



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie appliquée.



MEMOIRE DE MASTER
Domaine: Sciences de la nature et de la vie
Filière: Sciences biologiques
Option: Microbiologie appliquée à la santé et l'environnement

Thème:

*ANALYSE MICROBIOLOGIQUE DU NID DES HIRONDELLES NICHEURS
DANS LA VILLE DE TEBESSA ET ETUDE DU PROFIL DE LA
SENSIBILITE DES ISOLATS AUX ANTIBIOTIQUES.*

Présenté par:
Diab chahrazed
Brik khawla

Devant le jury:

Mr: Menasria Taha	MAA	Univ de Tébessa	Président
Mme: Fenghour Hind	MAA	Univ de Tébessa	Rapporteur
Mme: Benhadj Mabrouka	MAA	Univ de Tébessa	Examineur

Date de soutenance: 30 Mai 2016.

Note :..... Mention :.....

ملخص

طائر الخطاف هو طائر مهاجر بيني أعشاشه بالقرب من الأحياء السكنية و المدن من اجل تكاثره.

طائر الخطاف معرض للإصابة بعدة أنواع من الطفيليات ،فيروسات ،أعفان، بكتيريا، حيث هذه الأخيرة قادرة على إحداث حالة لا تساوي في أجنحة الطائر أو قد تسبب نقص عدد الطيور أو تسمم في الدم متفاوت الخطورة.

دراستنا هذه و المتمثلة في تحليل ميكروبيولوجي لعش طائر الخطاف المعشش في ولاية تبسة و تحديدا كلية الحقوق و العلوم السياسية في جامعة تبسة.

التحليل المنجزه أثبتت غنى العش بالعديد من أنواع الجراثيم و التي تكون غالبا ممرضة و منها: البكتيريا العنقودية، البكتيريا الأمعائية، المكورات العنقودية، الزائفة، العفان و الخمائر.

دراسة مقاومة الجراثيم المجموعة للمضادات الحيوية المستعملة أدت إلى وجود مستويات مقاومة متفاوتة الدرجات للمضادات الحيوية المستعملة.

من بين الجراثيم المستخرجة لدينا جراثيم ممرضة تم استخراجها و تعريفها و هي (*Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* et *les Aspergillus*)

هذه الجراثيم مسؤولة على إحداث إصابات مميتة أحيانا لطائر الخطاف أو أمراض متعذر شفائها.

كلمات البحث: طائر الخطاف، عش، تحاليل ميكروبيولوجية، بكتيريا عنقودية، الامعائيات، المضادات الحيوية.

Abstract

House martin is a wild and migratory bird; often breed in villages, towns and cities where it builds its nests.

House martins are highly infected by parasites, virus, molds or bacteria.

The bacterial infections are able to cause the wings asymmetric case, leading to a septicemia or reduction lives of their nestlings.

Our study consists of a microbiological analysis for the nest of house martin in the city of Tebessa, particularly in the faculty of law and political science.

This analysis, revealed the richness of house martin nest with very high numbers of germs more or less pathogenic, this germs was primary *Streptococcus sp*, after that comes *Enterobacteriaceae* (12 species in 7 genera), followed by *Staphylococcus sp* (negative coagulate), *Pseudomonas sp*, molds and finally yeasts.

The resistance profile of study and antibiotic susceptibility showed that the levels of resistance varied with degrees for all the studied germs (*Enterobacteriaceae*, *Streptococcus sp*, *Staphylococcus sp*, *Pseudomonas sp*).

We isolated and identified the pathogenic germs: *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, and *Aspergillus*. These germs can cause deadly infections of house martins or incurable anomalies.

Key words: House martin, nest, microbiological analysis, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, antibiogramme.

Résumé

Les hirondelles de fenêtre sont des oiseaux nicheurs et migrants qui installent leurs nids près des habitations en vue de s'y reproduire. Elles peuvent être attaquées par une grande variété de germes notamment les parasites, les virus, les moisissures et les bactéries. Ces dernières peuvent provoquer des asymétries au niveau des ailes et induire ainsi une réduction dans la survie des oisillons de l'hirondelle ou encore des septicémies plus ou moins graves.

Notre étude consiste à réaliser une analyse microbiologique du nid des hirondelles de fenêtre nicheurs dans la ville de Tebessa ; particulièrement la faculté de droit et de sciences politiques de l'université de Tebessa.

Les analyses effectuées ont montré la richesse du nid des hirondelles de fenêtre en gamme très variée de germes plus ou moins pathogènes qui sont principalement les *Streptococcus sp.*, puis les entérobactéries (12 espèces appartenant à 7 genres différents), suivie de *Staphylococcus sp.* à coagulase négative, les *Pseudomonas sp.*, les moisissures et enfin levures.

L'étude de résistance des isolats aux antibiotiques testés a révélé des niveaux de résistance avec des degrés variés pour tous les germes étudiés (Entérobactéries., *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Pseudomonas sp.*)

Parmi les isolats obtenus nous avons isolé et identifié des germes pathogènes notamment *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* et *Aspergillus sp.*, qui peuvent engendrer des infections parfois mortelles chez les hirondelles de fenêtre ou provoquer des anomalies incurables.

Mots clés: Hirondelles de fenêtre (*Delichon urbica*), nid, analyses microbiologiques, Streptocoque, *Enterobacteriaceae*, antibiogramme.

Dédicace

Je tiendrai à remercier mon Dieu le tout puissant qui nous a accordé la force et le temps pour accomplir ce travail.

Didier un mémoire est une joie car on a la chance de donner à tous ceux qui on aime, une chose propre à nous, le fruit de mon effort et patience, donc;

A mon Père

Un homme éternel, beau et pur. Pour ta confiance, ton amour. Merci pour tous les moments passés avec toi.

A ma mère

Pour tout ce que tu nous as donné chaque jour. Pour tes mots réconfortants quand ça n'allait pas, pour ta patience, ton dévouement et ta bienveillance.

A ma tante

Qui remplace un petit peu la place de mon père.

A mes frères

Pour avoir fait ce que je suis aujourd'hui. Même si vous ne vous en êtes pas rendu compte, j'ai beaucoup appris de vous. Désolé d'avoir été si casse-pieds !

Vous êtes mes frères et je vous aime.

A mon famille

Pour être, on peut le dire, ma deuxième famille (à Touggourt), qui fait tous les possibles pour nous arriver à se joindre.

A mes cousins Fadila, Souade et Ahlem pour toutes les choses qui vont faire pour aider moi à compléter ce travail.

A mes amis

Khawla et Imen "mes sœurs". Les bons comptes font les bons amis.

A mes autres amis, qui sont le bonheur et l'honneur de ma vie.

Aussi à mes collègues dans la microbiologie (à toutes les filles).

Je vous aime fort...

Chahrazed

Dédicace

En tout premier lieu je dis : « El Hamdouli Allah » et merci mon Dieu de m'avoir donné la force et le courage de faire mes études.

Je dédie ce mémoire à ...

A Ma très tendre mère

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. J'espère que mon Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A la mémoire de mon Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes chers frères

Fayçal, son épouse et leur petit ange Ayoub, Halim, Houcem, Anoir et Imed pour leur tendresse, leur complicité et leur présence. Que Dieu puisse vous protéger.

A mon deuxième père Saii et son épouse

Mon cher oncle, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'amour et l'affection que je porte pour vous. Mon fidèle compagnon dans les moments les plus délicats de ma vie. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A ma binôme Chahrazed

La plus belle créature, pour sa douceur et sa gentillesse. J'espère que la vie lui réserve le meilleur. Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.

A tous les membres de ma famille, petits et grands Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

A notre maître et encadreuse de mémoire : **Mm. Fenghour Hinde**, Que dieu t'assiste

Ainsi qu'à mes beaux amis

Pour leur sympathie, leur humeur et leur solidarité envers moi. Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères, sœurs sur qui je peux compter.

A tous ceux que J'aime.

Veillez, tous, accepter mes hautes salutations et considérations.

Remerciement

On tient à exprimer notre très grande considération et notre vive reconnaissance à *Mme: Fenghour Hind* pour sa patience, ses précieux conseils, le suivie et l'orientation dont nous avons pu bénéficier.

On exprime nos profondes remerciement à *Mme: Benhadj Mabrouka* et à *Mr: Menaseria Taha*, d'avoir accepté d'être parmi les membres du jury.

On remercie infiniment toutes personne qui a participé de près ou de loin directement ou indirectement à la réalisation de ce travail;

Merci à *Mme Zghib A, Achouri L et Abass S*;

Merci à *Berghiche W, Mme: Lassouad et Siouane M* (étudiantes de master Microbiologie).

Merci pour tous les enseignants de la microbiologie et de la biologie, et tous les techniciens des laboratoires et particulièrement *Aoun souade*.

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau n. 01	Les sorties effectuées et le nombre des nids trouvées	21
Tableau n. 02	L'abondance relative des isolats obtenus après l'analyse du nid des hirondelles de fenêtre	37
Tableau n. 03	Les germes obtenus après l'analyse du nid des hirondelles de fenêtre	39- 44
Tableau n. 04	La résistance relative des isolats identifiés aux antibiotiques testés	48

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure n. 01	La description de l'hirondelle de fenêtre	05
Figure n. 02	La répartition géographique des hirondelles de fenêtre en Eurasie et en Afrique	06
Figure n. 03	Hirondelle de fenêtre mange une libellule	07
Figure n. 04	La forme des œufs des hirondelles de fenêtre	08
Figure n. 05	Des poussins des hirondelles de fenêtre dans leur nid	08
Figure n. 06	La forme du nid des hirondelles de fenêtre	09
Figure n. 07	La construction du nid chez les hirondelles de fenêtre	10
Figure n. 08	<i>Pasteurella multocida</i> et <i>Escherichia coli</i> après une coloration de Gram	11
Figure n. 09	<i>Cocciella burnetii</i> agent de la fièvre Q	11
Figure n. 10	<i>Aspergillus fumigatus</i>	12
Figure n. 11	(A) <i>Aspergillus flavus</i> , (B) <i>Mucor racemosus</i> , (C) <i>Candida albicans</i> .	12
Figure n. 12	La faculté de droit et des sciences politiques (site de prélèvement)	21
Figure n. 13	Les espèces bactériennes isolées et identifiées.	45
Figure n. 14	Profil de résistance des des entérobactéries et les non Entérobactéries (<i>Aeromonas</i> , <i>Chryseomonas</i> , <i>Pasteurella</i> , <i>Stenotrophomonas</i>) aux antibiotiques testés.	46
Figure n. 15	Profil de résistances des <i>Staphylococcus sp</i> aux antibiotiques testés	49
Figure n. 16	Profil de résistance des <i>Streptococcus sp</i> aux antibiotiques testés	50
Figure n. 17	Profil de résistance aux antibiotiques d'un isolat de <i>Pseudomonas sp.</i>	51

LISTE D'ABRÉVIATION

- **ADH:** arginine dihydrolase
- **AML:** Amoxiciline,
- **AMP:** Ampicilline,
- **CAZ:** Ceftazidime,
- **CL / CS:** Colistine,
- **CX:** Céfoxitine,
- **CZ:** Cefazoline,
- **E:** Erythromycine,
- **FMAT:** Flore aérobie mésophile totale
- **GEN / GM:** Gentamycine,
- **H₂S:** thiosulfate
- **IMI:** Imipénème,
- **IND:** Indole
- **LDC:** lysine décarboxylase
- **NA:** acide nalidixique,
- **Nit:** Nitrofurantoine,
- **ODC:** ornithine décarboxylase
- **PRL:** Piperacilline,
- **PT:** Pristinamycine,
- **RIF:** Rifampicine,
- **STR:** Streptomycine,
- **TC:** Ticarcylone,
- **TDA:** Tryptophane désaminase
- **TE:** Tétracycline
- **TTC:** Ticarcilline acide clavulanique.
- **UFC:** unité formant colonie
- **UFT:** unité formant trouble
- **VA:** Vancomycine
- **VP:** Réaction de Voges-Proskauer

TABLE DES MATIÈRES

ملخص

Abstract

Résumé

Dédicaces

Remerciement

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des symboles

Introduction.....02

La synthèse bibliographique

Généralité sur l'hirondelle de fenêtre et les maladies des oiseaux migrateurs

I. Les hirondelles de fenêtre.....	05
II. Habitat et distribution de population.....	06
III. Migration et alimentation.....	07
III.1. Migration.....	07
III.2. Vol et alimentation.....	07
IV. La reproduction.....	07- 08
V. La nidification.....	09
VI. Les maladies infectieuses chez les hirondelles.....	10
VI.1. Les maladies d'origine bactériennes.....	10
VI.1.1. La cholera aviaire.....	11
VI.1.2. La fièvre Q.....	11
VI.2. Les maladies fongiques.....	12
VII. Les infections parasitaires.....	13

