

RAMAMONJISOA Hoby Tinah Eddy Rachel

**IDENTIFICATION DES ENTEROBACTERIES DANS LES SELLES DES
LEMURIENS DANS LE PARC BOTANIQUE ET ZOOLOGIQUE DE
TSIMBAZAZA**

Thèse pour l'obtention du Diplôme d'État de Docteur en Médecine Vétérinaire

UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

FACULTE DE MEDECINE

**DEPARTEMENT D'ENSEIGNEMENT DES SCIENCES ET DE MEDECINE
VETERINAIRE**

Année : 2016

N : 167

**IDENTIFICATION DES ENTEROBACTERIES DANS LES SELLES DES
LEMURIENS DANS LE PARC BOTANIQUE ET ZOOLOGIQUE DE
TSIMBAZAZA**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 14 avril 2016

à Antananarivo

Par

Monsieur RAMAMONJISOA Hoby Tinah Eddy Rachel

Né le 02 Octobre 1986 à Antsirabe

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE VETERINAIRE (Diplôme d'Etat)

Directeur de Thèse : Professeur RAKOTOZANDRINDRAINY Raphael

MEMBRES DU JURY

Président : Professeur RASAMINDRAKOTROKA Andry

Juges : Professeur RAKOTO ALSON Aimée Olivat

: Professeur RASAMBAINARIVO Jhon Henri

Rapporteur : Professeur RAKOTOZANDRINDRAINY Raphael



I. CONSEIL DE DIRECTION

A. DOYEN

Pr. SAMISON Luc Hervé

B. VICE-DOYENS

♦ Médecine Humaine

- Troisième Cycle Long (Internat Qualifiant, Clinicat, Agrégation et Formations Professionalisantes)

Pr. RANDRIAMAROTIA Harilalaina Willy Franck

Pr. RANTOMALALA Harinirina Yoël Honora

♦ Scolarité

- 1^{er} et 2^{ème} cycles et communication

Pr. RAHARIVELO Adeline

Pr. VOLOLONTIANA Hanta Marie Daniellé

- 3^{ème} cycle court (stage interné, examens de clinique et thèses)

Pr. ROBINSON Annick Lalaina

Pr. SOLOFOMALALA Gaëtan Duval

- Téléenseignement, LMD et projets

Pr. RAVELOSON Nasolotsiry Enintsoa

- Recherche

♦ Pharmacie

Pr. SAMISON Luc Hervé

♦ Médecine Vétérinaire

Pr. RATSIMBAZAFIMAHEFA RAHANTALALAO
Henriette

C. SECRETAIRE PRINCIPAL

- Administration Générale et Finances

Mr. RANDRIANJAFIARIMANANA Charles Bruno

II. CONSEIL D'ETABLISSEMENT

PRESIDENT

Pr. RATSIMBAZAFIMAHEFA RAHANTALALAO
Henriette

III. CHEFS DE DEPARTEMENT

Biologie

Pr. RAKOTO ALSON Aimée Olivat

Chirurgie

Pr. RANTOMALALA Harinirina Yoël Honora

Médecine

Pr. RABEARIVONY Nirina

Mère et Enfant

Pr. ANDRIANAMPANALINARIVO HERY Rakotoz o

Pharmacie

Dr. RAOELISON Guy Emmanuel

Santé Publique

Pr. RAKOTOMANGA Jean de Dieu Marie

Sciences Fondamentales et Mixtes

Pr. AHMAD Ahmad

Tête et cou

Pr. RAZAFINDRABE John Alberto Bam

Vétérinaire

Pr. RAFATRO Herintsoa

IV. CONSEIL SCIENTIFIQUE

PRESIDENT

Pr. ANDRIAMANARIVO Mamy Lalatiana

V. COLLEGE DES ENSEIGNANTS

A- PRESIDENT

Pr. RAJAONARISON Bertille Hortense

B- ENSEIGNANTS PERMANENTS

B-1- PROFESSEURS TITULAIRES D'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE RECHERCHE

DEPARTEMENT BIOLOGIE

- Hématologie Biologique
- Immunologie
- Parasitologie

Pr. RAKOTO ALSON Aimée Olivat
Pr. RASAMINDRAKOTROKA Andry
Pr. RAZANAKOLONA Lala Rasoamialy-Soa

DEPARTEMENT CHIRURGIE

- Chirurgie Cardio-vasculaire
- Chirurgie Générale
- Chirurgie Pédiatrique
- Chirurgie Thoracique
- Chirurgie Viscérale
- Orthopédie Traumatologie
- Urologie Andrologie

Pr. RAVALISOA Marie Lydia Agnès
Pr. RAKOTO RATSIMBA Hery Nirina
Pr. ANDRIAMANARIVO Mamy Lalatiana
Pr. RAKOTOVAO Hanitrana Jean Louis
Pr. SAMISON Luc Hervé
Pr. RAKOTOARIJONA Armand Herinirina
Pr. RAZAFIMAHANDRY Henri Jean Claude
Pr. SOLOFOMALALA Gaëtan Duval
Pr. RANTOMALALA Harinirina Yoël Honora

DEPARTEMENT MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

- Cardiologie
- Dermatologie et Vénérologie
- Endocrinologie et Métabolisme
- Hépatogastro-Entérologie
- Maladies Infectieuses
- Néphrologie
- Neurologie
- Psychiatrie
- Radiothérapie - Oncologie Médicale

Pr. RABEARIVONY Nirina
Pr. RAPELANORO RABENJA Fahafahantsoa
Pr. RAMAHANDRIDONA Georges
Pr. RAMANAMPAMONJY Rado Manitrana
Pr. RANDRIA Mamy Jean de Dieu
Pr. RAJAONARIVELO Paul
Pr. RABENANTOANDRO Rakotomanantsoa
Pr. RANDRIAMAROTIA Harilalaina Willy Franck
Pr. TEHINDRAZANARIVELO Djacoba Alain
Pr. RAHARIVELO Adeline
Pr. RAJAONARISON Bertille Hortense
Pr. RAFARAMINO RAZAKANDRAINIA Florine

DEPARTEMENT MERE ET ENFANT

- Gynécologie Obstétrique
- Pédiatrie

Pr. ANDRIANAMPANALINARIVO HERY Rakotovao
Pr. RAVELOMANANA RAZAFIARIVAO Noëline
Pr. ROBINSON Annick Lalaina

DEPARTEMENT SANTE PUBLIQUE

- Administration et Gestion Sanitaire
- Education pour la Santé
- Santé Communautaire
- Santé Familiale
- Statistiques et Epidémiologie

Pr. RATSIMBAZAFIMAHEFA RAHANTALALAO
Henriette
Pr. ANDRIAMANALINA Nirina Razafindrakoto
Pr. RANDRIANARIMANANA Dieudonné
Pr. RANJALAHY RASOLOFOMANANA Justin
Pr. RAKOTOMANGA Jean de Dieu Marie

DEPARTEMENT SCIENCES FONDAMENTALES ET MIXTES

- Anatomie et Cytologie Pathologiques Pr. RANDRIANJAPISAMINDRAKOTROKA
Nantenaina Soa
- Radiodiagnostic et Imagerie Médicale Pr. AHMAD Ahmad

DEPARTEMENT TETE ET COU

- Neurochirurgie Pr. ANDRIAMAMONJY Clément
Pr. RABARIJAONA Mamiarisoa
- Ophtalmologie Pr. ANDRIANTSOA RASOAVELONORO Violet e
Pr. BERNARDIN Prisca
- Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale Pr. RAZAFINDRABE John Alberto Bam

DEPARTEMENT VETERINAIRE

- Pharmacologie Pr. RAFATRO Herintsoa

B-2- PROFESSEURS D'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE RECHERCHE**DEPARTEMENT BIOLOGIE**

- Hématologie Biologique Pr. RAKOTOVAO Andriamiadana Luc

DEPARTEMENT CHIRURGIE

- Chirurgie Pédiatrique Pr. HUNALD Francis Allen
- Urologie Andrologie Pr. RAKOTOTIANA Auberlin Felantsoa

DEPARTEMENT MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

- Cardiologie Pr. RAKOTOARIMANANA Solofonirina
- Dermatologie Vénérologie Pr. RAMAROZATOVO Lala Soavina
- Maladies Infectieuses Pr. ANDRIANASOLO Radonirina Lazasoa
- Médecine Interne Pr. VOLOLONTIANA Hanta Marie Daniell-
- Néphrologie Pr. RANDRIAMANANTSOA Lova Narindra
- Réanimation Médicale Pr. RAVELOSON Nasolotsiry Enintsoa

DEPARTEMENT MERE ET ENFANT

- Gynécologie Obstétrique Pr. RANDRIAMBELOMANANA Joseph Anderson

DEPARTEMENT SANTE PUBLIQUE

- Epidémiologie Pr. RAKOTONIRINA El-C Julio

DEPARTEMENT SCIENCES FONDAMENTALES ET MIXTES

- Anesthésie Réanimation Pr. RAKOTOARISON Ratsaraharimanana
Catherine Nicole
- Physiologie Pr. RAJAONERA Andriambelo Tovoherly
Pr. RAKOTOAMBININA Andriamahery
Benjamin

DEPARTEMENT TETE ET COU

- Ophtalmologie Pr. RAOBELA Léa

B-3- MAITRES DE CONFERENCES

DEPARTEMENT MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

- Neurologie
- Pneumo-phthisiologie

Dr. ZODALY Noël
Dr. RAKOTOMIZAO Jocelyn Robert

DEPARTEMENT SANTE PUBLIQUE

- Santé Publique

Dr. RANDRIAMANJAKA Jean Rémi
Dr. RATSIMBASOA Claude Arsène

DEPARTEMENT VETERINAIRE

- Sciences Ecologiques, Vétérinaires
Agronomiques et Bioingenieries
- Evolution - Ecologie - Paléontologie -
Ressources Génétiques -

Dr. RAHARISON Fidiniaina Sahondra
Dr. RASAMOELINA Andriamanivo
Harentsoaniaina

DEPARTEMENT PHARMACIE

- Pharmacologie Générale
- Pharmacognosie
- Biochimie Toxicologie
- Chimie Organique et Analytique

Dr. RAMANITRAHASIMBOLA David
Dr. RAOELISON Emmanuel Guy
Dr. RAJEMIARIMOELISOA Clara Fredeline
Dr. RAKOTONDAMANANA
Andriamahavola Dina Louisino

DEPARTEMENT SCIENCES FONDAMENTALES ET MIXTES

- Biophysique

Dr. RASATA Ravelo Andriamparany

B-4- ASSISTANTS

DEPARTEMENT VETERINAIRE

- Virologie
- Technologie

Dr. KOKO
Mme. RAHARIMALALA Edwige Marie Julie

DEPARTEMENT PHARMACIE

- Procédés de Production, Contrôle et
Qualité des Produits de Santé

Dr. RAVELOJAONA RATSIMBAZAFITMAHEFA
Hanitra Myriam

C- ENSEIGNANTS NON PERMANENTS

C-1- PROFESSEURS EMERITES

Pr. ANDRIANANDRASANA Arthur
Pr. ANDRIANARISOA Ange Christophe Félix
Pr. AUBRY Pierre
Pr. RABARIOELINA Lala
Pr. RABENANTOANDRO Casimir
Pr. RABETALIANA Désiré
Pr. RADESA François de Sales
Pr. RAJAONA Hyacinthe
Pr. RAKOTOMANGA Robert
Pr. RAKOTOMANGA Samuel

Pr. RAKOTOZAFY Georges
Pr. RAMAKAVELO Maurice Philippe
Pr. RAMONJA Jean Marie
Pr. RANDRIAMAMPANDRY
Pr. RANDRIANASOLO Jean Baptiste Olivier
Pr. RANDRIARIMANGA Ratsiatery Honoré Blaise
Pr. RAOBIJAONA Solofoniaina Honoré
Pr. RATSIVALAKA Razafy
Pr. RAZANAMPARANY Marcel
Pr. ZAFY Albert

C-2- CHARGE D'ENSEIGNEMENT

DEPARTEMENT CHIRURGIE

- Chirurgie Générale

Pr. RAVELOSON Jean Roger

DEPARTEMENT TETE ET COU

- Neurochirurgie

- O.R.L et Chirurgie Cervico-Faciale

- Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale

Pr. RATOVONDRAINNY Willy

Pr. RAKOTO Fanomezantsoa Andriamparany

Pr. RAKOTOARISON Richard

VI. SERVICES ADMINISTRATIFS

CHEFS DE SERVICE

AFFAIRES GENERALES

COMPTABILITE

PERSONNEL

SCOLARITE

TROISIEME CYCLE LONG

Mr. RANDRIANARISOA Rija Hanitra

Mr. RATSIMBAZAFIARISON Nivoson Espérant

Mme. RAKOTOARIVELO Liva Harinivo Vonimbola

Mme. SOLOFOSAONA R. Sahondranirina

Mme. RANIRISOA Voahangy

VII. IN MEMORIAM

Pr. RAMAHANDRIARIVELO Johnson

Pr. RAJAONERA Frédéric

Pr. ANDRIAMASOMANANA Veloson

Pr. RAKOTOSON Lucette

Pr. ANDRIANJATOVO RARISOA Jeannette

Dr. RAMAROKOTO Razafindramboa

Pr. RAKOTOBÉ Alfred

Pr. ANDRIAMIANDRA Aristide

Dr. RAKOTONANAHARY

Pr. ANDRIANTSEHENO Raphaël

Pr. RANDRIAMBOLOLONA Robin

Pr. RAMANANIRINA Clarisse

Pr. RALANTOARITSIMBA Zhouder

Pr. RANIVOALISON Denys

Pr. RAKOTOVAO Rivo Andriamiadana

Pr. RAVELOJAONA Hubert

Pr. ANDRIAMAMPIHANTONA Emmanuel

Pr. RANDRIANONIMANDIMBY Jérôme

Pr. RAKOTONIAINA Patrice

Pr. RAKOTO-RATSIMAMANGA Albert

Pr. RANDRIANARISOLO Raymond

Dr. RABEDASY Henri

Pr. MAHAZOASY Ernest

Pr. RATSIFANDRIHAMANANA Bernard

Pr. RAZAFINTSALAMA Charles

Pr. RANAIVOARISON Milson Jérôme

Pr. RASOLONJATOVO Andriananja Pierre

Pr. MANAMBELONA Justin

Pr. RAZAKASOA Armand Emile

Pr. RAMIALIHARISOA Angeline

Pr. RAKOTOBÉ Pascal

Pr. RANAIVOZANANY Andrianady

Pr. RANDRIANARIVO

Pr. RAKOTOARIMANANA Denis Roland

Pr. ANDRIAMANANTSARA Lambosoa

Pr. RAHAROLAHY Dhels

Pr. ANDRIANJATOVO Jean José

Pr. ANDRIANAIVO Paul Armand

Pr. RANDRIAMBOLOLONA RASOAZANANY Aimé

Pr. RATOVO Fortunat

Pr. GIZY Ratiambahoska Daniel

Pr. RASOLOFONDRAIBE Aimé

Dr. RAZAKAMANIRAKA Joseph

Pr. ANDRIANJATOVO Joseph

Pr. RAHARJAONA Vincent Marie

Pr. RAKOTOVAO Joseph Dieudonné

Pr. KAPISY Jules Flaubert

Pr. ANDRIAMBAO Damasy Seth

Pr. FIDISON Augustin

Pr. RAKOTO - RATSIMAMANGA S. U

DEDICACES ET REMERCIEMENTS :

A Dieu tout puissant

Je me confie en Dieu, Tu m'as assisté tout au long de ma vie et je ne crains rien.

A mes parents

Si je suis là aujourd'hui c'est avant tout grâce à vous. Merci pour votre amour, vos soutiens, vos encouragements et votre sacrifice pour la poursuite de mes études, même dans les moments difficiles de mon parcours.

A mes sœurs Hasina et Elya

Merci pour les encouragements au cours de ces années d'étude. Toutes mes meilleurs vœux.

A ma femme

Merci pour le soutien et les encouragements dans la réalisation de ce travail.

A ma fille Shaira et à mon filsJenhyo

Sachez que ma réussite est aussi la vôtre. Qu'ils trouvent ici la récompense pour tant d'années de sacrifice.

Au Docteur RABENARIVAHINY René, directeur du Laboratoire National du Diagnostic Vétérinaire et son équipe

Merci pour leur accueil chaleureux et de m'avoir mis à ma disposition tous les matériels et les réactifs de laboratoire nécessaires pour permettre de réaliser cette étude dans d'excellentes conditions de travail.

A Monsieur Gilbert, directeur du parc botanique et zoologique de Tsimbazaza

Merci pour m'avoir donné l'autorisation de mener cette étude au sien du parc, en espérant que les résultats leur seront profitables.

