2. Analyses microbiologiques

Le travail se pratique sur une paillasse conforme à la réglementation, dans des conditions d'asepsie rigoureuse, autour de la flamme d'un bec Bunsen pour assurer la fiabilité des manipulations et éviter le risque de compromettre les résultats d'études.

### 2.1. La solution mère

Nous avons préparé une solution à 70 % contient 700 gramme de fientes par litre de bouillon TSE qu'est un diluant destiné à la préparation des suspensions mères, présente un avantage double ; assure la revivification des microorganismes d'une part et permet d'obtenir

une solution isotonique d'autre part. Homogénéiser parfaitement, la solution mère était ainsi réalisée.

## 2.2. Recherche bactérienne et isolement

### 2.2.1. Recherche des salmonelles

#### Technique :

- Ensemencer un milieu Sélénite - Cystéiné avec 1 ml de solution mère.
- Incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- Ensemencer un milieu Sélénite - Cystéiné avec 1 ml du premier milieu.
- Incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- Repiquer par isolement les géloses Hektoen et SS avec 0.1 ml du tube de deuxième enrichissement.
- L'incubation se fait donc à 37°C pendant 24 h.

#### Lecture :

Les colonies lactose négatif incolores, transparentes ou vert à bleu vert, avec ou sans centre noir sont des colonies présomptif de salmonelles et des shigelles (Tab. 12).

Tableau 12 : La couleur des colonies isolées à partir des géloses SS et Hektoen (Rodier et al., 2009)

Gélose	La couleur des colonies	Espèces
Gélose SS	Rouges	<i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , et autres coliformes tels <i>E. coli</i>
	Incolores, centre noir	<i>Salmonella</i> à $H_2S^+$ , <i>Proteus vulgaris</i> et <i>mirabilis</i>
	Incolores transparentes	<i>Salmonella</i> à $H_2S^-$ , <i>Shigella</i> , <i>Serratia</i> , <i>Hafnia</i> , <i>Alkalescens</i> , <i>Morganella morganii</i> ;
	Colonies à centre orangé	<i>Proteus rettgeri</i> , <i>Providencia</i>
	Rouges, centre noir	<i>Citrobacter freundii</i> (en réalité seul le centre noir est visible d'où confusion avec <i>Salmonella</i> ), <i>Salmonella arizona</i> (même remarque).
Gélose	Jaune saumon	<i>E. coli</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> ,

Hektoen		<i>Serratia</i> .
	Jaune saumon, centre noir	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Proteus vulgaris</i>
	Bleues ou vertes, centre noir	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Salmonella</i>
	Bleuâtres ou vertes	<i>Shigella</i> , <i>Providentia</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus rettgeri</i> , <i>Salmonella</i> à H <sub>2</sub> S.

### 2.2.2. Recherche des *Campylobacter*

#### Technique :

Ensemencer un milieu Columbia au sang additionnée à un mélange d'antibiotiques pour rendre le milieu sélectif et permet d'isoler les *Campylobacter*, il est composé de :

- Céfopérazone : céphalosporine de troisième génération inhibant certaines entérobactéries ;
- Colistine : antibiotique de la famille des polypeptides à spectre étroit, inhibant des bactéries à Gram- ;
- Vancomycine : antibiotique de la famille des glycopeptides, à spectre étroit, inhibant notamment des cocci Gram+.

Incuber à 44 °C pendant 24 h à 5 jours en atmosphère microaérophile (Delarras, 2007).

#### Lecture :

Les colonies de *Campylobacter* présentent des aspects variables : grisâtre ou translucides, rondes à bord net ou cultivant en nappe et s'étalant dans la direction des stries, ces colonies doivent être confirmées (Delarras, 2007).

### 2.2.3. Recherche des spores de bactéries anaérobies sulfite-réducteurs (ASR)

Les anaérobies sulfite-réducteurs (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram+, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foie (VF) en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium en sulfure, provoquant avec le citrate ferrique un précipité noir de sulfure de fer autour des colonies (Rejsek, 2002).

#### Technique :

- Prendre environ 5 ml de la solution mère de l'échantillon à analyser dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80 °C pendant 8 à 10 minutes.
- Après chauffage, refroidir immédiatement le tube en question, sous l'eau de robinet.

- Couler environ 15 ml de gélose VF, fondue puis refroidie à  $45 \pm 1^\circ\text{C}$ , additionnée 1 ml de la solution de sulfite de sodium et 4 gouttes de la solution d'alun de fer.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène.
- Laisser solidifier sur la paillasse pendant 30 minutes environ, puis incuber à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24 à 48 h (Lebres, 2006).

**Lecture :**

Considérer comme résultat positif d'une spore de bactérie anaérobie sulfito-réductrice toute colonie noire entourée d'un halo noir (Rejsek, 2002).

**2.2.4. Recherche des *Yersinia*****Technique :**

- ✓ Tenter un enrichissement durant 10 jours à basse température ( $4^\circ\text{C}$ ) en milieu eau peptonée tamponnée.
- ✓ A partir du milieu liquide d'enrichissement on va lancer un isolement sur des milieux sélectifs contenant des sels biliaires (Mac Conkey et Hektoen).
- ✓ Les boîtes seront incubées à  $25^\circ\text{C}$  pendant 48 heures (Denis et *al.*, 2007).

**Lecture :**

Les colonies lactose négatif sont des colonies suspectes.

**2.2.5. Recherche des Mycobactéries****❖ Coloration de Ziehl-Neelsen**

Cette coloration double sert essentiellement à la coloration des mycobactéries, elle permet la mise en évidence des bactéries acido-alcoolo-résistantes à partir de produit pathologique (Delarras, 2007).

**Technique :**

- Préparer un frottis.
- Recouvrir le frottis de fuchsine de Ziehl pure.

- Chauffer sur une platine chauffante jusqu'à émission de vapeurs ; laisser les vapeurs se dissiper et recommencer l'opération trois fois au total, en rajoutant éventuellement de la fuchsine.
- La coloration doit durer 10 minutes environ et le colorant ne doit jamais bouillir.
- Puis laver à l'eau distillée.
- Décolorer pendant 2 minutes avec l'acide sulfurique.
- Laver de nouveau à l'eau distillée.
- Décolorer enfin par de l'alcool à 95° pendant 5 minutes et laver à l'eau distillée. A ce stade de la coloration, seules les mycobactéries restent colorées en rouge.
- Recolorer le fond de la préparation par le bleu de méthylène phéniqué, pendant 30 secondes.
- Laver et sécher.
- Examiner au microscope à l'objectif x100 à immersion (Delarras, 2007).

**Lecture :**

Les mycobactéries sont colorées en rouge sur le fond bleu de la préparation, alors que toutes les autres bactéries sont colorées en bleu (Delarras, 2007).

**2.2.6. Recherche de Vibrions**

**Technique :**

- ✓ Ensemencer 1 ml de milieu d'enrichissement eau peptonée alcaline ;
- ✓ Incuber pendant 3 heures à 37 °C ;
- ✓ Prélever 0.5 à 1 ml de milieu en surface, transférer dans un 2<sup>ème</sup> milieu d'enrichissement ;
- ✓ Incuber pendant 6 heures à 37 °C.
- ✓ Prélever une anse de milieu en surface du 2<sup>ème</sup> milieu d'enrichissement ; réisoler sur un milieu sélectif (TCBS).
- ✓ Incuber pendant 18 heures à 37 °C (Marchal et *al.*, 1982).

**Lecture :**

Les colonies jaunes autrement dit saccharose positive sont des colonies suspectes.

### 2.2.7. Ensemencement

Le travail d'ensemencement des microorganismes se pratique sur une paillasse conforme à la réglementation autour de la flamme d'un bec Bunsen (Delarras, 2007). Il consiste à déposer dans un milieu neuf des germes prélevés d'un milieu de culture mère.

En fonction de la présentation des milieux et de leur utilisation, les méthodes d'ensemencement diffèrent. Pour l'ensemencement des milieux solides en boîtes de Pétri, nous avons utilisé la méthode des quadrants qui permet d'isoler les différentes bactéries contenu dans un mélange.

Un isolement est effectué à l'aide d'une anse de platine, une pipette Pasteur ou d'un ensemencement à usage unique stérile (Denis et al., 2007).

Ainsi par cette méthode, le dernier quadrant contient des colonies isolées.

### 2.2.8. Repiquage

Une fois que les colonies ont poussées, nous avons les repiqués sur un nouveau milieu en vue de les purifier avant toutes tests biochimiques d'identification.

## 2.3. Les milieux de culture ensemencés

### ▪ Gélose nutritive

La gélose nutritive à 2,5% est essentiellement utilisée en microbiologie des eaux pour la culture d'une grande variété de microorganismes (*Salmonella*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Yersinia*, *Shigella*, etc....), en vue de la purification nécessaire et préalable aux étapes d'identification prévues dans les normes spécifiques de recherche et/ou de dénombrement. Elle convient pour les germes ne présentant pas d'exigences particulières. L'utilisation de ce milieu doit conduire à l'obtention de colonies bien isolées (Marchal et al., 1982).

#### Principe :

Relativement simplifiée, la formulation apporte les éléments nutritifs nécessaires à la croissance d'une grande variété de germes non exigeants.

### ▪ Gélose Mac Conkey

La gélose de Mac Conkey est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des *Salmonella*, des *Shigella*, ainsi que des bactéries coliformes dans les eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques d'origine animale.

Les colonies lactose positif présentent une coloration rouge et sont entourées d'un halo de sels biliaires précipités. Les colonies lactose négatif sont incolores (Marchal et al., 1982).

#### Principe :

L'inhibition des microorganismes à Gram positif est due à la présence de sels biliaires et de cristal violet. Ce colorant inhibe principalement le développement des entérocoques et des staphylocoques.

La fermentation du lactose en acide est révélée en présence de rouge neutre par la formation de colonies roses ou rouges. Les microorganismes lactose-négatif présentent des colonies incolores.

### ▪ Gélose Hektoen

La gélose Hektoen est un milieu sélectif permettant les isolements et différenciation des entérobactéries pathogènes à partir des prélèvements biologiques d'origine animale, des eaux, des produits laitiers et des autres produits alimentaires. Elle est également utilisée dans le domaine de la santé animale dans le cadre de la recherche des salmonelles. Ce milieu est particulièrement adapté à la culture des *Shigella*. Il évite l'envahissement par les *Protéus*. Le principe de lecture est fondé sur la fermentation éventuelle des 3 glucides présents dans le milieu (lactose, saccharose, salicine).

Les microorganismes qui fermentent au moins l'un d'entre eux forment des colonies de couleur « saumon », les autres donnant des colonies bleues ou vertes. En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène donnent, avec le citrate ferrique, des colonies à centre noir (Marchal et al., 1982).

#### Principe :

L'inhibition de la flore à Gram positif est due à la présence des sels biliaires qui peuvent également inhiber légèrement la croissance de quelques souches de microorganismes à Gram négatif.

La forte concentration en lactose favorise la visualisation des entérobactéries en évitant le problème des fermentations tardives. Les autres glucides ont été introduits afin d'assurer une différenciation plus performante et de réduire la toxicité engendrée par les indicateurs colorés,

En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène réduisent le citrate ferrique ammoniacal et se manifestent par un noircissement dû à l'apparition de sulfure de fer au centre des colonies.

Le système d'indicateurs colorés, composé de bleu de bromothymol et de fuchsine acide permet de colorer en jaune orangé les entérobactéries lactose positif et en bleu vert les lactose négatif

#### ▪ Gélose SS

La gélose *Salmonella-Shigella* (SS) est utilisée pour l'isolement des salmonelles et des shigelles dans les produits alimentaires ainsi que dans les autres prélèvements (d'origine animale, par exemple) susceptibles d'en contenir, après enrichissement préalable.

Les *Salmonella* qui ne fermentent pas le lactose présentent des colonies incolores, transparentes, avec ou sans centre noir (production d' $H_2S$ ).

Les *Shigella* sont incolores. Les coliformes présentent des colonies rouges ou rosées.

Les colonies suspectes seront repiquées sur gélose de Kligler ou TSI en vue de leur identification ultérieure (Marchal *et al.*, 1982).

