

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



# Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de

Master en Médecine Vétérinaire

**Identification et évaluations de la sensibilité aux antibiotiques  
des espèces bactériennes aérobies à Gram négatif isolées à partir  
de matières fécales d'oiseaux de cages et de volières**

**Présenté par :** BELAIDI Rayane Ahcene Reda

**Soutenu le :** 13/07/2022

**Le jury :**

Mr. Laamari A

MCB (ENSV)

Président

Mme Azzag N

Professeur

Promotrice

Mme Bouabdallah R

MCA (ENSV)

Examinatrice

Année universitaire : 2021-2022



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



# Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de

Master en Médecine Vétérinaire

**Identification et évaluations de la sensibilité aux antibiotiques  
des espèces bactériennes aérobies à Gram négatif isolées à partir  
de matières fécales d'oiseaux de cages et de volières**

**Présenté par :** BELAIDI Rayane Ahcene Reda

**Soutenu le :** 13/07/2022

**Le jury :**

Mr. Laamari A

MCB (ENSV)

Président

Mme Azzag N

Professeur

Promotrice

Mme Bouabdallah R

MCA (ENSV)

Examinatrice

Année universitaire : 2021-2022

## Déclaration sur l'honneur

Je soussigné, BELAIDI Rayane Ahcene Reda, déclare être pleinement conscient que le plagiat de documents ou d'une partie de document publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteurs ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire de fin d'étude

Signature

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Ahcene', is written over a horizontal line. The signature is stylized and somewhat abstract.

## Remercîments :

Je souhaite avant tout remercier ma promotrice **Mme Azzag N.** pour son enthousiasme, sa rigueur ainsi que pour sa patience et sa disponibilité. Je tiens également à la remercier pour tout le soutien morale et intellectuelle quel m'a apporté tout au long de ma démarche.

J'adresse mes Remerciement également à **M<sup>r</sup>. Laamari A.** pour avoir accepté de présider ce jury, **Mme Bouabdallah R.** qui m'a fait l'honneur d'accepter d'examiner mon modeste travail

J'adresse mes sincères remerciements aux enseignants chercheurs de l'école nationale Supérieure Vétérinaire qui veillent à dispenser un enseignement de qualité.

Dédicaces :

Je dédie ce travail

À mes chers parents pour leur sacrifice leur support leur soutien et leurs prières tout au long de mes études. Mille merci

À mes sœurs Lina et Meriem et mon frère Samy

À toute ma grande famille

À mes chers amis Imad et Mourad ainsi que mes amis et compagnons du groupe 1

## **Liste des tableaux :**

|   |    |
|---|----|
| Tableau 1 : composition du milieu RSV.....  | 18 |
| Tableau 2 : composition du milieu au sélénite .....   | 19 |
| Tableau 3 : composition du milieu SS .....  | 20 |
| Tableau 4 : composition du milieu XLD .....   | 21 |
| Tableau 5 : Composition du milieu Hektoen .....   | 21 |
| Tableau 6 : composition de la gélose Muller-Hinton .....  | 28 |
| Tableau 7 : antibiotiques utilisées chez les oiseaux domestiques, leurs familles et utilisations..... | 29 |
| Tableau 8 : Tableau de lecture de la galerie API® 20 <sup>E</sup> .....                               | 31 |
| Tableau 9 : résultat d'identification obtenus grâce à apiweb® .....                                   | 33 |
| Tableau 10 : résultats des tests biochimiques .....   | 34 |
| Tableau 11 : caractères biochimiques des 4 espèces rencontrées .....                                  | 34 |
| Tableau 12 : résultats de l'identification par galerie classique .....                                | 35 |
| Tableau 13 : diamètres de zones d'inhibition (en millimètre) par bactérie et par antibiotique .....   | 36 |
| Tableau 14 : diamètres critiques de sensibilité par antibiotique .....                                | 37 |
| Tableau 15 : sensibilité aux antibiotiques des souches isolées .....                                  | 38 |

## **Liste des figures :**

|   |    |
|---|----|
| Figure 1 : pré-enrichissement sur bouillon RSV et bouillon au sélénite .....        | 20 |
| Figure 2 : préparation Gélose XLD .....   | 22 |
| Figure 3 : préparation de gélose SS et Hektoen .....                                | 22 |
| Figure 4 : géloses préparées .....  | 22 |
| Figure 5 : isolement sur milieux solide .....                                       | 22 |
| Figure 5 : Incubation à l'étuve .....   | 22 |
| Figure 6 : Galerie API® 20 <sup>E</sup> .....                                       | 23 |
| Figure 7 : Ensemencement de la galerie .....  | 23 |
| Figure 8 : interpretation du test oxydase .....                                     | 24 |
| Figure 9 : interprétation du test ONPG .....  | 24 |
| Figure 10 : interpretation du test VP .....   | 25 |
| Figure 11 : test RM positif .....   | 25 |
| Figure 12 : interpretation du test TSI .....  | 26 |
| Figure 13 : test urease positif .....   | 27 |
| Figure 14 : interprétation du test de production d'Indole .....                     | 28 |
| Figure 15 : Gélose Muller-Hinton .....  | 28 |
| Figure 16 : colonies incolores H <sub>2</sub> S + à centre noir sur gélose SS ..... | 30 |
| Figure 17 : Lecture d'une galerie API® 20 <sup>E</sup> .....                        | 30 |
| Figure 18 : résultat de la galerie API® ( <i>Enterobacter cloacae</i> ) .....       | 31 |
| Figure 19 : résultat de la galerie API® ( <i>Enterobacter sakazakii</i> ) .....     | 32 |
| Figure 20 : résultat de la galerie API® ( <i>Aeromonas hydrophila</i> ) .....       | 32 |
| Figure 21 : résultat de la galerie API® ( <i>Escherichia hermannii</i> ) .....      | 32 |
| Figure 22 : résultat de la galerie API® ( <i>Raoultella ornithinolytica</i> ) ..... | 33 |
| Figure 23 : <i>A. hydrophila</i> sur gélose SS et gélose Hektoen .....              | 35 |

|   |    |
|---|----|
| Figure 24 : <i>Escherichia coli</i> sur gélose Hektoen .....  | 36 |
| Figure 25 : <i>Enterobacter</i> sp. Sur gélose Hektoen .....  | 36 |
| Figure 26 : mesure des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse .....   | 36 |
| Figure 27 : Antibiogramme d'une souche d' <i>E.coli</i> résistante à l'Ampicilline, Colistine et sensible à la Ciprofloxacine ..... | 38 |
| Figure 28 : résistance d'une souche d' <i>A.hydrophila</i> à la Tétracycline et Cefazoline et sensibilité à la Néomycine .....      | 39 |

**Liste des abréviations :**

Bouillon RSV : Bouillon Rappaport Vassiliadis Soy

Gélose XLD : gélose Xylose-Lysine Décholate

Gélose SS : gélose Salmonella-Shigella

API : Appareils et Procédés d'Identification

ONPG : O-nitrophenyl- $\beta$ -D-Galactopyranoside

VP : Vogue-Proskauer

RM : Rouge de méthyle

TSI : tri-sugar iron (milieu à trois sucres-fer)

H<sub>2</sub>S : Sulfure d'hydrogène

H : gélose Hektoen

AMP : Ampicilline

CS : Colistine sulfate

N : Neomycine

TE : Tétracycline

CIP : Ciprofloxacine

CZ : Céfazoline

# Sommaire

|   |          |
|---|----------|
| <b>I. Introduction .....</b>  | <b>1</b> |
| <b>Etude bibliographique</b>  |          |
| <b>I. Les associations bactérie-hôte .....</b>                      | <b>2</b> |
| 1. La symbiose .....  | 2        |
| a) Classification des symbioses .....                               | 4        |
| b) Les subdivisions de la symbiose .....                            | 4        |
| 2. Le commensalisme .....   | 4        |
| 3. Le mutualisme .....  | 5        |
| 4. Le parasitisme .....   | 6        |
| a) La virulence .....   | 7        |
| b) Les conséquences écologiques du parasitisme .....                | 8        |
| <b>II. Les antibiotiques : mode d'action, résistance .....</b>      | <b>9</b> |
| 1. Les antibiotiques .....  | 9        |
| 2. Le mode d'action des antibiotiques .....                         | 9        |
| a. l'inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne .....        | 9        |
| b. l'inhibition de la biosynthèse de protéines .....                | 10       |
| c. inhibition de la synthèse des acides nucléiques .....            | 10       |
| d. la modification de la perméabilité de la membrane .....          | 11       |
| 3. L'antibiorésistance .....  | 11       |
| a. L'origine de l'antibiorésistance .....                           | 11       |
| 4. Les mécanismes d'antibioresistance .....                         | 12       |
| a. La destruction de l'antibiotique .....                           | 13       |
| b. La modification de l'antibiotique .....                          | 13       |
| c. La modification des enzymes d'activation des antibiotiques ..... | 13       |
| d. Le remplacement de la cible .....                                | 13       |
| e. L'alteration de la cible .....                                   | 13       |
| f. La protection de la cible .....                                  | 13       |
| g. La surproduction de la cible .....                               | 14       |

|  |           |
|--|-----------|
| h. La diminution de la perméabilité de la membrane externe .....                 | 14        |
| i. Les pompes à Efflux .....   | 14        |
| <b>III. La flore fécale des oiseaux .....</b>                                    | <b>15</b> |
| 1. La flore fécale à Gram-négatif des oiseaux de cage et de volières .....       | 15        |
| a. Le genre <i>Enterobacter</i> .....  | 15        |
| b. Le genre <i>Aeromonas</i> .....   | 16        |
| c. Le genre <i>Escherichia</i> .....   | 17        |
| <b>Etude expérimentale</b>   |           |
| <b>I. objectif .....</b>   | <b>18</b> |
| <b>Materiels et méthodes .....</b>   | <b>18</b> |
| <b>I. Prelevements .....</b>   | <b>18</b> |
| <b>II. Analyses bactériologiques .....</b>                                       | <b>18</b> |
| 1. Préparation des bouillons sélectifs .....                                     | 18        |
| 2. Pré-enrichissement .....  | 19        |
| 3. préparations de milieux solides sélectifs .....                               | 20        |
| 4. Isolement des bactéries sur milieux sélectifs .....                           | 22        |
| 5. Caractérisation biochimique des bactéries isolées .....                       | 23        |
| 1. Galerie API® 20E .....  | 23        |
| 2. les tests biochimiques IMViC .....  | 24        |
| <b>III. test de susceptibilité des bactéries isolées aux antibiotiques .....</b> | <b>28</b> |
| <b>Resultats .....</b>   | <b>30</b> |
| <b>I. analyse bactériologique .....</b>  | <b>30</b> |
| <b>II. caractérisation biochimique .....</b>                                     | <b>30</b> |
| 1. résultat de la galerie API® 20E .....   | 30        |
| 2. Résultats des tests biochimiques (galerie classique) .....                    | 34        |
| <b>III. Résultats de l'antibiogramme .....</b>                                   | <b>36</b> |
| <b>Discussion .....</b>  | <b>40</b> |
| <b>Conclusion .....</b>  | <b>44</b> |
| <b>Références bibliographiques .....</b>   | <b>45</b> |

## **I. Introduction :**

Les oiseaux de compagnie et d'élevage représentent une partie importante des animaux élevés par les humains dans le monde (De Luca et al., 2018). Le terme « oiseaux de compagnie » désigne les oiseaux hébergés et élevés pour un usage exclusivement ornemental. Cette catégorie comprend principalement les passériformes (ex. canaris, Chardonnerets, moineaux mandarins), également appelés oiseaux chanteurs, et les psittaciformes (perroquets, perruches ondulés, Inséparables) et dans une moindre mesure les Colombiformes (pigeons domestiques). C'est une fraction de clientèle vétérinaire assez méconnue (Boseret et al., 2013)

De nombreuses familles possèdent des oiseaux de compagnie, leur élevage peut représenter un business lucratif pour les animaleries ou les éleveurs locaux. De plus certaines espèces sont élevées pour leur potentiel génétique et peuvent être présentés dans des concours nationaux et internationaux pour leur posture (ex : le canari Bossu Belge), couleur (Canari mosaïque) ou chant (canari Harzer) (Boseret et al., 2013).

Malgré ces faits socio-économique ces oiseaux restent potentiellement porteurs et/ou transmetteurs de maladies zoonotiques dont certaines pathologies qui pourraient avoir un impact important sur la santé humaine, comme la salmonellose, chlamyphilose ou l'influenza aviaire A hautement pathogène (Boseret et al., 2013 ; De Luca et al., 2018).

La résistance aux antibiotiques est devenue au cours des deux dernières décennies une menace pour les systèmes de santé du monde. La découverte des premiers antibiotiques a fourni des avantages considérables pour la santé humaine et animale, depuis, l'utilisation abusive de ces molécules en médecine vétérinaire et humaine à accélérer le phénomène mondiale croissant de résistance aux antibiotiques (Ferri et al., 2017)

Ce travail a pour objectif l'isolement et la caractérisation des bactéries à Gram négatif isolées à partir de matières fécales d'oiseaux de cage et de volières ainsi que l'évaluation de leur sensibilité aux antibiotiques. Ce travail s'articule en deux parties dont la première, bibliographique qui traite les différentes associations bactérie-hôte, la classification et le mode d'action des antibiotiques ainsi que sur la flore fécale normale des oiseaux de cage. La deuxième partie relève un aspect pratique à savoir l'isolement, l'identification biochimique des bactéries et l'évaluation de leur résistance aux antibiotiques.

## I. Chapitre 2 : les relations interspécifiques

### I.1. La symbiose :

La symbiose est une association entre deux organismes ou plus appartenant à des espèces différentes, pouvant être permanente ou durable. Cette définition n'inclue pas les populations (associations entre individus de la même espèce). La symbiose est conventionnellement illustrée dans la littérature en biologie par des interactions entre des paires d'organismes, d'autres cas sont cependant connus d'individus entrant en symbiose avec des sociétés, ou même de symbioses entre sociétés tout entières (Willson, 2000 ; Paracer et Ahmadjian, 2000).

Les organismes associés dans une symbiose peuvent bénéficier de, subir un préjudice ou ne pas être affecté par cette association, comme il a été décrit par Anton de Bary 1879 pour invoquer la vie en commun de différents organismes vivants (Oulhen et al., 2016 ; Paracer et Ahmadjian, 2000) l'interchangeabilité ente les deux termes : symbiose et mutualisme ne serait donc pas possible et pourrait mener à la confusion (Lewin, 1995 ; Parcer et Ahmadjian, 2000).

La symbiose a joué un rôle très important dans l'évolution des cellules eucaryotes et leurs organelles a cité les mitochondries et les chloroplastes. En formant des associations avec des organismes procaryotes, la cellule eucaryote a acquérir la « machinerie » métabolique nécessaire pour la respiration cellulaire. De plus, les animaux et plantes ont acquit de nouvelles capacités métaboliques en s'associant à des bactéries (Olf et Ritchie, 1998 ; Paracer et Ahmadjian, 2000) en effet il semblerait que les symbiotes microbiens représentent une partie normale et même nécessaire du cycle de vie des mammifères (Gilbert et al., 2012).

Il s'avère que les micro-organismes symbiotiques auraient un effet direct sur plusieurs fonctions anatomiques, biochimiques, génétique et même immunologique de leurs hôtes. à la naissance, les mammifères acquièrent ces microbes depuis leur environnement. Une fois installés ces derniers induisent l'expression de certaines gènes au niveau intestinale (Hooper et al., 2001 ; Gilbert et al., 2012)chez l'homme c'est un symbiote courant, le *Bacterioide thetaiotaomicron* qui induit l'expression génique de l'angiogenin-4 dans les cellules de Paneth, cette protéine stimule la production de nouveaux vaisseaux sanguins (Cash et al., 2006 ; Gilbert et al., 2012). Chez le poisson zèbre le microbiote régule la prolifération normale des cellules souches de l'intestin, sans ces microorganismes en question l'épithélium intestinale serait sous développé avec une quantité d'entérocytes, de cellules caliciformes et de cellules entéro-endocrines en dessous de la norme (Rawls et al., 2004; Gilbert et al., 2012).

Chez les vertébrés le GALT (gut-associated lymphoide tissu) est organisé et spécifié pas leurs bactéries symbiotiques (Rhee et al., 2004 ; Gilbert et al., 2012) en l'absence de ces derniers comme chez les souris exemptes de germes le développement du réseaux capillaire intestinale ainsi que du GALT est insuffisant avec un système immunitaire peu développé et un répertoire de lymphocytes T réduit menant à un syndrome d'immunodéficience (Stappenbeck et al., 2002 ; Duan et al., 2010 ; Gilbert et al., 2012) chez plusieurs espèces d'insectes, les bactéries du genre *Wolbachia* joue un rôle important dans la protection antivirale (Hanson et al., 2011).