A la promotion « SIFAKA »

Nous avons passé ensemble des moments inoubliables

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

A NOTRE MAITRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Docteur RASAMINDRAKOTROKA Andry

*- Professeur Titulaire d'Enseignement Supérieur et de Recherche en
Immunologie à la Faculté de Médecine d'Antananarivo.*

Vous me faites le grand honneur d'accepter la présidence du jury de cette thèse.
Veuillez trouver ici l'expression de toute ma gratitude et de mon profond respect.

A NOS MAITRES ET HONORABLES JUGES DE THESE

Madame le Docteur RAKOTO ALSON Aimée Olivat

- *Professeur Titulaire d'Enseignement Supérieur et de Recherche en Hématologie Biologique à la Faculté de Médecine d'Antananarivo,*
- *Chef de service UPFR Hématologie CHUHJRA Antananarivo.*

Monsieur le Docteur RASAMBAINARIVO Jhon Henri

- *Directeur de recherche,*
- *Enseignant au Département d'Enseignement des Sciences et de Médecine Vétérinaires.*

Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail. Veuillez trouver ici l'expression de toute ma gratitude.

A NOTRE MAITRE DIRECTEUR ET RAPPORTEUR DE THESE

Monsieur le Docteur RAKOTOZANDRINDRAINY Raphaël

- *Professeur Titulaire, Honoraire d'Enseignement Supérieur et de Recherche en Microbiologie et Parasitologie à l'Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques,*
- *Enseignant à la Faculté de Médecine d'Antananarivo et au Département d'Enseignement des Sciences et de Médecine Vétérinaires.*

Vos conseils m'ont été précieux et vos encouragements m'ont permis d'aboutir à ce travail. Merci également pour votre disponibilité et appui. Veuillez trouver ici le témoignage de ma profonde gratitude pour votre aide et votre sympathie.

**A NOTRE MAITRE ET DOYEN DE LA FACULTE DE MEDECINE
D'ANTANANARIVO**

Monsieur le Professeur SAMISON Luc Hervé

Veuillez recevoir l'expression de notre haute considération.

**A NOTRE MAITRE ET CHEF DE DEPARTEMENT D'ENSEIGNEMENT DES
SCIENCES ET DE MEDECINE VETERINAIRES (DESMV)**

Monsieur le Professeur RAFATRO Herintsoa

Veuillez recevoir nos salutations les plus distinguées.

**A TOUS NOS MAITRES ET PROFESSEURS DE LA FACULTE DE
MEDECINE - DEPARTEMENT VETERINAIRE**

Qui ont contribué à notre formation pendant les années académiques

*Merci mille fois pour tous les conseils, et pour la connaissance qu'ils nous ont
transmise durant toutes ces années.*

**A TOUT LE PERSONNEL ADMINISTRATIF ET TECHNIQUE DU
DÉPARTEMENT VETERINAIRE ET DE LA FACULTE DE MEDECINE
D'ANTANANARIVO**

Nos sincères remerciements.

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : RAPPELS.....	3
I. Généralités sur les lémuriens	3
I.1. Classification des espèces de lémuriens	3
I.2. Anatomie générale de l'appareil gastro-intestinal.....	7
I.3. Aire de répartition de quelques lémuriens à Madagascar	9
I.4. Généralités sur l'élevage des lémuriens dans le Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza.....	11
II. Généralités sur les <i>Enterobactériaceae</i>	13
II.1. <i>Enterobactériaceae</i>	13
II.2. Importance des genres <i>Escherichia</i> , <i>Klebsiella</i> et <i>Salmonella</i> dans la santé des animaux.....	14
DEUXIEME PARTIE : METHODE ET RESULTATS.....	18
I. METHODES	18
I.1. Cadre de l'étude.....	18
I.2. Type d'étude.....	18
I.3. Période et durée d'étude	18
I.3.1. Période d'étude	18
I.3.2. Durée d'étude	18
I.4. Population d'étude.....	18
I.4.1. Critères d'inclusion	18
I.4.2. Critères d'exclusion	19
I.4.3. Critères du non inclusion.....	19
I.5. Echantillonnage	19
I.5.1. Taille	19
I.5.2. Mode de l'échantillonnage	19
I.6. Matériels	19
I.6.1. Population d'étude	19
I.6.2. Matériels de collectes et transport des matières fécales.....	21

I.6.3. Matériels de laboratoire	21
I.7. Collecte des données	23
I.7.1. Reconnaissance des individus dans leurs emplacements respectifs	23
I.7.2. Collecte, stockage, conservation et transport des matières fécales.....	23
I.7.3. Réception des prélèvements au laboratoire	24
I.7.4. Analyse bactériologique des prélèvements.....	24
I.7.5. Identification des souches bactériennes suspectées dans les prélèvements	30
I.8. Considérations éthiques	31
I.9. Limite de l'étude.....	31
I.10. Analyse des données.....	31
II. RESULTATS	34
II.1. Espèces d'entérobactéries selon l'espèce des lémurien	37
II.1.1. Comparaison du taux de présence de ces entérobactéries selon les espèces des lémurien	37
II.1.2. Comparaison du nombre de ces entérobactéries selon les espèces des lémurien....	40
II.2. Espèces d'entérobactéries selon le sexe des lémurien	41
II.2.1. Comparaison du taux de présence de ces entérobactéries selon les sexes des lémurien	41
II.2.2. Comparaison du nombre d'espèces d'entérobactéries selon les sexes des lémurien	43
II.3. Espèces d'entérobactéries selon l'enclos des lémurien	43
II.3.1. Comparaison du taux de présence de ces entérobactéries selon les types d'enclos des lémurien.....	44
II.3.2. Comparaison du nombre de ces entérobactéries selon les types d'enclos des lémurien.....	46
II.4. Espèces d'entérobactéries selon le nombre d'individus dans le même enclos.....	47
II.4.1. Comparaison du taux de présence de ces entérobactéries selon le nombre d'individus dans le même enclos.....	47

TROISIEME PARTIE : DISCUSSION.....	50
DISCUSSION	50
I. Présence des entérobactéries selon les espèces de lémurien.....	50
II. Présence des entérobactéries selon le sexe des lémuriens	51
III. Présence des entérobactéries entre les différents types d’enclos	51
IV. Environnement des lémuriens en captivité	52
V. Portage des entérobactéries	52
CONCLUSION.....	55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

LISTE DES TABLEAUX

	Pages
Tableau I: Classification de la famille <i>LEPILEMURIDAE</i>	5
Tableau II: Classification de la famille <i>DAUBENTONIIDAE</i>	5
Tableau III: Classification de la Famille <i>INDRIIDAE</i>	6
Tableau IV: Classification de la famille <i>CHEIROGALEIDAE</i>	6
Tableau V: Classification de la famille <i>LEMURIDAE</i>	7
Tableau VI: Nombre de selles des lémuriens prélevées	34
Tableau VII: Fréquence d'isolement des entérobactéries	36
Tableau VIII: Entérobactéries isolées des lémuriens	38
Tableau IX: Comparaison du taux de présence de ces entérobactéries dans les selles des lémuriens mâles et femelles.....	42
Tableau X: Distribution des enclos selon leur emplacement respectif.....	44
Tableau XI: Comparaison du taux de présence de ces entérobactéries selon les emplacements des lémuriens.....	45
Tableau XII: Taux de présence de bactérie dans les selles en fonction du nombre d'individu partageant le même enclos.....	48

LISTE DES FIGURES

	Pages
Figure 1: Classification des primates -----	5
Figure 2: Tube digestif <i>lemur catta</i> -----	8
Figure 3: Tube digestif <i>lemur, Varecia</i> -----	8
Figure 4: Emplacement Derrière vivarium-----	19
Figure 5: Enclos non exposés au public -----	20
Figure 6: Emplacement Cages rondes -----	20
Figure 7: Emplacement Serres -----	20
Figure 8: Glacière et gant de fouille stérile -----	21
Figure 9: Colonies d' <i>E.coli</i> sur le milieu E.M.B -----	25
Figure 10: Colonies de <i>Klebsiella</i> sur le milieu E.M.B -----	25
Figure 11: Colonies de <i>Salmonella</i> sur le milieu SS-----	26
Figure 12: Identification des caractères biochimiques des germes suspectés -----	30
Figure 13: Nombre moyen des entérobactéries présentes dans les selles des espèces des lémuriens -----	40
Figure 14: Nombre moyen des entérobactéries présentes dans les selles selon le sexe des individus -----	43
Figure 15: Nombre moyen des entérobactéries présentes dans les selles selon les différents emplacements des enclos -----	46

LISTE DES SIGLES ET DES ABREVIATIONS

ADH : Arginine di hydrolase

BGA : Brilliant Green Agar

CS : Citrate de Simmons

°C : Degré Celsius

CR : Cage ronde

DV : Derrière vivarium

ENP : Enclos non exposés au public

E : *Escherichia*

E.M.B : Eosine Bleu de Méthylène

F : Femelle

g : Gramme

GLU : Glucose

H₂S : Sulfate Sodium

IND : Indole

J : Jour

K : *Klebsiella*

LAC : Lactose

LDC : Lysine décarboxylase

LNDV : Laboratoire National de Diagnostic Vétérinaire

MAN : Mannitol

M : Mâle

µm : Micromètre

MOB : Mobilité

ODC : Ornithine décarboxylase

ONPG : Orthonitrophényl – B-D – galactopyranoside

PBZT : Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza

% : Pourcentage

S : Serres

S : *Salmonella*

S.S : *Salmonella-Shigella* Agar

INTRODUCTION

La flore intestinale des primates est essentiellement composée des entérobactéries. Leur concentration suit un gradient croissant selon le sens oro-anal du tube digestif.

D'un côté, la flore constitue au maintien de la santé de l'hôte au cours de temps. Elle intervient dans la digestion des aliments. Elle joue un rôle important dans l'initiation de défense immunitaire de l'hôte. Elle exerce des effets de barrière contre la colonisation des micro-organismes exogènes pathogènes [1-4].

De l'autre côté, la flore constitue un réservoir de bactéries potentiellement pathogènes susceptible de devenir infectant dès la moindre déficience du système de défense de l'hôte. En effet, les entérobactéries peuvent se retrouver dans plusieurs sites de l'organisme par le biais des ganglions lymphatiques mésentériques. Elles peuvent aussi constituer un facteur de risque d'une maladie une fois excrétées dans l'environnement extérieur, ce qui provoque la morbidité et l'infection chronique pouvant abréger la longévité de l'hôte [1-3].

Une étude auprès de neuf parcs zoologiques Français au cours des cinq dernières années de 2003 a mis en évidence chez les lémurins : une morbidité et une mortalité fréquemment importantes dues aux infections bactériennes intestinales et respiratoires [5]. *E.coli* entéropathogène, *Salmonella sp.* sont parmi les principales bactéries impliquées dans les maladies intestinales alors que *Klebsiella pneumoniae* dans les maladies respiratoires. Les genres *Escherichia* et *Salmonella* font parties des entérobactéries pathogènes majeures alors que le genre *Klebsiella* fait partie des entérobactéries pathogènes opportunistes.

La présente étude intitulée: identification des entérobactéries dans les selles des lémurins dans le parc botanique et zoologique de tsimbazaza pourra fournir des bases de données pour renforcer les mesures prophylactiques employées pour préserver les lémurins. La persistance des entérobactéries dans l'environnement est en partie due à la dissémination des matières fécales. Quand les conditions environnementales leur sont favorables, ces bactéries peuvent contaminer non seulement l'animal mais aussi l'homme. Les principaux modes de contamination sont : la mauvaise hygiène générale, la consommation des produits végétaux contaminés, le contact avec les déjections et le contact direct entre les animaux [6,7]. L'hypothèse de cette recherche est que la

cohabitation a un fort impact sur la composition du microbiote que la génétique et l'appartenance à la même famille [8].

L'identification de ces entérobactéries à partir des prélèvements de selles des lémurians n'a pas été encore faite auparavant. A l'issue de cette étude, nous aurons une connaissance des espèces d'entérobactéries présentes dans les selles des lémurians. Cette identification se base sur la reconnaissance de leurs caractères morphologiques et leurs caractères biochimiques culturaux [9-11].

Ainsi l'objectif de cette étude est d'identifier les espèces d'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella sp.* à partir des prélèvements des selles des lémurians. Les objectifs spécifiques sont d'identifier les entérobactéries dans les selles des lémurians et de déterminer si les entérobactéries identifiées présentent de différence entre les espèces, le sexe et l'enclos des lémurians.

Pour développer cette étude, la première partie consiste à faire le point de connaissance sur les lémurians, les *Enterobactériaceae* et la problématique de l'importance des genres d'*Escherichia*, *Klebsiella* et *Salmonella* dans la santé des animaux. La deuxième partie est consacrée à la description des méthodes permettant la réalisation de l'étude et la présentation des résultats du travail. La discussion et les recommandations constitueront la dernière partie.

PREMIERE PARTIE : RAPPELS

I. Généralités sur les lémuriens

I.1. Classification des espèces de lémuriens

Les primates sont des mammifères le plus souvent arboricoles. Ils comprennent deux grands groupes: les simiens et les prosimiens.

Les simiens (ou singes) ont un museau court, yeux dirigés vers l'avant et un cerveau bien développé. Ce groupe comprend les Platyrrhiniens et les Catharriniens.

Les prosimiens (ou lémuriens) ont un museau allongé, un cerveau relativement petit, des lobes olfactifs bien développés. Ce groupe comprend les Tarsiiformes, Tupaïiformes, Lorisiformes et les Lémuriformes.

Source:<https://www.google.com/search?q=photo+classification+des+primates+actuels&tbm=isch&>; 2016.

Les Lémuriformes sont repartis strictement à Madagascar et à quelques îles de l'archipel des Comores. Ils sont regroupés en 05 familles différentes qui comportent une trentaine d'espèces.

La classification des espèces de lémuriens selon la famille est présentée dans les tableaux suivants:

Tableau I: Classification de la famille *LEPILEMURIDAE*

Genre	Espèces	Sous-espèces
<i>Lepilemur</i>	<i>L.dorsalis</i>	
	<i>L.edwardsi</i>	
	<i>L.leucopus</i>	
	<i>L.mustelinus</i>	
	<i>L.microdon</i>	
	<i>L.ruficaudatus</i>	
		<i>L.s.septentrionalis</i>
	<i>L.septentrionalis</i>	<i>L.s.andrafiamenensis</i>
		<i>L.s.sahafarensis</i>
		<i>L.s.ankaranensis</i>

Tableau II: Classification de la famille *DAUBENTONIIDAE*

Genre	Espèce	Sous-espèces
<i>Daubentonia</i>	<i>D.madagascariensis</i>	

Tableau III : Classification de la Famille *INDRIIDAE*

Genre	Espèces	Sous-espèces
<i>Indri</i>	<i>I.indri</i>	
<i>Avahi</i>	<i>A.laniger</i>	
	<i>A.occidentalis</i>	
<i>Propithecus</i>		<i>P.d.canditus</i>
	<i>P.diadema</i>	<i>P.d.diadema</i>
		<i>P.d.edwardsi</i>
		<i>P.d.holo-melas</i>
		<i>P.d.perreri</i>
	<i>P.tattersallis</i>	
	<i>P.verreauxi</i>	<i>P.v.coquereli</i>
		<i>P.v.coronatus</i>
		<i>P.v.deckeni</i>
		<i>P.v.Verreauxi</i>

Tableau IV: Classification de la famille *CHEIROGALEIDAE*

Genre	Espèces	Sous-espèces
<i>Cheirogaleus</i>	<i>C.major</i>	<i>C.m.major</i>
		<i>C.m.crossleyi</i>
	<i>C.medius</i>	
<i>Microcebus</i>	<i>M.murinus</i>	
	<i>M.myoxinus</i>	
	<i>M.ravelobensis</i>	
	<i>M.rufus</i>	
<i>Allocebus</i>	<i>A.trichotis</i>	
<i>Phaner</i>	<i>P.furcifer</i>	
<i>Mirza</i>	<i>M.coquereli</i>	

Tableau V : Classification de la famille LEMURIDAE

Genre	Espèces	Sous-espèces
<i>Eulemur</i>	<i>E.coronatus</i>	<i>E. f. albifrons</i>
		<i>E. f.albocollaris</i>
	<i>E.fulvus</i>	<i>E.f. collaris</i>
		<i>E. f. fulvus</i>
		<i>E.f. rufus</i>
		<i>E.f. sanfordi</i>
	<i>E.macaco</i>	<i>E. m.macaco</i>
		<i>E.m. flavifrons</i>
	<i>E.mongoz</i>	
	<i>E.rubriventer</i>	
<i>Lemur</i>	<i>L.catta</i>	
<i>Varecia</i>	<i>V.variegata</i>	<i>V. v.variegata</i>
		<i>V.v.rubra</i>
		<i>V.v.editorum</i>
		<i>V.v.subcincta</i>
<i>Hapalemur</i>	<i>H.aureus</i>	
	<i>H.griseus</i>	<i>H.g.alaotrensis</i>
		<i>H.g.griseus</i>
		<i>H.g.occidentalis</i>
	<i>H.simus</i>	
	<i>H.meridionalis</i>	

Source: Marcelle N. Activités antiparasitaires des plantes consommées par le lémurien de mayotte (*Eulemur fulvus*) en relation avec le niveau d'infestation parasitaire en milieu naturel [Thèse]. Médecine vétérinaire : Creteil ; 2003.172p.