#### Principe :

La gélose SS est un milieu modérément sélectif où l'inhibition des microorganismes à Gram positif est due à la présence de sels biliaires, de vert brillant et de citrate de sodium.

Les concentrations élevées en citrate et thiosulfate de sodium limitent le développement des coliformes et évitent l'envahissement du milieu par les *Proteus*.

La fermentation du lactose en acide est révélée, en présence de rouge neutre, par la formation de colonies rouges. Les microorganismes lactose-négatif présentent des colonies incolores.

En présence de thiosulfate et de citrate ferrique, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène donnent des colonies à centre noir.

#### ▪ Gélose lactosée au BCP

La gélose lactosée au pourpre de bromocrésol (BCP) est un milieu non sélectif pour les bactéries Gram négatif.

Les colonies lactose positif sont de couleur jaune et se différencient en fonction des aspects (Marchal et al., 1982).

#### Principe :

La fermentation du lactose en acide est révélée, en présence de pourpre de bromocrésol, par le virage du bleu violacé au jaune.

Les germes lactose négatif donnent des colonies de couleur bleue

#### ▪ Gélose de Chapman au mannitol

La gélose de Chapman au mannitol permet l'isolement sélectif, la recherche et le dénombrement des staphylocoques pathogènes dans le lait, les produits carnés, les produits de la mer, les autres produits alimentaires, les produits pharmaceutiques, les produits cosmétiques et les prélèvements biologiques d'origine animale.

Les expériences de Koch ont montré que les staphylocoques supportent les milieux hypersalés à 7,5%. Chapman a confirmé ces premiers résultats en observant que les staphylocoques coagulant le plasma de lapin présentaient des colonies jaunes sur le milieu auquel il a donné son nom, alors que la plupart des autres bactéries étaient inhibées.

Les staphylocoques pathogènes forment des colonies luxuriantes, pigmentées, entourées d'une auréole jaune due à la fermentation du mannitol. Les staphylocoques non pathogènes forment en général de petites colonies rouges qui ne modifient pas la teinte du milieu. Quelques souches de *Staphylococcus epidermidis* sont capables de fermenter le mannitol. Après 24 - 48 heures d'incubation, quelques souches d'entérocoques, de *Bacillus*, de *Micrococcus* et de *Serratia* peuvent cultiver (Marchal et al., 1982).

**Principe :**

La forte concentration en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des bactéries autres que les staphylocoques.

La fermentation du mannitol, mise en évidence par le virage au jaune de l'indicateur pH (rouge de phénol), permet d'orienter le diagnostic.

La mise en évidence des staphylocoques pathogènes devra être confirmée par la recherche de la coagulase et, éventuellement, de la désoxyribonucléase et de la phosphatase

**▪ Gélose Columbia**

La gélose Columbia est un milieu très nutritif permettant les cultures et isolement d'une grande variété de microorganismes et plus particulièrement des germes très exigeants (tels que streptocoques et pneumocoques), à partir de divers prélèvements d'origine animale. Par addition de sang, d'agents sélectifs ou d'accélérateurs de croissance, il est possible de préparer une grande diversité de milieux adaptés à des utilisations spécifiques.

Mise au point par Ellner en 1966, la gélose Columbia permet d'obtenir des cultures luxuriantes, des zones hémolytiques parfaitement définies, des colonies et des pigmentations bien caractéristiques (Marchal et *al.*, 1982).

**Principe :**

Les peptones qui entrent dans la composition du milieu favorisent l'excellente croissance des colonies.

L'extrait de levure est une source du complexe vitaminique B.

L'amidon est un détoxifiant, également source d'énergie.

**▪ Gélose viande foie**

La gélose glucosée viande foie est utilisée pour le dénombrement des spores de *Clostridia* sulfito-réducteurs (Marchal et *al.*, 1982).

**Principe :**

La peptone viande-foie favorise la croissance de la plupart des microorganismes et plus spécialement celle des germes anaérobies.

Le glucose constitue la source énergétique du développement.

L'amidon favorise la germination des spores.

Les germes anaérobies réduisent le sulfite en sulfure qui, en présence de fer, provoque le noircissement des colonies par formation de sulfure de fer

#### ▪ Gélose bile esculine azide

La gélose à la bile, à l'esculine et à l'azide de sodium (BEA) est un milieu sélectif utilisé pour les isollements et dénombrement des entérocoques.

Les entérocoques se présentent sous forme de petites colonies translucides entourées d'un halo noir. Les staphylocoques et les levures peuvent donner des colonies opaques sans halo noir. Il est indispensable d'identifier les microorganismes suspects, notamment pour écarter toute confusion avec les *Listeria* qui peuvent donner des colonies similaires à celles des entérocoques (Marchal et al., 1982).

#### Principe :

L'azide de sodium provoque l'inhibition des bactéries contaminantes à Gram négatif.

La bile de bœuf empêche la croissance des bactéries à Gram positif.

Les entérocoques hydrolysent l'esculine en glucose et en esculetine. Ce dernier composé forme un complexe noir en présence des ions ferriques apportés par le citrate de fer.

#### ▪ Gélose au sang frais

Par addition de 5 ou 10 % de sang de mouton stérile, après autoclavage et refroidissement, le milieu convient à la culture de streptocoques, pneumocoques, staphylocoques, *Listeria*, *Erysipelothrix*. Il peut être rendu sélectif par adjonction de colistine ainsi que d'acide nalidixique pour éviter le développement des microorganismes à Gram négatif et des *Bacillus* (Marchal et al., 1982).

#### ▪ Gélose chocolat

Par addition de 10 % de sang à la gélose Columbia stérile, puis chauffage à 80°C jusqu'à l'obtention d'une teinte chocolat, on obtient un excellent milieu pour la culture des germes exigeants (Marchal et al., 1982).

### ▪ Gélose TCBS

La gélose au Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose (TCBS) constitue un milieu sélectif destiné à l'isolement de *Vibrio cholerae* et des autres vibrions entéropathogènes dans les prélèvements biologiques d'origine animale (Marchal et al., 1982).

#### Principe :

Les concentrations élevées en thiosulfate et en citrate de sodium ainsi que la forte alcalinité du milieu inhibent fortement la croissance des entérobactéries.

La bile de bœuf et le cholate de sodium ralentissent la culture des entérocoques et inhibent le développement des germes à Gram positif.

Par acidification du milieu, résultant de la fermentation du saccharose, les *Vibrio* provoquent le virage au jaune de l'indicateur au thymol et au bleu de bromothymol.

A partir du thiosulfate, qui constitue une source de soufre, la production de sulfure d'hydrogène est révélée en présence de citrate ferrique. Tous les *Vibrio* sont H<sub>2</sub>S négatifs.

### 2.4. Recherche des levures et champignons

Certaines levures et champignons pathogènes pour l'homme sont peut être isolé sur le milieu sélectif Sabouraud additionnée d'un ou plusieurs antibiotiques, ce milieu est disponible en tube avec pente (Delarras, 2007).

#### Technique :

- ✓ Ensemencer le prélèvement polymicrobien sur la pente du milieu en tube.
- ✓ Incuber, capsule débloquée, à 37 °C entre 24 heures à 5 jours.
- ✓ Repiquer les colonies développées sur gélose Sabouraud.

#### Lecture :

- Pour les levures les colonies apparaissent crémeuses et blanchâtres, parfois pigmentés, épaisses, luisantes.
- Pour les champignons procéder à leur examen macroscopique et microscopique en vue de leur identification.

### 3. L'identification

#### 3.1. Examen macroscopique

Pour les examens macroscopiques des bactéries communes, aérobies strictes et anaérobies facultatives, l'observation des colonies a été faite à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire.

Dans les conditions données, chaque espèce bactérienne développe une colonie de taille, de forme, de couleur et de consistance caractéristiques (Singleton, 1999).

L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température d'incubation.

Pour chaque type des colonies distinctes nous avons noté les caractéristiques suivantes : la taille, la forme, l'élévation, la transparence, l'aspect de surface, la consistance et la pigmentation.

Pour l'examen macroscopique des champignons, on note surtout :

- La vitesse de pousse : rapide, lente ou très lente ;
- La taille : colonies petites, étendues, envahissantes ;
- L'aspect des colonies : les champignons levuriformes donnent des colonies lisses, glabres, humides, d'aspect brillant ou mat, parfois rugueuses. A l'opposé, les filamenteux ont une texture différente : duveteuse, laineuse, cotonneuse, veloutée, poudreuse ou granuleuse.
- Le relief des colonies : plates, plissées, cérébriformes ... ;
- Consistance : molle, friable, élastique, cartonnée, dure ;
- La couleur : colonie blanche, noire, crème ou colorée (verte, brune, orangée, grise ...)
- Pigment : présence, absence, diffusible ou non.

#### 3.2. Examen microscopique

Au cours d'analyses microbiologiques, on peut observer des bactéries vivantes ou tuées et colorées, le plus souvent à l'aide d'un microscope optique.

L'examen des bactéries fixées et colorées sur des frottis permet de mieux observer les détails morphologiques des cellules bactériennes et orienter l'identification (Delarras, 2007).

### 3.2.1. La coloration de Gram

C'est la coloration de références en bactériologie (Denis et *al.*, 2007), elle permet de diviser le monde des bactéries en deux groupes distincts, mais certaines bactéries peuvent présenter un Gram variable, cette coloration permet en général d'apprécier la pureté des souches bactériennes avant toute identification (Delarras, 2007).

Le protocole est le suivant :

- Préparer un frottis d'une culture bactérienne pure ;
- Recouvrir le frottis de violet cristal oxalaté ; laisser agir 1 minute ; rincer à l'eau distillée ;
- Verser du Lugol et le laisser agir pendant 1 minute ; rincer à l'eau distillée ;
- Décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 seconde ; rincer à l'eau distillée ;
- Recolorer avec de la safranine pendant 10 à 30 seconde ; rincer à l'eau distillée. La safranine peut être remplacée par de la fuchsine de Ziehl diluée au 1/10 (Delarras, 2007), 30 seconde à 1 minute (Denis et *al.*, 2007).
- Sécher entre deux feuilles papier filtre (Denis et *al.*, 2007) puis au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.
- Observer au microscope à l'objectif x100 à immersion.

Avec cette coloration double, les bactéries Gram positif apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries Gram négatif sont colorées en rose (Delarras, 2007).

### 3.3. Examen liés aux caractères biochimiques

L'identification des différentes bactéries isolées a été réalisée grâce à :

- La galerie biochimique classique pour certains bacilles à Gram négatif, oxydase négatif.
- La galerie biochimique standardisée et miniaturisée Système API 20 E (BioMérieux) pour certains bacilles à Gram négatif, oxydase négatif.
- La galerie biochimique standardisée et miniaturisée Système API 20 NE (BioMérieux) pour certains bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux, oxydase positif.
- Le test de recherche de coagulase pour les cocci à Gram positif, catalase positif.
- La galerie biochimique standardisée et miniaturisée Système API 20 C AUX pour les levures.

### 3.3.1. Tests complémentaires

#### ❖ Mise en évidence d'une catalase

##### Principe :

En présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation d'eau oxygénée. La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et oxygène.

##### Technique :

- ✓ Déposer sur une lame de verre une ou deux gouttes d'eau oxygénée.
- ✓ Prélever à l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur un fragment de colonie et dissocier la culture dans l'eau oxygénée.

##### Lecture :

- Un dégagement de bulles de gaz : catalase positive.
- Aucun dégagement gazeux : catalase négative.

#### ❖ Recherche des cytochromes oxydases

##### Principe :

Le test de l'oxydase met en évidence la présence d'une cytochrome-oxydase qui oxyde le cytochrome c réduit. Ce test met en évidence la présence de cytochrome c dans les chaînes respiratoires grâce à des réactifs ayant le même potentiel d'oxydo-réduction que le cytochrome c.

##### Technique :

- ✓ Déposer, sur la lame, un disque d'oxydase
- ✓ Mettre une goutte d'eau distillée.
- ✓ Prélever à l'aide d'une pipette Pasteur une colonie et y déposer sur le disque.