TABLE DES MATIÈRES

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

I.1. La méthodologie du travail.....	16
I.1. Matériels.....	16
I.2.1. Verreries.....	16
I.2.2. Les instruments métalliques et l'appareillage.....	17
II. Les milieux de cultures.....	19- 20
III. Présentation de la région d'étude.....	21
III.1. Détermination du site d'étude.....	21
III.2. Les nids dans le site d'étude.....	22
III.2.1. Les sorties effectuées pour le choix d'un nid.....	22
IV. Prélèvement et analyse du nid.....	23
IV.1. Echantillonnage.....	23
IV.2. Préparation de la suspension du sol et les dilutions.....	23
IV.3. Préparation des dilutions.....	23
IV.4. Méthodes d'analyse microbiologiques.....	24
VI.4.1. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale.....	24
IV.4.2. La recherche des entérobactéries.....	25
IV.4.3. La recherche des Salmonelles et des Shigelles.....	25
IV.4.4. La recherche des staphylocoques.....	25
IV.4.5. La recherche des <i>Staphylococcus aureus</i>	26
IV.4.6. La recherche des <i>Pseudomonas</i>	26
IV.4.7. La recherche des Coliformes totaux et les Coliformes fécaux.....	26
IV.4.8. La recherche des Streptocoques fécaux.....	27
IV.4.9. La recherche des <i>Clostridium</i> sulfite réducteurs.....	28
IV.4.10. La recherche des levures et des champignons.....	28
IV.5. Purification, conservation et identification des isolats.....	29
IV.5.1. Purification et conservation des isolats.....	29
IV.5.2. Identification.....	29
IV.5.2.1. Tests préliminaires.....	30
IV.5.2.1.1. Coloration de Gram.....	30

TABLE DES MATIÈRES

IV.5.2.1.2. Teste catalase.....	31
IV.5.2.1.3. Teste coagulase.....	31
IV.5.2.2. Identification des entérobactéries par l'API 20 E.....	32
IV.5.3 Teste d'antibiogramme.....	34

Résultats et discussions

I. Les cultures microbiennes du nid des hirondelles de fenêtre	37
I.1. Les bactéries isolées du nid des hirondelles de fenêtre	38
II. Identification des isolats	38
II.1 Sur le plan morphologique.	38
II.2. Pourcentage des espèces bactériennes isolées du nid des hirondelles de fenêtre.....	45
III. Profil de résistance aux antibiotiques des isolats bactériens.....	46
III.1. Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries et les non entérobactéries.....	46
III.2. Profil de résistance aux antibiotiques des isolats des <i>Staphylococcus sp.</i>	49
III.3. Profil de résistance aux antibiotiques des isolats des <i>Streptococcus sp.</i>	50
III.4. Profil de résistance aux antibiotiques d'un isolat de <i>Pseudomonas sp.</i>	51
Conclusion	53

Références bibliographiques

Annexes

“On est obligé à présent de regarder l'imposant spectacle de l'évolution de la vie comme un ensemble d'événements extraordinairement improbables, impossibles à prédire et tout à fait non reproductibles.”

Stephen Jay Gould,

Extrait de La Vie est belle



INTRODUCTION

Introduction

L'Algérie héberge des certaines espèces des oiseaux migrateurs. Certains d'entre eux sont sédentaires. D'autre viennent passer seulement le printemps et l'été pour s'y reproduire.

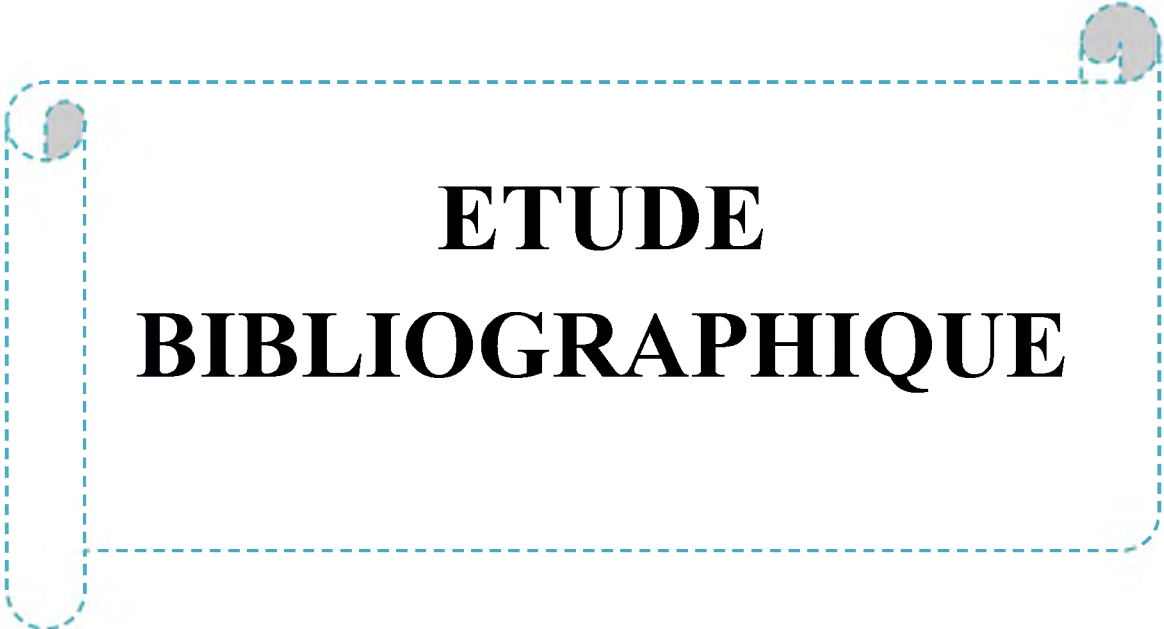
Parmi ces derniers, l'hirondelle de fenêtre (*Delichon urbica*), qui fait son apparition dès le début du mois de Mars pour se reproduire avant de repartir vers la fin du mois de Septembre. (SALOY L., *et al.* 2014) (Turner A., *et al.* 1989)

Toujours par le passé, les hirondelles ont été protégées par nos ancêtres à cause de croyances populaires faisant d'elles des oiseaux prédisant le bonheur pour les occupants à la maison ou elles ont choisi de bâter leurs nids (Turner A., *et al.* 1989) (Bejcek V., 1989). Mais ces admirables oiseaux restent très fragiles devant les contraintes imposées par l'homme moderne: pesticides, insecticides, bétonnage des espaces verts, sont là quelques exemples qui ont induit une régression alarmante des populations d'hirondelles de fenêtre (Daoudi-hacini S., 2004).

Le présent travail porte une partie bibliographique sur l'hirondelle de fenêtre et une partie expérimentale sur l'analyse microbiologique du nids des hirondelles de fenêtre par isolement et identification des bactéries et mycètes qui peuvent exister dans le nid suivie du profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries identifiées.

Le but de notre travail est de déterminé la présence ou non des germes pathogènes dans le nid de l'hirondelle de fenêtre car leur présence peut engendrer des males formations chez les oisillons notamment une asymétrie au niveau des ailes. Comme elles peuvent être à l'origine des maladies plus ou moins grave tel que *Klebsiella pneumoniae* qui peut provoquer la mort des hirondelles de fenêtre et *Enterobacter* qui engendre des septicémies et *Aspergillus flavus* qui peut engendres des mycoses (Stenkat.J., *et al.* 2013).

Ces diverses maladies peuvent être facilement transmises aux personnes qui sont en contact direct avec ces oiseaux et leurs nids.



**ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE**



**GENERALITE SUR
L'HIRONDELLE DE FENETRE ET
LES MALADIES DES OISEAUX
MIGRATEURS**

I. Les hirondelles de fenêtre

L'Hirondelle de fenêtre *Delichon urbica* Linné, 1758 est classé dans l'ordre des *Passeriformes*, sous-ordre des *Oscines* et la famille des *Hirundinidae*, qui constitue un ensemble homogène et très caractérisé. Cette espèce est caractérisée par une coloration noire bleutée sur tout son dessus, sauf le croupion qui est blanc pur, comme le dessous. La queue est courte et fourchue sans brins allongés. La tête et le croupion apparaît à peine moins volumineux. Les pattes couvertes de fines plumes blanches. Les deux sexes sont identiques (Turner A., *et al*, 1989)

L'adulte mesure de 12 à 13 cm de longueur, 26 et 29 cm d'envergure et pèse de 16 à 25 g. Sa longévité peut atteindre les 14 ans si les conditions de vie sont très favorables, et son espérance de vie moyenne est de 2,1 ans (Schmid, 1995). Le jeune de l'Hirondelle de fenêtre ne peut être confondu avec aucun autre jeune appartenant à n'importe quelle espèce d'*Hirundinidae* à cause de la couleur blanche de son croupion et de sa partie ventrale (Turner A., *et al*, 1989)

Le dessus des jeunes est brun noir foncé avec très peu de reflets métalliques; la gorge est teinte de brunâtre et la nuque est souvent marquée de blanc. Par ailleurs la queue présente des taches blanches (Turner A., *et al*, 1989)

L'hirondelle de fenêtre (figure.01) a un vol moins rapide et souvent plus voltigeant que l'hirondelle de cheminée, car elle possède un vol papillonnant entre coupé de longues glissades. Ceci vient du fait qu'elle chasse des insectes sans interrompre leur long voyage vers l'Afrique (Turner A., *et al*, 1989).

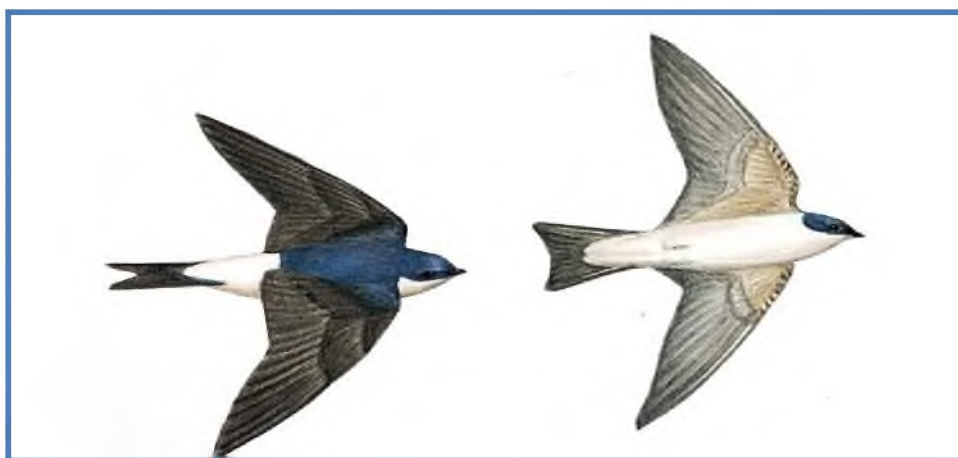


Figure.01. La description de l'hirondelle de fenêtre. Caillet E., (2013).

II. Habitat et distribution de population

Les hirondelles de fenêtre sont fréquentes dans les régions ouvertes tel que les espaces de culture, et pénètrent aussi les montagnes dont l'hauteur est de 2000 – 3000 m, et de plus dans les régions urbaine comme les villages, les villes et les cités.

Les colonies des hirondelles sont fréquemment proches aux étendues d'eau, les espaces de végétation et spécifiquement les arbres déciduaux qui offrent les insectes qui sont une excellente source d'alimentation pour les hirondelles (Bejcek V., 1989).

Les hirondelles de fenêtre peuplent toute l'Europe, l'Afrique du Nord-Ouest, l'Asie Centrale, (figure.02) toute la moitié nord de l'Asie excepté l'extrême nord de la Sibérie et contrairement à sa cousine rustique, l'Hirondelle de fenêtre ne se trouve pas en Amérique (Bejcek V., 1989)

L'Hirondelle de fenêtre (*Delichon urbica*) est une espèce migratrice, très commune dans les villes du Nord en Algérie durant le printemps et l'été. Elle arrive dans la partie septentrionale du pays en avril et repart au cours du mois de septembre (Merzouki Y., *et al*, 2013).



Figure.02. La répartition géographique des hirondelles de fenêtre en Eurasie et en Afrique. (**Jaune:** les zones de nidification / **Bleu:** les zones d'hivernage) (Wikipédia).

III. Migration et alimentation

III.1. Migration

L'aire d'hivernage des hirondelles couvre l'Afrique sub-saharienne, l'Inde et l'Asie du Sud-est. Quelques hirondelles de fenêtre (race type) hivernent en Afrique du Nord, et il y a quelque observation en hivernales en Europe. La migration s'apparait de la fin d'août au début d'octobre en Europe occidentale et centrale, plus tard dans les zones plus méridionales. La migration de retour s'effectue surtout en Avril-mai (Turner A., *et al*, 1989.)

III.2. Vol et Alimentation

Selon Turner A., *et al*, (1989). L'hirondelle de fenêtre vole souvent plus haut, au moyen à 21 mètres au-dessus du sol en période de nidification plus bas quand il pleut. Le vol est lent, le plus souvent plané que battu.