I.2. Anatomie générale de l'appareil gastro-intestinal

La structure générale de l'appareil gastro-intestinal prosimien comprend:

- un estomac simple,
- un intestin grêle modérément long,
- un cæcum
- et un colon de longueur diverse.

En effet, il existe des différences interspécifiques dans leur morphologie gastro-intestinal. Ils sont dues par la présence de différence dans leur régime alimentaire.

Hapalemur griseus présente des caractéristiques suivantes qui lui sont propres:

- un caecum court, émoussé et raccourci
- un colon sacculé

Propithecus tattarselli, *Propithecus verreauxi*, *Lemur catta* et *Hapalemur griseus* présentent des différentes sacculations dans le caecum ou le colon alors qu'elles sont absentes chez *Varecia varegata*.

Propithecus ont un tractus gastro-intestinal beaucoup plus long proportionnellement à la longueur du corps que les autres espèces comme *Varecia*, *Hapalemur*, *Lemur*.

Les figures suivantes montrent les différences de leur morphologie gastro-intestinale:

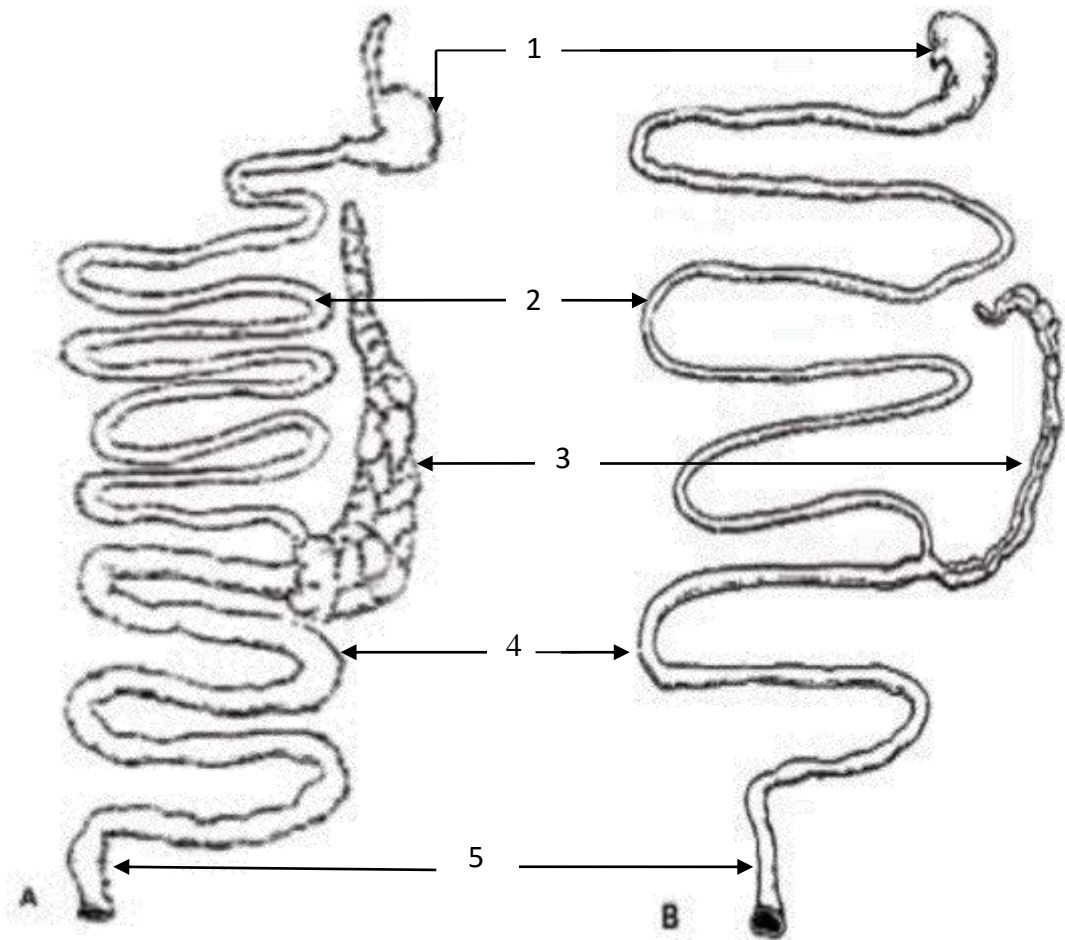


Figure 2 : Tube digestif *lemur catta*

Figure 3 : Tube digestif *lemur, Varecia*

1 : Estomac, 2 : Intestin grêle, 3 : Pancréas, 4 : Gros intestin, 5 : Rectum

Source: Fidiniaina R. Etude anatomique d'une espèce de lémurien (*Eulemur fulvus*) : coupes topographiques et tomodensitométriques du thorax, de l'abdomen et du bassin. Application à la pratique de l'échographie du cœur et des reins [Thèse]. Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition : Toulouse ; 2008.253p.

- **Estomac**

L'estomac est un organe permettant la transformation des aliments à l'état de chyme semi-liquide afin de les rendre acceptables par l'intestin. L'agent de cette transformation est le suc gastrique.

- **Intestin grêle**

Il fait suite à l'estomac. Il est constitué de trois segments : duodénum, jéjunum, iléon. Il termine le processus de la digestion des protides, glucides et lipides débutés dans la bouche et l'estomac à l'aide des sécrétions intestinales, pancréatiques et hépatiques. Il assure presque toute l'absorption des nutriments et de l'eau.

Il assure quatre fonctions:

La fonction motrice est constituée de deux mouvements. Le mouvement de segmentation permet de mélanger le chyme et des enzymes digestives. Le mouvement péristaltique permet de propulser le chyme dans le tube digestif.

La fonction d'absorption se fait majoritairement au niveau jéjunal.

La fonction endocrine permet la production des hormones.

La fonction immunitaire assure la protection contre les agressions bactériennes et le risque de translocation.

- **Gros intestin**

Il est constitué de plusieurs segments: caecum, colons (ascendant, descendant et transverse) et rectum. Il assure la fonction motrice de brassage et de propulsion du contenu intestinal, la fonction d'absorption de l'eau et des électrolytes. Il assure aussi la vascularisation des artères mésentériques.

- **Pancréas**

Le pancréas assure la fonction exocrine par la production du suc pancréatique.

- **Rectum**

La distension de l'ampoule rectale par l'arrivée des matières fécales déclenche le réflexe de défécation.

I.3. Aire de répartition de quelques lémuriens à Madagascar

Eulemur albifrons se trouve dans la forêt tropicale humide au nord-est de Madagascar: rivière Bemarivo, près de Sambava, Masoala. Une population isolée est probablement introduite également dans la Réserve naturelle intégrale de Betampona et de Nosy Mangabe.

Eulemur coronatus se trouve dans les forêts humides et tropicales sèches de l'extrême nord de Madagascar. Il est le seul lémurien qui se trouve sur la péninsule de Cap d'Ambre, le point le plus au nord de l'île. La partie orientale de son aire de répartition se prolonge au sud le long de la rivière Manambato, au sud de Daraina et jusque au nord de Sambava.

Eulemur fulvus se trouve au nord-ouest de Madagascar par la rivière Betsiboka et au nord-est de Madagascar par la rivière Mangoro. Il est l'un des deux espèces qui peut être vue en dehors de Madagascar, sur l'île de Mayotte et de Comore. Les populations occidentales peuvent s'étendre de la rivière du Betsiboka, parc national d'Ankarafantsika, réserve spéciale Manongarivo, la rivière du Mahavavy, dans les forêts humides de la région de Sambirano, sur les pentes du massif de Tsaratanana et la réserve spéciale Ambatovaky.

Eulemur flavifrons a été redécouvert à Madagascar en Novembre 1983 dans les forêts au nord de Befotaka et au sud de Maromandia. Des expéditions ultérieures ont établi sa présence sur la péninsule Sahamalaza, la rivière Andranomalaza au limite nord, la rivière Maevarano au limite sud et la rivière Sandrakota au limite est.

Eulemur macaco se trouve au niveau de la rivière Mahavavy au limite nord, rivière Andranomalaza au limite sud et autour de la réserve spéciale Manongoro. On le trouve dans les forêts de la péninsule d'Ampasindava, sur les îles de Nosy Be et Nosy Komba, dans les forêts côtières nord-est d'Ambanja. Il a été introduit dans la petite île de Nosy Tanikely (site touristique).

Eulemur mongoz se trouve au nord-ouest de Madagascar : Ambatoboeny et Ankarafantsika. Il est également l'une des deux seules espèces qui se retrouve en dehors de Madagascar, aux Comores sur les îles de Mohéli et d'Anjouan. La limite nord de sa distribution semble être proche d'Analalava sur la baie de Narindra. Il se trouve également au sud et à l'ouest de la rivière Betsiboka à Katsepy et sur les rives du Lac Kinkony, des deux côtés de la rivière Mahavavy et dans la forêt classée Tsiombikibo près de Mitsinjo.

Eulemur rubriventer se trouve à partir du côté nord-est de Madagascar, tout le côté et jusque à la rivière de Mananara. Cette espèce est habituellement beaucoup plus rare que les autres *Eulemur* sympatriques.

Eulemur rufifrons se trouve des deux côtés de Madagascar: au sud-est par la rivière Onive, la rivière Mangoro, la rivière Manampatrana et au sud-ouest par la rivière Tsiribihina.

Eulemur rufus se trouve dans le centre-ouest et dans les forêts tropicales de plaine côtière sèche de Madagascar (la rivière du Sud Mahavavy au moins jusqu'à la rivière Tsiribihina).

Lemur catta se trouve dans les forêts tropicales sèches et épineuses au sud et sud-ouest de Madagascar: Tolagnaro, Belo-sur- Tsiribihina, montagnes d'Andringitra, rivière de Morondava. Il se trouve aujourd'hui dans Kirindy Mitea à de faibles densités.

Varecia rubra ne se trouve que seulement dans les forêts primaires restantes de la péninsule de Masoala et de la région au nord de la baie d'Antongil , au nord de Madagascar.

Varecia variegata subcincta se trouve au sud de la rivière Antainambalana jusque à la rivière Anove. Il se trouve aussi jusqu'à la région sud de Toamasina, mais a disparu à partir de là. Tous les spécimens de musée examinés par Groves ont été recueillis dans la région de Maroantsetra. Sa distribution est maintenant très inégale et fragmentée. Sa densité de population est généralement faible [14,15].

I.4. Généralités sur l'élevage des lémuriens dans le Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza

Au Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza, les lémuriens sont élevés en captivité et/ou en semi-liberté. Plusieurs espèces appartenant à la famille de *Cheirogaleidae*, *Lepilemuridae*, *Indriidae*, *Daubentoniidae* et *Lemuridae* y sont représentées. Ladernière famille y prédomine.

Les lémuriens dans le Parc sont élevés dans les ilots et les enclos. Les barrières naturelles constituées d'eau entourent les Ilots tandis que des grillages métalliques sont les éléments constitutifs majeurs des enclos. Les enclos sont de dimension différente. Selon cette dimension, les enclos derrière vivarium sont constitués d'une seule salle ainsi que les enclos non exposés au public et ceux de la Serres. Seul les enclos de type cages rondes et de types « élevage pilote » sont constitués de deux salles. Ils sont tous munis de mangeoire, abreuvoir, nichoir et des perchoirs. Les visiteurs se tiennent à une certaine distance par rapport à l'aire d'élevage grâce à l'existence des allées qui leur sont réservées [16].

Les aliments à donner sont en fonction de l'espèce des lémuriens. Satisfaire leur besoin nutritionnel est l'une des préoccupations majeures des nutritionnistes du parc. L'eau à donner aux animaux provient de l'eau du robinet et elle est renouvelée quotidiennement après le nettoyage des enclos. L'approvisionnement des aliments pour la semaine se fait quelques jours en avance. Ils sont livrés directement par les fournisseurs au parc et sont ensuite stockés dans un local réservé à cet effet où ils sont placés dans une étagère muni d'une porte grillagée à l'abri des rongeurs. Selon la disponibilité des fruits et légumes au cours de l'année, la ration de base est constituée de banane, papaye, poireau, choux fleur, avocat, haricot vert, tomate, chou, ananas, carotte, salade. Les aliments complémentaires sont constitués des pistaches cuits qui sont à donner seulement le mardi et le dimanche; les œufs cuits qui sont à donner le mercredi et le vendredi alors que les morceaux du pain sont à donner seulement le lundi et le jeudi. La distribution d'aliment se fait une fois par jour et aux alentours du midi. Dans la salle de préparation de l'alimentation, les légumes et les fruits sont rincés abondamment avec de l'eau pour enlever le reste d'insecticide au cours de leur culture.

Les matériels de nettoyage sont constitués de pelle et de balai. Le nettoyage de chaque emplacement se fait quotidiennement le matin. La mangeoire et l'abreuvoir sont à retirer pour pouvoir les laver. Le sol est à balayer pour que le reste d'aliment et les fumiers soient rassemblés et jetés. Pour les emplacements contenant des individus agressifs, le nettoyage se fait par pression d'eau à l'aide d'un tuyau d'arrosage. Au parc, les soigneurs animaliers sont réparties à leur emplacement ou site respectif. Ils se chargent à la fois du nettoyage des enclos, des soins, la préparation et la distribution de la nourriture. Parmi les espèces présentes dans le parc, celles qui sont en petit nombre font l'objet de la reproduction. Les mâles et les femelles sont logés dans le même emplacement pour qu'ils s'habituent entre eux et pour diminuer l'agressivité mais aussi d'augmenter la chance de la reproduction et la survie de la descendance.

L'emploi des produits antiparasitaires est délicat chez les lémuriens par manque de disponibilité en produit spécifique pour cette espèce. Pour remédier au risque de la perte d'individu, l'emploi des produits se fait par expérience. L'Albendazole, Mebendazole et Fenbendazole sont les molécules largement utilisés. Ils sont dissimulés dans leur aliment. Le produit n'est donné à l'individu qu'après coproscopie positive ou après constatation de cas, après autopsie d'un individu du groupe ou encore en cas

d'expression des signes d'infestation.

En cas de suspicion d'une maladie, l'individu est isolé des autres et transféré dans une autre cage à fin qu'il puisse être surveillé de près et traité [17].

II. Généralités sur les *Enterobactériaceae*

II.1. *Enterobactériaceae*

De nombreux genres bactériens appartiennent à la famille des *Enterobactériaceae*. Les entérobactéries sont facilement cultivables sur gélose ordinaire (18 à 24 heures à 37°C avec un pH neutre). Ils sont des bacilles à Gram négatif plus souvent courts (1 à 6 µm), droits, immobiles ou mobiles par une ciliature péritriche, aéro-anaérobies facultatifs, pas d'oxydase, catalase positive, nitrate réductase positive, non sporulés, fermentant le glucose en acides avec ou sans production de gaz.

L'ADN des entérobactéries a un poids moléculaire de 38 à 60 mol% et leur génome est riche en guanine et cytosine. Les critères qui permettent de distinguer les nombreux genres et espèces d'entérobactéries sont la fermentation des différents sucres, la production ou non de sulfure, la production d'indole, la production d'uréase, la présence ou l'absence des enzymes du métabolisme (désaminases, décarboxylases)...etc [7,11,18].

Pouvoir pathogène et habitat

Les entérobactéries représentent près des trois quarts des isollements d'un laboratoire de Bactériologie médicale. Elles sont présentes en particulier dans l'intestin qui leur a donné son nom. Elles sont pour la plupart des hôtes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Dans ce cas elles sont en état soit de colonisateurs normaux soit à l'état pathogènes. Elles peuvent se retrouver dans la nature (sol et les eaux) par l'intermédiaire des matières fécales [7]. Certaines bactéries comme *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia* sont dites bactéries pathogènes spécifiques (BPS) alors que d'autres bactéries comme *Klebsiella* sont dites bactéries pathogènes opportunistes (BPO). Elles évoluent et se développent pour la plus part de temps une certaine relation de saprophytisme, commensalisme avec l'hôte. Mais cette relation peut être influencée par des variations des facteurs environnementaux, écologiques, immunologiques ou physiologiques qui font qu'elles peuvent devenir pathogènes et/ou disséminés à partir

du foyer initial dans l'organisme. En effet, la virulence bactérienne dépend toujours de la réaction de l'hôte qui l'héberge. Il a été démontré que l'antibiothérapie a un impact sur la flore intestinale. Plusieurs antibiotiques comme Amoxycilline, Erythromycine, Ceftriaxone, Céphalosporine, Ampicilline, Tétracycline, Sulfamide, Streptomycine, Chloramphénicol sont impliqués dans la modification de cet écosystème intestinal.

Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*[11].

Caractères culturels

Elles poussent aisément sur les milieux ordinaires. La température optimale de croissance est généralement de 35 à 37°C mais la culture est possible entre 20° et 40°C. Il existe toujours des exceptions à l'instar qu'elle peut être 30 à 37°C pour les *Yersinia*. Elles sont toutes aéro-anaérobies facultatives et l'aspect générale des colonies sur gélose nutritive est florissante dont les colonies sont de 1 à 3 mm de diamètre et généralement bombées, lisses et brillantes. Des dissociations peuvent s'observer entre variant: muqueux, lisse ou smooth (S), rugueux ou rough (R). Le temps de division varie de 20 à 40 minutes. Toutes les bactéries ont toutes des besoins communs de base : eau, sources d'énergie et nutriments (sources de carbone, d'azote et autres éléments nécessaires aux biosynthèses) [18].

Caractères biochimiques

La recherche des caractères généraux de la famille et la recherche des caractères biochimiques demeurent les moyens d'identification couramment mis en œuvre car l'identification par des techniques issues de la biologie moléculaire n'est pas encore à la portée de tous les laboratoires. En bactériologie médicale, l'évolution de la technologie dans le domaine des *Entérobactériaceae* a été la plus importante. Dans la pratique quotidienne, les galeries d'identification en tubes révoquent pour faire place à celle des galeries prêtes à l'emploi.

II.2. Importance des genres *Escherichia*, *Klebsiella* et *Salmonella* dans la santé des animaux

Genre *Escherichia*

Ce genre comporte cinq espèces : *E.coli*, *E.alberti*, *E.fergusonii*, *E.hermanii* et

E.vulneris, *E.blattae* isolé de cafards n'a jamais été retrouvé dans des prélèvements humains. *E.hermannii* et *E.vulneris* ont été retrouvés dans les prélèvements de plaies. *E.coli* est le plus fréquemment isolée dans les laboratoires de bactériologie.

Pouvoir pathogène et habitat

E.coli est une bactérie commensale de l'intestin des animaux et de l'homme où elle représente l'espèce aérobie quantitative la plus importante de la flore digestive. Sa présence dans l'eau et le sol n'est pas considérée normale.

E.coli présente une grande diversité sur le plan génétique et sur le plan du pouvoir pathogène. Sur les deux types des infections à *E.coli*, les méthodes d'analyse génomique (MLST, ribotypage) ont montré que les infections intestinales à type de diarrhée sont dues aux souches d'*E.coli* appartenant majoritairement aux groupes A et B1 alors que les infections extra-intestinales sont dues aux souches d'*E.coli* appartenant majoritairement aux groupes D et B2 [11,19].

Les souches pathogènes d'*E. coli* sont responsables des infections intestinales comme les entérites avec des lésions attachement/effacement (AEEC), soit aux *E.coli* entérotoxigènes (ETEC), soit aux *E. coli* entérohémorragiques (EHEC). Les EHEC de souche *E. coli* 0157:H7 constituent une zoonose grave.

Les infections extra-intestinales sont les infections urinaires dues à *E. coli* uropathogène (UPEC) et les septicémies par *E. coli* extra-intestinal. Et lorsque les *E.coli* se retrouvent au niveau des autres localisations, ils peuvent être des pathogènes opportunistes et provoquent des mammites, des métrites/pyométrites, des infections pulmonaires et des infections ombilicales.

Chez les lémuriens :

E.coli peut entraîner des manifestations intestinales comme la gastroentérite hémorragique et des manifestations extra-intestinales comme la pneumonie, pyélonéphrite associée à une métrite et/ou une méningite [5].

Genre *Klebsiella* et *Raoultella*

Au sein du groupe KES (Entérobactéries VP+, tribu des *Klebsiellae*, on différencie sur le plan phénotypique les genres immobiles, « groupe des Klebsielles » (genres *Klebsiella* et *Raoultella*), les genres mobiles et sensibles à la colistine, « groupes

des entérobacters » (genres *Hafnia*, *Enterobacter*, et *Pantoea*) et les genres mobiles et résistants à la colistine (*Serratia*, *Cedecea*).

Le genre *Klebsiella* est composé de quatre espèces et sous-espèces :

- Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*
- Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae*
- Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis*
- Klebsiella oxytoca*

Les résultats des hybridations ADN-ADN montrent que *Klebsiella ornithinolytica*, *Klebsiella planticola* et *Klebsiella terrigena* forment un groupe distinct qui sont reclassées au sein du nouveau genre *Raoultella* :

- Raoultella ornithinolytica*
- Raoultella planticola*
- Raoultella terrigena*

Pouvoir pathogène et habitat

K.pneumoniae et *K.oxytoca* sont des hôtes normaux de l'appareil respiratoire et surtout du tube digestif des animaux.

-*Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* sont isolées principalement dans les infections urinaires ou respiratoires parfois compliquées de septicémies.

-*Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae* est associée à ou responsable de l'ozène qui associe rhinite atrophique fétide et des processus destructifs des bronches.

-*Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis* est associée au ou peut être responsable du Rhinosclérome qui est un épaissement chondroïde des muqueuses labioglossopharyngées [11].

Le *K. pneumoniae subsp pneumoniae* existe aussi à l'état commensal sur la peau. Elles sont ubiquistes et se transmettent par manipulation des matériels souillés et par des mains sales. Elles sont responsables des infections diverses selon les sites anatomiques contaminés: mammites, métrites, infections suppuratives, infections urinaires, infections respiratoires, infections biliaires, infections hépatiques, bactériémie, septicémie, arthrite pouvant détruire l'articulation et provoquant un handicap définitif [20].

Chez les lémuriens :

K.pneumoniae et *K.oxytoca* (moins fréquent) peuvent entraîner une pneumonie, une méningite, une infection du tractus urogénital et une péritonite [5].

Genre *Salmonella*

Les *Salmonella* sont essentiellement des parasites intestinaux des animaux vertébrés.

Pouvoir pathogène et habitat :

Dans la majorité des cas, les animaux sont considérés comme des porteurs asymptomatiques mais dans certains des cas, ils peuvent exprimer des signes cliniques plus ou moins sévères. Ils peuvent être disséminés dans l'environnement par des excréments. Si les conditions y sont favorables, elles peuvent survivre pendant plusieurs semaines en milieu sec et pendant plusieurs mois dans l'eau.

Quelques serovars sont spécifiquement humains : *Typhi* et *Paratyphi* alors que d'autres comme le serovars *Pullorum* ne se rencontrent que chez l'animal. En majorité, les serovars ont un spectre d'hôte assez large et peuvent infecter aussi bien l'homme que les diverses espèces animales.

Chez les animaux, le serovars :

-*Typhi murium* entraîne de la diarrhée, septicémie et de l'hyperthermie chez les bovins, moutons et les porcs alors que chez les chevaux et les volailles, il n'y a que de la diarrhée et septicémie.

-*Enteritidis* entraîne de la diarrhée et septicémie chez les volailles.

Chez l'homme, *Salmonella* peuvent entraîner des maladies comme :

-salmonellose qui est due plus fréquemment soit au serovars *Typhi murium* soit au serovars *Enteritidis* qui entraîne de la diarrhée et de la fièvre.

-fièvre typhoïde qui est due le plus fréquemment au serovars *Typhi* qui entraîne de la septicémie et de la fièvre.

-fièvre paratyphoïde qui est due fréquemment au serovars *Paratyphi* qui entraîne de la septicémie et de la fièvre.

Ces maladies sont des zoonoses qui peuvent se transmettre soit par TIAC soit par contamination direct avec les excréments contaminés[11,21].

DEUXIEME PARTIE : METHODE ET RESULTATS

I. METHODES

I.1. Cadre de l'étude

Le Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza constitue le milieu d'étude dans ce recherche. Il a été créé par arrêté du 29 Août 1925 pour rassembler et multiplier éventuellement les spécimens de la flore malgache et à introduire des espèces intéressantes de la flore étrangère. Il se trouve dans le quartier de Tsimbazaza près du centre ville d'Antananarivo, la capitale de Madagascar. Sa superficie est de 27 ha avec des coordonnées géographiques 18°55'55.10"S 47°31'36.00"E.

Justification du choix de lieu d'étude

Ce site est pris dans l'étude pour des raisons suivantes:

il fait partie des Parcs Zoologiques Malgaches connus aussi bien sur le plan national qu'international. Les aménagements à l'intérieur qu'à l'extérieur des enclos sont prises en considération et les lémurien y sont nombreux. Ils sont aux environs de 120 individus.

I.2. Type d'étude

Il s'agit d'une étude analytique transversale, prospective et exhaustive. L'étude se rapporte aux résultats bactériologiques des selles prélevées sur le site d'étude.

I.3. Période et durée d'étude

I.3.1. Période d'étude

La période étudiée s'étend du mois de juin au septembre de l'année 2014.

I.3.2. Durée d'étude

La rédaction du protocole de recherche a commencé au mois d'avril 2014. Le document final de restitution de l'étude sera finalisé au mois de mai 2015.

I.4. Population d'étude

La population d'étude est constituée des lémurien qui se trouvent dans le Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza.

I.4.1. Critères d'inclusion

Tous les lémurien diurnes qui se trouvent dans les enclos sont pris dans l'étude.

I.4.2. Critères d'exclusion

- Tous les lémuriens diurnes qui se trouvent dans les enclos contenant un ou plusieurs individus agressifs où aucun animalier n'ose pas y entrer.
- Tous les lémuriens diurnes qui se trouvent dans les Ilots.

I.4.3. Critères du non inclusion

- Tous les lémuriens nocturnes.

I.5. Echantillonnage

I.5.1. Taille

Tous les lémuriens qui se trouvent dans les enclos sont pris dans l'étude.

I.5.2. Mode de l'échantillonnage

Chaque enclos dans leur emplacement est numéroté respectivement. Chaque individu qui s'y trouve est identifié selon l'observation des signes extérieurs évidents, de la couleur du pelage qui le spécifie et de sa taille par rapport aux autres. Il reçoit ensuite un code de terrain qui lui est propre. Ce code sera ensuite remplacé par un code de laboratoire une fois que le prélèvement arrive au laboratoire d'analyse LNDV.

I.6. Matériels

I.6.1. Population d'étude

Les lémuriens proviennent du Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza. Ils se trouvent dans 04 types d'emplacement avec des dimensions différentes: Derrière vivarium, Enclos non exposés au public, Cages rondes et Serres.

Les figures illustrant ces emplacements sont les suivantes:



Figure 4 : Emplacement Derrière vivarium

Source: l'auteur; 2014.



Figure 5 : Enclos non exposés au public

Source: l'auteur; 2014.



Figure 6 : Emplacement Cages rondes

Source: l'auteur; 2014.



Figure 7 : Emplacement Serres

Source: l'auteur; 2014.

I.6.2. Matériels de collectes et transport des matières fécales

Les selles sont collectées directement sur le sol tout de suite après leur émission à l'aide des gants de fouille découpés. Chaque prélèvement collecté est ensuite mis dans une glacière portative muni d'un accumulateur de froid (+ 2°C à + 8°C) pour être stocker et conserver en attendant les autres prélèvements. La collecte des prélèvements se fait entre 11h à 14h. Ils sont ensuite envoyés et analysés au laboratoire.



Figure 8 : Glacière et gant de fouille stérile

Source: l'auteur; 2014.

I.6.3. Matériels de laboratoire

Pour bien mener les analyses bactériologiques, les matériels suivants sont mis à la disposition tout au long de l'étude par le laboratoire:

Pour les prélèvements :

- Marqueur;
- gants de fouille découpés qui servent de récipient pour mettre les prélèvements;
- accumulateur de froid de marque FRIZET T1000;
- glacière de marque Coolbox de capacité 08 litres.

Pour le pré-enrichissement :

- Marqueur;
- Bec benzène;
- Briquet;
- Balance de précision de marque PIERRON;

- Papier d'emballage;
- Tubes à vis de 15 ml;
- Portoirs en bois;
- Milieu BN.

Pour l'enrichissement et l'isolement :

- Marqueur;
- Réfrigérateur de marque Brandt;
- Poste de sécurité Microbiologique PSM de marque Fisherscientific types II;
- Bec benzène;
- Briquet;
- Ecouillons;
- Anses de platine;
- Bac pour récupération des déchets;
- Etuve de marque SELECTA;
- Milieu EMB;
- Milieu BGA;
- Milieu SS.

Pour l'identification des caractères biochimiques :

- Bec benzène;
- Briquet;
- Marqueur;
- Sel de cuisine;
- Eau distillée;
- Ecouillons;
- Anses de platine;
- Tubes NEC ou Tubes Falcon plastique de 15ml;
- Vortex de marque Fisherbrand;
- Pipette à un seul canal;
- cônes bleus;
- Galeries classiques d'identification : ONPG, réactif de Kovac, milieu urée-indole, milieu Kligler-Hajna, Citrate de Simmons, ODC, ADH, LDC.

I.7. Collecte des données

I.7.1. Reconnaissance des individus dans leurs emplacements respectifs

Une période d'imprégnation d'un mois permette à la fois de s'habituer au travail des soigneurs animaliers et de reconnaître les individus dans leurs emplacements respectifs (voir annexe 2). Les enclos de chaque emplacement sont numérotés. Dans chaque enclos, chaque individu est identifié à l'aide d'une brève description basée sur l'observation de ses caractéristiques corporelles. Cette description permet ainsi de le distinguer des autres. La couleur du pelage du corps global ou à un endroit précis, la taille de l'animal, la présence des signes pathologiques évidents et le sexe sont des éléments à utiliser pour la description de l'individu. L'individu reçoit ensuite un code de terrain qui lui est propre. Les fiches descriptives des individus sont déjà conçues avant le début de l'étude.

I.7.2. Collecte, stockage, conservation et transport des matières fécales

L'opérateur se place à la même distance que les visiteurs et guette les défécations des animaux. La selle est collectée directement sur le sol tout de suite après leur émission à l'aide d'un gant de fouille stérile préalablement découpé. Une fois à l'extérieur de l'enclos, le code de terrain individuel est ensuite marqué pour identifier le prélèvement. Il est ensuite déposé et stocké dans la glacière portative contenant un accumulateur de froid en attendant les autres prélèvements. L'heure de collecte des prélèvements est fixée de 11h à 14h après le nettoyage des enclos. Les selles molles sont seulement prises en compte. Il faut au maximum deux heures pour que les prélèvements collectés arrivent au Laboratoire.

Ainsi, les prélèvements sont traités dans les cinq heures car les étapes d'analyse commencent après le recueil des prélèvements au secteur de bactériologie [8,9,19,22]. Durant l'étude, la selle de chaque individu n'a été prélevée qu'une seule fois et il doit être au moins 01g. Les matières fécales prélevées le même jour sont traitées ensemble selon le programme de réalisation des activités des analyses bactériologiques sur l'annexe 4.

Durant la période s'étalant du 07 juillet jusqu'au septembre 2014, les prélèvements de selles ont été réalisés sur 81 lémurien.

I.7.3. Réception des prélèvements au laboratoire

Les prélèvements doivent être enregistrés lors de leur arrivée au laboratoire. La date, le nombre des prélèvements et les codes de terrain individuels correspondants doivent être mentionnés. Chaque code de terrain pour chaque prélèvement fécal individuel est ensuite remplacé par un code du laboratoire. Ce dernier permet de reconnaître à la fois le prélèvement ainsi que l'individu auquel il appartient (Voir annexe 5). Ce nouveau code accompagne le prélèvement le long des étapes d'analyse.

I.7.4. Analyse bactériologique des prélèvements

Tout de suite après l'enregistrement, les prélèvements sont amenés dans la salle bactériologique pour être analysés.

Le Nutrient Broth est utilisé comme milieu de Pré-enrichissement. Il permet la culture d'une grande variété de micro-organismes susceptible d'être présent dans la selle. *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella sp.* poussent sur les milieux ordinaires et ne présentent pas d'exigence particulière pour leurs cultures. Leurs isollements et leurs repiquages peuvent être réalisés sur les milieux usuels.

Le fèces est un produit biologique polymicrobien contenant de la flore commensale, il est nécessaire d'utiliser des milieux d'isolement sélectifs. En effet, les milieux sélectifs pour une bactérie donnée permettent d'inhiber suffisamment la culture de la flore commensale tout en inhibant le moins possible ces bactéries.