Des études ont montré un effet direct des symbiotes sur la valeur sélective de leur hôte, chez la drosophile les symbiotes induisent la production de phéromones nécessaires pour le choix du partenaire et des préférences d'accouplement (Sharon et al., 2010; Gilbert et al., 2012). Le holobionte i.e. l'ensemble hôte et son microbiote, devient alors une entité sélective sous l'effet de la sélection naturelle (Gilbert et al., 2010; Gilbert et al., 2012). La symbiose aurait un effet évolutif bien plus important et cela par la possibilité de transfert horizontal de gènes depuis les symbiotes microbiens vers les cellules animales (Altincicek et al., 2012; Gilbert et al., 2012) bien que cette ADN soit vue comme étant « du matériel génétique parasite » il apporte des éléments transposables qui pourraient créer de nouveaux modèles de transcription (Kunarski et al. 2010; Gilbert et al., 2012) cela est susceptible de provoquer l'évolution adaptative mais aussi de participer dans l'émergence de nouveaux caractères chez ces espèces (Castaneda et al., 2011; Emera et al. 2012; Gilbert et al., 2012).

Du fait de la durabilité de leur association les symbiotes et leurs hôtes ont développé plusieurs mécanismes adaptatifs et coévolutifs pour consolider leur relation et protéger leurs intérêts. Les animaux tout comme les plantes étant hôtes de plusieurs symbiotes ont développé des mécanismes de défenses sophistiqués (Clay et Kover, 1996; Paracer et Ahmadjian, 2000) le système immunitaire des hôtes a la capacité de distinguer entre les micro-organismes pathogènes et leur propre microbiote et cela en reconnaissant des molécules bactériennes symbiotiques, l'hôte sélectionne alors son microbiote et favorise la colonisation commensale (Round et al., 2011 ; Gilbert et al., 2012). Un exemple pertinent de coévolution hôte-symbiote serait celui des insectes suceurs de sève avec leurs endosymbiotes bactériens, ces endosymbiotes sont transmis d'une manière exclusivement verticale c'est-à-dire de parent à progéniture favorise leur cospéciation avec leurs hôtes (Moran et al., 1998; Leigh Jr, 2010) du fait de leur mode de transmission strictement verticale les symbiotes sont consanguins, il en conséquence la détérioration et le rétrécissement du génome de ces bactéries souvent associé à une perte de gènes de réparation augmentant ainsi la fréquence de mutation. L'hôte lui lutte contre cette perte de gènes à travers la sélection en faveur des fonctions nutritives qui lui sont avantageuses. L'hôte fait face à la perte de matériel génétique de ses symbiotes par deux processus : soit par le biais de l'évolution et l'acquisition de nouvelles fonctions par l'hôte pouvant dupliquer celle perdues par les bactéries (Wilson et al. 2010; Russell et al. 2013; Luan et al., 2015) ou par le remplacement des symbiotes au génomes détériorés à l'occasion par de germes ayant un génome complet (Douglas, 2010; Koga and Moran 2014; Luan et al., 2015). La coévolution hôte-symbiote pourrait aussi assurer une protection pour les deux parties e.g. *Bacteroides thetaiotaomicron* responsable de l'expression de l'angiogénine-4 au niveau intestinale chez l'homme, induit la production de cette protéine non seulement pour son effet vasculaire mais aussi pour son effet bactéricide envers *Listeria*, un agent pathogène chez l'homme mais aussi un compétiteur de *Bacteroides* (Cash et al., 2006; Gilbert et al., 2012) finalement, le génome de certaines souris permettrait et favoriserait la colonisation de leurs intestins par une bactérie spécifique qui d'autre part en fonction de ses capacités métaboliques aura un effet non négligeable sur le phénotype de ces souris en produisant soit un phénotype obèse ou mince (Turnbaugh et al., 2006; Gilbert et al., 2012).

Vu la complexité de la relation des animaux avec leur symbiotes quelques scientifiques suggéreraient que les animaux ne pourraient plus être considérés comme des individus et cela d'un point de vu anatomique, développemental, physiologique, immunologique, génétique et évolutionnaire et qu'il serait plus judicieux d'étudier ces derniers comme étant des entités holobiontes dont plusieurs fonctions ont évolué au sein de relations interspécifiques communes (Gilbert et al., 2012)

### I.1.a. Classification des symbioses

Les symbioses peuvent être classifiées selon :

La localisation du symbiote : un symbiote peut être inta- ou extracellulaire. L'endosymbiote est celui qui réside au niveau intracellulaire. Rares sont les symbiotes qui sont en contact avec le cytoplasme de son hôte, la plupart d'entre eux sont entourés par la membrane cytoplasmique de l'hôte. Les ectosymbiotes par opposition sont les organismes extracellulaires

La persistance de la symbiose : la plupart des symbioses sont persistantes. Les associations dans lesquelles un partenaire est un endosymbiote sont les plus persistantes, les symbiotes restent en relation pendant tous les stages de leur cycle de vie. Le contact entre partenaires peut être intermittent. Dans le cas du parasitisme la symbiose persiste le long de la vie de l'hôte, la durée dépend de la virulence du parasite

La dépendance de la symbiose : les symbiotes obligatoires sont tellement adaptés à l'existence en symbiose qu'ils ne peuvent pas vivre en dehors. Il s'agit généralement des associations trophiques ou le symbiote obligatoire dépend de l'autre pour se nourrir. Les symbiotes facultatifs ont la totale capacité de vivre en dehors d'une association.

La spécificité de la symbiose : les symbiotes peuvent être hautement spécifiques d'un organisme donné où ils peuvent s'associer à divers organismes. La spécificité d'une symbiose reflète le stage évolutif de cette dernière. Plus une symbiose est évoluée, plus les symbiotes auront le temps de s'adapter l'un à l'autre et l'association deviendra alors plus spécifique

### I.1.b. Les subdivisions de la symbiose

Selon l'effet de l'association sur les deux parties, les symbioses sont divisées en 3 types principales : le mutualisme, le commensalisme et le parasitisme. La transition d'un type de symbiose à un autre est possible et même fréquent à l'issue de changements de facteurs externes environnementaux par exemple ou internes comme les processus développementaux de l'hôte. Une association parasitaire pourrait donc évoluer en une association mutualiste ou commensale e.g. quelques souches de *Wolbachia* un symbiote bactérien parasite des drosophiles *Drosophila* auraient évolué du parasitisme au mutualisme (Weeks et al. 2007; Leigh Jr, 2010)

I.2. Le commensalisme : associations entre deux espèces dans lesquelles une espèce bénéficie et l'hôte ne subit aucun effet. Le commensalisme peut être observé chez une large gamme de taxons et d'habitats (Mathis & Bronstein, 2020). Il existerait deux type de commensalisme, en

effet dans une symbiose commensale le partenaire non affecté pourrait ne subir réellement aucun effet ni cout ni bénéfice où il se pourrait qu'il subissent à la fois un cout et un bénéfice balancés et donc ont un effet neutre sur la valeur sélective du partenaire en question parmi les bénéfiques qui pourraient être apportés aux espèces commensales sont une diminution des taux de parasitisme, une augmentation des taux de croissance et une disponibilité accrue des ressources les couts associés au commensalisme sont entre autres des taux de compétition pour les ressources et de prédatons plus élevées. Le premier type est bien plus commun tandis que le deuxième est rare dans la nature. Beaucoup de relations commensales sont facultatives dans beaucoup de cas la commensale a la capacité de mener une vie indépendante mais il peut aussi être retrouvé en association avec un partenaire d'une autre espèce, d'autres symbioses commensales peuvent être obligatoire pour la commensale dont un stade libre peut ne pas être observé (Williams et McDermott, 2004 ; Mathis& Bronstein, 2020)

I.3. Le mutualisme : dans une symbiose mutualiste les deux partenaires bénéficient de l'association. Le motif principale des associations mutualistes est le plus souvent trophique (Thomas et al., 2010 ; Paracer et Ahmadjian, 2000; Leung et Poulin, 2008), d'importants échanges réciproques de nutriments sont observés dans plusieurs symbioses mutualistes l'exemple typique est celui des bactéries endosymbiotiques des insectes suceurs de sève *Bucherna* par exemples qui synthétisent des acides aminés notamment le tryptophane, essentiels pour leurs hôtes à citer certaines espèces de pucerons (Thomas et al., 2010) un autre exemple d'échanges nutritifs entre partenaires peut être observé chez les ruminants et leur flore ruminale bactérienne et infusoire qui utilisent l'amidon, la cellulose et l'urée qui tombent dans la panse des ruminants pour leur alimentation tout en produisant en l'occurrence des vitamines, des acides gras volatiles (AGV) et des matières azotées microbiennes très favorables pour le métabolisme de l'hôte ruminant, les bactéries ruminales apportent un avantage précieux à leurs hôtes de par leur capacité de dégrader la cellulose en acides gras grâce à la cellulase, une enzyme non synthétisée par les ruminants. Les protozoaires ruminants quant à eux bénéficient leurs hôtes en captant une importante partie d'amidon digestible dans leurs vacuoles le mettent en réserve, cela évite sa fermentation par les bactéries et ainsi prévient les météorisations chez les hôtes ruminant (Faurie et al., 2012) .

Un autre important bénéfice des associations mutualiste est la protection, c'est l'un des avantages dont bénéficient les endosymbiotes qui s'associent avec des hôtes capables de leur fournir un environnement favorable pour leur réplication et de les protéger contre les agressions du milieu extérieur. Un autre très bon exemple de mutualisme de protection est celui de l'anémone de mer (l'ordre des Actiniaria) et des poissons-clowns (genre *Amphiprion* et *Premnas*) qui partagent une relation obligatoire qui procure de la protection pour les deux partenaires. Les tentacules urticants de l'anémone offrent un environnement sûr et exempt de prédateurs au poisson clown qui en échange défend l'anémone de ses prédateurs, les poissons papillons (Chaetodontidae). Cette association entre anémone et poissons-clowns apporte bien plus d'avantages à l'hôte c'est-à-dire l'anémone qui bénéficie de l'amélioration de ses taux de croissance et de la fréquence de sa reproduction asexuée (Leung et Poulin, 2008)

Comme il a été cité précédemment, les symbiotes et notamment les mutualistes d'entre eux ont la capacité de provoquer des modifications anatomiques, génétiques et physiologiques chez leurs hôtes, les associations mutualistes peuvent également être à l'origine de l'émergence de nouvelles fonctions et l'apparition de nouveaux phénotypes chez leurs hôtes et cela soit par l'addition des capacités des deux symbiotes ou par la création de nouvelles structures qui n'existent pas hors de la relation exprimant ainsi des propriétés que les deux partenaires ne possèdent pas séparément (Thomas et al., 2010).

Au moment de la reproduction de l'un des deux partenaires 2 modes de transmission permettent à l'hôte de transmettre ses symbiotes à sa progéniture

La transmission verticale : assure la présence du partenaire chez la génération suivante, peut avoir lieu lors de la reproduction sexuée. La descendance reçoit le symbiote soit avant fécondation à travers les gamètes (exemple: mitochondries et de *Brucherna* qui sont toutes les deux transmises verticalement à travers les gamètes de leurs hôtes). Ce type d'hérédité est généralement uni parentale apporté par le gamète femelle en raison de sa taille qui a la capacité d'acquérir le symbiote contrairement aux gamètes males. Le symbiote peut être également transmis à la descendance après fécondation et formation du zygote comme dans le cas des bactéries du tube digestif de certains insectes. La transmission verticale biparentale de symbiotes est possible et aboutit à la potentielle coexistence de 2 symbiotes chez le descendant, en l'occurrence ces derniers auraient la capacité d'effectuer des recombinaisons génétiques, cette coexistence peut cependant créer une compétition entre les différents symbiotes avec une sélection en faveur du type compétitif ce qui pourrait être désavantageux pour l'hôte, cela pourrait offrir une explication à la raison pour laquelle l'hérédité monoparentale des symbiotes a plus souvent été sélectionnée (Thomas et al., 2010)

La transmission horizontale : ce mode de transmission offre à l'hôte l'accès à une diversité de partenaires qui pourraient potentiellement lui apporter plus d'avantages mais il implique et fait cependant appel à la capacité de l'hôte à choisir et à sélectionner son partenaire en tenant compte notamment des caractéristiques du milieu. (Thomas et al., 2010)

#### I.4. Le parasitisme :

Il s'agit d'une symbiose dans laquelle l'un des symbiotes, le parasite bénéficie et vit au dépend de son partenaire. Tout comme pour le mutualisme, le motif primaire de cette association est trophique (Paracer et Ahmadjian, 2000)

On distingue deux types de parasites avec en règle générale des caractéristiques différentes (Combes, 2001) :

Les micro parasites : représentés par les bactéries, virus, protistes et champignons, sont petit de taille, ont tendance de se multiplier d'une manière abondante chez l'hôte, induisent par la suite une immunisation durable (sauf exceptions) et ils sont agents de maladies épidémiques

Les macroparasites : représentés par les helminthes arthropodes et certains métazoaires, ils sont plus grands, en général ne se multiplient pas chez l'hôte (sauf exceptions), n'induisent

pas d'immunisation durable dans le temps et sont généralement agents de maladies endémiques.

Le système parasite-hôte comporte 3 phases majeures : la rencontre, la comptabilité et finalement la destruction du parasite par l'hôte où l'interaction durable, ce n'est que pendant cette dernière que l'échange d'information génétique entre le parasite et son hôte est possible

Les deux parties de l'association exercent respectivement une pression sélective sur l'un l'autre, les poussant tous les deux à mieux s'adapter à la relation en vue de protéger leurs propres intérêts. Il s'agit réellement d'une « course aux armements » entre le parasite et son hôte. Les parasites d'une part sont positivement sélectionnés pour leur capacité à rencontrer et de survivre au sein de leur hôte, ces derniers d'autre parts ont positivement sélectionnés pour leur capacité à éviter le parasite et de pouvoir si la rencontre a eu lieu de l'éliminer en impliquant des mécanismes de distinction du soi du non soi et de défense efficaces. Dans cette « course aux armements » les parasites possèdent du fait de leur taille 3 facteurs leur donnant un avantage sur leurs hôtes. Il s'agit de

1) le temps de génération : plus bref chez les parasites que chez l'hôte donc permet l'apparition de plus de mutations dans la population parasite,

2) le taux de mutation : bien plus supérieur chez les microparasites

et finalement, 3) la fécondité des parasites qui est supérieure. Ces trois facteurs contribuent à la variation génétique des populations de parasites facilitant leur adaptation face aux pressions sélectives (Combes, 2001)

#### I.4.a. La virulence

D'un point de vue écologique et évolutif la virulence est définie comme étant l'ensemble des « conséquences de la présence de l'organisme étranger sur la transmission des gènes de l'organisme hôte » (Combes, 2001) un pathogène n'est alors virulent que s'il affecte les capacités reproductives de son hôte et dans des cas extrêmes sa viabilité. La virulence d'un pathogène étant un paramètre difficile à mesurer peut-être estimer indirectement par la constatation de son effet pathogène qui représente l'ensemble des changements observés sur divers niveaux fonctionnels : anatomiques, métaboliques, comportementales, reproductifs de l'hôte causés par la présence du parasite pathogène en supposant la présence de proportionnalité entre les deux paramètres. (Combes, 2001)

Les pathogènes adaptent leur virulence constamment en fonction des conditions écologiques affectant le système parasite-hôte et ses 3 phases. Des rencontres parasites-hôte plus rares par exemple favorisent la sélection de parasites pathogènes plus virulents et donc l'émergence de souches plus virulentes dans les générations suivantes. La virulence a cependant tendance à diminuer de génération à génération lorsque la sélection est plutôt focalisée sur l'hôte et ses compétences immunitaires en faveur des phénotypes les plus résistants diminuant systématiquement la virulence du pathogène (Combes, 2001)

#### I.4.b. Les conséquences écologiques du parasitisme :

En alternant l'issue des interactions compétitives entre leurs espèces hôtes, les parasites peuvent avoir une influence palpable sur la biodiversité.