Les terrains de chasse sont souvent au milieu ouvert ou surtout par mauvais temps au-dessus de l'eau. L'hirondelle de fenêtre, s'alimente des insectes capturées à la volées à proximité des plans d'eau comme les diptères chironomes ainsi que leurs insectes prédateurs, (figure.03) les odonates et pour les adultes, elles peuvent capturées aussi des fourmis ailées (Polin., *et al*, 2010).



Figure.03. Hirondelle de fenêtre mange une libellule (Wikipédia)

IV. La reproduction

Ces oiseaux se reproduiront souvent au cours de la période qui se déroule généralement entre le mois de Mai et Août, tôt dans le sud que dans le nord. Les hirondelles pontent de 4 à 5 œufs, mais elles varient de 2 à 6, les deuxièmes couvées

comportent en général 3 ou 4 œufs, les œufs sont blanc pur, (figure.04) et mesurent au moyenne 19×13.3 mm et un poids de 1.7g, elles sont en général pondus à 24 heures d'intervalle mais peuvent prendre un jours ou plus (Turner A., *et al*, 1989.)



Figure.04. La forme des œufs des hirondelles de fenêtre (Wikipédia).

Les deux sexes partagent toutes les taches parentales, mais la femelle assure l'essentiel de l'incubation et de l'élevage. Les œufs sont incubés pendant 14 à 16 jours, dans un spectre de 11-21 jours et après l'éclosion et les poussins commencent à l'envol dès l'âge de 9 jours. (figure.05) (Turner A., *et al*, 1989).

Le taux d'éclosion est élevé, proche de 90 %. Les adultes des hirondelles de fenêtre disposent de plus grandes réserves de nourriture parce qu'elles se nourrissent en hauteur de petits insectes et leurs poussins aussi, et ils sont capables d'entrer en léthargie lors de mauvais conditions météorologiques, et peuvent même supporter quelques jours de jeune (Turner A., *et al*, 1989).



Figure.05. Des poussins des hirondelles de fenêtre dans leur nid. (Wikipédia).

V. La nidification

Les différentes espèces des hirondelles nichent dans des creux qui se situent dans les arbres, les falaises, des berges de rivière, et peuvent aussi coloniser des structures artificielles comme les trous de mur ou des nichoirs (Turner A., *et al*, 1989). Leurs propres cavités (figure.06) sont construites sous forme d'un nid de boue fixée sur une falaise, plafond d'une grotte, arbre, le dessous d'un pont, poutres d'une maison ou les murs... (Turner A., *et al*, 1989) (Bejcek V., 1989).

Les nids de boue sont sous forme d'une boule presque entièrement fermée avec un trou étroit en guise d'entrée placée vers la partie supérieure du nid (Turner A., *et al*, 1989).



Figure.06. La forme du nid des hirondelles de fenêtre (Wikipédia).

Les couples travaillent en commun pour construire leur propre nid par le recueil de préférence de boue de mares, des rives d'étangs ou de rivières qui est rejetée par les vers de terre après en avoir extrait les sucs, parce que cette terre se lie plus facilement.

Les hirondelles de fenêtres se réunissent souvent, et mettent leurs efforts en commun pour façonner les nids pour plusieurs couples. (figure.07) (Turner A., *et al*, 1989.) (Bejcek V., 1989)

L'hirondelle mélange le boue sous forme de petites boules avec le salive qui ciment le tout sans présence de paille ou de petites herbes, et après la mère donne au nid sa forme finale par le frottement de l'intérieur par ses plumes qui fait lisser toutes les aspérités de la paroi interne du nid qui pourrait blesser les futurs poussins et garnie la couche interne du nid par les plumes qui ont un grand rôle dans la protection des œufs et puis les oisillons. (Bejcek V., 1989).



Figure.07. La construction du nid chez les hirondelles de fenêtre (Bejcek V., 1989).

VI. Les maladies infectieuses chez les hirondelles

VI.1. Les maladies d'origine bactérienne

Selon, Stenkat J., *et al*, (2013) ces maladies d'origine bactériennes étaient principalement responsable de décès ou de maladie chez seulement 5 % des oiseaux migrateurs examinés. Bien que, le pourcentage augmente à 13% si l'infection est associée à une septicémie ou un traumatisme. Les infections bactériennes qui causent la mort ou les maladies chez les poussins ont une importance majeure.

Parmi les oiseaux examinés, 14 espèces des Entérobactéries ont été détectées dans toutes les familles des oiseaux et sont capables de causer des lésions ou des septicémies soit pour les adultes ou pour les poussins (Stenkat J., *et al*, 2013)

En effet, la présence des cocci Gram positifs dans l'intestin de la plupart des oiseaux testés, ne sont pas toutes liées à des maladies à l'exception des lésions inflammatoires et des pododermites dues aux *Staphylococcus sp* (Stenkat J., *et al*, 2013).

VI.1.1. La cholera aviaire

La présence de *Pasteurella multocida* qui est responsable du choléra aviaire chez les oiseaux est une coccobacille de Gram négatif. Sa pathogénicité est fortement variable dans les espèces aviaires. Surtout s'elle qui existe soit avec *Escherichia coli* ou avec *Enterobacter cloacea*; causer dans ce cas de septicémie chez les oiseaux ou leurs mortalités (Michael., D *et al*, 2007).

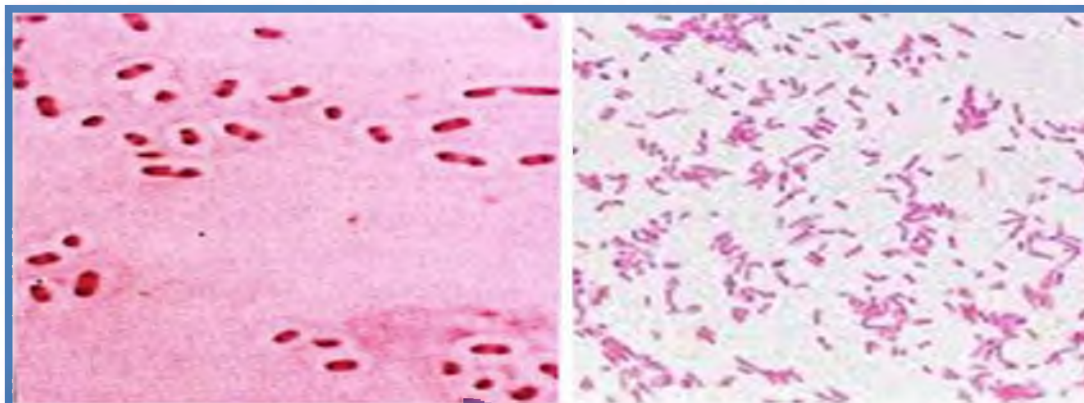


Figure.08. *Pasteurella multocida* et *Escherichia coli* après une coloration de Gram (Wikipédia)

VI.1.2. La fièvre Q

La fièvre Q est une maladie bactérienne zoonotique très répandue causée par la bactérie *Cocciella burnetii* et c'est une bactérie immobile coccobacille. Les personnes infectées souffrent de détresse respiratoire aigue après un contact avec un animal réservoir de la bactérie comme les oiseaux migrateurs notamment les hirondelles de fenêtre qui représente un agent de transmission de la maladie pour les patients en contact permanente avec l'aérosol de fiente (Debin M., 2007)

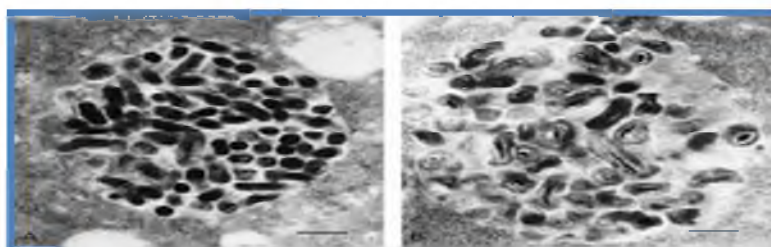


Figure.09. *Cocciella burnetii* agent de la fièvre Q (Wikipédia).

VI.2. Les maladies fongiques

Les mycoses ont été considérées parmi les causes de mortalités ou de maladies fongiques chez les oiseaux dans seulement 2 % des sujets testés, bien que leur présence comme une maladie secondaire chez les sujet débilisés était plus fréquente (Stenkat J., *et al*, 2013)

Aspergillus fumigatus, (figure.10.) isolés à partir de 5 oiseaux examinés peuvent causées des maladies chez les Hirondelles de fenêtre, les moineaux domestique, les busards souffrent de pneumonie mycosique,... De plus, chez les hirondelles de fenêtre qui avaient une infection bactérienne concomitante (Stenkat J., *et al*, 2013)

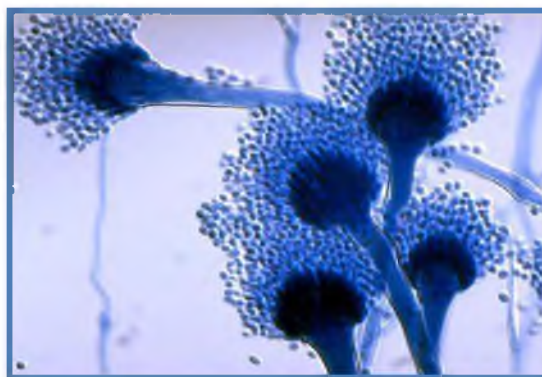


Figure.10. *Aspergillus fumigatus*. (Wkipédia)

Aspergillus flavus et *Mucor racemosus*(Figure.11.) causent la pneumonie granulomateuse. *Candida albicans* a été régulièrement trouvé dans les intestins des oiseaux et peut causer des candidoses. (Stenkat J., *et al*, 2013).

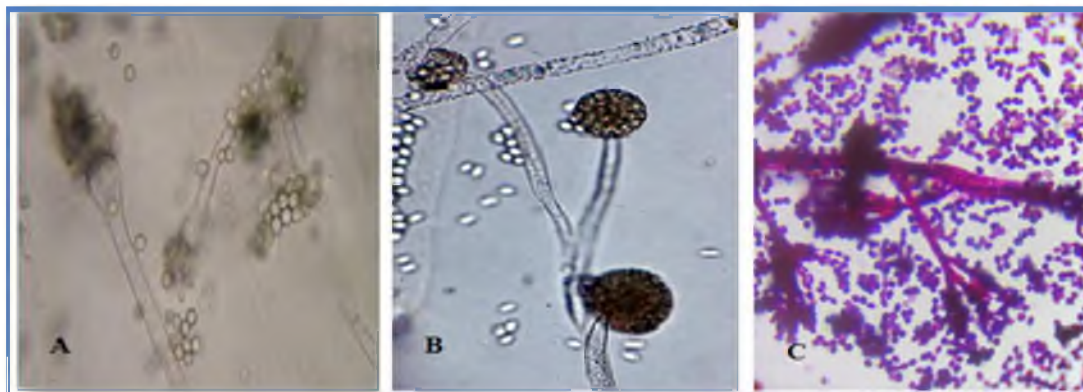


Figure.11. (A) *Aspergillus flavus*, (B) *Mucor racemosus*, (C) *Candida albicans*

VII. Les infestations parasitaires

Quelque soit le type de l'agent responsable de la maladie est endoparasite (63% des oiseaux testés) ou ectoparasite (38% des oiseaux testés), les maladies parasitaires sont les principales causes de mortalité ou d'affections parasitaires chez les oiseaux (Stenkat J., *et al*, 2013).

Notamment, chez les familles suivantes: *Fringillidae*, *Accipitridae*, *Hirundinidae*, dont le pourcentage de mortalité d'origine parasitaire représente respectivement 25, 33 et 36 % des oiseaux testés (Stenka J., *et al*, 2013).

En effet, les endoparasites sont capables de causer des inflammations ou des lésions intestinales et après une biopsie, il révèle l'existence d' *E coli* dans des lésions causées par des *Trichomonas*.

Par contre, les ectoparasites sont régulièrement présents, mais ne conduisent jamais à des pronostics vitaux des lésions ou des dommages au niveau des plumes des oiseaux (Stenkat J., *et al*, 2013).



**PARTIE
EXPERIMENTALE**



MATERIELS ET METHODES

I.1.La méthodologie du travail

L'analyse microbiologique du nid des hirondelles de fenêtre a été effectuée sur un plan bactériologique, par description morphologique (macroscopique et microscopique). Suivie d'une identification par l'API 20 E pour les entérobactéries isolées et sur un plan mycologique par isolement et identification microscopique des moisissures et des levures contenus dans les nids des hirondelles.

Un test d'antibiogramme pour les isolats identifiés pour déterminer leur sensibilité ou leur résistance aux antibiotiques sélectionnés

I.2.Matériels

I.2.1. Verreries

- ❖ Bêchers de 50 ml, 250 ml, 500 ml, 1000ml;
- ❖ Erlenmeyer;
- ❖ Epruvettes graduées;
- ❖ Fioles jaugées;
- ❖ Flacons en verres de 200 ou 250 ml, avec bouchon à vis;
- ❖ Tubes à essais;
- ❖ Pipettes graduées de 1ml, 2 ml, 10 ml, 25 ml;
- ❖ Lames;
- ❖ Lamelles.