##### Lecture :

- Coloration violette : oxydase positive.
- Aucune coloration : oxydase négative

### ❖ Recherche d'une staphylocoagulase

#### Principe :

La coagulase libre (exo-enzyme) est une enzyme libérée dans le milieu au cours de la culture par *Staphylococcus aureus*. Sa mise en évidence permet seule, d'affirmer la présence de *S. aureus*. Cette enzyme est capable in vitro de coaguler le plasma de lapin.

#### Technique :

- ✓ Dans un tube à hémolyse stérile, introduire 0,5 ml de plasma oxalaté + 0,5 ml d'une culture de 18 h en bouillon coeur cervelle de la souche à étudier.
- ✓ Placer le mélange à 37°C.
- ✓ Des lectures doivent être effectuées toutes les heures au moins pendant les cinq premières heures.

#### Lecture :

- Coagulation du plasma : Coagulase positif.
- Pas de coagulation du plasma : Coagulase négatif.

### 3.3.2. La galerie API 20 E

La galerie Api 20 E est un système pour l'identification des Entérobactéries et autres bacilles Gram-, utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

#### Principe :

La galerie API 20 E compte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification a été faite sur l'ApiWeb™ BioMérieux®.

**Technique :****Préparation de la galerie :**

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

**Préparation de l'inoculum :**

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de Suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, d'opacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé.

**Inoculation de la galerie :**

Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.

Remplir uniquement les tubes des autres tests.

Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

Refermer la boîte d'incubation et la placer à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

**Lecture :**

Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées.

Si le glucose est positif et/ou si 3 tests ou plus sont positifs : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

Test VP : ajouter une goutte de réactifs VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.

Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.

Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kovacs. Un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive.

### 3.3.3. La galerie Api 20 NE

#### Principe :

La galerie API 20 NE se compose d'une galerie constituée de 20 microtubes contenant milieux et substrats sous forme déshydratée. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture et l'identification a été faite sur l'ApiWeb™ BioMérieux®.

#### Technique :

##### Préparation de l'inoculum :

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85% Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, de turbidité égale à celle de l'étalon 0,5 Mcfarland.

##### Inoculation de la galerie :

Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO<sub>3</sub> à PNPG avec la suspension précédente. Eviter la formation de bulles.

Transférer 200 µl (4 à 8 gouttes) de la suspension précédente, dans une ampoule AUX Medium. Homogénéiser.

Remplir les tubes et cupules des tests GLU à PAC.

Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests GLU, ADH, URE.

Incuber 24 heures à 30°C.

#### Lecture :

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.

Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs.

### 3.3.4. La galerie API 20 C AUX

**Principe :**

La galerie API 20 C AUX est constituée de 20 cupules contenant des substrats déshydratés qui permettent d'effectuer 19 tests d'assimilation. Les cupules sont inoculées avec un milieu minimum semi-gélosé et les levures poussent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant.

La lecture de ces réactions se fait par comparaison aux témoins de croissance et l'identification a été faite sur l'ApiWeb™ BioMérieux®.

**Technique :****Préparation de l'inoculum :**

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de Suspension Medium ou NaCl 0,85% Medium ou utiliser un tube contenant 2mL de la même solution sans additif.

Réaliser une suspension de turbidité égale à 2 de McFarland.

Ouvrir une ampoule de C Medium et y transférer 100 µL de la suspension précédente.

**Inoculation de la galerie :**

Remplir les cupules avec la suspension obtenue dans C Medium.

Refermer la boîte d'incubation et incuber 48-72 heures à 30°C.

**Lecture :**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.

### 3.3.5. Galerie biochimique classique

#### Test ONPG

##### Principe :

Ce test est pratiqué pour toute bactérie lactose négatif en 24 h (Delarras, 2003). La recherche de la  $\beta$ -galactosidase est un des premiers tests enzymatiques réalisés en pratique courante. La  $\beta$  gal peut être mise en évidence facilement car elle est capable d'hydrolyser toute molécule analogue du lactose. En laboratoire, on utilise l'ONPG ou Ortho Nitro Phényl Galactopyranoside (Euzéby, 2007).

##### Technique :

- ✓ Réaliser une suspension épaisse des bactéries testées en eau distillée.
- ✓ Ajouter avec une pince flambée mais refroidie un disque imprégné d'ONPG.
- ✓ Incuber 30 min à 37°C.

##### Lecture :

- Virage de couleur du milieu au jaune : test positif.
- Milieu reste incolore : test négatif.

#### Recherche de la dihydrolase (ADH) et des décarboxylases (LDC) et (ODC)

##### Principe :

Ces enzymes, dont l'action est favorisée en milieu acide, forment des substances alcalines à partir des acides aminés. La décarboxylation de la lysine produit de la cadavérine, la L-ornithine est décarboxylée en putrescine et l'arginine est décarboxylée en agmatine puis hydrolysée en putrescine (Euzéby, 2007).

Les milieux utilisés ne contiennent qu'un seul acide aminé (lysine, ornithine ou arginine), du glucose et le bromocrésol pourpre comme indicateur de pH (zone de virage du violet au jaune entre pH 5,4 et 7).

La recherche de ces enzymes n'est effectuée que pour des bactéries à métabolisme fermentatif. Dans un premier temps, les bactéries fermentent le glucose et les milieux s'acidifient (virage au jaune). À pH acide, la synthèse des décarboxylases est favorisée et ces enzymes présentent une activité maximale. Dans un second temps, la production éventuelle

d'une décarboxylase conduit à la formation de composés alcalins et à l'alcalinisation du milieu ce qui provoque le virage au violet du bromocrésol pourpre (Euzéby, 2007).

#### Technique :

- ✓ Ensemencer chacun des trois tubes avec une suspension bactérienne.
- ✓ Réaliser une anaérobiose en recouvrant la surface du milieu d'huile de paraffine.
- ✓ Incuber à 37° C pendant 24h.

#### Lecture :

- Apparition d'une coloration jaune (acidification du milieu) : réaction négative.
- Apparition d'une coloration orange foncée ou rouge (alcalinisation du milieu) : réaction positive.

#### Test Uréase

##### Principe :

L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée et conduit à la formation d'ammoniac et de dioxyde de carbone. En solution, le produit final de la réaction est le carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu (le rouge de phénol est l'indicateur de pH) (Euzéby, 2007).

##### Technique :

- ✓ Ensemencer un milieu urée tryptophane avec une suspension bactérienne.
- ✓ Incuber 18 à 24 heures à 37 °C.

##### Lecture :

- Uréase positive : le milieu présente une coloration rouge violacée.
- Uréase négative : le milieu persiste orange.

#### Test TDA

##### Principe :

Le tryptophane désaminase désamine le tryptophane pour donner de l'acide indole-pyruvique. En présence de perchlorure de fer et en milieu acide, l'acide indole-pyruvique donne un composé de couleur brune foncée (Euzéby, 2007).

**Technique :**

- ✓ Ensemencer un milieu urée tryptophane avec une suspension bactérienne.
- ✓ Incuber 18 à 24 heures à 37 °C.

**Lecture :**

Ajouter une goutte d'une solution acide de perchlorure de fer (réactif TDA).

- Apparition d'un précipité brun foncé : TDA positif.
- Absence de précipité : TDA négatif.

**Test Indole****Principe :**

Certaines bactéries désaminent puis hydrolysent le tryptophane pour donner une molécule d'indole. L'indole réagit avec la fonction aldéhyde du paradiméthylaminobenzaldéhyde pour donner un anneau rouge (Euzéby, 2007).

**Technique :**

- ✓ Ensemencer un milieu urée tryptophane ou eau peptonée exempte d'indole avec une suspension bactérienne.
- ✓ Incuber 18 à 24 heures à 37 °C.

**Lecture :**

Ajouter une goutte du réactif de Kovacs

- Réaction positive : formation d'un anneau rouge en surface.
- Réaction négative : apparition d'un anneau Jaune.

**Test VP****Principe :**

Les réactions de Voges-Proskauer (VP) permettent l'étude des dérivés de l'acide pyruvique qui est un intermédiaire clef du métabolisme des glucides.

La fermentation du glucose par certaines entérobactéries produit de l'acide pyruvique, qui sera ensuite transformé en acétoïne puis en 2,3-butanediol ; cette fermentation est dite butanediolique (Delarras, 2007).

**Technique :**

- ✓ Ensemencer un milieu Clark et Lubs avec une suspension bactérienne.
- ✓ Incuber 24 h à 37°C.
- ✓ Prélever 1 ml du milieu et le transvaser dans un tube stérile.
- ✓ Ajouter à cette culture 0,5 ml de VP I et 0,5 ml de VP II.
- ✓ Incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation.
- ✓ Attendre 10 min à 30 min.

**Lecture :**

- Apparition d'une coloration rouge : test positif.
- Le milieu persiste jaune : test négatif.

**Test RM****Principe :**

La fermentation du glucose par certaines entérobactéries produit de l'acide pyruvique (pyruvate), puis des acides (acides lactique, succinique, acétique et formique) et parfois des produits divers (éthanol, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>) ; cette fermentation est appelée fermentation acides mixtes (Delarras, 2007).

**Technique :**

- ✓ Ensemencer un milieu Clark et Lubs avec une suspension bactérienne.
- ✓ Incuber 24 h à 37°C.
- ✓ Prélever 1 ml du milieu et le transvaser dans un tube stérile.
- ✓ Ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle.
- ✓ la lecture est immédiate.

**Lecture :**

- Virage de couleur de milieu au rouge : test positif.
- Milieu reste jaune : test négatif.

## Recherche d'une nitrate réductase

### Principe :

Certaines bactéries peuvent utiliser comme accepteur final d'électrons des composés minéraux riches en oxygène. C'est le cas en particulier des nitrates qui sont alors réduits en nitrites. La réduction peut aller au-delà du stade nitrites et conduire à la formation d'azote gazeux.

La recherche d'une nitrate-réductase se fait par la mise en évidence des nitrites formés. Les nitrites en milieu acétique ou sulfurique donnent une coloration rose ou rouge en présence d'acide parasulfanilique et d'alpha-naphtylamine.

Toutefois, comme certaines bactéries réduisent les nitrates au-delà du stade nitrites, toute réaction apparaissant négative doit être contrôlée pour constater la présence ou la disparition des nitrates contenus à l'origine dans le milieu. Dans ce but, on ajoute au milieu de la poudre de zinc. Le zinc est un agent réducteur capable de réduire en quelques minutes les nitrates en nitrites.

Si la réaction est véritablement négative, les nitrates toujours présents dans le milieu sont réduits en nitrites sous l'action du zinc et une coloration rose ou rouge apparaît.

Si la réaction est faussement négative, les nitrates ont été réduits par les bactéries en azote gazeux.

Le milieu ne contient plus de nitrates et lorsque la poudre de zinc est ajoutée, la teinte du milieu n'est pas modifiée.

### Technique :

- ✓ Ensemencer un bouillon nitrate avec une suspension bactérienne.
- ✓ Incuber 24 h à 37°C.
- ✓ Ajouter une ou deux gouttes de NIT I puis une ou deux gouttes de NIT II.

### Lecture :

- Apparition en quelques secondes d'une coloration rose ou rouge : réaction positive.
- Absence de coloration : ajouter la poudre de zinc ;
- Apparition en cinq minutes d'une coloration rose ou rouge : réaction négative.

- Absence de coloration : réaction positive.

### Test TSI

#### Principe :

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène.

#### Technique :

- ✓ Ensemencer le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées.
- ✓ Incuber à 37°C pendant 24 heures (capsules desserrées) de manière à favoriser les échanges gazeux.

#### Lecture :

##### Fermentation de glucose

- Culot rouge : glucose non fermenté
- Culot jaune : glucose fermenté

##### Fermentation du lactose et/ou du saccharose

- Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés
- Pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s)

##### Production de gaz

- Apparition de gaz dans le culot.

##### Formation d'H<sub>2</sub>S

- Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

## Utilisation du citrate

### Principe :

Certaines bactéries sont capables d'assimiler le citrate, c'est à dire capables d'utiliser le citrate comme unique source de carbone et d'énergie. Ces bactéries possèdent un citrate perméase et les enzymes du catabolisme du citrate.