Les parasites peuvent faciliter l'invasion biologique et réduire la biodiversité dans un écosystème en éliminant des populations d'une espèce hôte en faveur d'une autre l'exemple le plus concret serait celui du déplacement de l'écureuil roux, une espèce endémique en Grande-Bretagne par l'écureuil gris, une espèce envahissante qui se trouve être tolérante envers un parapoxvirus, envers lequel les populations d'écureuils roux naïves sont très sensibles. Le pouvoir de l'espèce envahissante à amplifier le pathogène lui à donner un avantage dans sa compétition avec l'espèce indigène. (Tompkins et al., 2003 ; Preston et Johnson, 2010)

Un autre effet que peut avoir les parasites, cette fois positif sur la biodiversité en permettant la coexistence d'espèces compétitivement inférieures et d'espèces dominantes et cela en diminuant la compétitivité de l'espèce dominante, e.g. deux espèces de lézards *anolis gingivinus* et *anolis watsi* ne coexistent que lorsque *A. gingivinus* (l'espèce dominante) est fortement parasité par *plasmodium azurophilum* un parasite qui prends les deux espèces pour hôte mais envers lequel l'espèce la moins compétitive semble être plus tolérante. (Schall, 1992 ; Preston et Johnson, 2010)

Bien qu'ils aient la capacité de causer des maladies, les parasites ne provoquent des extinctions que rarement car des faibles densités d'hôtes réduit généralement la transmission des pathogènes. Les exceptions restent lors de l'envahissement de populations d'hôtes naïves par un pathogène émergent ou lorsque des hôtes réservoirs permettent la persistance du parasite malgré la faible densité d'hôtes (Preston et Johnson, 2010)

#### I.5. La plasticité des associations symbiotiques :

En décrivant chaque catégorie avec des caractéristiques bien déterminées, le système de classification des symbioses présente les associations symbiotiques comme étant stable et figés dans le temps et l'espace. En réalité les interactions entre organismes existent selon une graduation continue, les frontières entre les catégories ne sont pas aussi clairement délimitées que la bibliographie le suggère. En pratique, on ne peut pas faire la distinction entre les commensaux et les parasites qui causent à leurs hôtes des niveaux de pathologie relativement faibles, et les mutualistes qui exercent un cout trop élevé sur leur hôte (Leung, Poulin ; 2008). En effet, des changements dans divers facteurs extrinsèques (e.g. les circonstances environnementales) et intrinsèques (e.g. le mode de transmission) peuvent influencer le basculement d'une association du mutualisme au parasitisme et vice versa. Les commensaux peuvent être à l'origine d'infections opportunistes suite à la détérioration des défenses de son hôte ou à l'occasion de l'acquisition de facteurs de virulence apportés par d'autres souches ou espèces (Pérez-Brocal et al. ; 2013)

### III. Les antibiotiques : mode d'action, résistance

#### III.1. Les antibiotiques :

Produits de fermentation de certains micro-organismes, antagonistes à la croissance ou la vie d'autres. (Greenwood, 2010; Kaufman, 2011) originellement produits par les micro-organismes pour contrer leurs ennemis naturels ou leurs concurrents pour les ressources nutritionnelles présentes dans leur environnement partagé (Sass, 2017) les antibiotiques sont aujourd'hui produits par l'industrie pharmaceutique pour des fins essentiellement thérapeutiques (Eberlin, 1994)

L'utilisation des antibiotiques exploite les différences structurales cellulaires des procaryotes et eucaryotes. C'est ce qu'on appelle la toxicité sélective (Eberlin, 1994; Hills, 2010). Cette sélectivité est basée sur le principe que les antibiotiques inhibent certains processus biochimiques essentiels pour les bactéries sans gravement affecter les cellules de l'hôte. Pour certains antibiotiques, il existe une différence considérable entre la concentration qui produit un effet sur les micro-organismes et celle qui produit un effet sur les cellules hôtes. Pour d'autres médicaments, la différence est moindre. Cela implique que les antibiotiques peuvent avoir des effets néfastes sur les cellules hôtes si leurs concentrations sont suffisamment élevées (Kaufman, 2011) la spécificité des antibiotiques explique également l'échec de l'antibiothérapie face aux infections non bactériennes (Eberlin, 1994).

Les antibiotiques peuvent être soit bactéricides, ce qui fait référence à leur capacité à directement tuer les bactéries ou bactériostatiques, ralentissent la reproduction de ces dernières permettant aux défenses de l'hôte de les tuer ( Frost, 2007; Kaufman, 2011) ces différences ne sont pas généralement significatives en terme de réponse thérapeutique (Hills, 2010; Kaufman, 2011) mais peut cependant influencer le choix de molécule en fonction des pathologies affrontées, les agents bactéricides sont plus préconisés dans le traitement des infections chez les patients immunodéprimés (Finch, 2009; Kaufman, 2011)

#### III.2. Le mode d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent être caractérisés et différenciés par leurs modes d'action individuels et leurs cibles cellulaires (Sass, 2017) il existe 5 mécanismes d'action utilisés par les agents antibactériens, tous basés sur le concept de la toxicité sélective (Chopra, 2010 ; Hills, 2010 ; Kaufman, 2011) en ciblant 6 (six) sites au niveau bactérien (Chopra, 2010)

##### III.2.a. l'inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne :

De nombreuses fonctions cellulaires vitales sont attribuées à la paroi cellulaire bactérienne, notamment son rôle de barrière de diffusion et de structure donnant la forme aux cellules bactériennes (Sass, 2017)

Les antibiotiques interfèrent avec presque toutes les étapes de la synthèse du peptidoglycane (Chopra, 2010 ; Sass, 2017) soit en séquestrant un substrat essentiel de la réaction de synthèse, soit en inhibant directement une réaction enzymatique spécifique, ce qui empêche à

la fois la production de nouveau matériau de paroi cellulaire et conduisent finalement à la mort cellulaire des bactéries en croissance (Schneider & Sahl 2010 ; Sass, 2017).

Les beta-lactamines (pénicillines et céphalosporines) interfèrent avec certaines réactions enzymatiques lors de la biosynthèse du peptidoglycane. En se liant à des enzymes spécifiques appelés PBP (penicillin-binding proteins) les  $\beta$ -lactamines induisent la production d'une paroi bactérienne faible ou déformée rendant la cellule vulnérable à la lyse durant la croissance (Yocum *et al.*, 1980 ; Kaufman, 2011 ; Sass, 2017).

### III.2.b. l'inhibition de la biosynthèse de protéines :

Trois groupes d'antibiotiques ciblent différentes étapes de la machinerie de biosynthèse des protéines.

Un groupe d'inhibiteurs se lie à la sous-unité ribosomique 30S, les représentants de ce groupe affectent la traduction de deux manières différentes en fonction de la région sur laquelle ils s'insèrent sur l'unité 30S du ribosome la streptomycine (famille des aminoglycosides) se lie à une séquence d'ARNr proche du site A et affecte la précision de la traduction et aboutit finalement à une lecture erronée de l'ARNm et à la synthèse de protéines erronées, les tétracyclines s'attachent également à la sous-unité 30S du ribosome sur une région proche du site de reconnaissance codon-anticodon empêchant alors la liaison de l'aminoacyl-ARNt avec le site A d'une manière active. (Sass, 2017)

Les antibiotiques appartenant au deuxième groupe eux se lient à la sous-unité 50S pour inhiber l'initiation et l'allongement du peptide lors de la traduction ou affecter la précision de la traduction, le chloramphénicol empêche la formation de liaisons peptidiques en se liant directement au centre de la peptidyl-transférase. (Sass, 2017)

Le dernier groupe interfère avec les aminoacyl-ARNt synthétase pour perturber la concentration cellulaire de molécules d'ARNt chargées ou la livraison et la libération de molécules d'ARNt vers et depuis le ribosome. Par exemple, la mupirocine, bloque l'activité de l'isoleucyl-ARNt synthétase, ce qui empêche la charge de l'ARNt-Ile avec l'acide aminé correspondant isoleucine (Sass, 2017)

### III.2.c. inhibition de la synthèse des acides nucléiques

Les antibiotiques ciblent en outre les processus bactériens essentiels impliqués dans la réplication et le renouvellement de l'ADN et la transcription de l'ADN en ARN (Chopra, 2010 ; Sass, 2017)

L'antibiotique semi-synthétique Rifampicine est probablement le représentant le plus connu des inhibiteurs de l'ARNp (ARN polymerase), qui se lie à l'ARNp sur un site adjacent à son site actif et inhibe l'initiation de la synthèse d'ARN (Sass, 2017)

Les quinolones (ex : Ciprofloxacine) en revanche inhibent la synthèse et la réplication de l'ADN bactérien en perturbant l'activité de l'ADN gyrase (topoisomérase II) et la topoisomérase IV, deux enzymes essentielles pour la réplication de l'ADN.

L'endommagement de l'ADN induit la mort cellulaire (Chopra,2010 ; Kaufman, 2011 ; Sass, 2017)

### III.2.d. la modification de la perméabilité de la membrane

La polymyxine et la colistine (Polymyxine E) agissent sur la membrane cytoplasmique des bactéries gram négatives probablement en attaquant les groupements phosphate des phospholipides membranaires. L'effet de ces molécules dépend de leur reconnaissance par des lipopolysaccharides présents sur la membrane externe suivie par leur translocation depuis la membrane externe vers la membrane cytoplasmique. Le résultat final est la fuite du contenu cytoplasmique et la mort de la cellule (Chopra, 2010)

### III.3. L'antibiorésistance :

La résistance aux antibiotiques se produit lorsque les bactéries ont ou développent la capacité de contourner les mécanismes utilisés contre elles par les antibiotiques. Les infections causées par des agents pathogènes résistants aux antibiotiques sont généralement plus difficiles à traiter, souvent récurrentes et entraînent une morbidité et une mortalité importantes (Christakiet *al.*, 2019). La résistance aux antimicrobiens est associée à la l'utilisation généralisée et la mauvaise utilisation des antibiotiques, chez les humains, en l'agriculture et dans l'élevage d'animaux (Harbarthet *al.*,2015 ; Christakiet *al.*, 2019)

#### III.3.a. L'origine de l'antibiorésistance :

La résistance aux antibiotiques présentée par les bactéries peut être intrinsèque, acquise ou adaptative (Joon-Hee, 2019 ; Christakiet *al.*, 2019)

- La résistance intrinsèque :

Est la manifestation des propriétés inhérentes des bactéries *e.g.* la résistance des bactéries Gram-négatives aux glycopeptides (ex : Vancomycine) en raison de l'imperméabilité de la membrane externe de la paroi des bactéries gram-négatifs à ces molécules (Christakiet *al.*, 2019)

- La résistance acquise :

Définie comme la résistance manifestée lorsqu'une bactérie qui était auparavant sensible acquiert un mécanisme de résistance soit par une mutation, les mutations conduisant à la résistance aux antibiotiques se produisent généralement dans trois types de gènes : ceux codant pour les cibles de l'antibiotique, ceux codant pour leurs transporteurs et ceux codant pour des régulateurs qui répriment l'expression des transporteurs ou les éléments de décontamination d'antibiotiques. (Martinez, 2014)

Soit par l'acquisition de nouveau matériel génétique à partir d'une source exogène (transfert horizontal de gènes). Dans le transfert horizontal de gènes, les gènes impliqués doivent provenir de bactéries commensales ou environnementales. (Martinez, 2014)

Le transfert horizontal de gènes peut se produire par trois mécanismes principaux (Holmes *et al.*, 2016; Munita & Arias, 2016 ; Christaki *et al.*, 2019)

La transformation : Il s'agit d'une forme de recombinaison génétique dans laquelle des fragments d'ADN libres d'une bactérie morte pénètrent dans une bactérie réceptrice et sont incorporés dans son chromosome. Seules quelques bactéries sont naturellement transformables (Christaki *et al.*, 2019)

La transduction : implique le transfert de matériel génétique entre une bactérie donneuse et une bactérie receveuse par l'intermédiaire d'un bactériophage (Christaki *et al.*, 2019)

La conjugaison : C'est probablement le mécanisme de transfert horizontal de gènes le plus important. La conjugaison implique le transfert de matériel génétique d'une cellule bactérienne à une autre par contact physique direct entre les deux cellules. Un pili sexuel se forme entre les deux cellules bactériennes à travers laquelle un plasmide est transféré de la cellule donneuse à la cellule receveuse. Plusieurs gènes de résistance sont souvent présents sur un seul plasmide permettant le transfert de la multi résistance en un seul événement de conjugaison (Christaki *et al.*, 2019)

- La résistance adaptative :

Est la résistance induite par un signal environnemental spécifique (par exemple, stress, pH, concentrations d'ions, conditions nutritionnelles, niveaux sous-inhibiteurs d'antibiotiques). Contrairement à la résistance intrinsèque et acquise, la résistance adaptative est transitoire. La résistance adaptative, qui permet aux bactéries de répondre plus rapidement à une provocation antibiotique, revient généralement à son état d'origine une fois le signal inducteur supprimé (Fernández *et al.*, 2011; Joon-Hee 2019; Motta *et al.*, 2015; SalimiyanRizi *et al.*, 2018 ; Christaki *et al.*, 2019)

La résistance adaptative semble être le résultat de modulations de l'expression des gènes en réponse aux changements environnementaux. Plutôt que d'être causée par des altérations génétiques qui produisent habituellement des phénotypes irréversibles, la résistance adaptative est peut-être le résultat de changements épigénétiques. Plus précisément, il a été suggéré que la méthylation de l'ADN pourrait être responsable de la présence de différents profils d'expression génique dans une population bactérienne et pourrait fournir l'hétérogénéité et l'hérédité épigénétique de l'expression génique essentielle à l'apparition d'une résistance adaptative (Motta *et al.*, 2015; SalimiyanRizi *et al.*, 2018 ; Christaki *et al.*, 2019 ; Ghostet *et al.*, 2019)

III.4. Les mécanismes d'antibiorésistance :

La résistance aux antibiotiques est généralement le résultat de la destruction ou de la modification d'antibiotiques, d'altérations de la cible et d'une accumulation réduite d'antibiotiques due à une perméabilité réduite et /ou efflux accru (Christaki *et al.*, 2019 ; Martinez, 2014)

#### III.4.a. La destruction de l'antibiotique :

La destruction du cycle  $\beta$ -lactame des  $\beta$ -lactamines par les  $\beta$ -Lactamases est le meilleur exemple de destruction enzymatique d'antibiotiques les rendant inefficaces. Ce mécanisme de résistance est le mécanisme de résistance au  $\beta$ -lactamines le plus commun chez les bactéries Gram-négatives. Les gènes codant pour les  $\beta$ -lactamases peuvent être trouvés sur le chromosome ou sur les éléments génétiques mobiles, ce qui a facilité leur dissémination parmi les bactéries.(Christakiet *al.*, 2019)

#### III.4.b. La modification de l'antibiotique :

La modification enzymatique de la molécule antibiotique est le mécanisme le plus courant de résistance aux aminoglycosides. Les enzymes modifiant les aminoglycosides (AME) assurent la médiation de l'acétylation, de la phosphorylation ou de l'adénylation des aminoglycosides, l'antibiotique modifié résultant présente une affinité réduite pour sa cible. Les gènes codant pour les AME sont généralement situés dans les éléments génétiquement mobiles, ce qui leur permet de se diffuser efficacement parmi les bactéries (Ramirez & Tolmasky 2010 ;Christakiet *al.*, 2019)

#### III.4.c. La modification des enzymes d'activation des antibiotiques :

L'activation de la nitrofurantoïne par des réductases bactériennes entraînant la formation de composés intermédiaires toxiques est nécessaire pour l'activité antimicrobienne de la nitrofurantoïne. Les mutations des gènes de nitroréductase constituent le principal mécanisme de résistance à la nitrofurantoïne (OseiSekyere, 2018 ; Christakiet *al.*, 2019)

#### III.4.d. Le remplacement de la cible :

Le remplacement des protéines bactériennes de liaison à la pénicilline (PBP) est le mécanisme qui sous-tend la résistance aux  $\beta$ -lactamines chez *Streptococcus pneumoniae* et la résistance à la méthicilline chez *Staphylococcus aureus* (Christakiet *al.*, 2019)

#### III.4.e. L'altération de la cible :

Peut être due à la mutation ou à une altération enzymatique. La résistance aux quinolones est le plus souvent le résultat de mutations chromosomiques dans les gènes de la gyrase bactérienne et/ou de la topoisomérase IV (Aldredet *al.*, 2014 ; Christakiet *al.*, 2019), tandis que la résistance à la rifampicine est généralement le résultat de mutations dans le gène de la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase (Goldstein, 2014 ;Christakiet *al.*, 2019).