Dans ce cas, trois milieux de culture sont utilisés :

- Le milieu E.M.B TEAGUE (Eosine Bleu de Méthylène) est utilisé comme un milieu d'isolement sélectif et de différenciation des entérobactéries;

- Le milieu BGA (Brillant Green Agar) est utilisé comme un milieu d'isolement sélectif des salmonelles dans les fèces;

- Le milieu S.S (*Salmonella-Shigella* Agar) est utilisé car il est un milieu d'isolement sélectif pour la recherche de *Salmonella* dans les selles.

Ces géloses facilitent le repérage des colonies :

- sur E.M.B : les colonies d'*E.coli* apparaissent plates, violettes très foncées avec un reflet métallique (dos de scarabée), les colonies de *Klebsiella* sont grosses, convexes

de couleur rosée et réfléchit un discret reflet métallique tandis que les colonies de *Salmonella* sont petites et grisâtres. Les colonies de *Salmonella* ne sont pas à repérer sur ce milieu car les aspects de leur colonie sont identiques aux colonies des *Shigella*, *Providencia*, *Serratia* et *Hafnia*. Même si les aspects des colonies de *Klebsiella* sont aussi identiques à celles d'*Enterobacter*, ils sont aussi à repérer. Seuls les résultats confirmant la présence de *Klebsiella* sont à retenir.



Figure 9 : Colonies d'*E.coli* sur le milieu E.M.B

Source: l'auteur; 2014.



Figure 10 : Colonies de *Klebsiella* sur le milieu E.M.B

Source: l'auteur; 2014.

-sur BGA : la couleur des colonies *Salmonella typhimurium*, *Salmonella abony*, *Salmonella enteritidis* sont blanc rosé tandis que celle des colonies *Salmonella typhis* ont rose rougeâtre. La couleur des colonies *Escherichia coli* est jaune verdâtre et elle est à repérer sur ce milieu.

-sur S.S: la couleur des colonies *E.coli*, *Salmonella* sont incolores ou transparentes tandis que les colonies rouges sont pour le *Klebsiella*. Il y a aussi des colonies à centre noir pour le *Salmonella*. Seules les colonies à centre noir de *Salmonella* sont à repérer sur ce milieu.



Figure 11 : Colonies de *Salmonella* sur le milieu SS

Source: l'auteur; 2014.

Le milieu de suspension est constitué de solution saline physiologique (NaCl 0.8%) [23-27].

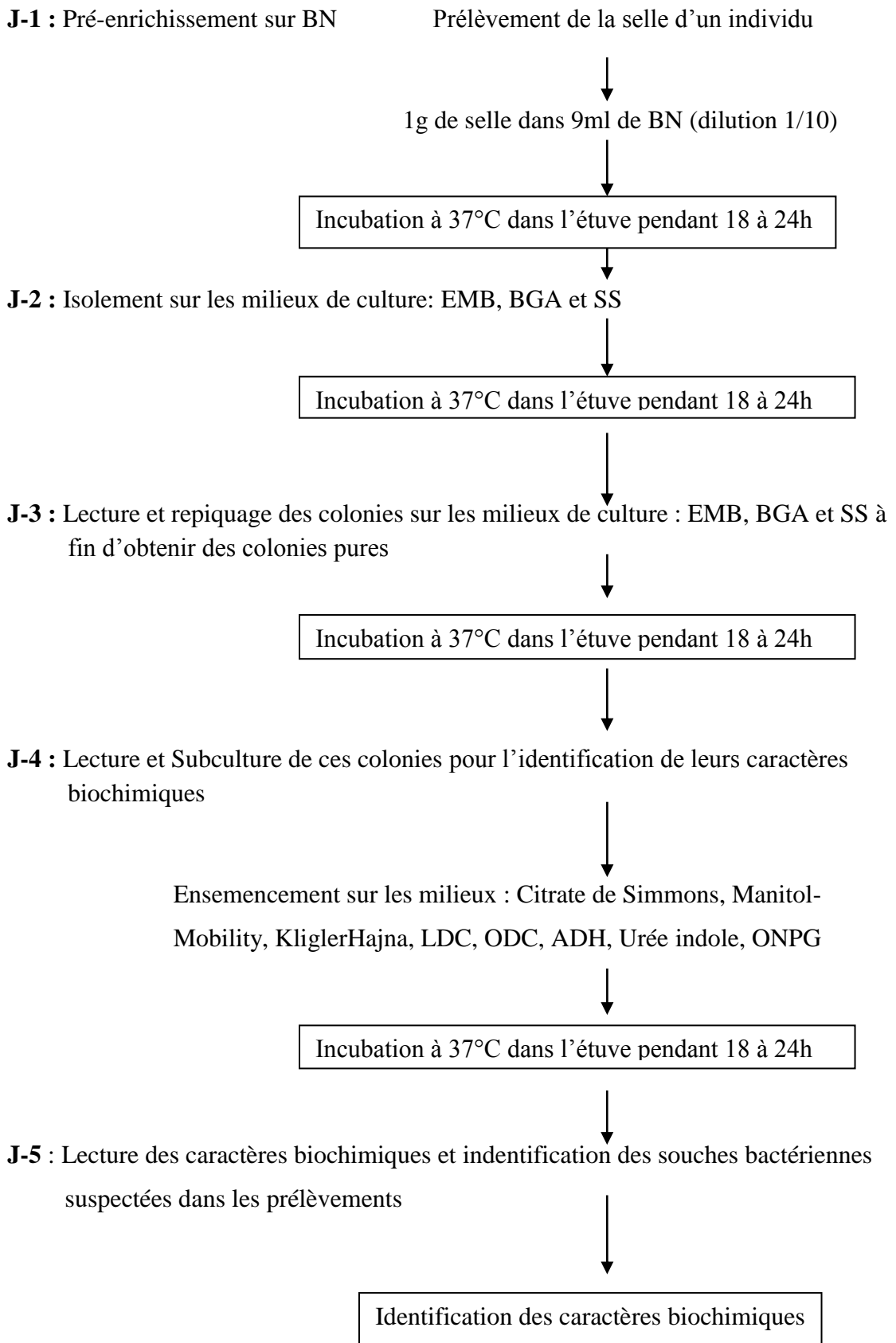
L'ensemencement des milieux solides conditionné en boîte de pétri se fait par méthode des quadrants où la suspension de germe ou l'échantillon est ensemencé en stries. Ceci permet d'obtenir dans le dernier quadrant des colonies isolées. Les colonies correspondant à celles de l'espèce bactérienne recherchées sont prises en considération. Les tests d'identification pourront être pratiqués à partir de ces colonies isolées.

La technique d'ensemencement consiste à déposer l'échantillon dans le milieu d'ensemencement puis de réaliser des stries serrées sur la première moitié de la boîte ensuite de réaliser à nouveau des stries serrées sur la moitié de la boîte après l'avoir tourné de 90° et enfin d'ensemencer le dernier quadrant sans rentrer au contact des quadrants précédents [11].

La durée d'incubation est 18h à 24h à 37°C.

En complément des caractères morphologiques culturels repérés, l'identification de l'espèce bactérienne repose sur le rapprochement des caractères biochimiques à des caractères biochimiques différentiels typiques du genre *Escherichia*, *Klebsiella* et *Salmonella*. Leurs caractères biochimiques différentiels sont réunis dans une liste non exhaustive dans l'annexe 6.

Les analyses bactériologiques se font selon le protocole suivant :



Voici les explications détaillées du protocole :

J-1 : pré-enrichissement sur BN

- Suspension de chaque prélèvement de selle à une quantité de 1g dans un tube contenant 9ml de BN (milieu non sélectif avec une dilution 1/10). Puis fermer le tube avant d'agiter à la main le contenu de chaque tube. Ne pas fermer le tube complètement, tout en laissant le bouchon à semi-ouvert,
- Mettre en incubation à 37°C dans l'étuve pendant 18 à 24h en micro aérobiose.

J-2 : Isolement sur les milieux de culture: EMB, BGA et SS

- Tromper un écouvillon dans le tube du pré-enrichissement avant de l'étaler successivement sur les milieux de culture: EMB, BGA et SS. A l'aide d'une anse, réaliser des stries serrées,
- Mettre en incubation à 37°C dans l'étuve pendant 18 à 24h en micro aérobiose.

J-3 : Lecture et repiquage des colonies sur les milieux de culture : EMB, BGA et SS à fin d'obtenir des colonies pures

- Repérer les colonies qui portent les intérêts de la recherche et repiquer ces colonies jusqu'à ce qu'ils sont isolés sur les milieux de culture,
- Mettre en incubation à 37°C dans l'étuve pendant 18 à 24h en micro aérobiose.

J-4 : Lecture et Subculture de ces colonies pour l'identification de leurs caractères Biochimiques

- Les colonies isolées sont ensuite prises à l'aide d'une anse puis mises dans un tube Falcon contenant le milieu de suspension. Il est ensuite vortexé jusqu'à ce que la suspension devienne homogène. Pour les opérations suivantes, il faut toujours passer l'anse d'ensemencement dans cette suspension.
- Le milieu Citrate de Simmons est conditionné en tube avec une pente.
L'ensemencement se fait en surface par une strie centrale et longitudinale. Il est ensuite incubé à 37°C pendant 24 heures.
- Ensemencement sur le milieu Mannitol-Mobility se fait par pique centrale.
- Le milieu Kligler-Hajna est conditionné en tube avec une pente et un culot. La pente est abondamment ensemencée par stries serrées tandis que l'ensemencement du culot se fait par simple pique à l'aide de la même pipette. Il faut dévisser partiellement le

capsule pour permettre les échanges gazeux. Le milieu est ensuite incubé à 37°C pendant 18 heures.

-Les milieux LDC, ODC et ADH sont repartis dans des tubes à vis. L'ensemencement dans chaque tube est le même. Il s'agit d'ensemencer à l'aide de la suspension bactérienne dense les tubes lysine, ornithine, arginine jusqu'au ras bord des tubes. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

-Concernant le milieu Urée indole, distribuer 0,25 à 0,50 ml de milieu urée-indole dans un tube puis ensemencer chaque tube abondamment à partir d'une culture prélevée sur milieu gélosé et incuber à 37°C. Après 24 heures d'incubation, verser 4 à 5 gouttes de réactifs de Kovacs dans le tube de milieu urée-indole ensemencé.

-Pour la recherche de la beta galactosidase, un disque imprégné d'ONPG est déposé sur la suspension dense et incuber à 37°C.

J-5 : Lecture des caractères biochimiques des souches bactériennes suspectées

-Sur le milieu de Citrate :

Le citrate positif se traduit par le bleuissement du milieu. Le non changement de la coloration du milieu indique un citrate négatif.

-Sur le milieu Mannitol-Mobility :

Le virage au jaune du milieu traduit la fermentation du mannitol. En cas du non fermentation du mannitol, la coloration du milieu reste inchangé.

Une mobilité positive se caractérise par la diffusion des bactéries à partir de la ligne d'ensemencement et marquée par l'apparition des troubles homogènes. Pour la mobilité négative, la culture des bactéries est limitée à la ligne d'ensemencement.

-Sur le milieu Kligler-Hajna :

La présence de tranche jaune indique la fermentation du lactose.

La fermentation du glucose se traduit par l'apparition du culot jaune.

Le noircissement du milieu traduit la production d'H₂S.

La présence des bulles d'air ou des décollements au fond du tube indique la production de gaz.

-Pour chaque tube LDC, ODC, ADH :

La coloration jaune indique l'absence d'enzyme décarboxylase alors que la coloration violette traduit sa présence.

-Pour le milieu Urée-indole :

Le virage du rouge de phénol d'un jaune orange à rose ou rouge vif traduit la présence d'une uréase. Le non changement de la coloration du l'urée traduit l'absence de l'uréase.

En cas d'indole positif, il y a formation d'un anneau rouge à la partie supérieur du milieu après ajout de 04 ou 05 gouttes de réactif de Kovacs.

-Pour l'ONPG :

La coloration de la suspension est jaune en cas d'ONPG positive [28, 29].

Voici une figure qui peut résumer cette étape d'analyse :



Figure 12 : Identification des caractères biochimiques des germes suspectés

Source: l'auteur; 2014.

I.7.5. Identification des souches bactériennes suspectées dans les prélèvements

L'identification consiste à placer cette souche bactérienne particulière dans un taxon. Elle se base sur la reconnaissance des caractères morphologiques et biochimiques cultureux. La taille, l'aspect et la couleur des colonies sont des caractères morphologiques cultureux qui permettent de s'orienter sur le genre de la bactérie grâce à l'utilisation des milieux sélectifs pour les bactéries à rechercher.

Les caractères biochimiques cultureux de la souche inconnue sont à comparer à ceux des espèces déjà décrites. Le nom de l'espèce la plus similaire est ensuite proposé.

Les caractères biochimiques différentiels des principales espèces d'*Escherichia*, *Klebsiella* et *Salmonella* déjà décrites se trouvent dans l'annexe 5. Ils sont obtenus à

partir de la synthèse des données bibliographiques à partir de l'api20E et du livre intitulé Précis de la Bactériologie Clinique édité par Jean F, François R, Roland L, Philippe R.

I.8. Considérations éthiques

- Les consentements éclairés respectifs du directeur du parc, du chef de division faune et du chef de la section primate du site d'étude sont à obtenir avant la descente sur le terrain.
- La confidentialité et le secret professionnel sont respectés et garantis.
- Le respect des personnels et des organisations mises en place dans le site sont considérés tout au long de l'étude.

I.9. Limite de l'étude

Cette étude est essentiellement limitée par les biais d'informations qui peuvent survenir lors de la consultation des fiches techniques de chaque individu, pour savoir leur âge et les dates des interventions médicales ainsi que les produits utilisés.

I.10. Analyse des données

I.10.1. Hypothèses

Hypothèse nulle ou H_0 :

- la présence de chaque espèce de bactérie dans les selles n'est pas différente entre les espèces de lémurien.
- le nombre d'espèce de bactérie n'est pas différent entre les espèces de lémurien.
- la présence des espèces de bactérie retrouvées dans les selles n'est pas différent entre les deux sexes.
- le nombre d'espèces de bactérie présent dans les selles en ce qui concerne les genres *Escherichia*, *Klebsiella* et *Salmonella* n'est pas différent entre les deux sexes.
- la présence de chaque espèce de bactérie dans les selles n'est pas différente entre les différents emplacements des lémuriens.
- le nombre d'espèce de bactérie n'est pas différent entre les différents emplacements des enclos.
- il n'y a pas de différence entre la présence de bactérie dans les fèces selon le nombre d'individu dans l'enclos.

Hypothèse alternative ou H1 :

- la présence de chaque espèce de bactérie dans les selles est différente entre les espèces de lémurien.
- le nombre d'espèce de bactérie est différent entre les espèces de lémurien.
- la présence des espèces de bactérie retrouvées dans les selles est différent entre les deux sexes.
- le nombre d'espèces de bactérie présent dans les selles en ce qui concerne les genres *Escherichia*, *Klebsiella* et *Salmonella* est différent entre les deux sexes.
- la présence de chaque espèce de bactérie dans les selles est différente entre les différents emplacements des lémuriens.
- le nombre d'espèce de bactérie est différent entre les différents emplacements des enclos.
- il y a une différence entre la présence de bactérie dans les fèces selon le nombre d'individu dans l'enclos.

I.10.2. Tests statistiques utilisés

Le logiciel SPSS version 22 a été utilisé pour l'analyse des données. Le test de khi-deux de Pearson a été utilisé lors de la comparaison des proportions de la présence de ces entérobactéries selon les espèces, sexe, emplacement des enclos et le nombre des lémuriens dans le même enclos. Le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour la comparaison des nombres de ces espèces d'entérobactéries selon les espèces, sexe, emplacement des enclos des lémuriens.

I.10.2.1. Test de khi-deux de Pearson

Le test du χ^2 , prononcé « khi-deux » ou « khi carré », est un test statistique permettant de tester l'adéquation d'une série de données à une famille de lois de probabilités ou de tester l'indépendance entre deux variables aléatoires.

Ces données ayant été réparties en classes, il faut :

- calculer algébriquement la distance entre les données observées et les données théoriques attendues;
- se donner *a priori* un risque d'erreur, celle consistant à rejeter l'hypothèse, alors qu'elle est vraie (la valeur 5 % est souvent choisie par défaut ; il s'agit plus souvent d'une coutume que du résultat d'une réflexion);

- déterminer le nombre de degrés de liberté du problème à partir du nombre de classes, et à l'aide d'une table de χ^2 , déduire, en tenant compte du nombre de degrés de liberté, la distance critique qui a une probabilité de dépassement égale à ce risque.