De telles bactéries sont capables de croître sur un milieu synthétique, le milieu au citrate de Simmons, dont l'unique source de carbone est le citrate de sodium. Ce milieu contient également des sels d'ammonium comme unique source d'azote et du bleu de bromothymol comme indicateur de pH. Initialement, le pH du milieu est de 7,0 et, à un tel pH, le bleu de bromothymol a une teinte verte.

La croissance sur le milieu au citrate de Simmons s'accompagne généralement d'une alcalinisation provoquant le virage au bleu (bleu outre-mer) du bleu de bromothymol.

### Technique :

- ✓ Ensemencer le milieu au citrate de Simmons à partir d'une culture prélevée sur un milieu gélosé.
- ✓ Incuber 24 h à 37°C.

### Lecture :

- Présence d'une coloration bleue : réaction positive.
- Présence d'une coloration verte : réaction négative.

## Mannitol Mobilité

### Principe :

Le milieu Mannitol Mobilité permet d'orienter l'identification des entérobactéries par la mise en évidence de certaines de leurs caractéristiques métaboliques :

- Fermentation du mannitol
- Etude de la motilité.

La fermentation du mannitol induit une acidification qui provoque une coloration jaune du milieu. Changement de couleur de l'indicateur de pH : Rouge de phénol.

La motilité est mise en évidence par l'apparition d'un trouble homogène (capacité des bactéries à envahir l'ensemble de ce milieu faiblement gélosé).

**Technique :**

- ✓ Ensemencer le milieu Mannitol Mobilité par piqûre centrale jusqu'au fond du milieu à partir d'une culture pure.
- ✓ Incuber pendant 24 heures à 37°C.

**Lecture :**

- Le milieu prend une coloration jaune : mannitol (+).
- Le milieu reste rouge translucide : mannitol (-).
- Les bactéries mobiles envahissent le milieu en donnant un trouble homogène.
- Les bactéries immobiles donnent une culture limitée à la piqûre d'ensemencement.

### 3.4. Antibiogramme

Nous avons utilisé la méthode de Kirby-Bauer (recommandée par l'OMS) qui est basée sur la diffusion de substances antibiotiques imprégnées sur des disques en papier préalablement séchés qui doivent être déposés à la surface de la gélose.

Les disques appliqués sur l'agar absorbent une quantité d'eau suffisante pour dissoudre l'antibiotique qui diffuse ainsi progressivement dans le milieu, suivant les lois physiques de diffusion des molécules à travers un gel. Il se forme ainsi un gradient de concentration de l'antibiotique autour de chaque disque. Tandis que le mécanisme de diffusion se produit, la multiplication des germes ensemencés à la surface de l'agar intervient. Au moment où se manifeste la phase logarithmique de croissance, les bactéries se multiplient plus rapidement que la diffusion de l'antibiotique ne peut progresser et les cellules bactériennes non inhibées continuent à se multiplier jusqu'à ce que la culture puisse être visualisée.

#### ❖ Milieu :

- Gélose Mueller Hinton (MH), coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm.
- Les géloses sont séchées avant l'emploi (Rahal et *al.*, 2008).

#### ❖ Inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 %.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum (Rahal et *al.*, 2008).

#### ❖ Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.

- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (Rahal et *al.*, 2008).

❖ **Application des disques d'antibiotiques :**

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre.
- Tester la liste des antibiotiques selon la bactérie isolée.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologique stériles pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé (Rahal et *al.*, 2008).

❖ **Incubation :**

- L'incubation se fait à 35°C pendant 18 heures.

❖ **Lecture :**

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée (Rahal et *al.*, 2008).
- L'analyse statistique des résultats a été faite avec le WHONET 5.6<sup>®</sup>.

# *CHAPITRE V*

Produced with ScantOPDF

## I. Résultats

### 1. Caractères morphologiques et coloration de Gram

Le repiquage utilisé dont le but de purifier les souches, nous a permis de distinguer les caractères des colonies sur leurs milieux d'isolement (Tab. 13).

**Tableau 13 : Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées**

Milieux de culture	Observation macroscopique	Observation microscopique
Gélose nutritive	- Circulaire, lisse, plate, brillante transparente - Irrégulière, ombilique	- Bacille à Gram – - Bacille à Gram +
Hektoen	- Colonie saumon, bambée, lisse, ombilique. - Colonies saumon, à contour régulier - Colonies saumon avec centre noir. - Verte, brillante, plate, lisse, transparente. - Verte avec centre noir.	- Coccobacille à Gram – - Bacille à Gram – - Bacille à Gram – - Bacille à Gram – - Bacille à Gram –
BCP	- Bombé, jaune, circulaire, muqueuse. - Petite, lisse, transparente, à contour régulier, brillante.	- Bacille à Gram – - Bacille à Gram –
VF	- Colonies de type R, blanchâtre. - Colonies muqueuses, bombés, brillantes.	- Bacille à Gram + sporulé - Bacille à Gram –
BEA	- Petite, avec un halo noir. - Noir, moyenne, à contour régulier, brillante.	- Cocci en chainettes, à Gram + - Bacille à Gram +
Chapman	- Bombée, lisse, à contour régulier, jaunâtre avec virage de la couleur du milieu entourant les couloirs au jaune brillant. - Petite, opaque, lisse, bombée, à contour Régulier.	- Cocci en amas, à Gram + - Cocci en amas, à Gram +

### 2. Résultats de l'identification biochimique

L'étude biochimique nous a permis d'identifier 30 espèces bactériennes appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* (Tab. 14) avec une présence

majoritaire du genre *Citrobacter* et *Escherichia* détecter dans toutes les espèces aviaires ciblées, suivi par les genres *Enterobacter* et *Aeromonas*. Nous avons aussi isolé et identifié des bacilles à Gram positif: *Listeria* spp (chez les tourterelles) (Tab.18), *Bacillus* spp (Tab. 19), *Clostridium* spp (dans tous les prélèvements).

Les tests effectués sur les staphylocoques, les streptocoques et les microcoques, nous ont permis d'identifier; *S. aureus*, *S. intermedius*, *Streptococcus* spp et *Micrococcus* spp (Tabs. 16 et 17).

En ce qui concerne les agents fongiques, on a pu identifier 4 espèces de levures chez les tourterelles, 2 espèces chez le pigeon (Tab. 15) et *Aspergillus fumigatus* chez l'hirondelle rustique.

**Tableau 14 : Résultats de l'identification par la galerie API 20 E et la galerie classique**

Espèces bactériennes identifiées	Espèces aviaire
<i>Aeromonas hydrophila</i>	La tourterelle des bois
<i>Aeromonas salmonicida</i>	
<i>Citrobacter freundii</i>	
<i>Citrobacter braaki</i>	
<i>Escherichia coli 1</i>	
<i>Escherichia coli 2</i>	
<i>Enterobacter gergoviae</i>	
<i>Morganella morganii</i>	
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	
<i>Serratia odorifera</i>	
<i>Shigella</i> spp	
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	La tourterelle turque
<i>Citrobacter koseri</i>	
<i>Citrobacter youngae</i>	
<i>Escherichia coli 1</i>	
<i>Escherichia coli 2</i>	
<i>Enterobacter cloacae</i>	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	
<i>Proteus mirabilis</i>	
<i>Salmonella arizonae</i>	
<i>Shigella</i> spp	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	
<i>Pasteurella multocida</i>	
<i>Salmonella</i> spp	

Espèces bactériennes identifiées	Espèces aviaire
<i>Enterobacter cloacae</i>	Le pigeon
<i>Enterobacter amnigenus</i>	
<i>Escherichia coli 1</i>	
<i>Escherichia coli 2</i>	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<i>Shigella spp</i>	
<i>Pasteurella multocida</i>	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	L'hirondelle rustique
<i>Burkholderia cepacia</i>	
<i>Buttiauxella agrestis</i>	
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	
<i>Citrobacter braaki</i>	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	
<i>Kluyvera spp</i>	
<i>Serratia liquefaciens</i>	
<i>Shewanella putrefaciens</i>	
<i>Escherichia coli 1</i>	L'hirondelle de fenêtre
<i>Enterobacter amnigenus</i>	
<i>Shigella spp</i>	
<i>Citrobacter koseri</i>	
<i>Pantoea spp</i>	
<i>Providencia rettgeri</i>	

Tableau 15 : Résultats de l'identification par la galerie API 20 C AUX

Espèces de levures identifiées	Espèces aviaire
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	La tourterelle de bois
<i>Candida pelliculosa</i>	
<i>Pichia angusta</i>	La tourterelle turque
<i>Cryptococcus terreus</i>	
<i>Candida albicans</i>	Le pigeon
<i>Candida tropicalis</i>	

Résultats de l'identification par la galerie API 20 NE

On a pu identifier deux espèces par la galerie API 20 NE chez le pigeon (Figs. 09 et 10).

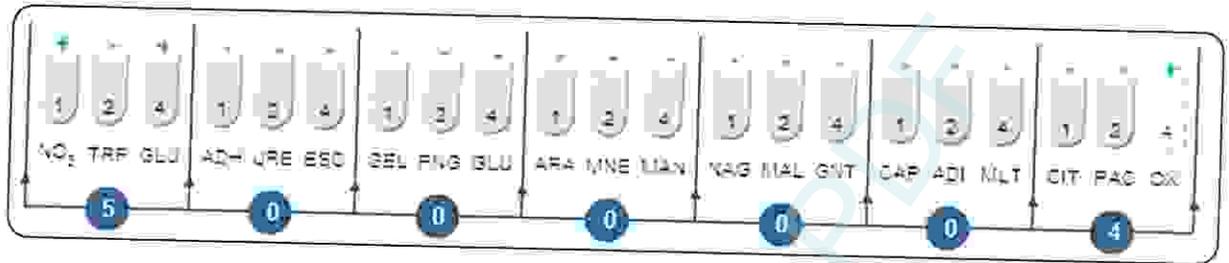


Figure 09 : la souche a des caractéristiques qui semblent à être une *Pasteurella* spp.

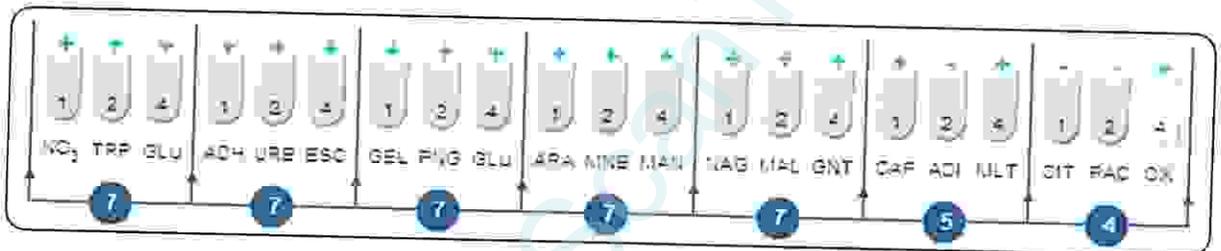


Figure 10 : la souche a des caractéristiques qui semblent à être une *Aeromonas hydrophila*.

Résultats des cocci à Gram positif

On a pu identifier les espèces suivantes:

- ❖ *S. aureus* chez les tourterelles, les hirondelles et le pigeon ;
- ❖ *S. intermedius* chez le pigeon et la cigogne ;
- ❖ *Micrococcus* spp chez les tourterelles ;
- ❖ *Streptococcus* spp chez les tourterelles, les hirondelles et le pigeon.

Tableau 16 : Résultats des staphylocoques et des microcoques.

	Mannitol	Catalase	Oxydase	Staphylocoagulase
<i>S. aureus</i>	+	+	-	+
<i>S. intermedius</i>	-	+	-	-
<i>Micrococcus</i> spp	-	+	+	/

Tableau 17 : Résultats des streptocoques.

	Catalase	Bile esculine
<i>Streptococcus</i> spp	-	+

#### Résultats des bacilles à Gram positif

Les résultats de la recherche du *Clostridium* sont positifs pour tous les prélèvements et toutes les espèces aviaires.

Tableau 18 : Résultats de l'identification de *Listeria*.