#### III.4.f. la protection de la cible :

Les protéines de protection ribosomique (RPP) sont un exemple de résistance antimicrobienne par la protection du site cible qui a été décrites aussi bien chez les bactéries Gram-positives que chez les Gram-négatives (Connellet *al.*, 2003; Roberts, 2005; Christakiet *al.*, 2019). Les protéines Qnr assurent la médiation de la résistance aux quinolones en agissant comme un

analogue de l'ADN et en réduisant l'interaction de la gyrase bactérienne et de la topoisomérase-IV avec l'ADN. En faisant cela ils réduisent les sites de liaison des quinolones disponibles (Aldredet *al.*, 2014 ; Christakiet *al.*, 2019).

#### III.4.g. La surproduction de la cible :

Une surproduction massive de la cible de l'antibiotique peut conduire à une résistance en accablant l'antibiotique. La surproduction de dihydrofolate réductase (DHFR), par exemple, a été signalée comme cause de résistance au triméthoprimine chez *Escherichia Coli* (Eliopoulos&Huovinen2001;Christakiet *al.*, 2019).

#### III.4.h. La diminution de la perméabilité de la membrane externe :

La faible perméabilité de la membrane externe bactérienne à des agents antibiotiques spécifiques est responsable de la résistance intrinsèque de certaines bactéries Gram-négatives à ces antibiotiques. Néanmoins, des modifications de la perméabilité de la membrane externe peuvent contribuer au développement d'une résistance acquise (Nikaido, 1989 ; Christakiet *al.*, 2019)

Les porines sont la principale voie d'entrée des antibiotiques hydrophiles (ex :  $\beta$ -lactamines et les tétracyclines) à travers la membrane externe bactérienne. Le nombre et le type de porines exprimées sur la membrane externe affecteront l'entrée des antibiotiques hydrophiles et, par conséquent, la sensibilité de la cellule bactérienne à ceux-ci (Fernández & Hancock 2012 ;Christakiet *al.*, 2019)

#### III.4.i. Les pompes à Efflux :

Les pompes à efflux sont des systèmes dépendants de l'énergie présents sur la membrane cytoplasmique et capables de pomper les molécules toxiques hors de la cellule, identifiés à la fois chez les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. La plupart des systèmes d'efflux peuvent transporter plusieurs substances non apparentées et peuvent, par conséquent, entraîner une multi résistance aux antibiotiques (Nikaido&Pagès, 2012;Piddock, 2006 ; Christakiet *al.*, 2019)

#### IV. La flore fécale des oiseaux :

La flore bactérienne aérobie cloacale/fécale des oiseaux de cages (Psittaciformes et Passeriformes) est majoritairement constituée de bacilles à Gram-positif. Plusieurs auteurs ont décrits la prédominance des gram-positifs dans la composition de la flore aérobie cloacale des oiseaux cliniquement sains (Bangert *et al.*, 1987 ; Flammer&Drewes., 1987 ; Glunder, 1980 ; Jones &Nisbet., 1979).

Les bacilles à gram-positif (*Lactobacillus*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Streptomyces*) sont les bactéries les plus communément isolés chez les psittaciformes, suivis par les cocci à gram-positif (*Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* spp., *Aerococcus* spp., *Micrococcus* spp.) et finalement les bactéries à gram-négatif (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *pseudomonas* spp.). les salmonelles ne semblent pas faire partie de la flore normale de ces oiseaux (Bangert *et al.*, 1987 ; Flammer&Drewes., 1987)

Une étude à démontré que les *Enterobacteriaceae* ne représentaient que 17% de la flore fécale des Passeriformes avec la prédominance d'*Enterobacter cloacae* et *Klebsiella pneumoniae* et en second lieu *Escherichia coli*, *Serratia liquefaciens* et *Citrobacter freundii* (Glunder, 1980)

Une étude effectuée sur des oiseaux sauvages aquatiques et terrestres ayant différents régimes alimentaires à souligner la présence d'*Aeromonas hydrophila* dans l'intestin des oiseaux vivants (91%) et morts (51%). En association avec *A. hydrophila* d'autres bactéries ont été isolées, cette fois les bactéries à Gram-négatif étaient majoritaires (*Escherichia coli*, *salmonella* spp, *campylobacter* spp, *pasterella-Haemophilus*, *Yersinia enterocolitica*) les Gram-positifs étaient essentiellement représentés par les staphylocoques et streptocoques et en second lieu *corynebacterium* et *Lactobacillus* (Glunder&Siegmann, 1989)

##### IV.1. La flore fécale à Gram-négatif des oiseaux de cage et de volières :

Bien qu'anciennement plusieurs auteurs auraient suggéré que la présence des bactéries à gram-négatif dans le tractus digestif des oiseaux serait strictement pathologique (Bangert *et al.*, 1987 ; Glunder, 1980 ; Glunder&Siegmann, 1989). L'incidence des bactéries à Gram-négatif bien qu'elle soit réduite dans les isolats fécaux des oiseaux cliniquement normaux, elle reste régulière et serait peut-être liée au régime alimentaire et au condition d'hygiène des oiseaux (Jones &Nisbet, 1980 ; Flammer&Drewes, 1988)

Description des genres Gram – les plus communément rencontrés dans la flore fécale des oiseaux de cage et de volière :

##### IV.1.a. Le genre *Enterobacter* :

Ces bactéries font partie de la famille *des Enterobacteriaceae*. Bacilles à Gram négatif, ce sont des bactéries peu exigeantes car elles ne nécessitent pas de milieux de culture spécifique pour leur croissance, la plupart des *Enterobacter* spp donnent des colonies rondes de 2-3 mm de diamètre plats avec des bords irréguliers sur gélose nutritive, *Enterobacter sakazakii* lui donne des colonies de 1-3mm de diamètre de couleur jaune brillant à 25°C et jaune pâle à 37°C d'aspects lisse (smooth) ou mucoid, pour de meilleurs résultats il est conseillé

d'incuber les cultures d' *Enterobacter* a 30°C pour pouvoir visualiser la pigmentation jaune de *E. sakazakii* *E.agglomerans* qui s'affaiblie à 37°C . (Grimont&Grimont, 2006)

Les bactéries de ce genre sont ubiquistes et se retrouvent dans l'environnement naturel dans des environnements aquatiques, les eaux usées et la terre ainsi que sur les légumes. *E. cloacae* est reconnu comme commensal du tractus digestif et de la peau de l'homme et des animaux, il est aussi présent dans les environnements hospitaliers. *E.aerogenes* lui aussi est présent dans les eaux usées, produits laitiers et dans les matières fécales d'animaux et humains (Platt et *al.*, 1976 ; Grimont&Grimont, 2006)

Ce genre est un pathogène opportuniste causant une variété d'infections nosocomiales (infections des voies respiratoires inférieures, infections urinaires, bactériémies, endocardites, infections du système nerveux central, septicémies néonatales ...) *E. cloacae* est l'espèce responsable de la majorité des infections nosocomiales chez l'homme (Davin-Regli&Pagès, 2015 ; Siddhardha et *al.*, 2020)

Caractères biochimiques :

La plupart des bactéries appartenant au genre *Enterobacter* sont mobiles et positives pour le test Vogues-Proskauer, le test Citrate de Simmon .toutes les espèces d' *Enterobacter* dégradent le glucose et produisent du gaz en le faisant, elles dégradent également le D-mannitol, le D-xylose et le maltose. Elles hydrolysent le o-nitrophenyl-β-D-galactoside (ONPG+). La majorité d'*Enterobacterspp.* Sont H<sub>2</sub>S négatif. (Grimont&Grimont, 2006)

IV.1.b. Le genre *Aeromonas* :

Les membres de ce genre font partie de la famille des aeromonadaceae. *Aeromonas spp.* Sont des bactéries à Gram négatif anaérobie facultative de forme cocobacillaire a bacillaire observées seules, en diplobacilles et rarement en petites chainettes. La majorité des espèces présentent un seul flagelle polaire. (Murry et *al.*, 2007)

Pour de bon résultats les isolats fécales sont plus préférables aux écouvillonnages rectaux pour l'isolement de pathogènes entérique (Murry et *al.*, 2007) .les bactéries de ce genre poussent généralement bien sur les milieux sélectifs pour les entérobactéries. La gélose au sang frais a laquelle est ajouter 20 µg d'ampicilline facilite l'isolement des *Aeromonas* (Murry et *al.*, 2007)

Le genre *Aeromonas* sont ubiquistes des écosystèmes aquatiques du monde entier : les eaux de surface, usées et souterraines, ces bactéries ont été également retrouvées dans les produits laitiers et lait cru, la viande, les fruits de mer et la viande de volailles (Murry et *al.*,2007;Glünder& Siegmann,1989)

Les bactéries du genre *Aeromonas* sont incriminées dans des infections chez les animaux et l'homme, elles sont associées avec des gastroentérites qui peuvent être compliquées par des un syndrome hémolytique urémique chez l'homme *A.hydrophila* est l'espèce isolées lors de

septicémie (Murry et al., 2007). *A. hydrophila* provoque également des avortements chez les bovins (Wohlgemuth, et al., 1972 ; Glünder & Siegmann, 1989)

Caractères biochimiques :

Les bactéries du genre *Aeromonas* sont généralement catalase positive et oxydase positives, dégradent le glucose (voie oxydative et fermentative), le nitrate (en nitrite) avec production de gaz, *A. hydrophila* est positive pour le test Vogues-Proskauer les autres espèces présentent des résultats variables. Les *Aeromonas* spp. Présentent des exoenzymes à savoir une amylase, ADNase, easterases, peptidases, proteases et hemolysines. (Murry et al., 2007)

IV.1.c. Le genre *Escherichia* :

Bâtonnets à Gram négatif aero-anaérobie .ce genre est constitué de bactéries mobiles et non mobiles, celles qui le sont présentent une ciliature peritriche. Ce genre comprend 6 espèces dont *E. coli* est la plus importante d'un point de vue clinique. (Murry et al., 2007)

*E. coli* est une bactérie ubiquitaire commensale du tractus digestif de l'homme et des animaux endodermes (Murry et al., 2007; Brisson, 2018) elle peut causer des infections urinaires, bactériémies, méningites, diarrhées chez les individus immunodéprimés ainsi que chez des individus sains (Murry et al., 2007) elle est facilement isolable et pousse très bien sur le milieu MacConkey (MAC). Certains milieux peuvent être utiles en facilitant l'identification des certaines catégories d' *E. coli* comme le milieu MacConkey contenant du sorbitol (MACS) qui permet l'isolement de O157 STEC (*E. coli* productrice de shiga toxine) les colonies non fermentatrices de sorbitol sont suspectées d'être O157:H7. (Murry et al., 2007)

Caractères biochimiques :

*E. coli* est fermenté le D-glucose et est généralement productrice de gaz, elle présente un résultat positif envers le test Vogues-Proskauer, indole, ONPG et urease et négatif pour le test citrate (Murry et al., 2007)

## Etude expérimentale

### I. Objectif :

L'objectif de ce travail est :

- Confirmer l'incidence des bactéries à Gram négatif dans la flore fécale des oiseaux de cage et de volière
- Confirmer ou infirmer la présence de *Salmonella* spp. au sein de la flore fécale des oiseaux de cage et de volière
- Isoler et caractériser les genres et espèces bactériennes présents

### Matériels et méthodes

#### I. Prélèvements :

Les prélèvements ont été effectués aux niveaux d'un élevage de canaris de couleur, un marché d'animaux vivants et trois (3) animaleries tous dans la région d'Alger.

Des prélèvements de matières fécales ont été réalisés sur 30 oiseaux appartenant à 8 espèces différentes tous cliniquement sains. Les prélèvements comprenaient des fientes sèches (dans des flacons stériles) et fraîches (écouvillonnage) transport à 4°C

#### II. Analyses bactériologiques :

Les analyses bactériologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de microbiologie médicale de l'ENSV d'Alger

##### II.1. Préparation des bouillons sélectifs :

Préparation de bouillons sélectifs pour l'enrichissement des salmonelles :

Bouillon Rappaport Vassiliadis Soy (RSV) :

Le bouillon RSV est un milieu de culture utilisé pour l'enrichissement sélectif des *Salmonella* spp. à partir de prélèvements alimentaires, environnementales et cliniques (Fiche descriptive du milieu Liofilchem®)

Composition :

| substrats                          | Grammes /litres |
|------------------------------------|-----------------|
| Soytone                            | 4.5             |
| Chlorure de Sodium                 | 7.2             |
| Phosphate dihydrogéné de potassium | 1.26            |
| hydrogenophosphate di-potassique   | 0.18            |
| chlorure de magnésium anhydre      | 13.4            |
| vert de Malachite                  | 0.036           |

Tableau 1 : composition du milieu RSV (Fiche descriptive du milieu Liofilchem®)

Préparation : Dissoudre 26.6g du milieu RSV déshydraté Liofilchem® dans un (1) Litre d'eau distillée sur plaque chauffante avec agitation jusqu'à dissolution complète ensuite autoclave à 115°C pendant 15 minutes.

Bouillon d'enrichissement au sélénite selon LEIFSON :

Ce bouillon est un milieu de culture proposé par LEIFSON (1936) pour l'enrichissement sélectif des salmonelles depuis des prélèvements fécaux, urinaires, alimentaires et d'eau (Fiche descriptive du milieu MERCK®)

Composition :

| substrats                          | Grammes/Litres |
|------------------------------------|----------------|
| Peptone de viande                  | 5.0            |
| Lactose                            | 4.0            |
| Sélénite de sodium                 | 4.0            |
| hydrogenophosphate di-potassique   | 3.5            |
| Phosphate dihydrogéné de potassium | 6.5            |

Tableau 2 : composition du milieu au sélénite (Fiche descriptive du milieu MERCK®)

Préparation :

Dissoudre 23g de milieu dishydraté Merck® dans un (1) Litre d'eau distillée en chauffant légèrement (température MAX 60°C) avec agitation jusqu'à dissolution complète. Ne pas autoclaver.

II.2. Pré-enrichissement :

Sur bouillons sélectifs (RSV, au sélénite) et non sélectifs (BHIB et bouillon nutritif) pour amplifier le nombre des bactéries et augmenter les chances d'isolement.

Technique :

À l'aide d'une pince ou anse de platine (dépendamment du prélèvement) on introduit un peu de fientes de manière stérile à l'intérieur du tube de bouillon toujours à proximité du bec bunsen. Les écouvillons sont plongés dans le bouillon également à proximité du bec bunsen

Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 18 à 24 heures

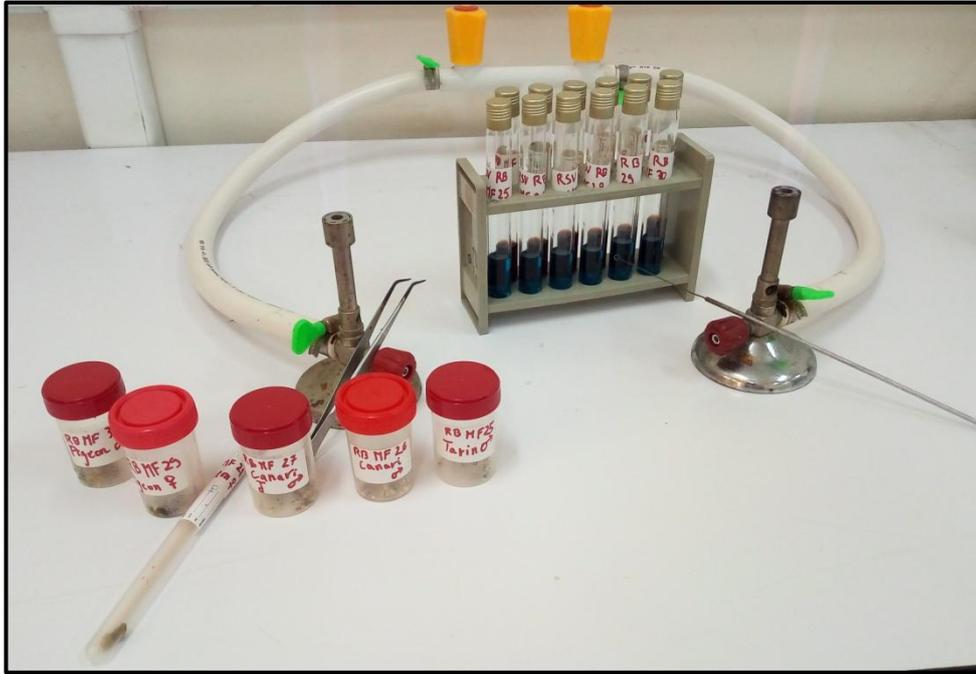


Figure 1 : pré-enrichissement sur bouillon RSV et bouillon au sélénite

### II.3. préparations de milieux solides sélectifs

Gélose SS (salmonella-shigella) : Milieu de culture sélectif pour l'isolement des *Salmonella* spp et *shigella* spp a partir de prélèvement fécaux et alimentaires et autres... (Fiche descriptive du milieu MERCK®)

Composition :

| substrats               | Grammes/Litres |
|-------------------------|----------------|
| Peptone                 | 10.0           |
| Lactose                 | 10.0           |
| Fiel de bœuf déshydraté | 8.5            |
| Citrate de sodium       | 10.0           |
| Thiosulfate de sodium   | 8.5            |
| Citrate d'ammonium fer  | 1.0            |
| Vert brillant           | 0.0003         |
| Rouge neutre            | 0.025          |
| Agar-agar               | 12.0           |

Tableau 3 : composition du milieu SS (Fiche descriptive du milieu MERCK®)

Préparation :

Dissoudre complètement 60g du milieu déshydraté MERCK® dans un (1) litre d'eau distillée dans un bain marie bouillant ou sous vapeur fluente. Ne pas autoclaver et couler sur boites en couches épaisse.