Le test de khi-deux de Pearson est un test standard pour une analyse d'association ou de comparaison. Il permet de tester les hypothèses sur la proportion relative des observations se situant dans plusieurs groupes mutuellement exclusifs.

I.10.2.2. Test de Kruskal-Wallis

L'analyse de variance classique teste l'égalité des moyennes dans plusieurs populations, où toutes les variables aléatoires concernées sont normales (gaussiennes). Si rien ne permet de faire cette hypothèse de normalité, on peut tester cette hypothèse d'égalité des moyennes grâce au test de Kruskal-Wallis.

Le test de Kruskal-Wallis est une analyse de la variance non paramétrique et un test de comparaison de k échantillons basé sur la statistique:

$$K_n = \frac{12}{n(n+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(n+1)$$

Il permet d'analyser la liaison entre un caractère quantitatif et un caractère qualitatif à k classes ($k > 2$) et notamment d'effectuer des comparaisons multiples (plusieurs échantillons). Si l'hypothèse nulle est rejetée, le chercheur veut savoir aussi quelle est (quelles sont) la (les) variable (s) qui est (sont) différente(s) de (s) l'autre (autres).

I.10.3. Interprétation

Si la valeur de p est inférieur à un seuil préalablement défini à 0,05: l'hypothèse nulle est rejetée, la différence est statistiquement significative.

Dans le cas contraire, si la valeur de p est supérieur à un seuil préalablement défini à 0,05: l'hypothèse nulle n'est pas rejetée, la différence n'est pas statistiquement significative.

II. RESULTATS

Dans cette étude, (81) prélèvements de selles provenant de douze espèces de lémuriens ont été recueillis dont (17) prélèvements viennent des lémuriens au niveau de la cage derrière vivarium, (11) prélèvements viennent des lémuriens au niveau d'enclos non exposés au public, (20) prélèvements viennent des lémuriens au niveau de la cage ronde et (33) prélèvements viennent des lémuriens au niveau de la serres.

Le tableau suivant montre le nombre de selles des lémuriens prélevées selon les espèces de lémuriens et leur sexe.

Tableau VI: Nombre de selles des lémuriens prélevées

Espèce de lémuriens	Nombre de selles prélevées	Sexe	
		F	M
<i>Eulemur albifrons</i>	5	2	3
<i>Eulemur coronatus</i>	18	9	9
<i>Eulemur flavifrons</i>	3	0	3
<i>Eulemur fulvus</i>	13	8	5
<i>Eulemur macaco</i>	7	4	3
<i>Eulemur mongoz</i>	4	2	2
<i>Eulemur rubriventer</i>	14	5	9
<i>Eulemur rufifrons</i>	10	4	6
<i>Eulemur rufus</i>	1	1	0
<i>Lemur catta</i>	4	2	2
<i>Varecia rubra</i>	1	1	0
<i>Varecia variegata subcincta</i>	1	0	1
Total	81	38	43

Nb: Nombre, F: Femelle, M: Mâle

Présentation des résultats :

-Dans ces échantillons, les espèces de lémurien qui prédominent sont *Eulemur rufifrons*, *Eulemur fulvus*, *Eulemur rubriventer* et *Eulemur coronatus*. Par contre, les individus représentant *Varecia variegata subcincta*, *Varecia rubra* et *Eulemur rufus* sont en plus petit nombre et limité à un individu de chaque espèce de lémurien.

-38 prélèvements viennent des lémuriens femelles tandis que 43 prélèvements viennent des lémuriens mâles.

L'analyse bactériologique de ces prélèvements de selles ont montré la présence de plusieurs espèces d'entérobactérie appartenant aux genres *Escherichia*, *Klebsiella* et *Salmonella*. Les espèces d'entérobactérie isolées et leur pourcentage sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau VII: Fréquence d’isolement des entérobactéries

Nombre d'échantillons de selles	% de bactéries isolées											
	<i>E.coli 1</i>	<i>E.coli 2</i>	<i>K.pneumoniae subsp.pneumoniae</i>	<i>K.sp</i>	<i>R.ornithinolytica</i>	<i>R.terrigena</i>	<i>S.enteritidis</i>	<i>S.choleraesius spp arizonae</i>	<i>S.gallinarum</i>	<i>S.enterica</i>	<i>S.paratyphi</i>	<i>S.sp</i>
81	73	1	54	5	4	3	7	25	3	12	3	4

% : Pourcentage, *E* : *Escherichia*, *K* : *Klebsiella*, *R* : *Raoultella*, *S* : *Salmonella*

Présentation des résultats :

Les espèces d’entérobactérie qui prédominent dans les selles des lémuriens sont *E.coli 1* (73%) et *K.pneumoniae subsp.pneumoniae* (54%) des bactéries identifiées.

II.1. Espèces d'entérobactéries selon l'espèce des lémuriens

II.1.1. Comparaison du taux de présence de ces entérobactéries selon les espèces des lémuriens

Le tableau VIII montre les pourcentages de présence des espèces de bactérie retrouvées dans les fèces des différentes espèces de lémuriens.

Le tableau suivant indique le résultat obtenu.

Tableau VIII: Entérobactéries isolées des lémuriens

Espèce lémurien	% de présence d'une espèce bactérienne											
	<i>K.pneumoniae</i> subsp.				<i>R.ornithinolytica</i>	<i>R.terrigena</i>	<i>S.enteritidis</i>	<i>S.choleraesius spp arizonae</i>	<i>S.gallinarum</i>	<i>S.enterica</i>	<i>S.paratyphi</i>	<i>S.sp</i>
	<i>E.coli 1</i>	<i>E.coli 2</i>	<i>pneumoniae</i>	<i>K.sp</i>								
<i>Eulemur albifrons</i>	60	0	80	0	0	0	0	60	0	0	0	0
<i>Eulemur coronatus</i>	61,1	5,6	66,7	5,6	0	5,6	5,6	22,2	0	11,1	0	5,6
<i>Eulemur flavifrons</i>	66,7	0	0	0	0	0	0	0	0	33,3	0	0
<i>Eulemur fulvus</i>	76,9	0	30,8	7,7	7,7	0	15,4	15,4	0	15,4	0	0
<i>Eulemur macaco</i>	85,7	0	42,9	28,6	28,6	0	0	14,3	28,6	14,3	14,3	0
<i>Eulemur mongoz</i>	50	0	50	0	0	0	0	50	0	75	0	25
<i>Eulemur rubriventer</i>	85,7	0	50	0	0	7,1	0	28,6	0	0	7,1	0
<i>Eulemur rufifrons</i>	80	0	90	0	0	0	20	30	0	0	0	0
<i>Eulemur rufus</i>	100	0	100	0	0	0	0	0	0	100	0	0
<i>Lemur catta</i>	75	0	50	0	0	0	25	25	0	0	0	25
<i>Varecia rubra</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Varecia variegata subcincta</i>	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
khi-deux de Pearson	8,346	3,544	17,794	10,787	15,063	3,222	8,203	8,035	21,678	27,922	6,848	12,462
ddl	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
P	0,68	0,981	0,086	0,461	0,18	0,987	0,687	0,71	0,027	0,003	0,811	0,33
Signification	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>Dns</i>	<i>dns</i>	<i>ds</i>	<i>ds</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>

% : pourcentage, *E* : *Escherichia* *K* : *Klebsiella*, *R* : *Raoultella*, *S* : *Salmonella*, CR : cage ronde, DV : derrière vivarium, ENP : enclos non exposé au public, S : serres, *ddl* : degrés de liberté, *P*: probabilité, *dns* : différence non significative, *ds* : différence significative.

Présentation des résultats :

Certaines espèces de bactérie ne sont présentes que chez quelques espèces de lémurien:

-*E.coli* 2 ne sont présentes que dans les fèces d'*Eulemur coronatus*.

-*S.gallinarum* ne sont présentes que dans les fèces d'*Eulemur macaco*.

-*R.ornithinolytica* ne sont présentes que dans les fèces d'*Eulemur fulvus* et d'*Eulemur macaco*.

-*R.terrigena* ne sont présentes que dans les fèces d'*Eulemur coronatus* et d'*Eulemur rubriventer*.

-*S.paratyphi* ne sont présentes que dans les fèces d'*Eulemur macaco* et d'*Eulemur rubriventer*.

Par contre, *E.coli* 1 sont présentes dans presque les fèces des lémuriens sauf à l'exception pour *Varecia rubra*.

K.pneumoniae subsp.pneumoniae sont aussi présentes dans presque les fèces des lémuriens sauf à l'exception pour *Eulemur flavifrons*, *Varecia rubra* et *Varecia variegata subcincta*.

D'après les valeurs du test t associé à la probabilité:

-la présence *S.gallinarum* et *S.enterica* dans les selles est significativement différente entre les espèces de lémurien ($p < 0,05$). *S.gallinarum* n'est présente que dans les selles d'*Eulemur macaco*. *S.enterica* n'est présente que dans les selles d'*Eulemur macaco*, *Eulemur flavifrons*, *Eulemur fulvus*, *Eulemur macaco*, *Eulemur mongoz*, *Eulemur rufus*.

-la présence d'*E.coli* 1, *E.coli* 2, *K.pneumoniae subsp.pneumoniae*, *K.sp*, *R.ornithinolytica*, *R.terrigena*, *S.enteritidis*, *S.choleraesius spp arizonae*, *S.paratyphi* et *S.sp* dans les selles n'est pas significativement différente entre les espèces de lémurien ($p > 0,05$).

II.1.2. Comparaison du nombre de ces entérobactéries selon les espèces des lémuriens

La figure suivante montre la distribution du nombre d'espèces de bactéries chez les différentes espèces de lémuriens.

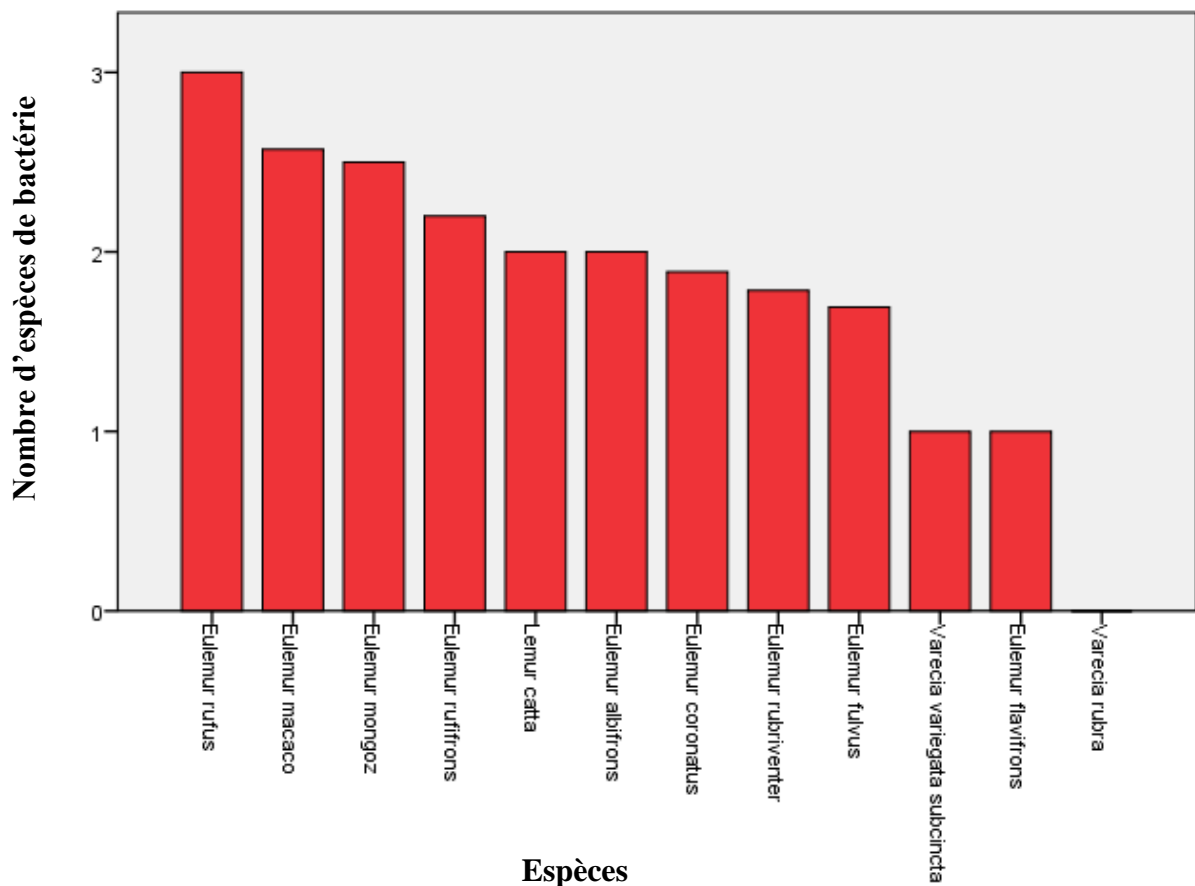


Figure 13 : Nombre moyen des entérobactéries présentes dans les selles des espèces des lémuriens

Présentation des résultats :

- Dans les selles d'*Eulemur albifrons*, *Eulemur coronatus*, *Eulemur fulvus*, *Eulemur rubriventer*, *Lemur catta*, *Eulemur mongoz* et *Eulemur rufifrons*, deux espèces de bactéries ont été isolées.
- Dans les selles d'*Eulemur flavifrons*, une espèce de bactérie a été isolée.
- Dans les selles d'*Eulemur macaco*, trois espèces de bactérie ont été identifiées.
- Dans les selles d'*Eulemur rufus*, trois espèces de bactérie ont été identifiées.
- Quant à *Varecia rubra*, aucune espèce de bactérie de genres *Escherichia*, *Klebsiella* et

Salmonella n'a été retrouvée dans son fèces.

Le nombre d'espèce de bactérie n'est pas significativement différent entre les espèces de lémurien ($P > 0,05$).

II.2. Espèces d'entérobactéries selon le sexe des lémuriens

II.2.1. Comparaison du taux de présence de ces entérobactéries selon les sexes des lémuriens

La comparaison du taux de présence de ces entérobactéries selon les sexes des lémuriens se trouve dans le tableau IX suivant.

Tableau IX: Comparaison du taux de présence de ces entérobactéries dans les selles des lémuriens mâles et femelles

Sexe	% de présence d'une espèce bactérienne											
	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae subsp.pneumoniae</i>	<i>K.sp</i>	<i>R.ornithinolytica</i>	<i>R.terrigena</i>	<i>S.enteritidis</i>	<i>S.choleraesius spp arizonae</i>	<i>S.gallinarum</i>	<i>S.enterica</i>	<i>S.paratyphi</i>	<i>S.sp</i>
	1	2										
Femelle	81,6	2,6	55,3	5,3	5,3	0	7,9	18,4	2,6	13,2	0	2,6
Male	65,1	0	53,5	4,7	2,3	4,7	7	30,2	2,3	11,6	4,7	4,7
khi-deux de Pearson	2,764	1,146	0,026	0,16	0,488	1,812	0,025	1,514	0,008	0,044	1,812	0,231
ddl	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
P	0,096	0,284	0,873	0,899	0,485	0,178	0,875	0,219	0,929	0,835	0,178	0,631
Signification	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>

% : pourcentage, *E* : *Escherichia* *K* : *Klebsiella*, *R* : *Raoultella*, *S* : *Salmonella*, CR : cage ronde, DV : derrière vivarium, ENP : enclos non exposé au public, S : serres, *ddl* : degrés de liberté, *P* : probabilité, *dns* : différence non significative.

Présentation des résultats :

D'après les valeurs du test t associée à la probabilité $p > 0,05$, le taux de présence des espèces de bactérie retrouvées dans les selles n'est pas significativement différent entre les deux sexes.

II.2.2. Comparaison du nombre d'espèces d'entérobactéries selon les sexes des lémuriniens

La figure suivante montre la distribution du nombre d'espèces de bactérie chez les deux sexes.