Le matériel en verre doit être après un lavage propre puis un séchage recouvert par du papier Aluminium et stériliser au four pasteur pendant 30 minutes à température de 121 °C.

I.2.2. Les instruments métalliques et l'appareillage

- ❖ Anses de platines;
- ❖ Pince;
- ❖ Baro magnétique;
- ❖ Portoirs;
- ❖ Micropipettes de 100 μ l, 1000 μ l;
- ❖ Cônes (embouts);
- ❖ Spatules;
- ❖ Pissette;
- ❖ Mortier;
- ❖ Tamis de 2 mm.

Appareillage

- ✚ Autoclave.
- ✚ Microscope optique marque (OPTICA).
- ✚ Balance de précision, capacité 620g avec précision de 0,01g marque (*KERN EW*).
- ✚ Agitateur marque (*Lab Tech®*- ISO 9001).
- ✚ Bec benzène.
- ✚ Bain-marie marque (memmert).
- ✚ Four pasteur.
- ✚ Centrifugeuse.
- ✚ Etuves réglées à: 30, 37°C, et 44°C marque (memmert).
- ✚ Loupe binoculaire marque 1000(OPTIKA/P-180).

- + Frigo (LG).
- + pH mètre.
- + Appareille photo numérique Canon.

Autre produits

API 20 E: une galerie d'identification pour les Entérobactéries selon des caractères biochimiques testés.

Les disques d'antibiotiques

Famille/groupe d'antibiotique		Dénomination commune
Bêta-lactamines	Amino-pénicilline	Ampicilline
		Amoxicilline
	Carboxy-pénicilline	Ticarcilline
		Ticarcilline-ac. Clavulanique
	Uréidopénicilline	Pipéracilline
	Carbapenem	Imipénème
	Céphalosporine	Céfoxitine
		Céfazoline
		Céftazidime
	Aminosides	
		Gentamycine
Tétracycline		Tétracycline
Macrolide	Macrolide	Erythromycine
	Streptogramines	Pristinamycine
Quinolones		Acide nalidixique
Polypeptide		Colistine
Glycopeptide		Vancomycine
Divers		Rifampicine
		Nitrofurantoïne

II. Les milieux de cultures

Pour identifier les germes bactériens isolés à partir du nid des hirondelles de fenêtre nous avons utilisé des milieux sélectifs suivants

- ✓ **La gélose PCA : (Plate Count Agar)**, est préconisée pour le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale.
- ✓ **La gélose Mac conkey** : est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des entérobactéries dans les eaux, les produits biologiques d'origine humaine ou animale.
- ✓ **Le milieu EMB**,(éosine bleu de méthylène) est un milieu sélectif pour le dénombrement et l'isolement des bactéries Gram négatives
- ✓ **La gélose Salmonella-Shigella (SS)** est utilisée pour l'isolement des salmonelles et des Shigelles dans les produits alimentaires ainsi que dans les autres prélèvements (d'origine animale, par exemple) susceptibles d'en contenir, après enrichissement préalable.
- ✓ **La gélose Hektoen** est un milieu d'isolement des *Salmonelles* et des *Shigelles*, bien que de nombreuses bactéries à Gram négatif puissent se développer sur ce milieu. L'identification d'entérobactéries pathogènes repose sur la non utilisation des glucides présents dans le milieu.
- ✓ **La gélose Chapman –Mannitol Salt Agar** : est un milieu sélectif pour l'isolement et la numération des Staphylocoque, il permet également de différencier les espèces fermentant le mannitol de celles qui ne le fermentent pas.
- ✓ **La gélose Baird-Parker** permet la détection et numération directes des *staphylococcus aureus*.
- ✓ **Le bouillon cœur-cerveille** milieu nutritif tamponné et polyvalent riche, utilisé pour la culture d'une très grande variété de microorganismes aérobies ou anaérobies, incluant levures et moisissures. Il convient aussi pour la mise en évidence de la staphylocoagulase et la DNase des *Staphylococcus*

- ✓ **La gélose cétrimide**, est un milieu sélectif destiné pour l'isolement et le dénombrement de *Pseudomonas* dans les différents produits d'origine animale.
- ✓ **La gélose sabouraud** : est recommandé pour l'isolement des levures et moisissures.
- ✓ **La gélose viande-foie** est utilisée pour le dénombrement des spores de *Clostridium* sulfite réducteurs dans les eaux, les produits laitiers et les autres produits alimentaires.
- ✓ **Le Bouillon de Rothe** est utilisé pour la confirmation lors des recherches et dénombrements des Streptocoques fécaux dans les eaux d'alimentation et résiduaires, les produits surgelés et les autres denrées alimentaires par la méthode du nombre le plus probable. La recherche s'effectue en 2 étapes, un test présomptif en bouillon de Rothe et transfert des cultures positives pour confirmation sur milieu de Litsky.
- ✓ **Le Milieu de Litsky** est utilisé pour la confirmation lors des recherches et dénombrements des Streptocoques fécaux.
- ✓ **Le milieu VRBL** est du type sélectif c'est-à-dire qu'il sélectionne des micro-organismes pouvant ainsi bénéficier des facteurs de croissance. La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (V.R.B.L.) est utilisée pour la recherche et le dénombrement des bactéries Coliformes (*Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*).
- ✓ **Le milieu Mueller Hinton** : est reconnue comme étant le milieu de référence pour l'étude de la sensibilité des germes aux antibiotiques c.-à-d. une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard
- ✓ **La gélose nutritive** est utilisée dans le cadre de la microbiologie alimentaire pour la culture d'une grande variété de microorganismes, en vue de la purification nécessaire et préalable aux étapes d'identification. Elle convient pour les germes ne présentant pas d'exigences particulières.

III. Présentation de la région d'étude

La wilaya de Tébessa (Figure.12.) est située à l'extrême est du pays, limitrophe de la Tunisie. Elle est délimitée au nord par la wilaya de Souk Ahras, à l'est par Tunisie, l'ouest par les wilayas de Khenchela et Oum Elbouaghi et au sud par la wilaya d'Elouad.

La wilaya de Tébessa est une zone de transition météorologique et se distingue par quatre étages bioclimatiques (subhumide, semi-aride, subaride, aride ou saharien doux). Elle possède depuis longtemps une double vocation minières (exploitation des mines de fer Ouenza et Boukhadra et des gisements de phosphate de DJEBEL ONK) et agropastorale (y compris l'agriculture en montagne).

Elle est caractérisée par son emplacement dans la zone frontalière des Hauts Plateaux est du pays. La wilaya de Tébessa englobe 28 communes, dont dix (10) frontalières. (figure.12.)

Le cadre d'étude est la ville de Tébessa et la zone d'échantillonnage est la faculté de droit et des sciences politiques, dans laquelle s'est déroulée la présente étude.



Figure.12. La faculté de droit et des sciences politiques. (Site de prélèvement).

III.1.Détermination du site d'étude

Le choix du site d'étude a été effectué selon la disponibilité des nids au niveau des facultés de l'université de Tébessa. En effet, la faculté de droit a présenté un nombre assez élevé pour la sélectionné dans la présente étude.

III.2. Les nids dans le site d'étude

III.2.1. Les sorties effectuées pour le choix d'un nid

Tableau.01. Les sorties effectuées et le nombre des nids trouvés.

Date de sortie	Le lieu de sortie	Le nombre des nids trouvés (voir annexe)
Le 02. 02. 2016 10h46 Fin de sortie 10h57	La faculté de la langue française	1 ^{er} étage: 3 nids intacts 1 nid cassé. 2 ^{ème} étage: 5 nids cassés 5 nids intacts
Totale		8 nids intacts
Le 11. 02. 2016 11h43 Fin de sortie 12h15	La faculté de langue Arabe La faculté de droit et des sciences politiques	1 ^{er} étage: 4 nids intacts 6 nids cassés 2 ^{ème} étage: 20 nids intacts 12 nids cassés 25 nids intacts 3 nids cassés
Totale		49 nids intacts

IV. Prélèvement et analyse du nid

IV.1. Echantillonnage

Le sol du nid de l'hirondelle de fenêtre est prélevé du site d'étude après avoir sélectionnée aléatoirement un nid parmi les 25 nids qui forment les colonies d'hirondelles de fenêtres au niveau du site d'étude.

Le prélèvement est déposé dans un sac stérile et transporté au laboratoire pour effectuer les analyses microbiologiques.

IV.2. Préparation de la suspension du sol et les dilutions

Premièrement, le broyage du nid a été effectué jusqu'à l'obtention d'une terre fine puis passé la terre dans un tamis de 0.25 mm de diamètre pour éliminer toutes les débris notamment, les plumes ...etc

Puis, 10 g de terre fine ont été déposés dans un bécher stérile et 100 ml d'eau physiologique stérile ont été rajoutés et puis laissés décanter pour procéder ensuite à des dilutions jusqu'à l'ordre de 10^{-3} .

IV.3. Préparation des dilutions

Pour l'échantillon du sol, il convient de pratiquer plusieurs dilutions. Ainsi, après une homogénéisation de la solution par l'agitateur pendant une minute. Les dilutions allant de 10^{-1} jusqu'à 10^{-3} sont préparées avec l'eau physiologique stérile qui est distribuée stérilement dans les tubes à raison de 9 ml par tube.

A l'aide d'une pipette graduée stérile de 1 ml, on prélève 1 ml de la suspension mère et l'introduit dans le premier tube;

A partir de cette dilution 10^{-1} , prélevée par une autre pipette graduée stérile 1 ml de la dilution est déposée dans le deuxième tube qui représente la dilution 10^{-2} et on fait la même chose pour le troisième tube pour obtenir la dilution 10^{-3} .

Enfin, ces dilutions vont servir pour l'ensemencement des différents milieux de cultures qu'ils soient sélectifs ou non, solide ou liquide.

IV.4. Méthodes d'analyse microbiologique

Les analyses microbiologiques effectués sur l'échantillon du sol à pour but d'isoler et dénombrer les germes totaux, coliformes fécaux, Entérobactéries, coliformes totaux, streptocoques fécaux, *Clostridium* sulfito-réducteurs, les Staphylocoques, les *Pseudomonas*, les salmonelles et les shigelles, les levures et les champignons microscopiques.

En effet, l'analyse bactériologique n'est pas seulement qualitative mais aussi quantitative par le calcul du nombre d'unité formant colonie (UFC) et des unités formant trouble(UFT) dans le cas des streptocoques.

IV.4.1.Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale

▪ L'ensemencement

- Prélever par pipette graduée ou la micropipette 1 ml de la suspension mère et de chaque dilution et la déposer dans les boites de Pétri correspondantes a raison de 2 boites par dilution;
- Verser 15 ml de la gélose PCA en surfusion dans les boites de Pétri;
- Faire des mouvements de rotation ou de forme de 8 pour homogénéiser la gélose avec l'inoculum;
- Incuber les boites ensemencées dans l'étuve réglée à 30°C pendant 24 heures à 48 heures.

▪ La lecture

Le dénombrement de colonies apparut dans les boites de Pétri après incubation est multiplié par l'inverse du rapport de la dilution choisis pour les calculs.

Le nombre de germes totaux retenu est la moyenne arithmétique des nombres de germes trouvés pour les différentes dilutions. Les résultats sont exprimés en nombre d'unités formant colonies (U.F.C) par millilitre.

IV.4.2. La recherche des entérobactéries

- **L'ensemencement**

-Prélever par la pipette 0,1 ml de la suspension et des dilutions et l'étaler à la surface des milieux Mac Conkey, EMB, préalablement couler dans les boîtes de Pétri,

-Incuber les boîtes 24 h à 48 h à température 37°C.

- **La lecture**

-Le dénombrement des colonies s'effectue sur celles apparue sur les milieux de cultures,

-Sur milieu EMB ou Mac Conkey la fermentation du lactose se traduit par le virage du pourpre de Bromocrésol au jaune ; les colonies lactose + sont jaunes alors que les colonies lactose – sont bleues violacées.

IV.4.3. La recherche des Salmonelles et des Shigelles

- **L'ensemencement**

-Se fait par ensemencement à la surface du milieu SS et Hektoen et incubation 24h à 48 h à température 37°C.

- **La lecture**

Les *Salmonella* qui ne fermentent pas le lactose présentent des colonies incolores, transparentes, avec ou sans centre noir du à la production d'H₂S.

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

IV.4.4. La recherche des staphylocoques

- **L'ensemencement**

-A partir des dilutions préalablement préparées est ensemencé le milieu de Chapman à la surface à raison de 2 boîtes par dilution et incuber à 37°C pendant 24h à 48h.

- **La lecture**

Après incubation repérer les colonies suspectes : les *Staphylocoques* se présentent sur milieu Chapman sous forme de colonie de taille moyenne, et souvent entourée d'un halo jaune dû à l'utilisation du mannitol.

IV.4.5. La recherche des *Staphylococcus aureus*

- **L'ensemencement**

La recherche et le dénombrement de *S.aureus* sur le milieu gélosé de Baird Parker dans la masse par l'inoculation de 1 ml des dilutions.