Gélose XLD :

Milieu de culture sélectif pour l'isolement de *Salmonella* spp. et *shigella* spp. (Fiche descriptive du milieu MERCK®)

Composition :

| substrats                    | Grammes/Litres |
|------------------------------|----------------|
| Extraits de levure           | 3.0            |
| Chlorure de sodium           | 5.0            |
| D(+)-xylose                  | 3.75           |
| Lactose                      | 7.5            |
| Saccharase                   | 7.5            |
| L(+)-Lysine                  | 5.0            |
| Désoxycholate de sodium      | 1.0            |
| Thiosulfate de sodium        | 6.8            |
| Citrate d'ammonium fer (III) | 0.8            |
| Rouge de phénol              | 0.08           |
| Agar-agar                    | 14.5           |

Tableau 4 : composition du milieu XLD (Fiche descriptive du milieu MERCK®)

Préparation :

Dissoudre complètement 60g du milieu déshydraté MERCK® dans un (1) litre d'eau distillée dans un bain marie bouillant ou sous vapeur fluente. Ne pas autoclaver.

Gélose Hektoen :

Milieu de culture sélectif pour l'isolement des bactéries à Gram négatif non exigeantes (Fiche descriptive du milieu MERCK®)

Composition :

| substrats           | Grammes/Litres |
|---------------------|----------------|
| Peptone de viande   | 12             |
| Sels biliaires      | 9              |
| Extrait de levure   | 3              |
| Saccharose          | 13             |
| Lactose             | 13             |
| Chlorure de Sodium  | 5              |
| Fushine acide       | 0.1            |
| Bleu de Bromothymol | 0.065          |
| Agar-agar           | 14             |

Tableau 5 : Composition du milieu Hektoen (Fiche descriptive du milieu MERCK®)

Préparation :

Dissoudre 69.1g de milieu déshydraté MERCK® dans un (1) litre d'eau distillée en chauffant légèrement jusqu'à dissolution complète. Ne pas autoclaver



Figure 2 : préparation Gélase XLD



Figure 3 : préparation de gélase SS et Hektoen

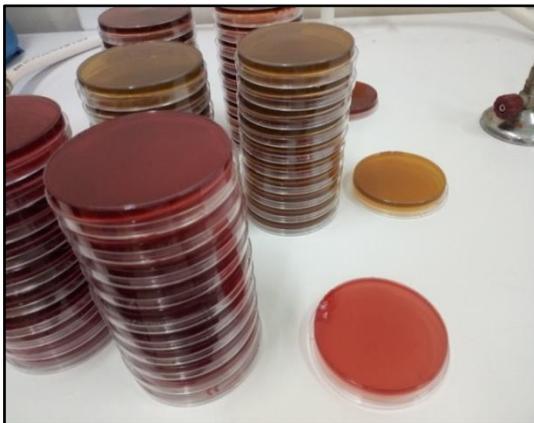


Figure 4 : géloses préparées

#### II.4. Isolement des bactéries sur milieux sélectifs :

Ensemencement des 3 milieux préparés et incubation à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures

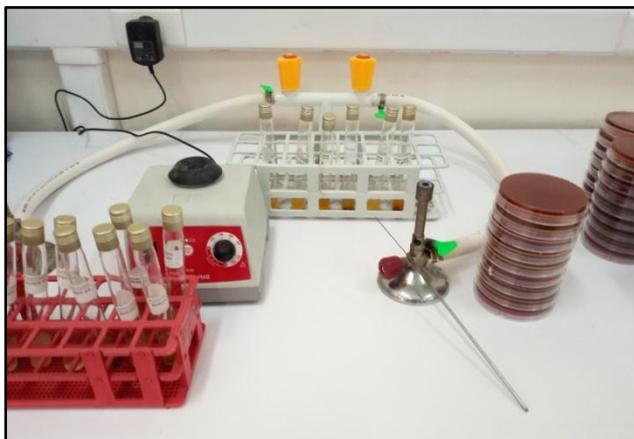


Figure 5 : isolement sur milieux solide

Figure 5 : Incubation à l'étuve

## II.5. Caractérisation biochimique des bactéries isolées :

Les colonies suspectées d'être des salmonelles ( $H_2S$  + sur gélose SS) ont été identifiées biochimiquement par galeries API® 20E.

Le reste des isolats ont été identifiées biochimiquement par la galerie classique (identification du genre)

### II.5.1. Galerie API® 20E :

La galerie API® 20E est un outil standardisé d'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif.



Figure 6 : Galerie API® 20E

#### Technique :

On commence par l'humidification de la boîte d'incubation en remplissant les alvéoles présents au fond de la boîte avec de l'eau distillée

Préparation de l'inoculum : une seule colonie bien isolée est prélevée à l'aide d'une anse de platine et introduite dans 5 ml du milieu NaCl 0,85% (ampoule d'API® commercialisé avec les galeries) à défaut on peut utiliser de l'eau physiologique stérile ou de l'eau distillée stérile sans additifs pour réaliser une suspension bactérienne qui nous servira d'inoculum. ce dernier doit être homogénéisé avant d'inoculer la galerie avec (bioMérieux® API® 20E, 2010)

#### Ensemencement de la galerie :

La suspension bactérienne est introduite dans les microtubes à l'aide d'une pipette pasteur stérile il est conseillé de poser le pointe de la pipette sur le côté de la cupule pour éviter la formation de bulles. On ne remplit que les tubes et non les cupules excepter pour les tests CIT, VP et GEL pour lesquels il est indiqué de remplir tubes et cupules. On remplit les cupules des tests ADH, LDC, ODC,  $H_2S$ , URE avec de l'huile de paraffine pour conférer une anaérobiose aux milieux. (bioMérieux® API® 20E, 2010)



Figure 7 : Ensemencement de la galerie

## II.5.2. les tests biochimiques :

Les tests appropriés pour l'identification des bactéries à Gram négatif : IMVC (Indole, Rouge de Methylene, Vogues-Proskauer, Citrate)

### II.5.2.a. Recherche de l'oxydase :

Ce test est réalisé en introduisant un disque à oxydase dans une suspension bactérienne épaisse. Il vise à révéler l'oxydase qui est une enzyme intervenant dans les réactions d'oxydoréduction bactériennes. Une minute suffit pour la lecture (Marchal *et al.*, 1982 ; Bouhamed, 2008 ;)

Couleur violette → Oxydase +

Couleur inchangée → Oxydase -

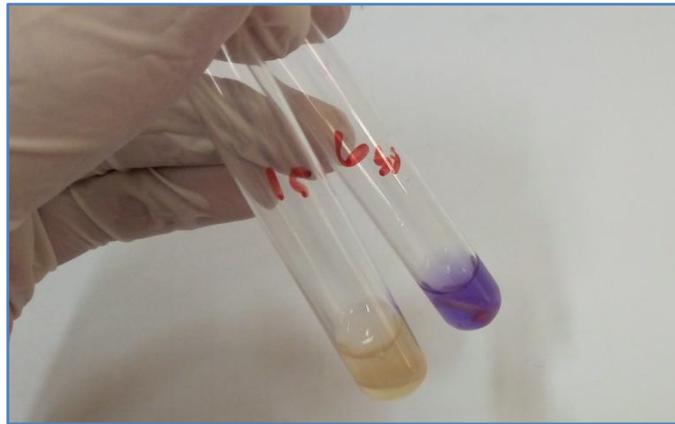


Figure 8 : test Oxydase + à droite, Oxydase - à gauche

### II.5.2.b. Test ONPG :

Le test ONPG (O-nitrophenyl- $\beta$ -D-Galactopyranoside) est utilisé pour révéler la présence ou l'absence de l'enzyme  $\beta$ -galactosidase. Ce test est réalisé en introduisant un disque à ONPG dans une suspension bactérienne (UK standards for microbiology investigations, 2018)

Lecture :

Couleur jaune → ONPG + (organisme fermentateur de lactose)

Couleur inchangée/ jaune pâle → ONPG - (pas de fermentation de lactose)

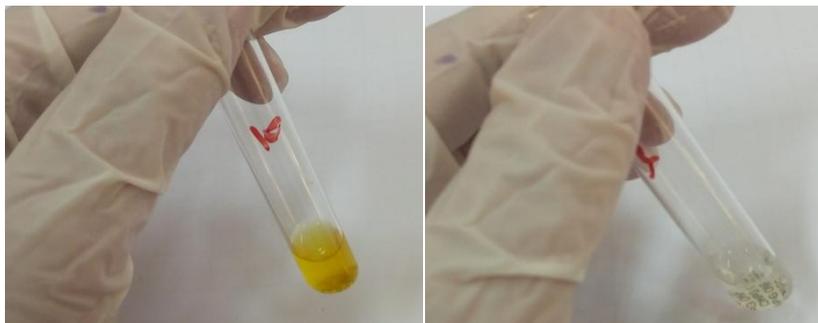


Figure 9 : test ONPG + à gauche, ONPG - à droite

### II.5.2.c. Test VP

Le test Vogues-Proskauer révèle la capacité des bactéries à produire l'acétone (acetyl methyl carbinol) lors de la fermentation du glucose.

Le test est réalisé sur bouillon Clark et Lubs déjà ensemencé puis étuvé à 37°C pendant 18 à 24 heures auquel on ajoute les réactifs VP1 et VP2 respectivement avec 10 minutes d'intervalle entre les deux (Varghese & Joy, 2014)

Lecture :

Coloration rouge/rose → VP+

Incolore → VP-



Figure 10 : test VP + à droite, VP – à gauche

### II.5.2.d Test Rouge de méthyle :

Ce test révèle la capacité des bactéries à oxyder le glucose avec la production de dérivés acides. Ce test est réalisé sur bouillon Clark et Lubs déjà ensemencé puis étuvé à 37°C pendant 18 à 24 heures auquel on ajoute le réactif rouge méthyle. (Varghese & Joy, 2014)

Lecture :

Coloration rouge → RM+

Coloration jaune → RM-

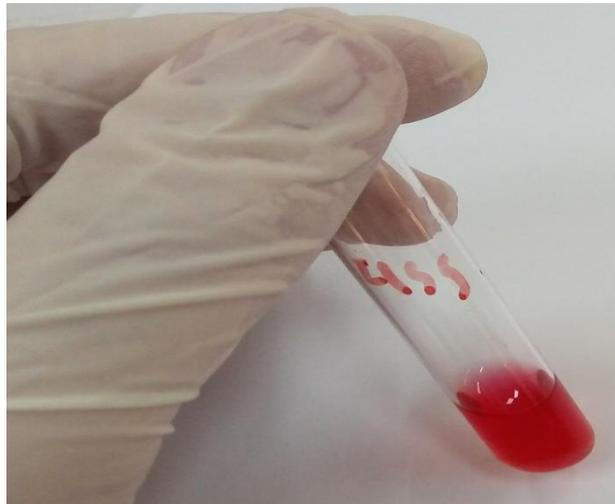


Figure 11 : test RM +

### II.5.2.e. test TSI :

Met en évidence la capacité des bactéries à fermenter les trois (3) sucres présents dans le milieu (Glucose, Sucrose et Lactose). L'ensemencement du milieu TSI se fait par pique centrale dans le tube et ensemencement de la pente puis incubation à 37°C pendant 24 heures (Varghese & Joy, 2014)

Lecture :

Acidification (coloration jaunâtre) de la pente → fermentation du sucrose, lactose ou les deux

Acidification du culot → fermentation du glucose

Précipités noirs → production d'H<sub>2</sub>S (et fermentation de glucose)



Figure 12 : Lactose/Sucrose +, Glucose +, Gaz +, H<sub>2</sub>S -

### II.5.2.f. test de l'utilisation du Citrate:

Met en évidence la capacité des bactéries a utilisé le Citrate comme seule source de carbone. Ce test est réalisé par l'ensemencement d'une gélose incliné sur tube de Citrate de Simmons incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures (Varghese & Joy, 2014)

Lecture :

Coloration bleu du milieu → Citrate +

Coloration verte du milieu → Citrate -

### II.5.2.g. Mannitol mobilité :

Permet de déceler la mobilité bactérienne ainsi que la fermentation du mannitol. Ce test est réalisé par pique centrale dans une gélose Mannitol mobilité incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures (Varghese & Joy, 2014)

Lecture :

- Couleur jaune → Mannitol +
- Couleur rouge → Mannitol -
- Croissance en créant un trouble à partir de la piqure centrale → Mobilité +
- Croissance tout au long de la piqure centrale → Mobilité -

#### II.5.2.h. Test de l'uréase :

Permet de mettre en évidence la capacité des bactéries à dégrader l'urée en ammoniac grâce à l'uréase. Ensemencement du milieu urée indole et incubation à 37°C pendant 24 heures (Varghese & Joy, 2014)

Lecture :

Couleur rose → Uréase +

Couleur inchangée → Uréase -



Figure 13 : test urease +

#### II.5.2.i Test de production d'Indole :

Met en évidence la capacité des bactéries à dégrader le tryptophane en indole. Test réalisé sur milieu urée indole après ensemencement et incubation pendant 24 heures (le même utilisé pour le test uréase) le réactif KOVAC's est ajouter. (Varghese & Joy, 2014)

Lecture :

Formation d'un anneau rouge à la surface du milieu → Indole +

Pas de formation d'anneau rouge

—————→ Indole –



Figure 14 : test de production d'Indole+ à gauche, Indole – à droite

### III. test de susceptibilité des bactéries isolées aux antibiotiques :

#### Technique de diffusion sur gélose

III.1. la gélose Muller-Hinton stérile est fondue à l'autoclave et coulée dans des boîtes pétri de manière stérile et à proximité du bec bunsen.