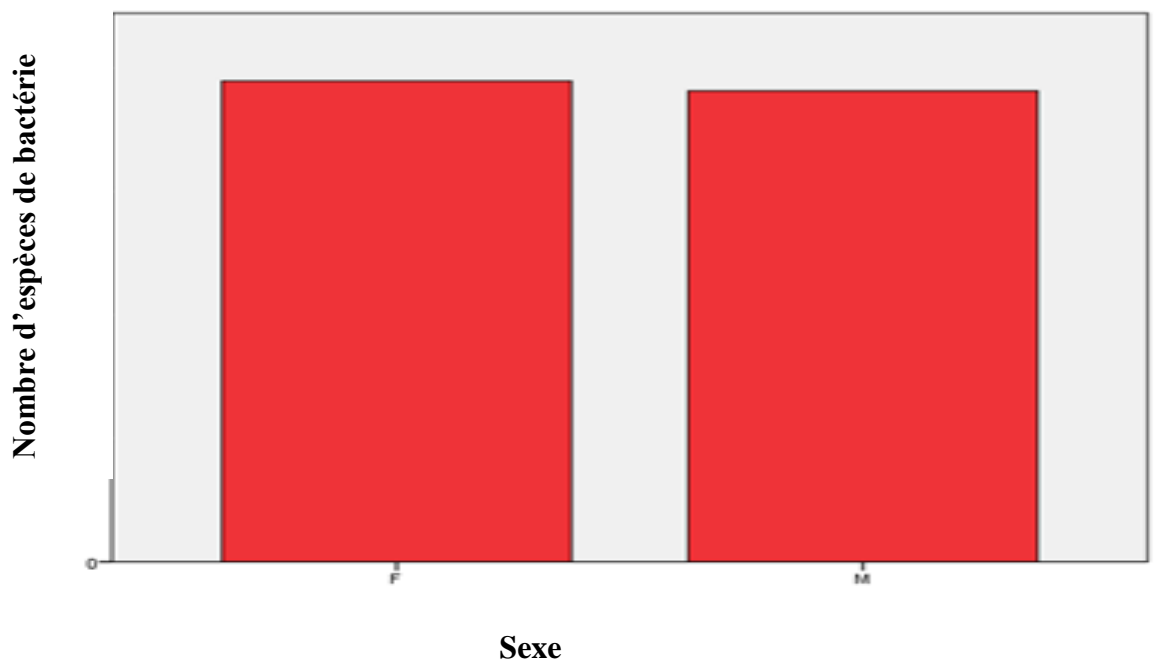


Figure 14 : Nombre moyen des entérobactéries présentes dans les selles selon le sexe des individus

Présentation des résultats :

En moyenne deux espèces de bactérie ont été retrouvées dans les fèces des mâles et des femelles en ce qui concerne les genres *Escherichia*, *Klebsiella* et *Salmonella*.

Le nombre d'espèces de bactérie présent dans les selles en ce qui concerne les genres *Escherichia*, *Klebsiella* et *Salmonella* n'est pas différent entre les deux sexes ($P > 0,05$).

II.3. Espèces d'entérobactéries selon l'enclos des lémuriniens

Le tableau ci-dessous montre la distribution des enclos selon leur emplacement respectif.

Tableau X: Distribution des enclos selon leur emplacement respectif

Emplacement	Nombre des enclos
CR	9
DV	7
ENP	5
S	15
Total	36

CR:Cageronde, DV: Derrière vivarium, ENP: Enclos non exposés au public, S: Serres

Présentation des résultats :

Les prélèvements fécaux viennent des lémuriens vivant dans trente six enclos.

II.3.1. Comparaison du taux de présence de ces entérobactéries selon les types d'enclos des lémuriens

Le tableau XI montre les pourcentages de présence des espèces de bactériere trouvées dans les selles des lémuriens. Les différents emplacements des individus sont à considérer pour comparer la présence de ces entérobactéries.

Le tableau suivant indique le résultat obtenu.

Tableau XI : Comparaison du taux de présence de ces entérobactéries selon les emplacements des lémuriens

Emplacement	% de présence d'une espèce bactérienne											
	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae subsp.pneumoniae</i>	<i>K.sp</i>	<i>R.ornithinolytica</i>	<i>R.terrigena</i>	<i>S.enteritidis</i>	<i>S.choleraesius spp arizonae</i>	<i>S.gallinarum</i>	<i>S.enterica</i>	<i>S.paratyphi</i>	<i>S.sp</i>
	1	2										
CR	66,7	0	66,7	0	0	0	11,1	22,2	0	22,2	0	0
DV	100	0	71,4	0	14,3	0	0	28,6	14,3	14,3	0	14,3
ENP	80	20	40	0	0	0	20	60	0	60	0	20
S	93,3	0	66,7	20	6,7	13,3	26,7	40	0	20	13,3	6,7
khi-deux de Pearson	4,785	6,377	1,49	4,582	1,876	2,965	2,72	2,26	4,261	3,932	2,965	2,088
ddl	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
P	0,188	0,095	0,685	0,205	0,599	0,397	0,437	0,52	0,235	0,269	0,397	0,554
Signification	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>

% : pourcentage, *E* : *Escherichia* *K* : *Klebsiella*, *R* : *Raoultella*, *S* : *Salmonella*, CR : cage ronde, DV : derrière vivarium, ENP : enclos non exposé au public, S : serres,

ddl : degré de liberté, *P* : probabilité, *dns* : différence non significative.

Présentation des résultats :

Certaines espèces de bactérie ne sont présentes que dans certains types d'enclos: *E.coli* 2 ne se trouvent qu'au niveau ENP, *K.sp*, *R. terrigena*, *S.paratyphi* ne se trouvent qu'au niveau S et *S.gallinarium* ne se trouvent qu'au niveau DV. Les autres bactéries comme *E.coli*1, *K.pneumoniae subsp.pneumoniae*, *S.choleraesius spp arizonae* et *S.enterica* sont présentes dans tous les emplacements (CR, DV, ENP et S).

La présence de chaque espèce de bactérie dans les selles n'est pas significativement différente entre les différents emplacements des lémuriens ($p > 0,05$).

II.3.2. Comparaison du nombre de ces entérobactéries selon les types d'enclos des lémuriens

La figure n° 15 montre la distribution du nombre d'espèce de bactérie retrouvé dans les selles des lémuriens qui vivent dans les enclos des différents emplacements.

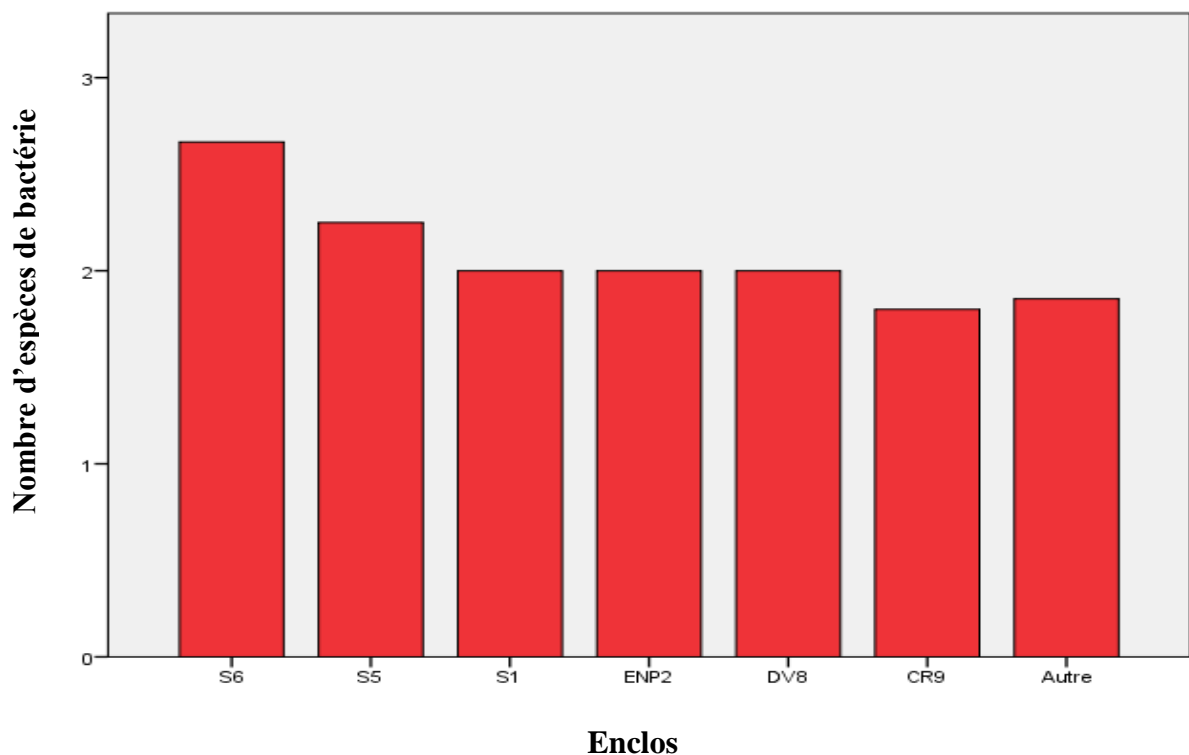


Figure 15 : Nombre moyen des entérobactéries présentes dans les selles selon les différents emplacements des enclos

Présentation des résultats :

Deux espèces d'entérobactérie sont présentes en moyenne dans les selles des lémuriens vivant dans les enclos derrière vivarium, au niveau cage ronde , au niveau des enclos non exposés au public et dans presque tous les enclos au niveau de la Serres à l'exception pour l'enclos numéro 6 (S6). La présence d'entérobactérie dans les selles des lémuriens dans cet enclos avec une moyenne de trois espèces est légèrement supérieur par rapport à celles des autres enclos.

Le nombre d'espèce de bactérie n'est pas significativement différent entre les différents emplacements des enclos ($p > 0,05$).

II.4. Espèces d'entérobactéries selon le nombre d'individus dans le même enclos

II.4.1. Comparaison du taux de présence de ces entérobactéries selon le nombre d'individus dans le même enclos

Pour connaître la présentation de chaque espèce de bactérie dans les selles des individus de même enclos, il est nécessaire de grouper les individus selon leur nombre par enclos à fin de comparer le taux de présence de bactérie dans leurs fèces.

Le tableau n° XII montre le résultat statistique :

Tableau XII: Taux de présence de bactérie dans les selles en fonction du nombre d’individu partageant le même enclos

Nombre d'individu	% de présence d'une espèce bactérienne											
	<i>K.pneumoniae</i>				<i>S.choleraesius spp</i>							
	<i>E.coli 1</i>	<i>E.coli 2</i>	<i>subsp.pneumoniae</i>	<i>K.sp</i>	<i>R.ornithinolytica</i>	<i>R.terrigena</i>	<i>S.enteritidis</i>	<i>arizonae</i>	<i>S.gallinarum</i>	<i>S.enterica</i>	<i>S.paratyphi</i>	<i>S.sp</i>
1	69,2	0	46,2	7,7	0	0	15,4	15,4	0	23,1	0	0
2	100	0	45,5	9,1	18,2	0	9,1	36,4	9,1	36,4	0	18,2
3	100	0	100	20	0	0	40	40	0	40	20	0
4	75	0	100	0	0	50	0	50	0	0	25	0
5	100	33,3	100	0	0	0	33,3	100	0	0	0	33,3
khi-deux de Pearson	6,575	11,314	10,175	1,543	4,813	16,941	3,83	8,096	2,338	3,717	6,459	5,851
ddl	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
P	0,16	0,023	0,038	0,819	0,307	0,002	0,43	0,088	0,674	0,446	0,167	0,211
Signification	<i>dns</i>	<i>ds</i>	<i>ds</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>ds</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>	<i>dns</i>

E : *Escherichia*, K : *Klebsiella*, S : *Salmonella*, ddl :degrés de liberté, P : probabilité, *dns* : différence non significative, *ds* : différence significative

Présentation des résultats:

-La présence d'*E.coli* 2, *K.pneumoniae subsp.pneumoniae* et *R.terrigena* dans les fèces présente une différence significative selon le nombre d'individu dans l'enclos ($p < 0,05$). *E.coli* 2 n'est isolée que seulement chez 05 individus vivant dans le même enclos. *K.pneumoniae subsp.pneumoniae* a été isolé dans les individus vivant dans le même enclos. Elle est importante quand le nombre d'individu dans l'enclos est élevé.

R.terrigena n'est isolée que seulement chez 04 individus vivant dans le même enclos.

-La présence d'*E.coli* 1, *K.sp*, *R.ornithinolytica*, *S.enteritidis*, *S.choleraesius spp arizonae*, *S.gallinarum*, *S.enterica*, *S.paratyphi* et *S.sp* n'est pas différent selon le nombre des individus dans l'enclos ($p > 0,05$).

TROISIEME PARTIE : DISCUSSION

DISCUSSION

La composition de la flore bactérienne intestinale peut dépendre des facteurs suivants: cohabitation, type d'enclos, l'espèce et le sexe des animaux [30,31].

Par rapport aux résultats d'étude dans les 09 parcs Français, cette étude montre également que les espèces de bactéries principalement identifiées sont *E.coli* et *K.pneumoniae*. L'hypothèse de cette recherche est vérifiée. La cohabitation a un fort impact sur la composition du microbiote intestinal que la génétique et l'appartenance à la même famille. La présence de ces entérobactéries et leur nombre dans les fèces ne sont pas significativement différentes selon le sexe et l'emplacement des enclos.

I. Présence des entérobactéries selon les espèces de lémurien

La présence d'*E.coli* 1, *E.coli* 2, *K.pneumoniae* subsp.*pneumoniae*, *K.sp*, *R.ornithinolytica*, *R.terrigena*, *S.enteritidis*, *S.choleraesius* spp *arizonae*, *S.paratyphi* et *S.sp* dans les selles n'est pas significativement différente entre les espèces de lémurien ($p>0,05$). Leur présence fécale chez les différentes espèces suggèrent qu'elles font partie des bactéries indélogeables du tractus gastro-intestinal des lémuriens. Selon Howard O *et al.*, 2010 [30], la composition des communautés microbiennes dépend des habitudes diététiques de leur hôte. Cette composition est souvent maintenue semblable pour les individus captifs. Tous les espèces de bactéries citées ci-dessus sont présentes dans les selles des différentes espèces de lémuriens à l'exception les espèces *S.gallinarum* et *S.enterica*. La présence *S.gallinarum* et *S.enterica* sont significativement différentes entre les espèces de lémurien. Le taux de présence *S.enterica* chez l'espèce *Eulemur mongoz* est plus élevé que celui des autres espèces. *S.gallinarum* n'a pas été retrouvé que seulement dans les prélèvements de selles de deux individus d'*Eulemur macaco* de sexe opposé qui cohabite ensemble dans l'enclos qui se trouve Derrière vivarium. Ces résultats indiquent qu'en plus de la présence de ces entérobactéries, la présence *S.enterica* est importante dans les fèces d'*Eulemur mongoz* tandis que *S.gallinarum* est uniquement présente dans les fèces d'*Eulemur macaco*. En dépit de la grande variation interindividuelle, les membres des microbiomes intestinaux sont souvent plus semblables chez la même espèce qu'à ceux des autres espèces [30]. La découverte de ce genre de bactérie suscite une réflexion élégamment chez les lémuriens du fait de sa spécificité pour les espèces aviaires. La présence *S.gallinarum* dans les selles de cette unique espèce est due probablement à l'ingestion de fèces

d'oiseau tombant dans l'enclos et par la suite par le comportement de coprophagie. Ce dernier est fréquemment observé chez les lémuriens en captivité. Il s'agit d'un cas sporadique mais beaucoup de prélèvements fécaux de plusieurs *Eulemur macaco* est à envisager dans l'avenir pour le confirmer.

Entre ces lémuriens, la distribution de ces bactéries est identique d'une espèce à une autre. Il n'y a pas de différence entre le nombre de ces entérobactéries qui composent la communauté bactérienne intestinale des espèces de lémuriens.

II. Présence des entérobactéries selon le sexe des lémuriens

Entre les individus mâles et femelles, il n'y a pas de différence significative sur la présence de ces espèces de bactéries ($p > 0,05$). Le nombre de ces entérobactéries composant la communauté bactérienne intestinale des mâles n'est pas significativement différent que ce soient pour les femelles que pour les mâles. Des études similaires réalisées chez les oiseaux révèlent le même résultat [32].

III. Présence des entérobactéries entre les différents types d'enclos

La présence de chaque espèce de bactérie dans les selles n'est pas significativement différente entre les différents emplacements (CR, DV, ENP et S) des enclos des lémuriens ($p > 0,05$). L'existence de différence au niveau des enclos des lémuriens n'influence pas la présence de ces genres d'entérobactérie chez les lémuriens. Il n'y a pas de différence dans la composition des communautés microbiennes intestinales des lémuriens en dépit de la variation des types d'enclos de captivité. Cette situation est normale car selon Aleia I et al., (2013)[1] : la structure de la communauté bactérienne du tractus gastro-intestinal dépend non seulement de l'individu mais aussi de son environnement. La communauté est semblable pour les individus vivants dans les conditions environnementales communes. Les rapports sociaux interviennent dans la transmission bactérienne [33]. Ceci est due au fait que leur écologie est comparable et que leur régimes sont semblables. La recherche de Klara V (2010) [2] l'affirme : le régime alimentaire est considéré comme le facteur externe le plus significatif pour influencer la composition de la flore bactérienne intestinale chez les humains comme chez les animaux. Le nombre de ces entérobactéries composant la communauté bactérienne intestinale n'est pas significativement différent entre les différents emplacements des enclos.