- **La lecture**

Les *staphylococcus aureus* sont caractérisés par la formation de colonies grises stable et bien visible ou noires entourées d'un halo opaque due à l'utilisation de tellurite de potassium.

IV.4.6. La recherche des *Pseudomonas*

- **L'ensemencement**

-0,1 ml des dilutions est étalé à la surface du milieu cétrimide préalablement couler dans les boîtes de Pétri puis incubé 24 à 48 heures à température 37°C.

- **La lecture**

Les colonies de *Pseudomonas* ont un diamètre de 1,5 à 2 mm, un contour circulaire, une surface lisse et brillante, une couleur blanc crème ou plus ou moins jaunâtre, un aspect muqueux et sont par fois déjà accompagnées d'une production de pigment bleu-vert.

IV.4.7. La recherche des Coliformes totaux et les Coliformes fécaux

- **L'ensemencement**

-Le milieu sélectif VRBL pour l'isolement des coliformes totaux et fécaux est ensemencé dans la masse par l'introduction dans les boîtes de pétri de 1 ml de chaque dilution. Pour chaque dilution 4 boîtes du milieu sont ensemencées.

-Puis verser le milieu préalablement fondue et refroidit à 45°C sur l'inoculum et homogénéiser.

-Laisser refroidir puis incuber 6 boîtes de Pétri à température de 37°C pour les coliformes totaux et les autres 6 boîtes sont incubées à température 44°C pour les coliformes fécaux.

- **La lecture**

-Sont considérées comme caractéristiques, les colonies rouges de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm, après 24 heures d'incubation

IV.4.8.La recherche des Streptocoques fécaux

- **L'ensemencement**

-La recherche de ces germes est basée sur l'ensemencement d'un milieu liquide qui est le bouillon de Roth par l'introduction dans des tubes contenant 10 ml de bouillon Rothe de 1 ml de dilution.

-Ce milieu représente un teste présomptif qui sera suivie par un teste confirmatif sur le bouillon de litsky.

- Incuber les tubes à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **La lecture**

-Les tubes positifs présentant un trouble seront par la suite, soumis à un teste confirmatif sur bouillon Litsky à raison de trois tubes de Litsky pour chaque tube positif de Rothe.

-Incuber 24 à 48 heures à 37°C.

-La présence des streptocoques fécaux signifiés par la turbidité du milieu avec ou sans des précipitations violettes au fond des tubes.

IV.4.9. La recherche des *Clostridium* sulfite réducteurs

- **L'ensemencement**

-La recherche des *Clostridium sulfite réducteurs* s'effectue sur la gélose VF (viande-fois) ensemencée dans la masse par 1 ml des dilutions dans des tubes remplis au deux tiers par le milieu puis introduire l'inoculum enfin 0,2 ml d'alun de fer et 0,5 ml de sulfite de sodium sont ajoutés dans chaque tube.

-Bien homogénéiser les tubes avant leur solidification et laisser refroidir sur une surface froide et plate.

-Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **La lecture**

-Les colonies de *Clostridium sulfite réducteur* donc les spores apparaissent sous formes de colonies noir entourés ou non d'un halo clair dans les tubes.

IV.4.10. La recherche des levures et des champignons

- **L'ensemencement**

-La recherche des levures et des mycètes se fait sur le milieu de Sabouraud préalablement couler et refroidit puis ensemencés à la surface par l'étalement de 0,1 ml de chaque dilution et à raison de 2 boites par dilution.

-Incuber à la température ambiante de 20 à 25°C pendant 7 jours.

- **La lecture**

-L'apparition des colonies de levures et des champignons sur le milieu sous différents aspects et couleurs fait appel à la présence des ces derniers dans la terre fine du nid.

IV.5. Purification, conservation et identification des isolats

IV.5.1. Purification et conservation des isolats

A pour but de l'obtention d'une culture contient des colonies pure et identiques sur le plan macroscopiques et morphologique (même couleur, taille, aspect...) et aussi même aspect microscopiques (formes des cellules identiques et même type de *Gram*) (Figarella. J *et al* .2007)

On fait la purification par le repiquage des colonies désiré à identifier sur le même milieu de première culture après avoir fait une coloration de Gram pour conformer le type des colonies à prendre (Figarella. J *et al* .2007)

Après une incubation on obtient une culture similaire de la colonie repiquée et contient des colonies bien isolées et un de ces colonies va subir à une autre coloration de Gram puis ensemercer sur une gélose nutritif sous forme inclinée dans un tube à essais, incubé 24 h à 37° C puis conserver au réfrigérateur à -4 ° C (Delarras. C .2007)

Les isolats conserver dans les tubes qui portent des étiquettes (date et numéro de chaque colonie) vont utiliser pour l'identification des isolats et l'application du teste de l'antibiogramme (Delarras. C .2007)

IV.5.2. Identification

L'identification des isolats se déroule sur deux étapes premièrement on fait des testes préliminaires qui vont nous rapprocher à connaître des caractères générales pour la bactérie identifier puis l'identification proprement dit par les API spécifiques à chaque types de bactéries (API 20 E pour les entérobactéries, API staph, API strepto, ...) (Tortora J., *et al* .2003)

IV.5.2.1. Teste préliminaires

IV.5.2.1.1. Coloration de Gram

+ Principe

Le principe de la coloration de Gram repose sur les différences de composition chimique de la paroi des bactéries (1 à 2.5 % des lipides chez les bactéries à Gram positif, 10 à 22% chez Gram négatif) (Tortora J., *et al.* 2003)

+ Technique

- On dépose sur une lame propre une goutte d'une suspension bactérienne;
- Faire sécher la lame par passage sur la flamme du bec benzène (fait un frotti);
- Déposer la lame sur le support au-dessus de L'évier;
- Poser des gouttes du colorant violet de Gentiane sur le frotti, laisser agir pendant 1 minute, puis rincer la lame parfaitement par l'eau;
- Recouvrir la lame une autre fois par le lugol et laisser agir une minute puis rincer à l'eau;
- Tenir la lame inclinée et faire couler pendant 30 secondes de l'alcool à 95° jusqu'à écoulement incolore, rincer immédiatement à l'eau;
- Recolorer avec de la fuchsine pendant 1 minutes ; rincer à l'eau et égoutter ;
- Egoutter entre 2 morceaux de papier buvard et laisser sécher;
- Observez avec une goutte d'huile à immersion à l'objectif X 100.

+ Observation sous microscope

Sous microscope on peut observer deux types de colorant, celui de couleur rose représente les bactéries de Gram négatives et qui sont de couleur violet sont de Gram positive. Mais on observe des cellules bactériennes de différentes formes (bacille, cocobacille, cocci, diplocoques,.....).

IV.5.2.1.2. Teste catalase

+ Principe

L'enzyme du catalase catalyse la réaction de la décomposition de peroxyde d'oxygène (H_2O_2 ou l'eau oxygénée) en eau (H_2O) et oxygène (O_2). Elle est indispensable pour les strictement anaérobies pour empêcher l'accumulation de l' H_2O_2 dans la bactérie et qui est toxique pour cette catégorie des bactéries. (Madian M., *et al.* 2007).

+ Technique

- Déposer sur une lame propre et sèche une goutte d'eau oxygénée à 10 volume;
- On ajoute à l'aide d'une pipette pasteur une colonie bactérienne sur la goutte de l' H_2O_2 ;
- Bien mélanger la colonie avec la goutte
- Puis observer le dégagement ou non des bulles gazeuses.

+ Résultats

L'apparition des bulles gazeuses sur la lame signe la présence du catalase et que la bactérie est catalase positif, mais l'absence des bulles gazeuses signe l'absence du catalase et donc la bactérie est catalase négatif.

IV.5.2.1.3. Teste coagulase

+ Principe

La réalisation de cette teste a pour but de détecter la présence des *Staphylococcus aureus* et de confirmer leur pathogénicité par la recherche de la présence du coagulase.

Les *Staphylococcus aureus* produise deux types de coagulase : la coagulase libre extracellulaire qui réagit avec la prothrombine du plasma, et la coagulase liée, localisé sur la paroi bactérienne qui réagit avec le fibrinogène plasmatique pour produire un coagulum (NFV 08-057-1. 2007)

Technique

- Dans des tubes stériles déposer 0.5 ml du plasma de lapin;
- Ajouter 0.5 ml d'une culture bactérienne jeune précédemment ensemencer sur bouillon cœur-cervellé et incubé 24 h à 37°C;
- Ensemencer deux tubes pour chaque tube de cœur-cervellé;
- Incuber la moitié des nombre des tubes ensemencé à température ambiante et l'autre moitié à température de 37°C.

La lecture

La lecture se commence après 30 minutes, 3 heures et jusqu'à 24 heures, la présence de coagulase libre se manifeste par l'apparition d'un coagulum résulte après la coagulation du plasma dans les tubes incubé à 37° C, et la coagulase liée apparue par la formation d'un coagulum dans les tubes incubé à température ambiante et on dit que les isolats sont des *Staphylococcus aureus*.

L'absence du coagulum signe l'absence de l'enzyme coagulase et donc les isolats ne sont pas des *Staphylococcus aureus*.

IV.5.2.2. Identification des entérobactéries par l'API 20 E

L'identification biochimique des isolats est réalisée par la galerie API 20 E (biomérieux). C'est une version miniaturisée et standardisée, elle se présente sous forme de cupule prête à l'emploi contenant de substrat lyophilisé nécessaire aux différents tests biochimiques et destinée à l'identification des différentes espèces apparentant au groupe des entérobactéries.(Géraldine P., Delphine R. 2003)

Principe

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

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau (voir Annexe) de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du logiciel d'identification. (Marchal N., 1992).

Mode opératoire

- Remplir par l'eau distillée stérile les alvéoles du support ;
- Préparer une suspension bactérienne dense dans 5ml d'eau physiologique stérile à partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 h sur un milieu non sélectif;
- Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, puis appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles d'air :
- Pour les caractères soulignés ADH, LDC, ODC et H₂S, ensemercer le tubule par la suspension et la cupule par le vaseline de paraffine stérile ;
- Pour les caractères encadrés ce qui est le cas des

CIT	VP	GEL
-----	----	-----

 tests : ensemercer le tubule et la cupule par la suspension ;
- Pour les caractères non encadrés, non soulignés ensemercer uniquement le tubule par la suspension ;
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 18 à 24 heures.

La lecture

La lecture de la galerie API doit se faire en se référant au tableau de la lecture (voire annexe)

- **Test TDA** : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- **Test IND** : ajouter une goutte de réactif JAMES (Kovacs). Un halo de couleur rose apparue à la surface de la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- **Test V P** : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

Logiciels d'identification

Il est présenté sous la forme d'une feuille de calcul fonctionnant sous Windows avec Microsoft Excel (voir Annexe). Cette feuille de calcul est basée sur des tableaux de pourcentages, en particulier ceux fournis par bioMérieux. Elle calcule en fonction du profil de caractères introduit (positive + ou négative -), la probabilité de chaque taxon.

IV.5.3 Teste d'antibiogramme

Principe

La méthode des disques consiste à déposer à la surface de la gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencées par écouvillonnage avec une suspension bactérienne de 0.5 Mc Farland, des disques imprégnés d'une dose connue des déférents antibiotiques. Chaque diffuse au sein de la gélose à partir de disque et y détermine des concentrations inversement proportionnelles à la distance du disque. (Burnichon N., Texier A. 2003).

Après incubation à 37°C pendant 24 heures, chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne. La multiplication des bactéries s'arrête là où existe dans la gélose, une concentration d'antibiotique égale à la concentration minimale inhibitrice (CMI). Les caractéristiques de sensibilité ou de résistance de la souche en seront déduites selon le diamètre mesuré de la zone sur boîte. (SFM. 2010).

Mode opératoire

La technique par écouvillonnage consiste à :

- Préparer une suspension bactérienne homogène à partir d'une seule colonie pure et jeune ;
- Tremper l'écouvillon dans la suspension et l'essorer sur les bords du tube à essai puis ensemencé les boîtes de façon à croiser les striés (3 répétitions) ;
- Laisser la boîte sécher pendant 10 minutes;
- Les disques des antibiotiques à tester, sont déposés à la surface de la boîte ensemencée. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque.

-Après incubation à 37 C° pendant 18 heures, les disques s'entourent ou non de zone d'inhibition circulaire correspondant à une absence de culture.

-Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe. (SFM. 2010).

-Les disques d'antibiotiques sont répartis sur deux boites de pétri (Voir annexe).

Lecture

L'interprétation des isolats (sensibles, intermédiaires ou résistants) se fait selon les diamètres critiques. Chaque disque a une concentration minimal inhibitrice, caractérisé par un diamètre d'inhibition, la comparaison des diamètres mesurés autour des disques disposés et celle recommandés permettra de détecter le phénotype sensible (S), intermédiaire (I), et résistant (R) :

- Diamètre d'inhibition supérieur ou égal le diamètre de la concentration critique inférieure, la souche est dite sensible (S) ;
- Diamètre d'inhibition compris entre les deux diamètres des concentrations critiques, la souche est dite intermédiaire (I) ;
- Diamètre d'inhibition inférieur ou égal au diamètre de la concentration critique supérieure, la souche est donc dite résistante (R). (SFM. 2010).