Composition usuelle :

| Substrats                              | Grammes/Litres |
|--|----------------|
| Infusion de viande de bœuf déshydratée | 4.0            |
| Hydrolysate acide de caséine           | 17.5           |
| Amidon de maïs                         | 1.5            |
| Agar-agar                              | 12.0           |

Tableau 6 : composition de la gélose Muller-Hinton

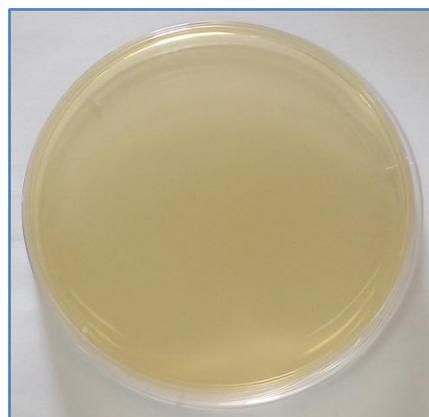


Figure 15 : Gélose Muller-Hinton

Technique : Antibiogramme par diffusion sur gélose :

Préparation de l'inoculum : une suspension bactérienne est réalisée en mélangeant 3 colonies bien isolées et identiques (culture pure) dans 4ml d'eau physiologique stérile. Le mélange est homogénéisé ensuite une dilution 1/10 est exécutée (1ml de la suspension mère dans 9ml d'eau physiologique stérile) (Djebib & Djebib, 2015)

L'inoculation du milieu : avec une seringue stérile et devant le bec bunsen la surface de la gélose Muller-Hinton est inondée avec 3ml d'inoculum, des mouvements en huit (8) sont performés et l'excès de liquide déversé (Bocquier, 2013 ; Djebib & Djebib, 2015)

Avec une pince stérile, les disques d'antibiotiques sont déposés délicatement sur la surface de la gélose qui doit être sec sans excès de liquide (5 minute à l'étuve) (OMS, 2013 ; Bocquier, 2011 ; Djebib & Djebib, 2015)

Les géloses sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures

Dans cette étude la sensibilité des bactéries a été testée envers 6 antibiotiques appartenant à 6 familles d'antibiotiques communément utilisées en médecine aviaire dans le traitement d'infections chez les oiseaux de cages et de volières ( $\beta$ -lactamines, Céphalosporines, Polymyxines, Cyclines, Aminocyclitolides et Quinolones)

| molécule antibactérienne   | famille d'antibiotique       | utilisation                             |
|----------------------------|------------------------------|---|
| Amoxicilline               | $\beta$ -lactamines          | Maladies bactériennes                   |
| Ampicilline                |                              |   |
| Céfalexine                 | Céphalosporines              |   |
| Colistine                  | Polypeptidiques : Polymyxine | maladies bactériennes intestinales      |
| Oxytétracycline +néomycine | Cyclines + Aminocyclitolides | maladies bactériennes : Enterites       |
| oxytétracycline            | Cyclines                     | maladies bactériennes : Chlamydioses    |
| Doxycycline                |                              |   |
| Enrofloxacin               | Quinolones                   | maladies bactériennes : Salmonellose... |
| Framycétine                | aminocyclitolides            | maladies bactériennes et Coccidioses    |
| Erythromycine              | macrolides                   | maladies bactériennes                   |
| Spiramycine                |                              |   |
| Josamycine                 |                              |   |
| Tylosine                   |                              |   |

Tableau 7 : antibiotiques utilisées chez les oiseaux domestiques, leurs familles et utilisations (André, 1990)

Les disques d'antibiotiques utilisés et les familles qu'ils représentent :

Ampicilline (AMP) 30 $\mu$ g Liofilchem® ( $\beta$ -lactamines), Céfazoline (CZ) 30 $\mu$ g bioMérieux® (Céphalosporines), Tétracycline (TE) 30 $\mu$ g BD® (Cyclines), Neomycine (N) 30 $\mu$ g Liofilchem® (Aminocyclitolides), Ciprofloxacine (CIP) 30 $\mu$ g Bioanalyse® (Quinolones), Colistine sulfate (CS) 10 $\mu$ g Liofilchem® (Polymyxines)



| Tests   | composants actifs   | reactions/Enzymes   | résultats         |                           |
|---|---|---|-------------------|---------------------------|
|   |   |   | négatif           | Positif                   |
| <u>ADH</u><br><u>LDC</u><br><u>ODC</u><br><u>URE</u>        | L-arginine<br>L-lysine<br>L-omithine<br>Urée  | Arginine DiHydrolase<br>Lysine DéCarboxylase<br>OmithineDéCarboxylase<br>UREase | Jaune             | Rouge                     |
| ONPG  | 2-nitrophényl-β-D-galactopyranoside   | β-galactosidase   | Incolore          | Jaune                     |
| CIT   | Trismodium citrate  | Utilisation du citrate  | Vert pale         | Bleu                      |
| <u>H<sub>2</sub>S</u>                                       | sodium thiosulfate  | Production d'H <sub>2</sub> S   | Incolore          | Depot noir                |
| TDA   | L-tryptophane   | Tryptophane DésAminase  | Réactif TDA       |                           |
|   |   |   | Jaune             | Marron                    |
| IND   | L-tryptophane   | Production d'INDole   | Réactif JAMES     |                           |
|   |   |   | Incolore          | Rose                      |
| VP  | Sodium pyruvate   | Production d'acétoine   | VP1 + VP2/ 10 min |                           |
| GEL   | Gélatine  | GELatinase  | Non diffusion     | Diffusion du pigment noir |
| GLU<br>MAN<br>INO<br>SOR<br>RHA<br>SAC<br>MEL<br>AMY<br>ARA | D-glucose<br>D-mannitol<br>Inositol<br>D-sorbitol<br>L-rhamnose<br>D-saccharose<br>D-melibiose<br>Amygdaline<br>L-arabinose | Fermentation-oxydation  | bleu              | Jaune                     |

Tableau 8 : Tableau de lecture de la galerie API® 20E (bioMérieux® API® 20E, 2010)

L'identification à été confirmée à a l'aide du logiciel d'identification apiweb®, les résultats obtenus sont les suivants

CE 07223 C REF.: 05 Δμν 55

Origine / Source / Herkunft /  
Origen / Origen / Προέλευση /  
Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

API® 20E BIOMÉRIEUX

1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4

ONPG ADH LDC ODC CIT H<sub>2</sub>S URE TDA IND LVP LGEL GLU MAN INO SOR RHA SAC MEL AMY ARA OX NO<sub>2</sub> N<sub>2</sub> MOB McC OF-O OF-F

2 3 0 5 5 7 3

Autres tests / Other tests / Andere Tests /  
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /  
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /  
Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :  
Enterobacter cloacae

Figure 18 : résultat de la galerie API® (*Enterobactercloacae*)



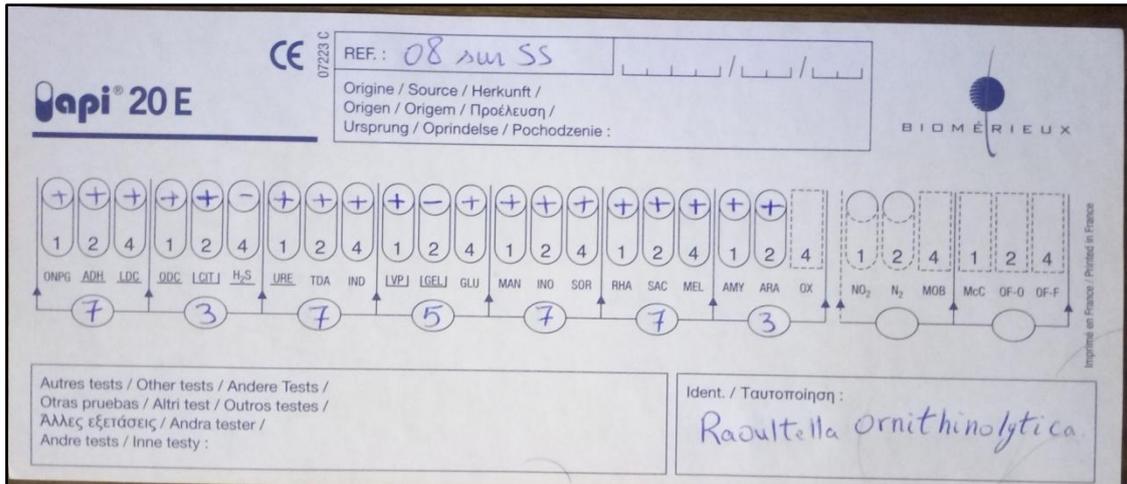


Figure 22 : résultat de la galerie API® (*Raoultella ornithinolytica*)

| ID de l'échantillon | genre               | espèce                    |
|---------------------|---------------------|---------------------------|
| 01                  | <i>Enterobacter</i> | <i>E. cloacae</i>         |
| 02                  | <i>Enterobacter</i> | <i>E. cloacae</i>         |
| 03                  | <i>Enterobacter</i> | <i>E. sakazakii</i>       |
| 05                  | <i>Enterobacter</i> | <i>E. cloacae</i>         |
| 08                  | <i>Raoultella</i>   | <i>R. ornithinolytica</i> |
| 19                  | <i>Enterobacter</i> | <i>E. cloacae</i>         |
| 22 sur SS           | <i>Enterobacter</i> | <i>E. cloacae</i>         |
| 22 sur XLD          | <i>Escherichia</i>  | <i>E. harmanii</i>        |
| 23                  | <i>Enterobacter</i> | <i>E. sakazakii</i>       |
| 26 sur XLD          | <i>Aeromonas</i>    | <i>A. hydrophila gr.1</i> |
| 30                  | <i>Enterobacter</i> | <i>E. sakazakii</i>       |

Tableau 9 : résultat d'identification obtenus grâce à apiweb®

## II.2. Résultats des tests biochimiques (galerie classique) :

Après lecture les résultats de chaque test sont enregistré

| ID de l'échantillon | ONPG | Oxydase | GLU | H <sub>2</sub> S | Lact | Gaz | Man | Mob | Cit | VP | RM | Ure | Ind |
|---------------------|------|---------|-----|------------------|------|-----|-----|-----|-----|----|----|-----|-----|
| 4 sur SS            | +    | +       | +   | -                | +    | +   | +   | +   | -   | +  | +  | -   | +   |
| 4 sur H             | +    | -       | +   | -                | +    | +   | +   | +   | -   | +  | +  | +   | -   |
| 6 sur SS            | +    | +       | +   | -                | +    | -   | +   | +   | -   | -  | +  | -   | +   |
| 6 sur H             | +    | -       | +   | -                | +    | -   | +   | +   | -   | +  | +  | +   | -   |
| 7                   | +    | +       | +   | -                | +    | -   | +   | +   | -   | -  | +  | -   | -   |
| 8                   | +    | -       | +   | -                | +    | -   | +   | +   | -   | -  | +  | -   | +   |
| 9                   | +    | -       | +   | -                | +    | +   | +   | +   | -   | -  | +  | -   | +   |
| 10                  | +    | -       | +   | -                | +    | --  | +   | +   | -   | -  | +  | -   | -   |
| 11                  | +    | +       | -   | -                | +    | -   | +   | +   | -   | -  | +  | -   | +   |
| 15                  | +    | -       | +   | -                | +    | -   | +   | +   | -   | +  | +  | -   | -   |
| 25                  | +    | -       | +   | -                | +    | -   | +   | +   | -   | +  | +  | -   | -   |
| 26                  | +    | -       | +   | -                | +    | -   | +   | +   | -   | +  | +  | -   | -   |
| 27                  | +    | +       | +   | -                | +    | +   | +   | +   | -   | +  | +  | +   | +   |
| 29                  | +    | +       | +   | -                | +    | -   | +   | +   | -   | -  | +  | -   | +   |
| 30                  | +    | -       | +   | -                | +    | +   | +   | +   | -   | -  | +  | -   | -   |

SS : gelose Salmonella-shigella, H : gelose Hektoen, ONPG : o-nitrophényl-β-D-galactopyranoside, GLU : glucose, Lact : lactose, Man : mannitol, Mob : mobilité, Cit : citrate, VP : test Vogues-Proskauer, RM : test rouge de méthyle, Ure : Uréase, Ind : production d'indole.

Tableau 10 : résultats des tests biochimiques

Ces résultats sont comparés avec les caractères biochimiques de différents genres et espèces bactériennes à Gram négatif décrits par (Murray et al., 2007) ainsi qu'avec le tableau d'identification API®20E

| ID de l'échantillon           | ONPG | Cit | H <sub>2</sub> S | Ure | Ind | VP  | Glu | Man | Oxydase | Mob |
|-------------------------------|------|-----|------------------|-----|-----|-----|-----|-----|---------|-----|
| <i>Aeromonas hydrophila</i>   | +    | +/- | -                | -   | +   | +/- | +   | +   | +       | +   |
| <i>Enterobacter gergoviae</i> | +    | +   | -                | +   | -   | +   | +   | +   | -       | +   |
| <i>Eschirechia coli</i>       | +    | -   | -                | -   | +   | -   | +   | +   | -       | +   |
| <i>Vibrio fluvialis</i>       | +    | -   | -                | -   | +   | -   | +   | +   | +       | +   |

Tableau 11 : caractères biochimiques des 4 espèces rencontrées (Murray, 2007 ; bioMérieux® API® 20E, 2010)

| l'échantillon | genre               | espece suspectée           |
|---------------|---------------------|----------------------------|
| 4 sur SS      | <i>Aeromonas</i>    | <i>A. hydrophilagr.2</i>   |
| 4 sur H       | <i>Enterobacter</i> | <i>E. gergoviae</i>        |
| 6 sur SS      | <i>Vibrio</i>       | <i>V. fluvialis</i>        |
| 6 sur H       | <i>Enterobacter</i> | <i>E. gergoviae</i>        |
| 7             | <i>Vibrio</i>       | <i>V. fluvialis</i>        |
| 8 sur H       | <i>Escherichia</i>  | <i>E. coli</i>             |
| 9             | <i>Escherichia</i>  | <i>E. coli</i>             |
| 10            | <i>Escherichia</i>  | <i>E. coli</i>             |
| 11            | <i>Aeromonas</i>    | <i>A. hydrophila gr.2</i>  |
| 15            | <i>Enterobacter</i> | <i>E. gergoviae</i>        |
| 25            | <i>Enterobacter</i> | <i>Enterobacter sp.</i>    |
| 26 sur H      | <i>Enterobacter</i> | <i>Enterobacter sp.</i>    |
| 27            | <i>Aeromonas</i>    | <i>A. hydrophila gr. 2</i> |
| 29            | <i>Aeromonas</i>    | <i>A. hydrophilagr.2</i>   |
| 30            | <i>Enterobacter</i> | <i>Enterobacter sp.</i>    |

Tableau 12 : résultats de l'identification par galerie classique



Figure 23 : *A. hydrophila* sur gélose SS à gauche et sur gélose Hektoen à droite

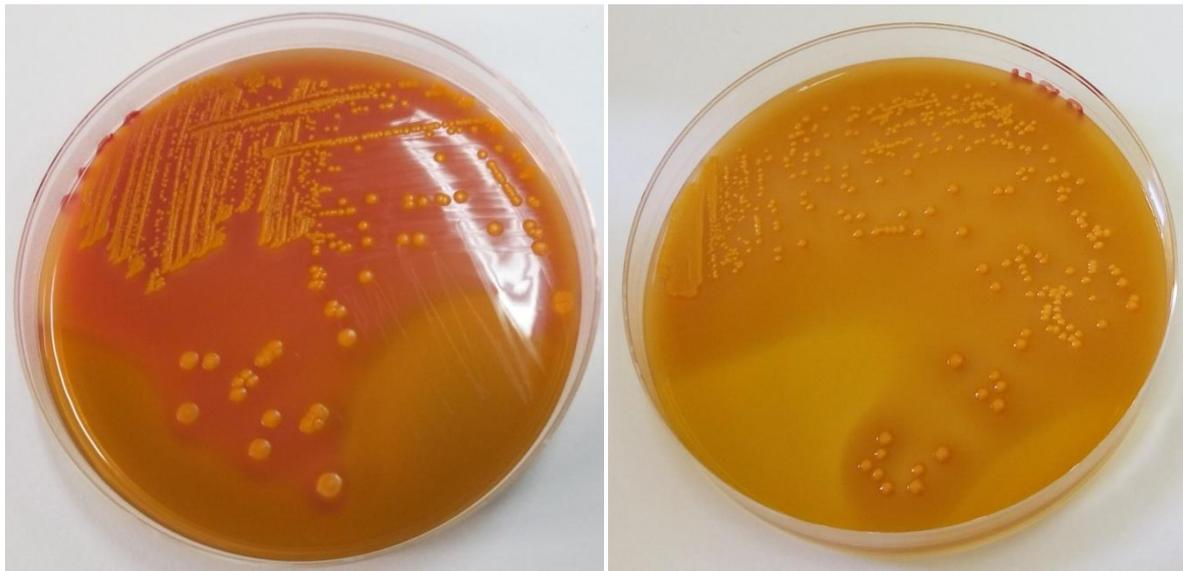


Figure 24 : *Escherichia coli* sur gélose Hektoen



Figure 25 : *Enterobacter* sp. Sur gélose Hektoen

### III. Résultats de l'antibiogramme :

La sensibilité ou la résistance des bactéries envers un antibiotique est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque contenant l'agent antibactérien.