	Catalase	Oxydase	Spore	Esculine	Fox	NA	AMP	AMX
<i>Listeria</i> spp	+	-	-	+	R	R	S	S

Tableau 19 : Résultats de l'identification de *Bacillus*.

	Catalase	Spore
<i>Bacillus</i> spp	+	+

On a pu identifier *Bacillus cereus* chez la tourterelle turque (Tab.19).

Tableau 20 : Résultats de l'identification de *Bacillus cereus*.

	Catalase	Spore	VP	ADH	Nitrate	Citrate	Urease	Pénicilline
<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	+	+	+	-	R

#### Résultats des *Campylobacter*, des Mycobactéries et des Vibrions

Les *Campylobacter*, les Mycobactéries et les Vibrions n'ont pas été isolés: culture négative pendant toute l'étude.

### 3. Evaluation de l'antibiorésistance

#### 3.1. L'Hirondelle rustique

##### 1. *Aeromonas hydrophila*

Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

**Tableau 21 : Résultat de l'antibiogramme pour *Aeromonas hydrophila***

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	22	8	13	20	17	8	16	19	16	18	20	24
Catégorie clinique	S	R	R	S	S	R	S	S	I	S	I	S

*R* : résistante      *I* : intermédiaire      *S* : sensible

Le graphique ci-après présente le taux de résistance de la souche *A. hydrophila* (Fig. 11).



**Figure 11 : Taux de résistance de *Aeromonas hydrophila*.**

##### 2. *Burkholderia cepacia*

Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

**Tableau 22 : Résultat de l'antibiogramme *Burkholderia cepacia***

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	13	11	6	32	17	6	22	25	6	21	25	19
Catégorie clinique	I	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	S

*R* : résistante      *I* : intermédiaire      *S* : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *B. cepacia* (Fig. 12).

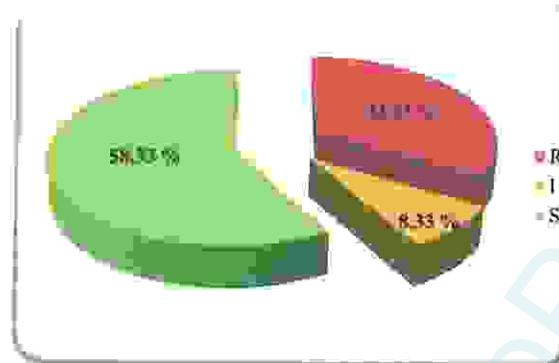


Figure 12 : Taux de résistance de *Burkholdria cepacia*

### 3. *Buttiauxella agrestis*

Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

Tableau 23 : Résultat de l'antibiogramme *Buttiauxella agrestis*

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	8	26	18	16	16	20	14	24	14	26	24	22
Catégorie clinique	R	S	S	S	I	S	I	S	I	S	S	S

R : résistante      I : intermédiaire      S : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *B. agrestis* (Fig. 13).

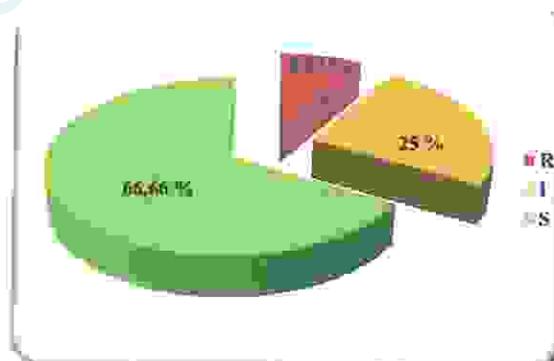


Figure 13 : Taux de résistance de *Buttiauxella agrestis*

#### 4. *Citrobacter amalonaticus*

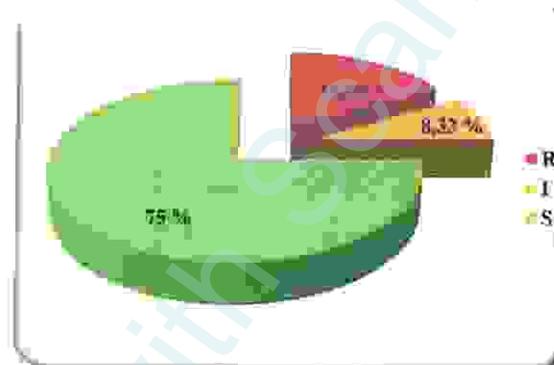
Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

**Tableau 24 : Résultat de l'antibiogramme *Citrobacter amalonaticus***

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	25	9	14	23	24	8	18	23	18	25	26	23
Catégorie clinique	S	R	I	S	S	R	S	S	S	S	S	S

R : résistante I : intermédiaire S : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *C. amalonaticus* (Fig. 14).



**Figure 14 : Taux de résistance de *Citrobacter amalonaticus***

#### 5. *Citrobacter braaki*

Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

**Tableau 25 : Résultat de l'antibiogramme *Citrobacter braaki***

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	6	11	6	29	6	26	17	20	8	26	26	23
Catégorie clinique	R	R	R	S	R	S	S	I	R	S	S	S

R : résistante I : intermédiaire S : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *C. braaki* (Fig. 15).

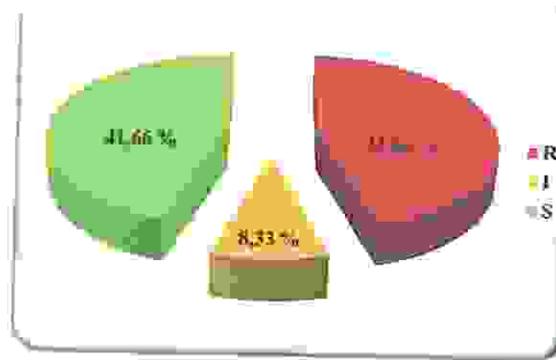


Figure 15 : Taux de résistance de *Citrobacter braaki*

### 6. *Enterobacter aerogenes*

Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

Tableau 26 : Résultat de l'antibiogramme *Enterobacter aerogenes*

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	28	14	10	20	22	6	20	24	8	23	20	9
Catégorie clinique	S	R	R	S	S	R	S	S	R	S	I	R

R : résistante

I : intermédiaire

S : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *E. aerogenes* (Fig. 16).

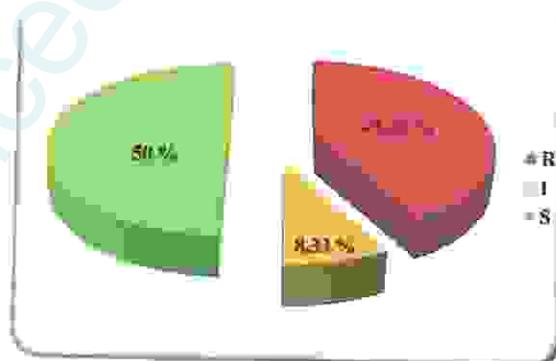


Figure 16 : taux de résistance de *Enterobacter aerogenes*

**7. *Kluyvera* spp**

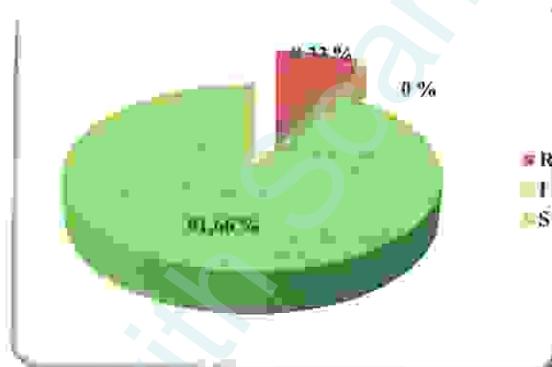
Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

**Tableau 27 : Résultat de l'antibiogramme *Kluyvera* spp**

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	29	13	22	23	21	24	20	27	20	24	30	23
Catégorie clinique	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

R : résistante I : intermédiaire S : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *Kluyvera* (Fig. 17).



**Figure 17 : Taux de résistance de *Kluyvera* spp**

**8. *Serratia liquefaciens***

Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

**Tableau 28 : Résultat de l'antibiogramme *Serratia liquefaciens***

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	10	26	6	28	17	23	15	22	6	23	26	20
Catégorie clinique	R	S	R	S	S	S	S	I	R	S	S	S

R : résistante I : intermédiaire S : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *S. liquefaciens* (Fig. 18).

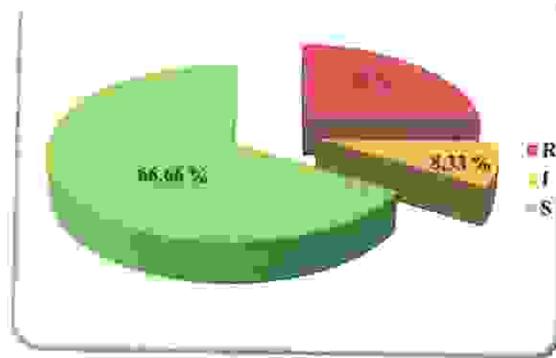


Figure 18 : Taux de résistance de *Serratia liquefaciens*

### 9. *Shewanella putrefaciens*

Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

Tableau 29 : Résultat de l'antibiogramme *Shewanella putrefaciens*

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	18	6	6	36	20	6	23	26	6	18	27	20
Catégorie clinique	S	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	S

R : résistante      I : intermédiaire      S : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *S. putrefaciens* (Fig. 19).

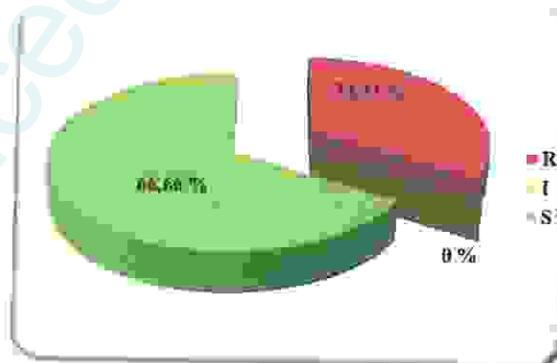


Figure 19 : Taux de résistance de *Shewanella putrefaciens*

### 3.2. L'Hirondelle de fenêtre

#### 1. *Escherichia coli* 1

Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

**Tableau 30 : Résultat de l'antibiogramme *Escherichia coli***

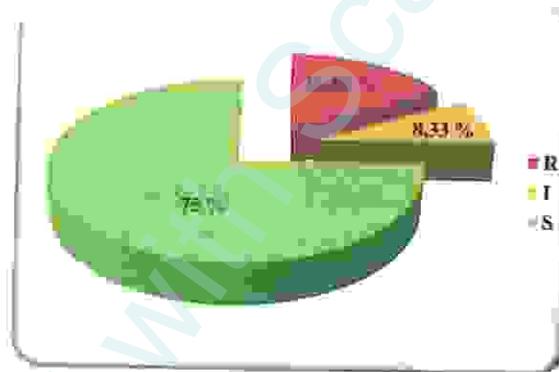
Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	30	24	16	23	25	10	18	26	12	26	35	21
Catégorie clinique	S	S	I	S	S	R	S	S	R	S	S	S

R : résistante

I : intermédiaire

S : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *E. coli* (Fig. 20).



**Figure 20 : Taux de résistance de *Escherichia coli***

#### 2. *Enterobacter amnigenus*

Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

**Tableau 31 : Résultat de l'antibiogramme *Enterobacter amnigenus***

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	26	22	12	20	19	13	18	23	14	20	23	10
Catégorie clinique	S	S	R	S	S	R	S	S	I	S	S	R

R : résistante

I : intermédiaire

S : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *E. amnigenus* (Fig. 21).

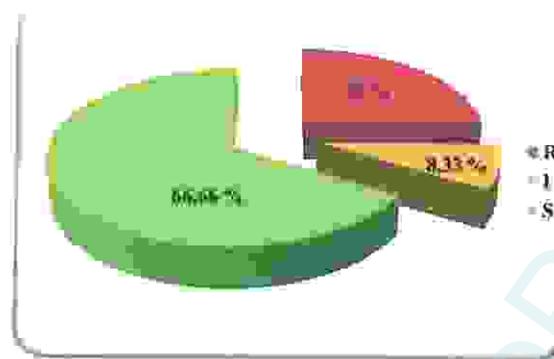


Figure 21 . Taux de résistance de *Enterobacter amnigenus*

### 3. *Shigella* spp

Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

Tableau 32 : Résultat de l'antibiogramme *Shigella* spp

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	21	10	11	16	13	8	19	22	11	18	24	18
Catégorie clinique	S	R	R	S	R	R	S	S	R	S	S	S

R : résistante      I : intermédiaire      S : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *Shigella* (Fig. 22).