RESULTATS ET DISCUSSION

I. Les cultures microbiennes du nid des hirondelles de fenêtre

Les résultats de dénombrement des germes du nid des hirondelles de fenêtre nous ont permis d'isoler une grande variété des microorganismes appartenant aux différents familles dont les plus abondants sont les *Streptococcaceae* (110×10^3 UFT/gram), suivie par les *Entérobactériaceae* (66.2×10^3 UFC/gram), par la suite viennent les levures et les champignons avec un nombre des germes de 12×10^3 UFC par gram.

Suivie dans l'ordre par les flores aérobie mésophile totale (65×10^2 UFC/gram), les *Staphylococcaceae* (30.5×10^2 UFC/gram), Les *Clostridium* sulfitoréducteurs (400UFC/gram), enfin les *Pseudomonadaceae* par un nombre de 120 UFC/gram.

I.1. Les bactéries isolées du nid des hirondelles de fenêtre

L'analyse du nid des hirondelles de fenêtre a révélé que les *Streptococcus fécaux sp* sont les plus dominantes avec une prévalence de résistance de 55.5%, suivie dans l'ordre par les Entérobactéries, avec une prévalence de résistance de 33.38%, puis les levures et les moisissures (prévalence de résistance (6.05%), les flores mésophile aérobie totale (prévalence de résistance de 3.27%), les *Staphylococcus sp* (prévalence de résistance de 1.54%), enfin les Clostridiums sulfitoréducteurs (prévalence de résistance de 0.20%).

Par contre les *Pseudomonas sp* sont les moins abondantes avec une prévalence de résistance de 0.06%.

II. Identification des isolats

Les souches obtenues sont identifiés à partir des caractères biochimiques après une identification primaire de leurs caractères morphologiques (macroscopique et microscopique).

II.1. Sur le plan morphologique

L'identification des isolats repose sur des critères macroscopiques des colonies par la détermination de la forme des colonies (ronde, irrégulières, envahissante, bombée, plate....), la taille (petite colonie, moyenne, grosse colonies...), la surface (lisse, rugueuses....), la couleur, et autre critères comme l'opacité, consistance, l'odeur...etc. (Prescott L., *et al.*2003).

II.2. Pourcentages des espèces bactériennes isolées du nid des hirondelles de fenêtre

Les résultats d'identification des isolats du nid analysé (voir annexe), ont montré la présence de 12 espèces d'entérobactéries appartenant à 07 genres différents: *Serratia odorifera* 1, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella terrigena*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Enterobacter cloacea*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter amnigenus*, *citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgris*, *Cedacea lapagei*.

En effet, l'espèce *Serratia odorifera* 1, est la plus dominante avec une abondance de 18.75 %, suivie d'*Entérobacter cloacea* avec une abondance relative de 15.625 %. De même, ces espèces peuvent provoquer chez les oiseaux migrateurs des infections notamment des septicémies (Stenkat J., et al.2013).

Par ailleurs, le genre *Enterobacter* est le plus dominant par le nombre d'espèce par rapport aux autres genres. En effet, nous avons pu isoler 4 espèces d'*Enterobacter* et 3 espèces de *Klebsiella*, Alors que les autres genres n'ont présenté qu'une seule espèce. Également nous avons marqué la présence d'une espèce appartenant aux genres *Aeromonas*, *Chryseomonas*, *Pasteurella*, *Stenotrophomonas*.

III. Profil de résistance aux antibiotiques des isolats bactériens

III.1. Profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries et les non Entérobactéries (*Aeromonas*, *Chryseomonas*, *Pasteurella*, *Stenotrophomonas*)

Les isolats ont montrés une résistance vis-à-vis de colistine, alors que pour la ceftazidime, l'amoxiciline, l'ampicilline et céfoxitine un nombre moindre d'isolats a montré une résistance vis-à-vis de ces antibiotiques par rapport à la colistine.

Alors que pour la piperacilline, acide nalidixique, tetracycline, rifampicine et cefazoline un nombre moindre d'isolats a marqué une sensibilité vis-à-vis de ces antibiotiques pour la piperacilline (15 isolats), pour l'acide nalidixique et la tetracycline (14 isolats). par rapport à la nitrofurantoine (16 isolats). (SFM. 2010), (Burnichon N., Texier A. 2003).

Les cas intermédiaires ont été marqués dans le cas de l'amoxicilline, céfazoline, céfoxitine, cefazoline, acide nalidixique, rifampicine et tetracycline avec des diamètres d'intermédiaire allant de 09 mm à 20 mm. (SFM. 2010), (Burnichon N., Texier A. 2003).

L'analyse du tableau a montré que 100% des isolats sont résistantes à la colistine (CL), et à la nitrofurantoïne (Nit). Également 93.75% des isolats sont résistantes à la ceftazidime (CAZ), 87.5% sont résistantes à l'ampicilline (AMP), 75% sont résistantes à l'amoxicilline (AML), 68.75 % sont résistantes à la céfoxitine (CX /FOX), 50% des isolats sont résistantes à la rifampicine (RIF) et 37.5% sont résistantes à la céfazoline (CZ). Par contre, seulement 6.25% des isolats ont marquées une résistance vis-à-vis de l'acide nalidixique (NA) et la piperacilline (PRL/ PIP). (SFM. 2010), (Burnichon N., Texier A. 2003).

III.2. Profil de résistance aux antibiotiques des isolats des *Staphylococcus sp*

La résistance des isolats des Staphylocoques coagulase négative a été signalée vis-à-vis de l'antibiotique céfoxitine (CX/FOX). Par contre, elle a montrée une sensibilité vis-à-vis des autres Antibiotiques testés notamment Erythromycine (E), Pipéracilline (PIP/PRL) et Vancomycine (VA) avec des diamètres d'inhibition variant entre 23 mm et 33 mm pour l'Erythromycine, 22 mm et 26 mm pour le Pipéracilline et enfin 20 mm et 22 mm pour le Vancomycine. De plus, aucun cas intermédiaire n'est signalé (voir Figure.15.). (SFM. 2010), (Burnichon N., Texier A. 2003).

III.3. Profil de résistance aux antibiotiques des isolats des *Streptocoques fécaux*

Le profil de sensibilité aux antibiotiques des 5 souches des Streptocoques sp a révélé une grande sensibilité vis-à-vis de Streptomycine (STR) et Gentamycine (GEN) avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 20 mm et 24 mm pour le Streptomycine varier entre 18 mm et 22 mm pour Gentamycine. (SFM. 2010), (Burnichon N., Texier A. 2003).

Par contre, trois souches des *Streptococcus fécaux sp* ont montrés une résistance vis-à-vis de Céfazoline (CZ). Également, une faible activité antibactérienne

(état intermédiaire) a été noté pour l'antibiotique céfazoline vis-à-vis de deux souches seulement des Streptocoques sp avec des zones d'inhibition de 10 mm et 15 mm de diamètre. (SFM. 2010), (Burnichon N., Texier A. 2003).

III.4.Profil de résistance aux antibiotiques d'un isolat de *Pseudomonas sp*

Les résultats de l'antibiogramme ont indiqués que *Pseudomonas sp* est sensible aux quatre antibiotiques testés: Ticarcilline acide clavulanique (TTC), Ticarcilline (TC), Colistine (CS), Gentamycine (GM) et Imipénème (IPM).

Seulement un seul antibiotique a présenté une faible activité antibactérienne (cas intermédiaire) qui est le Ticarcilline acide clavulanique avec une zone d'inhibition de 35 mm. (SFM. 2010), (Burnichon N., Texier A. 2003).



CONCLUSION

Conclusion

Le présent travail est la première contribution qui a été effectuée en Algérie pour réaliser l'analyse microbiologique du nid des hirondelles de fenêtre.

Cependant, cette analyse du nid de la faculté de droit et des sciences politiques a permis d'isoler 12 espèces d'entérobactéries appartenant à 7 genres différents *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Cedacea*, *Proteus*, *Eschirichia*.

En effet, *Serratia odorifera 1* est la plus dominante avec une abondance de 18.75% suivie d'*Enterobacter cloacea*, avec une prévalence relative de 15.62%.

Les *Enterobacter* sont les plus dominantes par le nombre d'espèces (04 espèces), suivie de *Klebsiella* (03 espèces), alors que les autres genres d'isolats n'ont présenter qu'une seule espèce. Egalement, nous avons isolé du nid analysé 13isolats appartenant aux genres *Staphylococcus* et 5 isolats appartenant au genre *Streptococcus* et un seul isolat du genre *Pseudomonas*, 5 espèces de moisissures et 2 espèces de levures.

L'étude de l'antibiogramme de bactéries identifiées a montré que 100% des isolats sont résistantes à la Colistine et à la Nitrofurantoine. 93.75% des isolats sont résistants à la Céfotaxime, 87.5% sont résistantes à l'Ampicilline, 75% sont résistants à l'Amoxicilline, 50% sont résistants à la Rifampicine et 37.5% sont résistants à la Céfazoline. Par contre, seulement 6.25% des isolats ont marquées une résistance vis-à-vis de l'Acide nalidixique et la Pipéracilline.

La résistance des *Staphylocoques* à coagulase négative a été signalée vis-à-vis de l'antibiotique Céfoxitine. Par contre, elle a montré une sensibilité vis-à-vis des autres antibiotiques testés notamment Erythromycine, Piperacilline et Vancomycine.

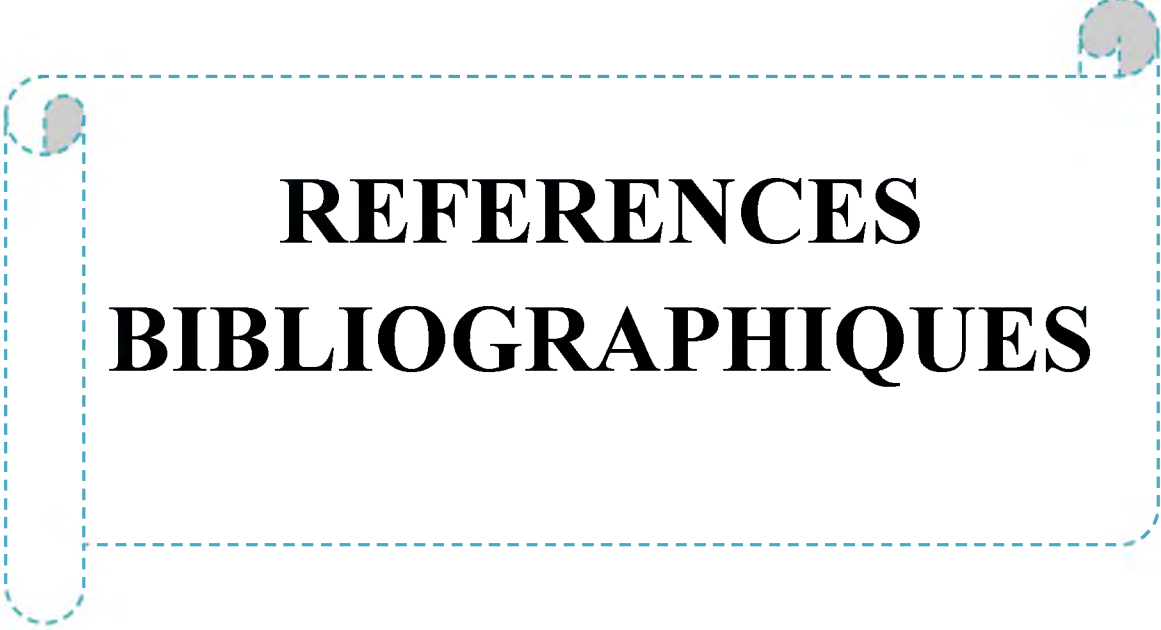
Le profil de sensibilité aux antibiotiques testés de 5 isolats de *Streptocoques fécaux* a révélé une grande sensibilité vis-à-vis de Streptomycine et Gentamycine. Par contre, 3 isolats de *Streptococcus sp* ont montré une résistance vis-à-vis de Céfazoline. Une faible activité antibactérienne a été noté seulement pour la Céfazoline vis-à-vis de deux isolats de *Streptocoque*.

Les résultats de l'antibiogramme ont indiqués que *Pseudomonas sp* est sensible aux 5 antibiotiques testés: Ticarcilline, Ticarcilline acide clavulanique, Imipenème. Un seul antibiotique a présenté une faible activité antibactérienne vis-à-vis de la Ticarcilline acide clavulanique.

La présence de certains germes notamment *E coli*, Streptocoque, *Pseudomonas*, *Pasteurella* peut provoquer chez les hirondelles de fenêtre en particulier les oisillons des maladies plus ou moins grave tel que le cholera provoqué par *Pasteurella maltocida* et les Aspergilloses provoqués par *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus* et *Mucor racemosus* qui causent la pneumonie granulomateuse. (Stenkat J.,et al., 2013).