Figure 26 : mesure des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse

|   | AMP | CZ | CS | CIP | N  | TE |
|---|-----|----|----|-----|----|----|
| 4 ( <i>Aeromonas hydrophila</i> )       | 0   | 18 | 8  | 27  | 8  | 8  |
| 4 ( <i>Enterobacter gergoviae</i> )     | 0   | 7  | 9  | 37  | 15 | 9  |
| 6 ( <i>Enterobacter gergoviae</i> )     | 0   | 16 | 10 | 17  | 15 | 0  |
| 6 ( <i>Vibrio fluvialis</i> )           | 0   | 18 | 9  | 30  | 17 | 12 |
| 7 ( <i>Vibrio fluvialis</i> )           | 0   | 16 | 10 | 23  | 11 | 0  |
| 8 ( <i>Escherichia coli</i> )           | 0   | 14 | 9  | 32  | 18 | 13 |
| 9 ( <i>Escherichia coli</i> )           | 0   | 15 | 8  | 34  | 13 | 9  |
| 10 ( <i>Escherichia coli</i> )          | 0   | 17 | 9  | 23  | 14 | 0  |
| 11 ( <i>Aeromonas hydrophila</i> )      | 0   | 15 | 10 | 32  | 14 | 8  |
| 15 ( <i>Enterobacter gergoviae</i> )    | 0   | 8  | 11 | 36  | 17 | 17 |
| 26 ( <i>Enterobacter</i> sp.)           | 0   | 6  | 12 | 40  | 18 | 19 |
| 27 ( <i>Aeromonas hydrophila</i> )      | 0   | 12 | 12 | 27  | 20 | 0  |
| 29 ( <i>Aeromonas hydrophila</i> )      | 0   | 12 | 11 | 33  | 17 | 0  |
| 30 ( <i>Enterobacter</i> sp.)           | 0   | 0  | 10 | 30  | 16 | 10 |
| 25 ( <i>Enterobacter</i> sp.)           | 0   | 16 | 11 | 23  | 17 | 15 |
| 30 ( <i>Enterobacter sakazakii</i> )    | 0   | 0  | 8  | 31  | 13 | 8  |
| 26 ( <i>Aeromonas hydrophila</i> )      | 0   | 8  | 10 | 39  | 16 | 17 |
| 23 ( <i>Enterobacter sakazakii</i> )    | 0   | 14 | 9  | 33  | 13 | 8  |
| 22 ( <i>Escherichia hermanii</i> )      | 0   | 18 | 9  | 22  | 14 | 0  |
| 22 ( <i>Enterobacter cloacae</i> )      | 0   | 0  | 9  | 27  | 14 | 8  |
| 19 ( <i>Enterobacter cloacae</i> )      | 0   | 0  | 9  | 20  | 16 | 0  |
| 8 ( <i>Raoultella ornithinolytica</i> ) | 0   | 0  | 8  | 22  | 13 | 0  |
| 5 ( <i>Enterobacter cloacae</i> )       | 0   | 5  | 9  | 21  | 14 | 0  |
| 3 ( <i>Enterobacter sakazakii</i> )     | 0   | 0  | 11 | 25  | 17 | 0  |
| 2 ( <i>Enterobacter cloacae</i> )       | 0   | 0  | 9  | 24  | 15 | 0  |
| 1 ( <i>Enterobacter cloacae</i> )       | 0   | 13 | 8  | 29  | 12 | 0  |

AMP : Ampicilline, CZ : Céfazoline, CS : Colistine, CIP : Ciprofloxacine, N : Néomycine, TE : Tétracycline

Tableau 13 : diamètres de zones d'inhibition (en millimètre) par bactérie et par antibiotique.

|                   | Diamètre critique (mm) |    |       |
|-------------------|------------------------|----|-------|
|                   | S $\geq$               | R< | Int   |
| Ampicilline       | 14                     | 14 | /     |
| Céfazoline        | 18                     | 14 | 15-17 |
| Colistine sulfate | 18                     | 15 | 16-17 |
| Ciprofloxacine    | 25                     | 22 | 22-24 |
| Neomycine         | 17                     | 15 | 16    |
| Tétracycline      | 19                     | 17 | 18    |

S : sensible, R : résistante, Int : résistance intermédiaire.

Tableau 14 : diamètres critiques de sensibilité par antibiotique (CASFMvet, 2021 ; CASFM, 2022 )

|   | AMP | CZ  | CS | CIP | N   | TE  |
|---|-----|-----|----|-----|-----|-----|
| 4 ( <i>Aeromonas hydrophila</i> )       | R   | S   | R  | S   | R   | R   |
| 4 ( <i>Enterobacter gergoviae</i> )     | R   | R   | R  | S   | Int | R   |
| 6 ( <i>Enterobacter gergoviae</i> )     | R   | Int | R  | R   | Int | R   |
| 6 ( <i>Vibrio fluvialis</i> )           | R   | S   | R  | S   | S   | R   |
| 7 ( <i>Vibrio fluvialis</i> )           | R   | Int | R  | Int | R   | R   |
| 8 ( <i>Escherichia coli</i> )           | R   | R   | R  | S   | S   | R   |
| 9 ( <i>Escherichia coli</i> )           | R   | Int | R  | S   | R   | R   |
| 10 ( <i>Escherichia coli</i> )          | R   | Int | R  | Int | R   | R   |
| 11 ( <i>Aeromonas hydrophila</i> )      | R   | Int | R  | S   | R   | R   |
| 15 ( <i>Enterobacter gergoviae</i> )    | R   | R   | R  | S   | S   | Int |
| 26 ( <i>Enterobacter</i> sp.)           | R   | R   | R  | S   | S   | S   |
| 27 ( <i>Aeromonas hydrophila</i> )      | R   | R   | R  | S   | S   | R   |
| 29 ( <i>Aeromonas hydrophila</i> )      | R   | R   | R  | S   | S   | R   |
| 30 ( <i>Enterobacter</i> sp.)           | R   | R   | R  | S   | Int | R   |
| 25 ( <i>Enterobacter</i> sp.)           | R   | Int | R  | Int | S   | R   |
| 30 ( <i>Enterobacter sakazakii</i> )    | R   | R   | R  | S   | R   | R   |
| 26 ( <i>Aeromonas hydrophila</i> )      | R   | R   | R  | S   | Int | Int |
| 23 ( <i>Enterobacter sakazakii</i> )    | R   | R   | R  | S   | S   | R   |
| 22 ( <i>Escherichia hermanii</i> )      | R   | S   | R  | Int | R   | R   |
| 22 ( <i>Enterobacter cloacae</i> )      | R   | R   | R  | S   | R   | R   |
| 19 ( <i>Enterobacter cloacae</i> )      | R   | R   | R  | R   | Int | R   |
| 8 ( <i>Raoultella ornithinolytica</i> ) | R   | R   | R  | Int | R   | R   |
| 5 ( <i>Enterobacter cloacae</i> )       | R   | R   | R  | R   | R   | R   |
| 3 ( <i>Enterobacter sakazakii</i> )     | R   | R   | R  | S   | S   | R   |
| 2 ( <i>Enterobacter cloacae</i> )       | R   | R   | R  | Int | Int | R   |
| 1 ( <i>Enterobacter cloacae</i> )       | R   | R   | R  | S   | R   | R   |

AMP : Ampicilline, CZ : Céfazoline, CS : Colistine, CIP : Ciprofloxacine, N : Néomycine, TE : Tetracycline, R : résistante, S : sensible, Int : résistance intermédiaire

Tableau 15 : sensibilité aux antibiotiques des souches isolées



Figure 27 : Antibiogramme d'une souche d'*E.coli* résistante à l'Ampicilline, Colistine et sensible à la Ciprofloxacine

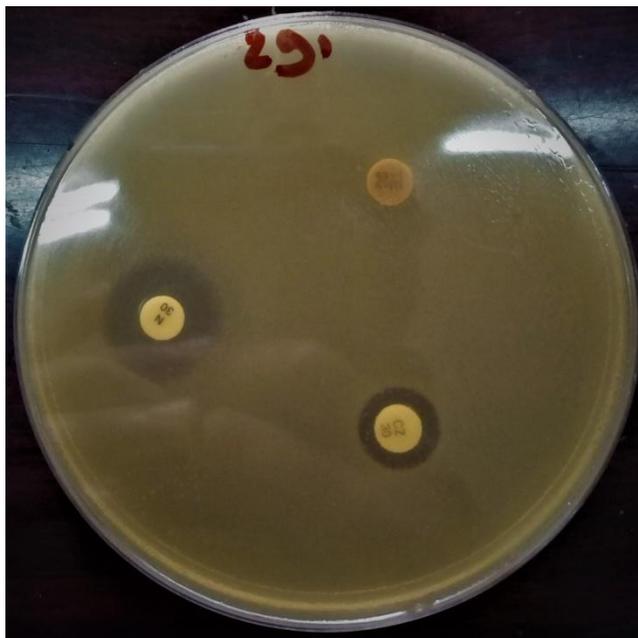


Figure 28 : résistance d'une souche d'*A.hydrophila* à la Tétracycline et Cefazoline et sensibilité à la Néomycine

## Discussion :

Notre étude présente trois résultats majeurs, elle confirme la présence des bactéries à Gram négatif dans la flore aérobie fécales des oiseaux de cage et de volière en Algérie, infirme la présence des salmonelles chez ces derniers et démontre un haut niveau de résistance des bactéries isolées chez ces oiseaux vis-à-vis aux antibiotiques.

Les déjections de 20 oiseaux parmi 30 (67%) ont donné un résultat positif pour les bactéries à Gram négatif 73% (19/26) de ces dernières appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* avec la prédominance du genre *Enterobacter* (14/26 : 53%) et de *E. cloacae* au sein de ce genre (5/26 : 19%) suivie du genre *Escherichia* qui représente 15 % des isolats totaux (4/26) avec *E. coli* comme espèce principale (3/26 : 11%) *Raoultella ornithinolytica* représente l'espèce d'*Enterobacteriaceae* la moins isolée dans cette étude (1/26 : 4%). Notre étude révèle en outre la présence de deux autres genres bactériens à Gram négatif, *Aeromonas* et *Vibrio* appartenant respectivement aux familles des *Aeromonadaceae* et des *Vibrionaceae*. Avec une fréquence de 5/26 (19%) pour *A. hydrophila* et 2/26 (7.7%) pour *V. fluvialis*. Parmi les 26 isolats testés, 100% ont présenté une résistance vis-à-vis de l'Ampicilline ( $\beta$ -lactamine) et la colistine (Polymixine). 65% étaient résistantes à la Céfazoline (Céphalosporines) et 23% présentaient une résistance intermédiaire à cette dernière. Les niveaux de résistance vis-à-vis de la Néomycine (Aminosides) et la Tétracycline (Cyclines) eux ce sont également avérés élevés avec 42% de résistance et 23% de résistance intermédiaire pour la Néomycine et 88% de résistance pour la Tétracycline. La Ciprofloxacine semble être la molécule la plus efficace avec un taux de 11% de résistance et 23% de résistance intermédiaire.

Le portage de bactéries à Gram négatif (67%) n'est pas similaire à celui décrit chez les Psittaciformes cliniquement sains qui se rapprocherait plutôt des 10% (Bangert et al., 1988). Le portage d'*Eterobacteriaceaes* (63% des individus) s'éloigne lui également des fréquences décrites chez les Passeriformes granivores (17% des individus) (Glunder, 1981). Les résultats de cette étude semblent être proches de ceux retrouvées chez les psittaciformes sauvages saisies faisant objet de commerce illégal d'animaux sauvages au Brésil décrits par Rey-Matias et al (2016) et Lopes et al (2015) respectivement 78.9% et 71.3% d'individus positifs pour les bactéries à Gram négatif et de ceux de Psittaciformes captifs d'un zoo au Bangladesh chez lesquels 73.33% d'individus ont été positifs pour les bactéries à Gram négatif. Nos résultats semblent dévier du physiologique chez les oiseaux de cage et de volières pour rejoindre des résultats obtenus chez des animaux apparemment sains (Akhter et al., 2010; Lopes et al., 2015) mais le plus habituellement garder dans de mauvaises conditions de bien être physique et mentale, les établissement de détention ouverts au public en particulier ont un impact négatif sur les animaux confisqués car il à été démontré que la présence de publique induit un état de stress chez les animaux captifs (Rivera et al., 2021) cela s'aligne avec la vision de certains auteurs (Raphael & Iverson, 1980; Panigraphy et al., 1985; Hilari et al., 2013) qui suggèrent que les *Enterobacteriaceae* sont des composants de la flore intestinale normale des oiseaux qui sont susceptibles de causer des maladies cliniques ou infections secondaires chez des oiseaux immunodéprimés, malades ou stressés (Hilari et al., 2013) il est connue que

l'exposition au stress induit des perturbations dans la flore intestinale des oiseaux (Woolcock, 1979) il est aussi important de noter qu'aucune différence entre la composition de la flore fécale des oiseaux sauvage et en captivité n'a été rapportée. La prévalence élevée des *Enterobacteriaceae* révélée dans cette étude pourrait s'expliquer par une exposition des oiseaux étudiés à un stress et à de mauvaises conditions de bien-être. L'origine des 10 échantillons qui n'ont montré aucune croissance, pourrait également offrir un élément d'orientation qui pourrait expliquer l'absence de gram – chez eux car en effet 9/10 de ces oiseaux étaient des oiseaux d'animaleries, un milieu qui est conventionnellement associé à l'application de bonne mesures d'hygiène, 3 de ces oiseaux étaient des Chardonneret, des oiseaux ayant une signification culturelle pour les éleveurs en Algérie et sont alors entretenus proprement. L'oiseau restant 1/10 est un Youyou Sénégalais un perroquet qui a une valeur économique assez élevée et étant une espèce exotique il nécessite une implication de l'éleveur et un bon entretien. L'hygiène et l'implication de l'éleveur/propriétaire pourraient alors représenter un facteur favorisant l'élévation des fréquences des *Enterobacteriaceae* dans la flore fécale des oiseaux.

La fréquence d'isolement des *Enterobacterspp.* est de 53%, un pourcentage comparable à celui rencontrés chez les oiseaux confisqués 51% (Hilari et al., 2013) et 45.9% (Rey Matias et al., 2016). À *contrario*, *E. coli* a montré une fréquence (11%) proche de celle retrouvée chez des psittaciformes nées et élevés en captivité apparemment sains (13.6%) (Graham & Graham, 1978) ces fréquences restent cependant élevées par rapport à ce qui est décrit comme physiologique (Bangert et al., 1988 ; Glunder, 1981) cela peut être due aux perturbations de la flore digestive causées par le stress ou le manque de conditions de bien-être.

Notre étude a révélé une prévalence d'*A. hydrophila* moins importante (19%) que celle rapportée par Glunder & Siegmann (1989) chez les oiseaux sauvages aquatiques et terrestres qui était de 91%, la fréquence d'isolement chez les espèces terrestres était de 33% seulement. L'isolement de *Vibrio fluvialis* dans notre étude (7.7%) n'est pas une nouveauté chez les oiseaux particulièrement aquatiques chez lesquels la fréquence d'isolement de *Vibriospp.* à atteint les 40% (Fernandez-Delgado et al., 2016). La fréquence de ces deux bactéries chez les oiseaux aquatiques peut être expliquée par le fait qu'elles prolifèrent dans l'eau. Le portage des oiseaux concernés par notre étude de ces deux bactéries pourrait être dû à l'alimentation consommée par les oiseaux ainsi que l'eau de boisson comme sources d'introduction de ces bactéries dans le système digestif. Cependant les 2 isolats de *Vibrio fluvialis* réalisés dans cette étude proviennent des fèces de deux pigeons rencontrés au marché d'animaux vivants d'El Harrach –Alger- appartenant au même propriétaire et dont l'un des deux présentés des signes cliniques (diarrhée, plumage ébouriffé) indiquant une maladie clinique associée à la présence de *V. fluvialis* en association avec *E. gergoviae* tandis que l'autre pigeon paraissait asymptomatique (bactériologie : pas d'association de *V. fluvialis* avec une autre bactérie) cela suggérerait peut être que *Vibrio* n'est pas responsable d'infections primaires chez les pigeons.

L'isolement de *Raourella ornithinolytica* représente une nouveauté il s'agit d'une bactérie qui n'est pas fréquemment isolée à partir de prélèvements d'origine animal (Marietto-Gonçalves et al., 2017). Cependant, elle a été isolée à partir d'écouvillonnages cloacaux de Tinamous

solitaire (*Tinamus solitarius*) sains et identifiée à l'aide du MALDI-TOF (Marietto-Gonçalves et al., 2017). L'isolement de cette bactérie chez le pigeon n'a pas été rapporté.

*R.ornithinolytica* est un pathogène zoonotique émergent pour l'homme associé à des infections urinaires, septicémies et arthrites. (Marietto-Gonçalves et al., 2017; Abd El-Ghany, 2021). Cette bactérie semble acquérir une résistance rapide aux antibiotiques (Abd El-Ghany, 2021) d'où son importance sanitaire aussi bien pour l'homme et pour les animaux.

L'absence de *Salmonella* spp. chez l'intégralité des oiseaux étudiés confirme que ce genre n'est pas un constituant de la flore normale des Psittaciformes et passeriformes domestiques (Jones & Nisbet, 1980; Glunder, 1981) son isolement chez les oiseaux confisqués était minime 0,6% (Lopes et al., 2015) et 2,7% (Rey Matias et al., 2016)

Les niveaux de résistance aux antibiotiques décrits dans cette étude sont similaires à ceux observés chez les oiseaux du zoo 100% de résistance à l'ampicilline et 80% de sensibilité au Ciprofloxacine (Akhter et al., 2010) le taux de résistance à la Tétracycline rapporté par notre étude (88%) est similaire à celui révélé par Thabet et al (2016) chez des souches d'*E. coli* pathogènes isolées chez des poulets en Tunisie (86%). Le stress environnementale pourrait être incriminer dans l'apparition de taux de résistance aussi élevés en effet il à été rapporté par Sorum & Sunde (2001) que les conditions de température dans les élevages pouvaient affecter le taux de résistance aux antibiotique de la flore fécale du porc. En effets le taux de résistance combiner à la Tétracycline et l'Ampicilline de la flore fécale à augmenter de 6% pour atteindre les 27% chez des suidés exposés au froid (Moro et al., 1998). La chaleur elle aussi semble avoir un effet non négligeable sur l'élévation des taux d'antibioresistance dans la flore commensale des animaux Moro et al (2000) on démontré une élévation de la résistance des *E. coli* fécaux envers l'amikacine, l'ampicilline, la cephalothine, la néomycine et la tétracycline en comparaisant avec les taux de résistance des *E. coli* fécaux isolés en période pré-stress.