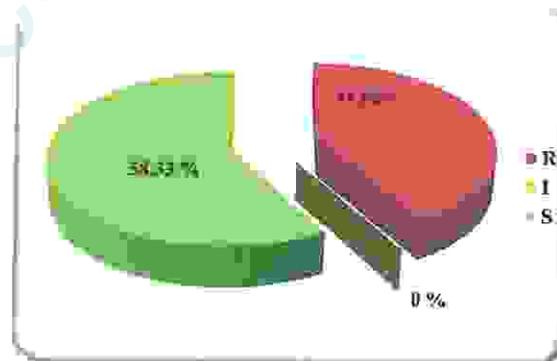


Figure 22 . Taux de résistance de *Shigella* spp

#### 4. *Citrobacter koseri*

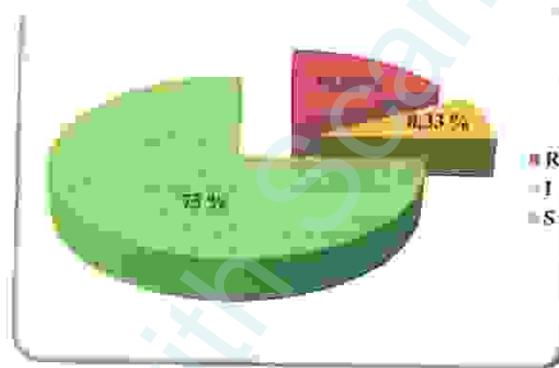
Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

**Tableau 33 : Résultat de l'antibiogramme *Citrobacter koseri***

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	26	13	17	18	24	10	18	23	16	25	32	25
Catégorie clinique	S	R	S	S	S	R	S	S	I	S	S	S

R : résistante      I : intermédiaire      S : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *C. koseri* (Fig. 23).



**Figure 23 : Taux de résistance de *Citrobacter koseri*.**

#### 5. *Pantoea* spp

Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

**Tableau 34 : Résultat de l'antibiogramme *Pantoea* spp**

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	26	12	12	20	19	15	18	23	13	20	23	21
Catégorie clinique	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S

R : résistante      I : intermédiaire      S : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *Pantoea* (Fig. 24).

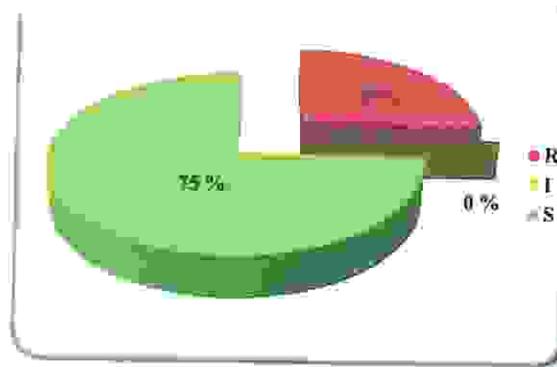


Figure 24 : Taux de résistance de *Pantoea* spp

### 6. *Providencia rettgeri*

Le tableau ci-après montre le résultat de l'antibiogramme.

Tableau 35 : Résultat de l'antibiogramme *Providencia rettgeri*

Disque d'antibiotique	STX	Cz	AM	CN	F	IPM	TE	CRO	AUG	CAZ	CTX	FOX
Diamètre d'inhibition	23	12	6	20	18	14	6	14	6	26	29	21
Catégorie clinique	S	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S	S

R : résistante

I : intermédiaire

S : sensible

Le graphe ci-après présente le taux de résistance de la souche *P. rettgeri* (Fig. 25).

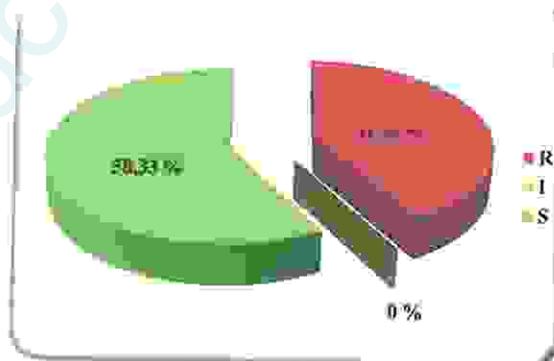


Figure 25 : Taux de résistance de *Providencia rettgeri*

## II. Discussion

Les oiseaux naissent avec un tube digestif stérile. Ce phénomène a permis, sans artifice expérimental, en protégeant l'environnement du jeune, d'élever des sujets axéniques, autrement dit n'abritant aucun micro-organisme. De tels sujets sont utilisés pour l'étude du rôle de certaines souches ou espèces bactériennes. L'apparition de la flore intestinale dépend ainsi, essentiellement, de l'environnement et des particularités physiologiques de chaque espèce (Tournut, 1989).

Le tube digestif de la plupart des espèces animales est colonisé par une microflore endogène, constituée de micro-organismes capables de se développer en anaérobiose. Chez le nouveau-né, ils colonisent le tractus gastro-intestinal selon certaines séquences d'établissement. Chez l'adulte, ces séquences débouchent sur une situation d'équilibre. Ces populations microbiennes colonisent des habitats qui, selon l'espèce animale, peuvent se situer dans le tube digestif, à la surface épithéliale ou au fond des cryptes de Lieberkühn. Toute une série de facteurs déterminent les espèces microbiennes capables chez une espèce animale donnée de constituer des populations microbiennes dans les niches écologiques (Savage, 1989).

La flore du tube digestif des oiseaux a été considérée jusqu'à présent comme jouant un rôle mineur comparativement à celle du côlon des mammifères (Gabriel et al., 2005). La microflore varie en fonction des facteurs liés à l'hôte : l'âge de l'animal, son environnement, le stress et l'alimentation (Gabriel et al., 2003 ; Savage, 1989) et d'autres sont imputables aux interactions entre les différentes espèces microbiennes. L'un des principaux facteurs est l'aptitude de ces micro-organismes à coloniser les surfaces épithéliales (Savage, 1989). Elle entraîne des changements de la structure, du fonctionnement du tube digestif et des modifications de la digestion des aliments, ainsi qu'une augmentation des besoins énergétiques. La flore indigène a des conséquences sur la santé des oiseaux du fait de la production de différents métabolites. Ainsi, elle peut avoir un effet protecteur vis-à-vis des micro-organismes néfastes et elle est responsable en partie du développement du système immunitaire intestinal (Gabriel et al., 2003).

Les oiseaux de toutes les catégories de la filière aviaire sont fréquemment confrontés à des affections bactériennes. Très souvent, il s'agit simplement des bactéries habituelles du tube digestif, principalement les espèces appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, qualifiées de marqueurs d'un déséquilibre intestinal qui dans des conditions de stress,

mauvaise hygiène ou antibiothérapie anarchique, prolifèrent, deviennent virulentes et finissent par déstabiliser l'écosystème digestif (Chouder, 2006).

Notre étude a été réalisée sur plusieurs espèces aviaires, la tourterelle des bois, la tourterelle turque, l'hirondelle de fenêtre, l'hirondelle rustique et le pigeon domestique. Elle se limite exclusivement aux microorganismes bactériens et quelques espèces fongiques présents dans les fientes. Ces derniers contiennent sans aucun doute des parasites et des virus qui auraient des incidences sur les populations aviaires et sur l'homme.

En vue les moyens disponibles au laboratoire, nous nous sommes arrivé à identifier plusieurs espèces bactériennes appartenant à la famille des Entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires qui peuvent présenter un intérêt médical et voir même être potentiellement pathogènes.

Selon les espèces microbiennes, les Entérobactéries sont généralement des hôtes normaux ou pathologiques du tube digestif de l'homme et des animaux. Ce caractère écologique n'est pas exclusif des Entérobactéries qui peuvent proliférer en abondance dans l'environnement (sol et eau) et participer aux grands cycles de dégradation des matières organiques.

La peau, les fosses nasales et l'oropharynx des animaux sains sont fréquemment colonisés par les staphylocoques (Amal, 2003). Certains d'entre eux sont pathogènes pour l'homme. Ils sont isolés particulièrement au cours des suppurations; les infections à *S. aureus* sont très fréquentes et apparaissent sous des aspects cliniques très variés (Avril et al., 1992).

Les entérocoques appartiennent à la flore fécale commensale de l'homme. *Enterococcus faecalis* est l'espèce la plus souvent isolée suivie de *E. faecium* et *E. durans*, ils causent des infections urinaires surtout chez l'homme âgé. Ils constituent une des étiologies des infections nosocomiales : infections de plaies surtout après chirurgie gastro-intestinale, abcès intra-abdominal, péritonite. Souvent, ils sont associés à d'autres infections bactériennes dues aux entérobactéries, germes anaérobies.

Dans notre étude une cinquantaine d'espèces bactériennes ont été isolées, la majorité appartient à la famille des Entérobactéries. Nous avons aussi isolé *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Burkholderia cepacia*, *Pasteurella multocida*, *Shewanella putrefaciens* et *Stenotrophomonas maltophilia*. Cette famille est représentée par 30 espèces,

dont 13 espèces sont pathogènes pour l'homme et l'animal : *Escherichia coli* 1, *E. coli* 2, *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter amnigenus*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp et *Yersinia enterocolitica*.

*Bacillus cereus* et *Listeria* spp font partie des critères microbiologiques applicables aux aliments, elles doivent être recherchés dans les produits végétaux, ceux-ci comprennent les végétaux crus épluchés et coupés, les végétaux crus prêts à l'emploi, les graines germées, les jus de légumes et les fruits crus (Delarras, 2007).

Certaines espèces de *Clostridium* sont parfois commensales de l'intestin de l'homme et des animaux. Des espèces produisant des toxines sont des bactéries pathogènes spécifiques engendrant des maladies spécifiques redoutables pour l'homme et pour les animaux (Delarras, 2007).

Certaines levures peuvent être pathogènes pour l'homme et pour les animaux, c'est le cas de quelques espèces de *Candida*, *Cryptococcus* et *Rhodotorula* (Delarras, 2007).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques par la méthode de Kirby-Bauer (diffusion sur milieu solide) a révélé que 26% des souches isolées chez l'hirondelle rustique sont résistantes, 10% présentent une résistance intermédiaire et 64% affichent une sensibilité apparente. Pour la seconde espèce, l'hirondelle de fenêtre, 27% des souches sont résistantes aux différents antibiotiques utilisés, 5% présentent une résistance intermédiaire et 69% y sont sensibles.

Ces souches sont responsables d'infections souvent sous-estimées pouvant être graves, parfois mortelles et ne doivent donc pas être négligées. Le problème essentiel et préoccupant est le phénomène des zoonoses qui présentent une menace majeure pour l'homme.

# ***CONCLUSION***

Produced with ScantOPDF

## Conclusion

Notre étude qui s'est étalée sur une période de six mois a été menée dans le but de contrôler la présence de certains microorganismes pathogènes responsables de zoonoses aviaires dans les fientes des espèces ciblées : les tourterelles, les hirondelles et le pigeon dans la région de Guelma.

Dans ce contexte, nous nous sommes basés sur l'exploration de la microflore des fientes en suivant divers protocoles de recherches afin d'isoler et d'identifier toutes les espèces de microorganismes. Les tests d'identification effectués ont révélé plusieurs espèces dont 15 sont pathogènes pour l'être humain et l'animal.

La microflore isolée est variable en fonction de certains facteurs majeurs qui sont l'habitat, le régime alimentaire et l'âge de l'oiseau (oisillon, subadulte ou adulte). Ces derniers ont un grand effet sur la diversité de la microflore des espèces étudiées.