Les bactéries qui se développent dans les nids des hirondelles de fenêtre n'affectent pas la réussite des nichées, cependant en induisant des pertes de poids et des asymétries des ailes, ils réduisent la survie des jeunes, l'asymétrie des ailes gêne considérablement le vol qui constitue une aptitude critique pour la survie des oiseaux insectivores aériens comme l'hirondelle de fenêtre, ces asymétries sont dues à des espèces telles que *Escherichia coli*, *Salmonella sp* et *Shigella sp*. (Daoudi-hacini S., 2004)

En perspective, il serait intéressant de pousser l'identification des Staphylocoques à coagulase négative, les Streptocoques fécaux et les *Pseudomonas* à l'espèce et de faire l'analyse du nid des hirondelles de fenêtre nicheurs dans d'autre cités de la ville de Tebessa et enfin analyser le nid des hirondelles rustique qui sont très abondant dans la ville de Tebessa.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

- ADAMOU A. D. (06.07.2006). Contribution à l'étude de l'avifaune de la région d'Ouargla: Phénologie de la reproduction de l'Echasse Blanche (*Himantopus himantopus* Linné, 1758) dans le chott Ain El Beida. Mémoire de magistère en Agronomie Saharienne. Université KASDI MERBAH-OUARGLA. Page: 1- 117.
- Anonyme. (Juin 2011). Etude des hirondelles sur le territoire communal de Saint Rémy. Page: 1- 13.

B

- BAMAHAMMED Abdelghani M. (2011). Caractérisation des espèces proies de l'hirondelle de fenêtre *Delichon urbica* Linné, 1758 (Aves, Hirundinidae) dans la région de Tamanrasset. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en science agronomiques. Université KASDI MERBAH – OUARGLA. Page: 1- 118.
- Bandelj P., Trilar T., Balgus R., Ocepek M., Rousseau J., Weese J S., Vengust M. (2014). Prevalence and molecular characterization of *Clostridium difficile* isolated from European Barn Swallows (*Hirundo rustica*) during migration. BMC Veterinary Research. Page: 4.
- Bejcek Vladimir. (4 octobre 1989). Oiseaux migrateurs. GRUND. Page: 223.
- Benskin C H., Kenneth W., Jones K., Hartley I R. (2009). Bacterial pathogens in wild birds: a review of the frequency and effects of infection. Biological Reviews: Cambridge Philosophical Society. Page: 349–373.
- Bernard J-M., Runolfsson O. *et al.* (2013). Des hirondelles au coin de ma fenêtre. Cahier de prescriptions techniques. Page: 28.
- Bonedahl J., Jarhult J D. (2014). Antibiotic resistance in wild birds. Journal of Medical Sciences. Uppsala University, Sweden. Page 113-116.

Références bibliographiques

- Brochet A L. (2012) Les guetteurs d'Hirondelles. EPOB. Page: 25.
- Brown, Charles R., Bomberger Brown., Mary. (1986). "ECTOPARASITISM AS A COST OF COLONIALITY IN CLIFF SWALLOWS (HIRUNDO PYRRHONOTA). Papers in Natural Resources. Page: 470.
- Builles S. (2004). Pré-étude des Prés Salés Ouest de la-teste-de-Buch. Page: 1-97.
- Burnichon N., Texier A. (20 juin 2003). L'antibiogramme: la détermination des sensibilités aux antibiotiques. Page: 29.

C

- Caillet Emmanuel. (2013).Cahier technique Hirondelles et martinets (en ligne). Page: 1- 40.
- Cambon Y., *et al.* (Avril 2014). Les hirondelles et les martinets (Préserver la biodiversité dans le Grand Lyon). Page: 1- 16.
- Christe P., De lope F., Saino N., Moller A P. (2001). The influence of environmental conditions on immune responses, morphology and recapture probability of nestling house martins (*Delichon urbica*). Springer-verlage. Page: 333- 338.
- Christe P., Moller A P., Guillermo G., De Lope F L. (2002). Intraseasonal variation in immune defense, body mass and hematocrit in adult house martins *Delichon urbica*. Journal of avian biology. Page: 321- 325.
- Christe P., Moller A P., Saino N., De Lope F. (2000). Genetic and environmental components of phenotypic variation in immune response and body size of a colonial bird, *Delichon urbica* (the house martin).Heredity. Page: 75- 83.
- Couvreur J M., Jacob J P. (1996). Poursuite du déclin de la population bruxelloise d'Hirondelle de fenêtre (*Delichon urbica*). Centrale Ornithologique. Page: 11- 19.

Références bibliographiques

-Czirjak G A., Moller P A., Mousseau T A., Heeb P. (2010). Microorganisms Associated with Feathers of Barn Swallows in Radioactively Contaminated Areas Around Chernobyl. Page: 373-380.

D

-Daoudi-hacini S. Voisin J F. Doumandji S. Benchikh C. (2005). Caractéristiques physico-chimiques des nids de l'Hirondelle de fenêtre (*Delichon urbica*) dans la Mitidja (Algérie). Page: 9- 12.

-Daoudi-hacini. (2004). Biologie de deux espèces d'hirondelles (hirondelle de cheminée et hirondelle de fenetre) dans différents biotopes d'Algérie. Thèse de doctorat. Agro Alharache. Page: 348.

-DEBIN M., (2007). La fièvre Q en Guyane française actualités et recherche d'un réservoir animal. THÈSE pour obtenir le grade de DOCTEUR VÉTÉRINAIRE. Université Paul-Sabatier de Toulouse. Page: 1- 180.

-Delarras. C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire, TEC &DOC et EM inter et Lavoisier. France. Page: 476.

E

-Englert S, *et al.* Décembre 2014. Rapport des activités et des résultats réalisés par Bebirds - centre belge de baguage - en 2014. Page: 1

-Farhi. Y et Belhamra. M. (Avril 2012). Typologie et structure de l'avifaune des Ziban (Biskra, Algérie). Université Mohamed Khider – Biskra. Page 127-136.

Références bibliographiques

F

- Figarella J., Leyral J., Terret. (2007). Microbiologie : générale et appliquée, Editions Jacques Lanore. France. Page: 496-498.
- Fouarge J P., Monnart A. (1992). L'Hirondelle de fenêtre (*Delichon urbica*) à Namur de 1982-1992. Page : 177-189.

G

- Gilles Huet. (2005). Eau et rivières. Vol n° 133-3. Page: 1- 28.
- Gourlay P., Decors A., Moinet M., Lambert O., Lawson B., Beaudreau F., Assié S., (2014). The potential capacity of French wildlife rescue centres for wild bird disease surveillance. Page: 865-873.
- Guerin J L., Boissieue C. (2008). Les colibacilloses ou infections à *Escherichia coli* [en ligne]. Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse. Page: 3.
- Gustafsson L., Nordling D., Andersson M.S., Sheldon B.C., Qvarnstrom A., (1994). Infectious Diseases, Reproductive Effort and the Cost of Reproduction in Birds. Department of Zoology, Uppsala University, Sweden. Page: 323-331.

I

- Ibanez- Alano J D., Ruiz- Rodriguez M., Jose Soler J. (2014). The mucous covering of fecal sacs prevents birds from infection with enteric bacteria. Journal of Avian Biology. Page: 354–358.

J

- J. von Hirschheydt. (2004). Aidons l'hirondelle de fenêtre. Page: 1- 2.
- Jiguet F. (2012). La découverte des oiseaux. DUNOD. France. Page 125.

Références bibliographiques

ℒ

- Lalubin F., Delédevant A., Glaizot O., Christe P. (2013). Temporal changes in mosquito abundance (*Culex pipiens*), avian malaria prevalence and lineage composition. *Parasites & Vectors*. Page: 8.
- Larpent J. P. (2000). Introduction à la nouvelle classification bactérienne (les principes groupes bactériens). 2^{ème} édition. Tec & Doc. Paris. Page: 280.
- Laurent. D. (20/02/2013). Pas de Printemps sans Ailes. Page: 3.
- Laurent. D. (5/01/11). Pas de Printemps sans Ailes. (En ligne). Page: 3.
- Lucien Grillet. (1988). causes de mortalités des oiseaux sauvages. Vol n° 8. Page: 43-48.

ℳ

- Madian M., Martinko J. (2007). Brock : biologie des microorganismes 11^{ème} éd, Pearson. Paris. Page: 1047 .
- Marc. B, Dany. G, Fanie. P. (2013). *Journal agriculteurs* 2013. Page: 1- 4.
- Marc. B, Dany. G, Fanie. P. (2014). *Journal agriculteurs* 2014. Page: 1- 4.
- Marc. B, Dany. G, Fanie. P. (2015). *Journal agriculteurs* 2015. Page: 1- 5.
- Marchal N. (1992). Initiation à la microbiologie. DUNOD. France. Page: 119-128.
- Merino S., Martinez J., Barbosa A., Müller P., De Lope F., Pérez J., Rodriguez Caabiero F. (1998). Increase in a heat-shock protein from blood cells in response of nestling house martins (*Delichon urbica*) to parasitism: an experimental approach . Springer -Verlage. Page: 343- 347.
- Merzouki Y. Daoudi-hacini S. Souttou K. Sekour M. et Doumandji S.(1 juin 2013). Etude de la nidification de *Delichon urbica* linne 1758 (aves, hirundinidae)

Références bibliographiques

dans un milieu sub urbain dans l'Algérois. Revue des Bioressources Vol N ° 3.
Page: 50-57.

-Michael D., Samuel, Richard G., Botzler, Gary A., Wobeser. (2007). Avian Cholera. In: Nancy Thomas. Hunter. B. Alkinson T. C. Infectious diseases of wild Birds. Blackwell. USA. Page: 239- 269: 484.

-Moller P. A., De Lope F., Moreno. J., Gonzalez G., Pétez J. J. (1994). Ectoparasites and host energetics: house martin bugs and house martin nestlings. Springer Verlag. Page: 263- 268.

-Moller P A., Czirjak G A., Heeb P. (2009). Feather micro-organisms and uropygial antimicrobial defences in a colonial passerine bird. British Ecological Society, Functional Ecology. Page: 1097–1102.

-Musampa K E., (2010). Cognition et métaphores dans le radiojournal en kiswahili. Cas de radio okapi. Journal of Language, Technology & Entrepreneurship in Africa. Page: 91- 116.

N

-NFV 08- 057- 1. Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Méthode de routine pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (staphylococcus aureus et autres espèces). Partie 3: Recherche et méthode NPP pour les faibles nombres.

-Nougairède A., (2012). Pandémie grippale A/H1N1 2009/2010 : Diagnostic et épidémiologie au laboratoire hospitalier de microbiologie clinique à Marseille. Thèse de doctorat : Maladies transmissibles et pathologies tropicales. Faculté de médecine de Marseille. Page: 155.

O

-Orros M.E., Thomas R.L., Holloway G.J., Fellowes M.D.E., (2015). Supplementary feeding of wild birds indirectly affects ground beetle populations in suburban gardens. Central Archive at the University of Reading. Page: 18.

Références bibliographiques

P

- Peirisma T., Veld M. (2012). Dutch House Martins *Delichon urbicum* gain blood parasite infections over their lifetime, but do not seem to suffer. *Journal of Field Ornithology*. Page: 907-912.
- Peralta-Sanchez J M., Moller P A., Martin-Platero M A., Soler J J. (2010). Number and colour composition of nest lining feathers predict eggshell bacterial community in barn swallow nests: an experimental study. *British Ecological Society, Functional Ecology*. Page : 426–433.
- Pigeon G., (2012). Éco-immunologie de l'Hirondelle Bicolore (*Tachycineta bicolor*) en milieu agricole. Mémoire de maitre ès sciences. Faculté des sciences : Université de Sherbrooke, Québec, Canada. Page 98.
- Poulin. B. Lefebvre. G et Paz. L. (2010). Red flag for green spray: adverse trophic effects of BTi on breeding birds. *Journal of Applied Ecology*. Page: 47.
- Prescott L., Harley J., Klein D., Willey., Sherwood., Woolvertio.(2010). *Microbiologie*. 3^{ème} Edition : de Boek. Bruxelles. Page:1088.

R

- Roland DALLARD. Veau floridan. (07.01.2014). Etude et sauvegarde de l'Hirondelle de fenêtre (*Delichon urbicum*) en Ardèche. Page: 2- 57.
- Rybarikova J., Dolejska M., Materna D., Literak I., Cizek A. (2010). Phenotypic and genotypic characteristics of antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolated from symbiotic flies, cattle and sympatric insectivorous house martins from a farm in the Czech Republic (2006–2007). *Elsevier*. Page: 179- 183.

S

- SALOY L. Marie, Francine, Nicole. (2014). L'avifaune sauvage sur le campus de l'école vétérinaire de Toulouse : évolution en 30 ans, protocole reproductible d'observations et mesures d'accroissement de la biodiversité. Thèse de doctorat en VÉTÉRINAIRE. Université de Paul-Sabatier Toulouse. Page: 137.