L'importance de résistance aux agents antibactériens révélée dans cette étude pourrait également être le produit de l'utilisation abusive d'antibiotiques dans la filière avicole en Algérie (Messai, 2006), le même auteur a signalé l'utilisation systématique des antibiotiques en préventif (86% des vétérinaires). La Colistine représente à elle seule 30% des prescriptions lors de syndrome digestifs. Ces pratiques d'antibiothérapies rependus en Algérie pourraient être à l'origine de développement de résistance au antibiotique et d'échecs thérapeutique, en effet Messai (2006) à rapporter un taux d'échec thérapeutique face aux infections bactériennes de 97% avec la colistine comme molécule principale impliquer dans les échecs thérapeutiques (37% des cas de syndrome digestif)

Notre étude demeure limitée en raison du faible nombre d'échantillons recueillis ainsi qu'une absence d'homogénéité entre les espèces traitées, un manque de coopération des éleveurs/propriétaires qui réfutés l'idée de nous laisser recueillir des données relatives à l'âge, au sexe et à l'origine des oiseaux. Ces éléments nous aurait permis de réaliser une analyse statistique en se basant sur l'étude des facteurs de risque. Bien que les techniques utilisées dans d'identification et l'évaluation de la susceptibilité aux l'antibiotiques soient assez spécifique, l'utilisation d'outils de biologie moléculaire pour pousser l'identification et le séquençage des isolats est très important pour confirmer avec certitude l'identification des

souches de *Vibrio* et *Raoultella* isolés. L'identification de gènes de résistance aux antibiotiques est d'un grand intérêt dans la compréhension des mécanismes de résistance rependus chez les *Enterobacteriaceae* des oiseaux de cage et de volière en Algérie

## **Conclusion :**

Au terme de cette étude, nous constatons que la présence de bactéries à Gram négatif dans la flore fécale des oiseaux de cage et de volière à toujours été controversée. Entre des avis suggérant que la présence des *Enterobacteriaceae* est synonyme d'infection digestive et d'autres qui au contraire considère les *Enterobacteriaceae* comme faisant partie de la flore normale des oiseaux mais que leur élévation peu suggérer une pathologie ou un déséquilibre. C'est pourquoi les bactéries à Gram négatif isolées dans cette étude ne peuvent pas être désignées de commensale/normales ni être considérées comme pathogènes parce que la quasi-totalité des oiseaux prélevés ne présentaient pas de symptômes cliniques, l'élévation de leurs fréquences peut cependant être associée à un état de stress et/ou mauvais état de bien être.

## **References :**

- Abd El-Ghany, W. A. (2021). A spotlight on Raoultella ornithinolytica : A newly emerging life-threatening zoonotic pathogen. *International Journal of One Health*.
- Abushaheen, M. A., Muzaaheed, Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., Rathod, S., Divakar, D. D., Jhugroo, C., Vellappally, S., Khan, A. A., Shaik, J., & Jhugroo, P. (2020). Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance.
- Akhter, J., Hossain, M., Islam, M., Siddique, M., & Islam, M. (1970). ISOLATION AND IDENTIFICATION OF MICROFLORA FROM APPARENTLY HEALTHY CAGED PARROTS OF DHAKA ZOO OF BANGLADESH. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*.
- Baker, D. M., Freeman, C. J., Wong, J. C. Y., Fogel, M. L., & Knowlton, N. (2018). Climate change promotes parasitism in a coral symbiosis. *The ISME Journal*.
- Bangert, R. L., Cho, B. R., Widders, P. R., Stauber, E. H., & Ward, A. C. S. (1988). A Survey of Aerobic Bacteria and Fungi in the Feces of Healthy Psittacine Birds. *Avian Diseases*.
- Breijyeh, Z., Jubeh, B., & Karaman, R. (2020). Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. *Molecules*.
- Christaki, E., Marcou, M., & Tofarides, A. (2020). Antimicrobial Resistance in Bacteria : Mechanisms, Evolution, and Persistence. *Journal of Molecular Evolution*.
- Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*.
- Diren Sigirci, B., Celik, B., Başaran Kahraman, B., Bagcigil, A. F., & Ak, S. (2019). Tetracycline Resistance of Enterobacteriaceae Isolated From Feces of Synanthropic Birds. *Journal of Exotic Pet Medicine*.
- Dorrestein, G. M., Buitelaar, M. N., van der Hage, M. H., & Zwart, P. (1985). Evaluation of a Bacteriological and Mycological Examination of Psittacine Birds. *Avian Diseases*.
- Fernández-Delgado, M., Sanz, V., Giner, S., Suárez, P., Contreras, M., Michelangeli, F., & García-Amado. (2016). Prevalence and Distribution of *Vibrio* spp. In Wild Aquatic Birds of the Southern Caribbean Sea, Venezuela, 2011–12. *Journal of Wildlife Diseases*.
- Finch, R. G. (Éd.). (2010). *Antibiotic and chemotherapy : Anti-infective agents and their use in therapy* (9. ed).
- Flammer, K., & Drewes, L. A. (1988). Species-Related Differences in the Incidence of Gram-Negative Bacteria Isolated from the Cloaca of Clinically Normal Psittacine Birds. *Avian Diseases*.

- Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, & Christine L. Case. (2013). *Introduction a la microbiologie*.
- Gerri, K. (2007). *Antibiotics : Mode of action and mechanisms of resistance*.
- Ghosh, D., Veeraraghavan, B., Elangovan, R., & Vivekanandan, P. (2020). Antibiotic Resistance and Epigenetics : More to It than Meets the Eye. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.
- Glunder, G. (1981). Occurrence of Enterobacteriaceae in Feces of Granivorous Passeriform Birds. *Avian Diseases*.
- Glünder, G., & Siegmann, O. (1989). Occurrence of *aeromonas hydrophila* in wild birds. *Avian Pathology*.
- Graham, C. L., & Graham, D. L. (1978). Occurrence of *Escherichia coli* in Feces of Psittacine Birds. *Avian Diseases*.
- Grimont, F., & Grimont, P. A. D. (2006). The Genus *Enterobacter*. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, & E. Stackebrandt (Éds.), *The Prokaryotes* (p. 197-214).
- Hidasi, H. W., Neto, J. H., Moraes, D. M. C., Linhares, G. F. C., de Sá Jayme, V., & Andrade, M. A. (2013). ENTEROBACTERIAL DETECTION AND *ESCHERICHIA COLI* ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN PARROTS SEIZED FROM THE ILLEGAL WILDLIFE TRADE. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*.
- Hosokawa, T., & Fukatsu, T. (2020). Relevance of microbial symbiosis to insect behavior. *Current Opinion in Insect Science*.
- Johnson, P. (s. d.). *Ecological Consequences of Parasitism / Learn Science at Scitable*. 5.
- Jones, D. M., & Nisbet, D. J. (1980). The gram negative bacterial flora of the avian gut. *Avian Pathology*.
- Leung, T. L. F., & Poulin, R. (2008). PARASITISM, COMMENSALISM, AND MUTUALISM: EXPLORING THE MANY SHADES OF SYMBIOSES. *Vie Milieu*, 10.
- Lopes, E. de S., Maciel, W. C., de Albuquerque, Á. H., & Nishi, D. (s. d.). Prevalence and Antimicrobial Resistance Profile of Enterobacteria Isolated from Psittaciformes of Illegal Wildlife Trade. *Acta Scientiae Veterinariae*.
- Luan, J.-B., Chen, W., Hasegawa, D. K., Simmons, A. M., Wintermantel, W. M., Ling, K.-S., Fei, Z., Liu, S.-S., & Douglas, A. E. (2015). Metabolic Coevolution in the Bacterial Symbiosis of Whiteflies and Related Plant Sap-Feeding Insects. *Genome Biology and Evolution*.
- Marietto-Gonçalves, G., Lima, E., Nagayoshi, B., Tonin, A., Knöbl, T., & Adreatti Filho, R. (2018). *Raoultella ornithinolytica* Isolation in Cloacal Microbiota of *Tinamus solitarius* : Preliminary Data. *Brazilian Journal of Poultry Science*.
- Martinez, J. L. (2014). General principles of antibiotic resistance in bacteria. *Drug Discovery Today: Technologies*.

- Mathis, K. A., & Bronstein, J. L. (2020). Our Current Understanding of Commensalism. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*.
- Matias, C. A. R., Pereira, I. A., Reis, E. M. F. dos, Rodrigues, D. dos P., & Siciliano, S. (2016). Frequency of zoonotic bacteria among illegally traded wild birds in Rio de Janeiro. *Brazilian Journal of Microbiology*.
- Michael Madigan & John Martinko. (2007). *Biologie des micro-organismes* (11eme éd.).
- Mikula, P., Hadrava, J., Albrecht, T., & Tryjanowski, P. (2018). Large-scale assessment of commensalistic–mutualistic associations between African birds and herbivorous mammals using internet photos. *Peer*.
- Mohr, K. I. (2016). History of Antibiotics Research. In M. Stadler & P. Dersch (Éds.), *How to Overcome the Antibiotic Crisis*.
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2017). *Mechanisms of Antibiotic Resistance*. 24.
- Munro, N. (2015). Antimicrobial Resistance. *AACN Advanced Critical Care*.
- Murray, P. R., & Baron, E. J. (Éds.). (2007). *Manual of clinical microbiology* (9th ed). ASM Press.
- Nair, R. R., Vasse, M., Wielgoss, S., Sun, L., Yu, Y.-T. N., & Velicer, G. J. (2019). Bacterial predator-prey coevolution accelerates genome evolution and selects on virulence-associated prey defences. *Nature Communications*.
- Oulhen, N., Schulz, B. J., & Carrier, T. J. (2016). English translation of Heinrich Anton de Bary's 1878 speech, 'Die Erscheinung der Symbiose' ('De la symbiose'). *Symbiosis*.
- Partridge, S. R. (2015). Resistance mechanisms in Enterobacteriaceae. *Pathology*.
- Peach, K. C., Bray, W. M., Winslow, D., Linington, P. F., & Linington, R. G. (2013). Mechanism of action-based classification of antibiotics using high-content bacterial image analysis. *Molecular BioSystems*.
- Rehman, K., Fiayyaz, F., Khurshid, M., Sabir, S., & Akash, M. S. H. (2020). Antibiotics and antimicrobial resistance : Temporal and global trends in the environment. In *Antibiotics and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment*.
- Rivera, S. N., Knight, A., & McCulloch, S. P. (2021). Surviving the Wildlife Trade in Southeast Asia : Reforming the 'Disposal' of Confiscated Live Animals under CITES. *Animals*.
- Sass, P. (2017). Antibiotics : Precious Goods in Changing Times. In P. Sass (Éd.), *Antibiotics*.
- Sekyere, J. O., & Asante, J. (2018). Emerging mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria and fungi : Advances in the era of genomics. *Future Microbiology*.
- Serpell, J. A. (2021). Commensalism or Cross-Species Adoption? A Critical Review of Theories of Wolf Domestication. *Frontiers in Veterinary Science*.

- Sørnum, H., & Sunde, M. (2001). Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Veterinary Research*.
- Teseo, S., van Zweden, J. S., Pontieri, L., Kooij, P. W., Sørensen, S. J., Wenseleers, T., Poulsen, M., Boomsma, J. J., & Sapountzis, P. (2019). The scent of symbiosis : Gut bacteria may affect social interactions in leaf-cutting ants. *Animal Behaviour*.
- Thabet, S., Souissi, N., & Khazri, (2022). Assessment of antimicrobial resistance in avian pathogenic Escherichia coli Strains isolated over four years in Tunisian poultry.
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R., & Gordon, J. I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*.
- Wenzel, M. (2020). Do we really understand how antibiotics work? *Future Microbiology*.
- André J-P., (1990). Les maladies des oiseaux de cage et de volières.
- Combes C., (2001). L'art d'être parasite, 393 p

## Résumé :

L'objectif de notre étude était d'isoler, identifier et évaluer la susceptibilité des bactéries aérobies fécales des oiseaux de cage et de volières aux antibiotiques. Les déjections de 20 oiseaux parmi 30 (67%) ont donné un résultat positif pour les bactéries à Gram négatif 73% (19/26) de ces dernières appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* avec la prédominance du genre *Enterobacter* (14/26 : 53%) et de *E. cloacae* au sein de ce genre (5/26 : 19%) suivie du genre *Escherichia* qui représente 15 % des isolats totaux (4/26) avec *E. coli* comme espèce principale (3/26 : 11%). *Raoultella ornithinolytica* représente l'espèce d'*Enterobacteriaceae* la moins isolée dans cette étude (1/26 : 4%). Notre étude révèle en outre la présence de deux autres genres bactériens à Gram négatif, *Aeromonas* et *Vibrio*. Avec une fréquence de 5/26 (19%) pour *A. hydrophila* et 2/26 (7.7%) pour *V. fluvialis*. Parmi les 26 isolats testés, 100% ont présenté une résistance vis-à-vis de l'Ampicilline et la colistine. 65% étaient résistantes à la Céfazoline. Les niveaux de résistance vis-à-vis de la Néomycine et la Tétracycline eux ce sont également avérés élevés avec 42% de résistance et pour la Néomycine et 88% de résistance pour la Tétracycline. La Ciprofloxacine semble être la molécule la plus efficace avec un taux de 11% de résistance.

## Abstract :

The objective of this study was to isolate, identify and assess the susceptibility of fecal aerobic bacteria from caged and aviary birds to antibiotics. Droppings from 20 birds out of 30 (67%) gave a positive result for Gram-negative bacteria 73% (19/26) of these belong to the family Enterobacteriaceae with the predominance of the genus Enterobacter (14/26: 53 %) and E. cloacae within this genus (5/26: 19%) followed by the genus Escherichia which represents 15% of the total isolates (4/26) with E. coli as the main species (3/26: 11%). Raoultella ornithinolytica represents the least isolated Enterobacteriaceae species in this study (1/26: 4%). Our study further reveals the presence of two other Gram-negative bacterial genera, Aeromonas and Vibrio With a frequency of 5/26 (19%) for A. hydrophila and 2/26 (7.7%) for V. fluvialis. Among the 26 isolates tested, 100% showed resistance to Ampicillin and colistin. 65% were resistant to Cefazolin. Levels of resistance to Neomycin and Tetracycline were also found to be high with 42% resistance for Neomycin and 88% resistance for Tetracycline. Ciprofloxacin seems to be the most effective molecule with a resistance rate of 11%.

## ملخص :

كان الهدف من دراستنا هو عزل وتحديد وتقييم قابلية البكتيريا البرازية الهوائية لطيور القفص والسيوجات على المضادات الحيوية

أعطى براز 20 الطيور بين 30 (67 %) نتيجة إيجابية للبكتيريا السلبية غرام 73 % (26/19) من الأخير ينتمي إلى عائلة داخل هذا الجنس (5/26: 19 %) تليها جنس E. cloacae البكتيريا المعوية مع غلبة جنس المعوية (14/26: 53 %) و Raoultella (3/26: 11 %) كنوع رئيسي (26/3: 11 %) التي تمثل 15 % من إجمالي العزلات (26/4) مع أقل أنواع البكتيريا المعوية في هذه الدراسة (1/26: 4 %). تكشف دراستنا أيضاً عن وجود نوعين Ornithinolytica و 2/26 (7.7 %) A. hydrophila مع تردد 26/5 (19 %) لـ Vibrio آخران بكتيريين مع جرام سلبي ، والهباء الجوي و V. fluvialis

من بين 26 عزلات تم اختبارها ، قدم 100 % مقاومة للأمبيسيلين والحمزة. 65 % كانوا مقاومة لسيفازولين. كما أثبتت مستويات المقاومة مقابل نيومايسين وتتراسيكلين أيضاً مع مقاومة 42 % ولليوميسين و 88 % مقاومة للنتراسيكلين. يبدو أن سيبروفلوكساسين هو الجزيء الأكثر فعالية بمعدل 11 % من المقاومة