Ces bactéries hébergées par l'oiseau sont la cause de nombreuses maladies aviaires présentant un potentiel zoonotique et pourraient représenter un danger de plus en plus important pour la santé publique.

Nous pouvons difficilement imaginer qu'un simple petit oiseau puisse transmettre des maladies à l'homme ; mais c'est pourtant le cas !!!

***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

Produced with Scantopdf

**Références bibliographiques**

- ACHA P.N., SZYFRES B.** 2005. « Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux, Bactérioses et Mycoses ». Troisième édition, Vol. I, 382 p.
- AFSSA.** 2006. Description de danger transmissible par les aliments : *Campylobacter* spp. 3 p.
- AIMEUR R., BOUAZIZ O., KABOUIA R., BERERHI E.H.** 2010. « Prévalence de *Mycoplasma gallisepticum* et de *Mycoplasma synoviae* dans les élevages avicoles de l'Est Algérien ». Revue médecine vétérinaire, vol. 161 N°3, p. 141-145.
- ANONYME.** 2010. « Campylobactériose ». Article de la Division de la santé publique. 3 p.
- AOUISSI A.** 2010. « Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie) ». Mémoire de Magister, Université du 08 Mai 1945, Guelma, 164 p.
- AOUATI H.** 2009. « Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline ». Thèse doctorat, Constantine, Université Mentouri, 123 p.
- AVRIL J.L., DABERNAT H., DENIS F. ET MONTEIL H.** 1992. Bactériologie clinique. 2ème édition. Paris : Ellipses, 522 p.
- ARNAL P.** 2003. « Source et caractère entérotoxigène des staphylocoques en élevage ovin laitier ». Thèse doctorat, Toulouse, L'école Nationale Vétérinaire de Toulouse, 57 p.
- BAGNOULS F., GAUSSEN H.,** 1957. Les climats biologiques et leur classification. Annales de Géographie, 66° année, N° 335 : 193-220
- BELCHIOR E., LAROUCAU K. et BARBEYRAC B.** 2010. « La psittacose évolution actuelle surveillance et investigations en France ». Bulletin épidémiologique N°38 spéciale zoonoses, p. 13-16
- BENMARCE K.** 2007. « Caractéristiques Physico-chimiques Et Isotopiques Des Eaux Souterraines Dans La Région De Guelma (NE algérien) ». Mémoire de Magister, Université Badji Mokhtar, Annaba, 126 p.
- BENSARI C.** 2009. « Reproduction expérimentale d'une colibacillose chez le poulet Comparaison de l'efficacité d'une Fluméquine et d'une Amoxicilline par rapport à une Enrofloxaciné de référence dans le traitement de cette pathologie ». Thèse doctorat, Université Mentouri Constantine, 171 p.

- BOISSIEU C., CORRAND L. et GUERIN J.L.** 2009. « L'aspergillose ». Revu d'avi campus, Toulouse, L'école Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2 p.
- CHARVE M.T.** 2002. « Listériose et toxoplasmose : deux maladies a risque pour la femme enceinte ». Thèse doctorat, Alfort, Ecole Nationale Vétérinaire d' Alfort, 80 p.
- CHOUDER N.** 2006. « Contribution à l'étude des flores intestinales des poulets conventionnels sains ». Thèse doctorat, Université Mentouri Constantine, 190 p.
- CORINNE M., PICAULT J.P., KEMPF I.** 2001. «Etude expérimentale de la transmission indirecte des mycoplasmoses aviaires». Epidémiologie et santé animal. 40, 57-62.
- CORRAND L.** 2009. « La tuberculose aviaire». Revu d'avi campus, Toulouse, L'école Nationale Vétérinaire de Toulouse, 3 p.
- DAJOZ R.** 2000. Précis d'écologie: Cours Et Exercices Résolus. 7<sup>ème</sup> édition, Paris : Dunod, 613 p.
- DEHAY C.** 2008. « Fidélité des pigeons à un pigeonnier urbain ». Mémoire ; Ecole pratique des hautes études, Paris, 110 p.
- DELARRAS C.** 2003. Surveillance Sanitaire Et Microbiologique Des Eaux: Réglementation - Prélèvements - Analyses. Paris : Editions TEC & DOC, 269 p.
- DELARRAS C.** 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire. Paris : Editions TEC & DOC, 476 p.
- DENIS F., PLOY M.C., MARTIN C., BINGEN E., QUENTIN R.** 2007. Bactériologie médicale. Paris : Masson, 594 p.
- D.P.A.T.** 2008. Direction De La Planification Et De l'Aménagement Du Territoire. Rapport Interne, Monographie De La Wilaya De Guelma. 36 p.
- EUZEBY J.** 2007. Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants. Document de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 20 p.
- DUMAS P.H.** 2005. « La Tularémie ». Revue médecine vétérinaire, vol. 156, N°1, p. 43-49.
- FEIX C.** 2003. « Chlamydirose ». Journée zoonose, Toulouse, 6 p.
- GABRIEL L, MALLET S., LESSIRE M.** 2003. « La microflore digestive ». INRA, Station de Recherches Avicoles, 8 p.
- GABRIEL L, MALLET S., SIBILLE P.** 2005. « La microflore digestive des volailles : facteurs de variation et conséquences pour l'animal ». INRA, Productions Animales, Vol 18 : N° 5, p. 309-322.

- GANIÈRE J.P.** 2008. « Chlamyidiose aviaire ». Maladies réputées contagieuses ou à déclaration obligatoire, 7 p.
- GANIÈRE J.P.** 2008. « Salmonelloses ». Maladies réputées contagieuses ou à déclaration obligatoire, 9 p.
- GAUTIER A.B., KEMPF I.** 2008. « Mycoplasmoses aviaires ». Bulletin académie vétérinaire de France, tome 161 N° 2, p. 185-190.
- GUERIN J.L., BOISSIEU C.** 2008. « La candidose aviaire ». Revu d'avi campus, Toulouse, L'école Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2 p.
- GUERIN J.L., BOISSIEU C.** 2008. « La pasteurellose aviaire ». Revu d'avi campus, Toulouse, L'école Nationale Vétérinaire de Toulouse, 3 p.
- GUERIN J.L., BOISSIEU C.** 2008. « Les mycoplasmoses aviaires ». Revu d'avi campus, Toulouse, L'école Nationale Vétérinaire de Toulouse, 3 p.
- GUIHOT A., BRICAIRE F., BOSSI P.** 2005. « Tularémie ». EMC-Maladies Infectieuses Vol.2, p.1-10.
- GUILLAUME L.** 2005. « Diagnostic sérologique de l'aspergillose chez les oiseaux ». Thèse doctorat, Maisons-Alfort, L'école Nationale Vétérinaire d'Alfort, 110 p.
- HART T., SHEARS P.** 1999. Atlas de poche de microbiologie. Paris : Flammarion Médecine-Sciences, 317 p.
- HELEILI N.** 2011. « Etude préliminaire des mycoplasmoses respiratoires aviaires dans la région de Batna ». Thèse doctorat, Batna, Université Hadj Lakhdar, 202 p.
- HENNEKINNE J.A.** 2009. « Nouvelles approches pour la caractérisation des toxico-infections alimentaires à staphylocoques à coagulase positive ». Thèse doctorat, Paris, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, 183 p.
- KAISMOUNE N.** 2009. « Listeria monocytogenes et les produits alimentaires ». Thèse doctorat, Constantine, Université Mentouri, 92 p.
- LAGNEAU P.E., HOUTAIN J.Y.** 2001. « Aspergillose invasive chez des psittacides ». Annales de médecine vétérinaire, vol. 145, no 5, p. 307-310.
- LARPENT J.P.** 1997. Microbiologie alimentaire : technique de laboratoire. Paris : TEC & DOC, 1073 p.
- LEBRES E.** 2006. Cours D'hygiène Et De Microbiologie Des Eaux (Manuel De Travaux Pratiques Des Eaux). Institut Pasteur d'Algérie. 60 p.
- LEGRAND E., SOLA C., RASTOGI N.** 1999. « Le complexe Mycobacterium avium-intracellulare : marqueurs phénotypiques et génotypiques et les bases

- moléculaires de la transmission inter-espèces ». Institut Pasteur de Paris, vol. 2155 N°7 11 p.
- LEHOURS P.** 2005. « Les Campylobacter : diagnostic biologique et surveillance de la résistance aux antibiotiques en France ». Bulletin académie vétérinaire de France, tome 158 N°4, p. 363-368.
- MARCHAL N., BOURDON J.L., RICHARD C.** 1982. Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Paris: Doin Editeurs, 482 p.
- MARZLUFF J.M., BOWMAN R., DONNELLY R.,** 2001: « Avian Ecology and Conservation in a urbanizing world ». Kluwer Academic Publishers, Boston, Massachssetts, USA.
- MEDDOUR R.** 2010. « Bioclimatologie, phytogéographie et phytosociologie en Algérie ». Thèse doctorat, Tizi Ouzou, Université Mouloud Mammeri, 461 p.
- MIHAJLOVIC B., KLASSEN M., SPRINGTHORPE S., COUTURE H., FARBER J.** 2011. « Évaluation des sources d'exposition à *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* dans les aliments et l'eau ». Revue internationale d'analyse des risques alimentaires, Vol. 1, N° 2, p. 1-24.
- NOUVEL L.X.** 2005. « Recherche de marqueurs génétiques de souches de *Mycobacterium tuberculosis* multirésistante aux antibiotiques en république centrafricaine ». Thèse doctorat, Toulouse, L'école Nationale Vétérinaire de Toulouse, 107 p.
- O.I.E.,** 2008. *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*, chapitre 2.9.3, Manuel terrestre de l'O.I.E., 1299-1306.
- O.I.E.,** 2008. Salmonelloses, chapitre 2.9.9, Manuel terrestre de l'O.I.E., 1387-1405.
- POLY F.** 2005. « Étude de la diversité génétique de l'espèce *Campylobacter jejuni* par l'utilisation de puces à ADN ». Thèse doctorat, Strasbourg, Université Louis Pasteur, 186 p.
- PRESCOTT L., HARLEY J., KLEIN D.** 2003. Microbiologie. Paris : De Boeck, 1164 p.
- PRESSANTI C.** 2007. « Les risques professionnels en aviculture ». Thèse doctorat, Toulouse, L'école Nationale Vétérinaire de Toulouse, 110 p.
- QUEZEL P.** 2000. Réflexions sur l'évolution de la flore et de la végétation au Maghreb méditerranéen. Paris, Ibis Press, 117 p.

- RAHAL K., BENSLIMANI A., TALI-MAAMAR H., MISSOUM M., ABDOUN A., AMMARI H.** 2008. Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 5<sup>ème</sup> édition. Alger, 109 p.
- RAHAL K., BENSLIMANI A., TALI-MAAMAR H., MISSOUM M., ABDOUN A., AMMARI H.** 2011. Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS (Médecine Humaine et Vétérinaire). 6<sup>ème</sup> édition. Alger, 195 p.
- REJESK F.** 2002. Analyse Des Eaux ; Aspects Réglementaires Et Techniques. Paris: Sceren, 360 p.
- RODIER J., LEGUBE B., MERLET N.** 2009. L'analyse de l'eau 9<sup>ème</sup> édition. Paris : Dunod, 1579 p.
- ROSSEL R.F.** 2003. « *Listeria monocytogenes* en abattage et découpe de porc : contrôle de la contamination environnementale des frigos de ressuage et salles de découpe ». Thèse doctorat, Toulouse, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 104 p.
- SAVAGE D.C.** 1989. « L'écosystème digestif et sa colonisation ». Revue science technologie, organisation internationale des épizooties, Vol. 8 : N°2, p. 275-290.
- SHOCHAT E., WARREN P.S., FEATH S.H., MC INTIRE N.E., HOPE D.** 2006: « From patterns to emerging processes in mechanistic urban ecology ». Trends in Ecology and Evolution; Vol.21: N°4
- SINGLETON P.** 1999. Bactériologie 2<sup>ème</sup> cycle. 4<sup>ème</sup> édition. Paris: Dunod, 415 p.
- SOLTNER D.** 1999. Les Bases De La Production Végétale. Edition. Sciences & Techniques Agricoles, Tome 2. 396 p.
- TOURNUT J.** 1989. « Les probiotiques en élevage ». Revue science technologie, organisation internationale des épizooties, Vol. 8 : N°2, p. 533-549.
- VUILLERMOZ L.** 2005. « Etude d botulisme aviaire dans le cadre d'un lac artificiel urbain ». Thèse doctorat, Lyon, L'école Nationale Vétérinaire de Lyon, 93 p.
- WEILL F.X.** 2008. « Zoonotic non-typhi *salmonella* and antibiotic resistance ». Bulletin académie vétérinaire de France, tome 161 N°3, p. 221-234.