Références bibliographiques

- SFM. (2010). Comités de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie. Page: 50
- Soler J J., Peralta- Sanchez J M., Martinez- Bueno M M., Martin-Vivaldi M., Martin-Galvez D., Vela A I., Briones V., Perez- Contreras T. (2011). Brood parasitism is associated with increased bacterial contamination of host eggs: bacterial loads of host and parasitic eggs. *Biological Journal of the Linnean Society of London*. Page: 836–848.
- Stenkat J., Krautwald-Junghanns M E., Ornes A S., Eilers A.,V. Schmidt V. (2014). Aerobic cloacal and pharyngeal bacterial flora in six species of free-living birds. *Journal of Applied Microbiology*. Page: 1564-1571.
- Stenkat J., Krautwald-Junghanns M.E., Schmidt V. (2013). Causes of Morbidity and Mortality in Free-Living Birds in an Urban Environment in Germany. *Eco Health*. Page: 352- 365.
- Stephanie M., Shona R., Jael H., Apolloni N., Reto S. (2015). Recensement des hirondelles de fenêtre 2012– 2014. Page: 1- 37.
- Svenson L., Multarney K., Zetterstron D. (Aout 2016). Le guide ornitho. Italie. Page: 258- 261.

T

- Thorez I-P. Aren. (2007). Hirondelles et compagnie. Vol n° 49. Page: 1- 4.
- Tortora J., et al.(2003). Introduction à la microbiologie, 2e,ERPI (Edition Du Renouveau Pédagogique INC). Canada. Page: 338-344.
- Trécul M. A. (1855). Note Sur Les Nids De L'hirondelle Dite Salangane Ou Algyon, *Bulletin de la Société Botanique de France*. Page: 679-983.
- Turner A, Rose C. (1989). Swallows and Martins of the world. Christopher Helm edition. London. Page: 267.

Références bibliographiques

V

-Veck C M., Velck D., Palacios M G. (2011). Evolutionary ecology of senescence: a case study using Tree Swallows, *Tachycineta bicolor*. Department of Ecology, Evolution and Organismal Biology, Iowa State University, Ames, USA. Page: 203-211.

W

-Won Young L., Ki-hyun L., Jongsik C., Choe J C., Jongsik C., Sang-im L. (2013). Comparison of a culture-based and a PCR-based method for estimating bacterial abundance on eggshells, with comments on statistical analyses. *Journal of Field Ornithology*. Page: 304-315.

Y

-Yaokokore- Beibro H K., N'Guessan A M., Odoukpe G K., Zouzou E J., N'douba V., Kouassi K P. (2010). Premières données sur les oiseaux de la zone humide d'importance internationale de Grand-Bassam (Côte d'Ivoire). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. Page : 2169-2180.



ANNEXE

ANNEXE

Les milieux de culture

I. Les milieux solides

1. PCA (Plate Count Agar)(Biokar)

Composition	g/l
Digéré enzymatique de caséine.....	5,0
Extrait de levure.....	2.5
Glucose.....	1,0
Agar.....	15,0

Préparation

Dissoudre 23,5 g de milieu de base déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée;

- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation et température constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution (recouvrir le bicher par un papier aluminium pour éviter l'évaporation de la suspension);
- Répartir en tubes (où chaque tube contient 12 ml de notre milieu liquide);
- Auto-claver à 121 °C pendant 15 minutes.

2. Mac CONKEY (Flukar)

Composition	g/l
Peptone.....	20,0
Lactose.....	10,0
Cristal violet.....	0,001
Rouge neutre.....	0,05
Chlorure de sodium.....	5,0
Sels biliaires.....	15,0
Agar.....	15,0

Préparation

Mettre en suspension 52 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée;

ANNEXE

- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation et une température constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution (Recouvrir le bicher par un papier aluminium pour éviter l'évaporation de la suspension);
- Répartir en tubes ou en flacons;
- Stériliser a l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

3. EMB (éosine bleu de méthylène)

Composition	g/l
Peptone.....	10,0
Lactose.....	10,0
Eosine.....	0,4
Bleu de méthylène.....	5,0
Hydrogénophosphate de potassium.....	2,0
Agar.....	15,0

Préparation

- Mettre en suspension 37,5 g du milieu dans un litre d'eau distillée ;
- Bien mélanger ;
- Auto-claver à 121C° pendant 15 mn ;
- PH final 6,8 ± 0,1.

4. Viande-foie (Biokar)

Composition	g/l
Peptone viande foie.....	30,0
Glucose.....	2,0
Amidon soluble.....	2,0
Sulfite de sodium.....	2,5
Citrate de fer ammoniacal.....	0,5
Agar agar bactériologique.....	11,0

ANNEXE

Préparation

- Mettre en suspension 48,0 g de milieu déshydraté (BK157) dans 1 litre d'eau distillée;
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution ;
- Répartir en tubes, à raison de 15 ml par tube ;
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

5. VRBL (Agar de violet cristallisé rouge neutre bile)(Flukar)

Composition	g/l
Peptone	07,0
Extrait de levure.....	03,0
Lactose.....	10,0
Chlorure de sodium.....	05,0
Mélange sel biliaire.....	01,5
Cristal violet.....	0,002
Rouge neutre.....	0,03
Agar agar.....	15,0

Préparation

- Mettre en suspension 38.5 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ;
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Puis autoclaver le milieu pendant 15 minutes à 121 °C.

6. Cétrimide

Composition	g/l
Peptone de gélatine.....	16,0
Peptone de casiéne.....	10,0
Bromure de tétradonium (cétrimide).....	0,2
Acide nalidixique.....	15,0 mg
Sulfate de potassium.....	10,0
Chlorure de magnésium.....	1,4
Agar.....	10,0

ANNEXE

Préparation

- Dissoudre 45,3 g de milieu de base déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée;
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation et température constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution (recouvrir le bicher par un papier aluminium pour éviter l'évaporation de la suspension);
- Répartir dans les flacons;
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

7. Gélose nutritive

Composition	g/l
Extrait de viande.....	1,0
Extrait de levure.....	2,5
Peptone.....	5,0
Chlorure de sodium.....	5,0
Agar.....	15,0

Préparation

- Dissoudre 25 g de poudre de gélose nutritif dans un litre d'eau distillée ;
- Auto-claver à 121 C° pendant 15 minutes ;
- Répartir dans des tubes stériles;
- PH final 7,4 ± 0,2.

8. Gélose SS (Salmonella/ Shigella)

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

ANNEXE

Préparation

- Mettre en suspension 63,0 g de milieu déshydraté (BK022) dans 1 litre d'eau distillée ;
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution ;
- Ne pas autoclaver;
- toute les étapes de préparation il faut faire au prés de bec benzène.

9. Hektoen

Composition	g/l
Protéose peptone.....	12
Extrait de levure.....	3
Chlorure de sodium.....	5
Thiosulfate de sodium.....	5
Sels biliaires.....	9
Citrate de fer et d'ammonium.....	1,5
Salicine.....	2
Lactose.....	12
Saccharose.....	12
Fuschine acide.....	0,1
Bleu de bromothymol.....	0,065
Agar.....	14
Eau distillée.....	1L

Préparation

- Suspendre 75,1 g de milieu déshydraté (BK067) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée ;
- Porter lentement à ébullition, en remuant avec une agitation constante jusqu'à dissolution complète ;
- Maintenir l'ébullition pendant 2 minutes ;
- Ne pas stériliser.

ANNEXE

10. Baird Parker

Composition	g/ 900 ml de milieu de base
Tryptone.....	10,0 g
Extrait de viande.....	5,0 g
Extrait autolytique de levure.....	1,0 g
Pyruvate de sodium.....	10,0 g
Glycine.....	12,0 g
Chlorure de lithium.....	5,0 g
Agar agar bactériologique.....	15,0 g

Préparation

-Mettre en suspension 54,9 g de milieu de base déshydraté (BK055) dans 900 ml d'eau distillée ;

- Porter à ébullition lentement, en agitant jusqu'à dissolution complète ;

- Répartir en flacons, à raison de 100 mL par flacon ;

-Auto-clavé à 121 C° pendant 15 min.

-Lors de l'utilisation on ajoute 10 ml de tellurite de potassium et 50 ml d'une solution de jaune d'œuf (35 ml d'eau distillé mélangé avec 15 ml de jaune d'œuf) ;

11. Chapman

Composition	g/l
Peptone.....	10,0
Extrait de viande bœuf.....	1,0
Chlorure de sodium.....	75,0
Mannitol.....	10,0
Rouge de phénol.....	0,025
Agar.....	15,0

ANNEXE

Préparation

- Mettre en suspension 111,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ;
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution ;
- Répartir le milieu dans des flacons ;
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes

12. Moeller-Hinton

Composition	g/l
Infusion de viande de bœuf.....	300,0 ml
peptone de caséine.....	17,5
amidon de maïs.....	1,5
agar.....	17,0

Préparation

- Pour préparer ce milieu il faut peser 38g de poudre et la mélanger dans 1L d'eau.
- Faire une homogénéiser puis chauffer en agitant. Il faut porter à ébullition pendant environ une minute.
- Ensuite on stérilise la gélose à l'autoclave durant 15 minutes à 121,1°C.
- pH = 7,4

13. Sabouraud (Biokar)

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

ANNEXE

Préparation

- Mettre en suspension 45,5 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
 - Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
 - Répartir en flacons.
 - Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $5,7 \pm 0,2$.

II. Les milieux liquides (bouillons)

II.1. Bouillon nutritif

Composition	g/l
Extrait de viande.....	1,0
Extrait de levure.....	2,5
Peptone.....	5,0
Chlorure de sodium.....	5,0

Préparation

- Dissoudre 25 g de poudre de gélose nutritif dans un litre d'eau distillée ;
- Auto-claver à 121 C° pendant 15 minutes ;
- Répartir dans des tubes stériles;
- PH final $7,4 \pm 0,2$.

ANNEXE

II.2. Milieu Rothe (Biokar)

Composition	g/l
Tryptose.....	15,0
Chlorure de sodium.....	7,50
Azide de sodium.....	0,20
Extrait de bœuf.....	4,50
Glucose.....	7,50

Préparation

- Mettre en suspension 34,8 grammes dans 1 litre d'eau pure ;
- Agiter jusqu'à dissolution complète ;
- Répartir 10 ml par tubes ;
- Auto-claver à 121°C pendant 15 minutes ;
- pH final à 25°C : 7,2 -/+ 0,2.

II.3. Milieu litsky (Biokar)

Composition	g/l
Peptone de viande.....	10,0
Peptone de caséine.....	10,0
Glucose.....	5,00
Phosphate dipotassique.....	2,70
Phosphate monopotassique.....	2,70
Chlorure de sodium.....	5,00
Azide de sodium.....	0,30
Ethyl violet.....	0,0005

Préparation

- Mettre en solution 35,7 g de milieu déshydraté (BK061) dans 1 litre d'eau distillée ;
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète ;
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 6,8 ± 0,2. Ajusté le ph de milieu ;
- Répartir en tubes à raison de 10 ml par tube ;

ANNEXE

- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

II.4. Milieu cœur-cervellé (Biokar)

Composition	g/l
Protéose-peptone.....	10,0
Infusion de cervelle de veau.....	12,5
Infusion de cœur de bœuf.....	5,0
Glucose.....	2,0
Chlorure de sodium.....	5,0
Hydrogénophosphate de sodium.....	2,5

Préparation

-Dissoudre 37 g de poudre de bouillon cœur-cervellé dans un litre d'eau distillée ;

- Bien agiter le milieu avec une température;

-Auto-claver à 121 C° pendant 15 minutes ;

-Répartir dans des tubes stériles;

-pH Final = 7,4

ANNEXE

Les réactifs et les produits chimiques

Réactifs et colorants	Compositions
Cristal violet	Solution 1 -Cristal violet.....20g Ethanol0,95200 Solution 2 : -Oxalate d'ammonium... 20g Eau distillée.....800 cm ³
Eau oxygénée (H₂O₂)	Solution de peroxyde d'hydrogène à 10 volumes, soit 0,95 mol.dm ⁻³ .
Fuchine	Fuchine basique.....10g Phénol.....50g Ethanol à 0,95100..... cm ³ Eau distillée..... 1dm ³
Kovacs	-P-diméthylamino-benzaldéhyde..... 5 g - Alcool amylique75 ml - HCl pur..... 25 ml 800
Lugol	-Iode..... 1 g -Iodure de potassium..... 2g -Eau distillée qsp..... 1dm ³
NIT 1 (5 ml)	-Acide sulfurique..... 0.4 g -Acide acétique..... 30 g -H ₂ O..... 70 ml
NIT 2 (5 ml)	-N,N-dimethyl-1 -naphthylamine ... 0.6 g -Acide acétique..... 30 g -H ₂ O 70 ml

ANNEXE

VP 1 (5 ml)	-Potassium hydroxide40 g -H ₂ O100 ml
VP 2 (5 ml)	- α -naphthol..... 6 g -Ethanol100 ml
TDA (5 ml)	Ferric chloride (iron content)3.4 g H ₂ O100 ml