# ***ANNEXES***

Produced with ScantOPDF

## ANNEXES

## Annexe 1 : Milieux de culture et réactifs

## a) Milieux de culture :

## Gélose nutritive

Pour 1 litre de milieu :

▪ Tryptone.....	5,0 g
▪ Extrait de viande.....	1,0 g
▪ Extrait de levure.....	2,0 g
▪ Chlorure de sodium.....	5,0 g
▪ Agar agar bactériologique.....	12,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,4 \pm 0,2$ .

## Gélose BEA

Pour 1 litre de milieu :

▪ Tryptone.....	17,00 g
▪ Peptone pepsique de viande.....	3,00 g
▪ Extrait autolytique de levure.....	5,00 g
▪ Bile de bœuf bactériologique.....	10,00 g
▪ Chlorure de sodium.....	5,00 g
▪ Esculine.....	1,00 g
▪ Citrate ferrique ammoniacal.....	0,50 g
▪ Azide de sodium.....	0,15 g
▪ Agar agar bactériologique.....	13,00 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,1 \pm 0,1$ .

## Gélose BCP

Pour 1 litre de milieu :

▪ Tryptone.....	5,0 g
▪ Extrait de viande.....	3,0 g
▪ Lactose.....	10,0 g
▪ Pourpre de bromocrésol.....	25,0 mg
▪ Agar agar bactériologique.....	13,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,0 \pm 0,2$ .

**Gélose CHAPMAN**

Pour 1 litre de milieu :

▪ Tryptone.....	5,0 g
▪ Peptone pepsique de viande.....	5,0 g
▪ Extrait de viande.....	1,0 g
▪ Mannitol.....	10,0 g
▪ Chlorure de sodium.....	75,0 g
▪ Rouge de phénol.....	25,0 mg
▪ Agar agar bactériologique.....	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,4 \pm 0,2$ .**Gélose Columbia**

Pour 1 litre de milieu :

▪ Polypeptone.....	17,0 g
▪ Peptone pancréatique de coeur.....	3,0 g
▪ Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
▪ Amidon de maïs.....	1,0 g
▪ Chlorure de sodium.....	5,0 g
▪ Agar agar bactériologique.....	13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,3 \pm 0,2$ .**Gélose Hektoen**

Pour 1 litre de milieu :

▪ Peptone pepsique de viande.....	12,0 g
▪ Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
▪ Lactose.....	12,0 g
▪ Saccharose.....	12,0 g
▪ Salicine.....	2,0 g
▪ Sels biliaires.....	9,0 g
▪ Chlorure de sodium.....	5,0 g
▪ Thiosulfate de sodium.....	5,0 g
▪ Citrate ferrique ammoniacal.....	1,5 g
▪ Bleu de bromothymol.....	65 mg
▪ Fuchsine acide.....	40 mg
▪ Agar agar bactériologique.....	13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,6 \pm 0,2$ .

**Gélose viande-foie**

Pour 1 litre de milieu :

▪ Peptone viande-foie.....	30,0 g
▪ Glucose.....	2,0 g
▪ Amidon soluble.....	2,0 g
▪ Sulfité de sodium.....	2,5 g
▪ Citrate de fer ammoniacal.....	0,5 g
▪ Agar agar bactériologique.....	11,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,6 \pm 0,2$ .**Gélose MacCONKEY**

Pour 1 litre de milieu :

▪ Peptone pancréatique de gélatine.....	17,0 g
▪ Tryptone.....	1,5 g
▪ Peptone pepsique de viande.....	1,5 g
▪ Lactose.....	10,0 g
▪ Sels biliaires.....	1,5 g
▪ Chlorure de sodium.....	5,0 g
▪ Rouge neutre.....	30,0 mg
▪ Cristal violet.....	1,0 mg
▪ Agar agar bactériologique.....	13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,1 \pm 0,2$ .**Gélose SS**

Pour 1 litre de milieu :

▪ Peptone pancréatique de viande.....	5,0 g
▪ Extrait de viande.....	5,0 g
▪ Lactose.....	10,0 g
▪ Sels biliaires.....	8,5 g
▪ Citrate de sodium.....	10,0 g
▪ Thiosulfate de sodium.....	8,5 g
▪ Citrate ferrique ammoniacal.....	1,0 g
▪ Rouge neutre.....	25,0 mg
▪ Vert brillant.....	0,33 mg
▪ Agar agar bactériologique.....	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,0 \pm 0,2$ .

**Gélose Tryptone-soja**

Pour 1 litre de milieu :

▪ Tryptone.....	15 g
▪ Peptone papainique de soja.....	5 g
▪ Chlorure de sodium .....	5 g
▪ Agar agar bactériologique.....	15 g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :  $7,3 \pm 0,2$ .

**Gélose TCBS**

Pour 1 litre de milieu :

▪ Polypeptone.....	10,0 g
▪ Extrait autolytique de levure.....	5,0 g
▪ Saccharose.....	20,0 g
▪ Bile de bœuf bactériologique.....	5,0 g
▪ Cholate de sodium.....	3,0 g
▪ Citrate de sodium.....	10,0 g
▪ Thiosulfate de sodium.....	10,0 g
▪ Chlorure de sodium.....	10,0 g
▪ Citrate ferrique ammoniacal.....	1,0 g
▪ Bleu de bromothymol.....	40,0 mg
▪ Bleu de thymol.....	40,0 mg
▪ Agar agar bactériologique.....	14,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $8,6 \pm 0,2$ .

**Gélose Mueller-Hinton**

Pour 1 litre de milieu :

▪ Hydrolysât acide de caséine.....	17,5 g
▪ Infusion de viande.....	2,0 g
▪ Amidon soluble.....	1,5 g
▪ Agar agar bactériologique.....	17,0 g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :  $7,3 \pm 0,2$ .

**Gélose de SABOURAUD**

Pour 1 litre de milieu :

▪ Polypeptone.....	10,0 g
▪ Glucose anhydre.....	36,4 g
▪ Agar agar bactériologique.....	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,7 ± 0,2.

**Gélose de SABOURAUD au chloramphénicol**

Pour 1 litre de milieu :

▪ Peptone pepsique de viande.....	10,0 g
▪ Glucose.....	20,0 g
▪ Chloramphénicol.....	0,5 g
▪ Agar agar bactériologique.....	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,7 ± 0,2.

**Milieu TSI**

Pour 1 litre de milieu :

▪ Tryptone.....	14,0 g
▪ Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
▪ Extrait de viande.....	3,0 g
▪ Glucose.....	1,0 g
▪ Lactose.....	10,0 g
▪ Saccharose.....	10,0 g
▪ Chlorure de sodium.....	5,0 g
▪ Thiosulfate de sodium.....	0,3 g
▪ Citrate ferrique ammoniacal.....	0,3 g
▪ Rouge de phénol.....	24,0 mg
▪ Agar agar bactériologique.....	13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

**Milieu citrate de Simmons**

Pour 1 litre de milieu :

▪ Citrate de sodium.....	1,0 g
▪ Bleu de bromothymol.....	0,08 g
▪ Chlorure de sodium.....	5,0 g
▪ Sulfate de magnésium.....	0,2 g
▪ Hydrogénophosphate de potassium.....	1,0 g
▪ Dihydrogénophosphate d'ammonium.....	1,0 g

- Agar : 15 g.

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,1 ± 0,2.

#### Milieu mannitol mobilité

Pour 1 litre de milieu :

- Hydrolysate tryptique de caséine ..... 10,0 g
- Mannitol ..... 7,5 g
- Rouge de phénol ..... 0,4 mg
- Nitrate de potassium ..... 1,0 g
- Agar ..... 3,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2.

#### Milieu Urée-tryptophane

Pour 1 litre de milieu :

- L-Tryptophane..... 3,0 g
- Phosphate monopotassique ..... 1,0 g
- Phosphate dipotassique ..... 1,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g
- Urée ..... 20,0 g
- Rouge de Phénol à 1% ..... 2,50 ml
- Alcool à 95%..... 10,00 ml

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 6,7 ± 0,2.

#### Eau peptonée exempte d'indole

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone..... 10,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2.

#### ADH

Pour 1 litre de milieu :

- Extrait de levure ..... 3 g
- L-arginine ..... 5 g
- Glucose ..... 1 g
- Bromocrésol pourpre ..... 0,16 mg
- Ethanol solvant du BCP ..... 1 cm<sup>3</sup>
- Chlorure de sodium ..... 5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $6.8 \pm 0.2$ .

### LDC

Pour 1 litre de milieu :

- Extrait de levure ..... 3 g
- L-lysine ..... 5 g
- Glucose ..... 1 g
- Bromocrésol pourpre ..... 0,16 mg
- Ethanol ..... 1 mL
- Chlorure de sodium ..... 5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $6.8 \pm 0.2$ .

### ODC

Pour 1 litre de milieu :

- Extrait de levure ..... 3 g
- L-ornithine ..... 5 g
- Glucose ..... 1 g
- Bromocrésol pourpre ..... 0,16 mg
- Ethanol ..... 1 mL
- Chlorure de sodium ..... 5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $6.8 \pm 0.2$ .

### Milieu Clark et Lubs

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone tryptique de viande ..... 5,0 g
- Glucose ..... 5,0 g
- Phosphate bipotassique ..... 5,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $6.8 \pm 0.2$ .

### Bouillon nitrate

Pour 1 litre de milieu :

- Infusion de cœur cervelle ..... 25,0 g
- Nitrate de sodium ..... 10,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7.2 \pm 0.2$ .

**Eau physiologique**

Pour 1 litre de milieu :

- Chlorure de sodium ..... 5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,2 \pm 0,2$ .

**Bouillon sélénite-cystine**

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone..... 5,0 g
- Lactose..... 4,0 g
- Phosphate disodique..... 10,0 g
- Hydrogénosélénite de sodium..... 4,0 g
- L-cystine..... 10,0 mg

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,0 \pm 0,2$ .

**Bouillon Tryptone-sel**

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone..... 1,0 g
- Chlorure de sodium..... 8,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,0 \pm 0,2$ .

Produced with Scantopdf

## b) Réactifs :

## Réactif TDA

- Perchlorure de fer.....3,4 g
- Eau distillée.....100 ml

## Réactifs de Voges Proskauer

## VP 1

- Hydroxyde de potassium.....40 g
- Eau distillée.....100 ml

## VP 2

- Alpha naphтол.....6 g
- Ethanol.....100 ml

## Réactif Kovacs

- Paradiméthylaminobenzaldéhyde.....5,0 g
- Alcool isoamylique.....75,0 ml
- HCL 37%.....25,0 ml

## Rouge de méthyle

- Rouge de méthyle.....0,1 g
- Alcool éthylique à 95 %.....300 ml
- Eau distillée.....500 ml

## Réactif de Griess pour les nitrites

## NIT 1

- Acide sulfalinique.....0,8 g
- Acide acétique 5 N.....100 ml

## NIT 2

- N-N-diméthyl-1-naphtylamine.....0,6 g
- Acide acétique 5 N.....100 ml

**e) Colorants :****Violet de gentiane**

- Violet de gentiane ..... 1 g
- Ethanol à 90 % ..... 10 ml
- Phénol ..... 2 g
- Eau distillée ..... 100 ml

**Lugol**

- Iodé ..... 1 g
- Iodure de potassium ..... 2 g
- Eau distillée ..... 300 ml

**Fuschine**

- Fuschine basique ..... 1 g
- Alcool éthylique ..... 100 ml
- Phénol ..... 5 g
- Eau distillée ..... 100 ml

Produced with Scantopdf