La présence d'*E.coli* 2, *K.pneumoniae subsp.pneumoniae* et *R.terrigena* dans les fèces présente une différence significative selon le nombre d'individu dans l'enclos ($p < 0,05$). *E.coli* 2 n'est isolée seulement que chez 05 individus se trouvant dans le même enclos. *K.pneumoniae subsp.pneumoniae* a été isolé chez 01 ou 02 individus dans l'enclos tandis qu'elle est présente chez tous les individus vivant dans un enclos. La présence d'*E.coli* 1, *K.sp*, *R.ornithinolytica*, *S.enteritidis*, *S.choleraesuis*, *S.paratyphi*, *S.gallinarum*, *S.enterica*, *S.paratyphi* et *S.sp* n'est pas différent selon le nombre des individus dans l'enclos ($p > 0,05$). La présence de ces bactéries ne dépend pas du nombre d'individu dans l'enclos car elles sont toujours présentes dans l'organisme que l'enclos soit constitué d'un ou plusieurs individus. Aleia I *et al.*, (2013) [1] a montré que l'habitat partagé influe la transmission des micro-organismes. Les individus partagent ensemble les mêmes micro-organismes dans leur environnement.

IV. Environnement des lémuriens en captivité

Les conditions de captivité engendrent différentes contraintes au niveau de l'espace exploitée des lémuriens, au niveau des conditions d'hygiène et de la proximité forcée à la présence humaine. Elles sont source de stress et ont d'impacte sur le bien-être des animaux. En effet, le stress modifie la physiologie, l'état physique et le comportement de l'animal. Un stress persistant induit une augmentation du taux de cortisol et entraîne la diminution de défense immunitaire. Dans ce cas, les micro-organismes de la flore microbienne de l'individu peuvent provoquer des infections. L'adaptation à l'environnement est différent d'un individu à l'autre. Certains individus manifestent des signes cliniques par rapport aux autres [34].

V. Portage des entérobactéries

Chaque individu normal héberge dans le tube digestif, une multitude de bactéries commensales. Ils sont en équilibre avec l'hôte et leur multiplication est sous contrôle du système immunitaire. *Escherichiacoli* et *Klebsiella* font parties des flores commensales habituelles, inoffensives dans l'intestin de l'homme et des animaux. Certaines espèces comme *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* dits « pathogènes » provoquent une infection intestinale lorsqu'elles sont ingérées. En effet, les lémuriens porteurs *E.coli* et *Klebsiella* ne sont pas malades tandis que les lémuriens porteurs *Salmonella enteritidis* et *Escherichia coli* dits « pathogènes » le sont. L'appartenance à des entérobactéries

pathogènes opportunistes, le genre *Klebsiella* ne provoque pas habituellement de maladie chez un sujet sain sauf si sa défense immunitaire soit altérée. Il devient susceptible à l'infection. Tout changement de la composition de la communauté bactérienne augmente la susceptibilité aux infections par les bactéries pathogènes [33].

Les espèces d'entérobactéries qui sont fréquemment isolées en pathologie humaine comme *Salmonella paratyphi*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* sont présentes dans les selles des lémuriens [35].

Les espèces appartenant aux genres *Klebsiella* ne sont pas classiquement considérées comme agents de toxiinfection alimentaire chez l'homme mais une certaine souche *Klebsiella pneumoniae* est capable de produire une toxiinfection alimentaire. *Klebsiella pneumoniae* constituent une menace importante pour la santé publique. Elles sont productrices de beta lactamases à spectre élargi (BLSE) à l'origine de la résistantes aux familles d'antibiotiques, laissant le champ thérapeutique très réduit [20].

Les espèces appartenant aux genres *Salmonella* sont responsables des infections intestinales qui se transmettent entre les primates et l'homme par la voie de transmission oro-fécale. La contamination des équipements d'élevage constitue un facteur de risque important qui expose les animaux et les soigneurs animaliers [36, 37].

RECOMMANDATION

L'hygiène d'élevage constitue un véritable enjeu des animaux en captivité. Pour réduire la propagation des entérobactéries dans l'environnement, les mesures suivantes sont proposées:

-concernant les aliments :

- .préparer les aliments avant tout nettoyage, que ce soit au niveau de l'enclos ou au niveau de matériel d'élevage,
- .appliquer les mesures de nettoyage et de désinfection rigoureuse sur la place de préparation des aliments et le nettoyage de matériel d'élevage.

-concernant les enclos et le matériel d'élevage:

- .maintenir les animaux dans les conditions ne leur permettant pas de se salir,
- .associer le raclage et le nettoyage,
- .compléter la nettoyage par une désinfection obligatoire,
- .sécher tout matériel lavé avant leur réutilisation.

-concernant les soigneurs animaliers :

- .éduquer les personnes à appliquer les bonnes pratiques d'hygiène pour limiter la transmission de germe de l'humain aux animaux mais aussi la contamination croisée des aliments,
- .mettre en place un vestiaire spécial pour les soigneurs animaliers,
- .laver les mains avec du savon bactéricide si possible,
- .surveiller constamment l'hygiène des locaux, du matériel et l'environnement du travail.

CONCLUSION

Cette étude a été effectuée dans le but d'identifier les espèces d'*Escherichia*, *Klebsiella* et *Salmonella* dans les selles des lémuriens en captivité. Les paramètres étudiés sont la présence et le nombre de ces entérobactéries selon les espèces de lémurien, le sexe, les différents emplacements et le nombre d'individu partageant le même enclos.

Dans cette étude, la présence des espèces de bactéries appartenant aux genres *Escherichia*, *Klebsiella* et *Salmonella* dans les fèces ainsi que leur distribution ne sont pas significativement différentes selon le sexe et l'emplacement des enclos des lémuriens. En plus de la présence des autres espèces de bactérie, l'*Eulemur macaco* présentent dans les fèces de *S.gallinarum* alors que l'*Eulemur flavifrons*, *Eulemur mongoz*, *Eulemur fulvus*, *Eulemur rufus*, *Eulemur coronatus* et *Eulemur macaco* présentent dans les fèces de *Salmonella enterica*. La cohabitation des individus dans un même enclos présente une différence significative. En plus de la présence des autres espèces de bactérie: *R.terrigena* n'est présente que dans l'enclos contenant 04 individus, *E.coli* 2 n'est présente que dans l'enclos contenant 05 individus et *K.pneumoniae subsp.pneumoniae* est présente dans tous les enclos mais elle est importante quand le nombre des individus dans le même enclos augmente.

Les entérobactéries susceptibles d'être présentes dans les matières fécales peuvent présenter un danger biologique potentiel pour les animaux et l'homme. L'hygiène d'élevage doit être prise en considération pour éviter le risque d'infection bactérienne et la diminution considérable de la population des animaux en captivité. Ainsi, le nettoyage et la désinfection du milieu sont importants pour éviter la multiplication et la persistance des germes dans l'environnement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Aleia I, Colin A, Geoffrey W, Alex T, David H, Kelly K *et al.* Fecal Microbiomes of Non-Human Primates in Western Uganda Reveal Species-Specific Communities Largely Resistant to Habitat Perturbation. *Am J Primatol.* 2013 November; 76 (4): 347–54.
2. Klara V. Description of microflora of gastrointestinal tract of western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) [Thèse]. Botany and Zoology: Masaryk ; 2010. 55p.
3. Ruth E, Daniel A, Jeffrey I. Ecological and Evolutionary Forces Shaping Microbial Diversity in the Human Intestine. Elsevier; 2006; 124:837–48, DOI: [10.1016/j.cell.2006.02.017](https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.017)
4. Dillon R, Vennard C, Buckling A, Charnley A. Diversity of locust gut bacteria protects against pathogen invasion. *Ecol Lett.* 2005; 8: 1291–8, DOI: [10.1111/j.1461-0248.2005.00828](https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00828)
5. Nathalie P. Causes de mortalité chez les primates en parc zoologique français [Thèse]. Médecine Vétérinaire: Alfort; 2003. 122p.
6. Antoine V. Optimisation de la recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) [Thèse]. Médecine Vétérinaire : Lyon; 2007. 320p.
7. Meziani M. Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et *Pseudomonas* [Thèse]. Biochimie-Microbiologie : Constantine ; 2012. 96p.
8. Emelyne L. Impact du microbiote sur la maturation du système immunitaire de l'hôte : analyse des fortes propriétés immunostimulantes de la bactérie segmentée filamenteuse en souris gnotobiotiques [Thèse]. Physiologie et physiopathologie : Sorbonne ; 2012. 233p.

9. Laboratoire biosevres. Coproculture et parasitologie des selles au laboratoire de biologie médicale. Angers: Sacheau G; 2013.
10. Jean F, François R, Roland L, Philippe R. Précis de bactériologie clinique. 2e édition. Paris:Eska; 2007.
11. François D, Marie C, Christian M, Edouard B, Roland Q. Bactériologie médicale techniques usuelles. 2e édition. Paris: Masson; 2007.
12. Marcelle N. Activités antiparasitaires des plantes consommées par le lémurien de mayotte (*Eulemur fulvus*) en relation avec le niveau d'infestation parasitaire en milieu naturel [Thèse]. Médecine vétérinaire : Creteil ; 2003.172p.
13. Fidiniaina R. Etude anatomique d'une espèce de lémurien (*Eulemur fulvus*) : coupes topographiques et tomodensitométriques du thorax, de l'abdomen et du bassin. Application à la pratique de l'échographie du cœur et des reins [Thèse]. Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition : Toulouse ; 2008.253p.
14. Russell A, Edward E, Matthew R, Christoph S, Olivier L, Anthony B *et al.* Lemurs of Madagascar. 3em édition. USA: Arlington; 2010.
15. Godfrey L, Jungers W, Simons E, Chatrath P, Rakotosamimanana B. Past and present distributions of lemurs in Madagascar. New Directions in lemur Studies. 1999. 19-53.
16. Eva M. Importance de l'environnement des primates en parc zoologique ; application à l'étude d'un type d'enclos : l'île [Thèse]. Médecine Vétérinaire : Toulouse ; 2008.139p
17. Colleen M, Hannah B, Lisa J, Kay F, Mark P, Helena F *et al.* Ips international guidelines for the acquisition, care and breeding of nonhuman primates. Int Primatol Soc. 2007.81p.

18. Oulymata G. Utilisation des méthodes Biométriques dans l'identification de quelques bacilles a gram négatif [Thèse]. Médecine et pharmacie : Dakar ; 2007. 120p.
19. Chouder N. Contribution à l'étude des flores intestinales des poulets conventionnels sains[Thèse]. Aviculture et pathologie aviaire: Constantine; 2006.190 p.
20. Nedjoua S. Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine [Thèse]. Biochimie et microbiologie : Constantine ; 2011. 186 p.
21. Boukerzaza S. Etude génétique et moléculaire du phénotype de résistance des *Salmonella enterica* sérotype *Senftenberg* [Thèse]. Sciences de la Nature et de la vie : Constantine ; 2006.115p.
22. Laboratoire de biologie médicale centre hospitalier de Millau. Manuel de prélèvement.Millau v2.0: Laboratoire de biologie médicale centre hospitalier de Millau ; 2013.
23. Randriamalala R. Portage intestinal des bactéries résistantes aux antibiotiques en milieu communautaire, moramanga[Thèse]. Médecine Humaine : Antananarivo ; 2013. 101p.
24. Mesa R, Blanc V, Anicet R, Cortés P, Gonzalez J, Lavilla S *et al.* Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in different environments (humans, food, animal farms and sewage). J Antimicrob Chemother, 2006; 58: 211–5.

25. Bauwens L, Vercammen F, Bertrand S, Collard J, De Ceuster S. Isolation of *Salmonella* from environmental samples collected in the reptile department of Antwerp Zoo using different selective methods. J Appl Microbiol. 2006;101:284–289.
26. Corrente M, Madio A, Friedrich KG, Greco G, Desario C, Tagliabue S *et al.* Isolation of *Salmonella* strains from reptile faeces and comparison of different culture media. J Appl Microbiol. 2004;96:709–715
27. Ebani V, Cerri D, Fratini F, Meille N, Valentini P, Andreani E. *Salmonella enterica* isolates from faeces of domestic reptiles and a study of their antimicrobial in vitro sensitivity. Res Vet Sci. 2005;78:117–121.
28. Koumba K. Fréquence d'isolement des *klebsiella* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel Toure de 2002 à 2007[Thèse]. Pharmacie et odontostomatologie : Bamako; 2010. 96p.
29. Nédjma C. Contribution à l'étude des flores intestinales des poulets conventionnels sains[Thèse]. Aviculture et pathologie aviaire : Constantine ; 2006. 190p.
30. Paula M, Luciana K, Edson G, Valdeci M, Sarah S, Patricia F *et al.* Study of the presence of *Samonella spp.* and gastrointestinal parasites in excreta from ornamental birds from breeders in the city of Umuarama, Parana. Afr J Microbiol Res.2015; 253-7, DOI: [10.5897/AJMR2014.7306](https://doi.org/10.5897/AJMR2014.7306)
31. Howard O, Michael W, Chih-Horng K, Jean-Bosco N, Martine P, Beatrice H *et al.* Evolutionary Relationships of Wild Hominids Recapitulated by Gut Microbial Communities. PLoS Biol. 2010; 8: 1-8, DOI:[10.1371/journal.pbio.1000546](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000546)

32. Ghislain N, Simon A, Catherine F, Julius A, James R, Levis G *et al.* Profils bactériens et fongiques dans les fèces des tisserins villageois (*Ploceus ucellatus*) dans la ville de Dschang et ses environs (Ouest-Cameroun). *Int J Biol Chem Sci.* 2014 Aout ; 8(4): 1771-83.
33. Elizabeth A, Archie, Kevin R. Animal behaviour meets microbial ecology. *Science Direct.* 2011 July; 82 (2011):425-36.
34. André B, Neiva M, Gláucia H, Mariangela C, Erica P, Luis F *et al.* A Survey for *Escherichia coli* Virulence Factors in Asymptomatic Free-Ranging Parrots. *Isrn Vet Sci.* 2012, <http://dx.doi.org/10.5402/2012/984813>
35. Ralalahantsoa R. Les entérobactéries isolées dans le laboratoire de Biologie du centre hospitalier universitaire d'Antananarivo allant de 1989 à 1999[Thèse]. Médecine Humaine : Antananarivo ; 2001. 178p.
36. Institut National de Santé Publique Québec. Exposure to Nonhuman Primates: Situation, Reference and Intervention Guide. Québec: Direction des risques biologiques et de la santé au travail ; 2011.
37. Jang Y, Lee S, Lim J, Lee H, Kim T, Park J *et al.* The rate of *Salmonella spp.* infection in zoo animals at Seoul Grand Park, Korea. *J Vet Sci.* 2008; 9(2): 177–181, DOI: [10.4142/jvs.2008.9.2.177](https://doi.org/10.4142/jvs.2008.9.2.177)

ANNEXES

Annexe 1: Chronogramme des activités de la recherche

Mois	Activités
Avril 2014	Elaborer le protocole de recherche.
Avril 2014	Corriger le protocole de recherche
Avril 2014	Valider le protocole de recherche
Juin 2014	Stage d'initiation aux activités des soigneurs animaliers au Parc.
Juillet au septembre 2014	Effectuer les analyses des prélèvements
	Analyser les données
	Présenter les résultats et corrections
	Finaliser la recherche

Annexe 2 : Fiches descriptives des individus dans leur emplacement respectif

Localisation : Derrière vivarium							
N° Enclos	Nb total individus	Espèce	Description de chaque individu	Sexe		Code du terrain	Code du Laboratoire
				M	F		
1	4	<i>Eulemur rubriventer</i>	Couleur du pelage entre les deux yeux est blanche	X		C1M1	
			Pelage est long et brillant, taille la plus petite		X	C1F1	1842
			Pelage est noir, taille la plus grande		X	C1F2	1274
			taille un peu petit que la précédente		X	C1F3	1843
2	2	<i>Eulemur rubriventer</i>	Couleur du pelage entre les deux yeux est blanche	X		C2M1	1275
			Couleur du pelage au niveau de l'abdomen est blanche		X	C2F1	
			Couleur du pelage est sombre	X		C2M3	
			face noire jusqu'au front		X	C2F2	1852
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est marron clair	X		C2M2	
3	2		Couleur du pelage du dos rouge, taille un peu petit que l'autre	X		C3M1	
			taille un peu grande		X	C3F1	
4	1	<i>Varecia variegata subsincta</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est noire et blanche		X	C4F1	1868
5	2	<i>Eulemur rufifrons</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est jaune		X	C5F1	1304
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est jaune claire	X		C5M1	1869
6	2	<i>Eulemur macaco</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est composé de rouge, blanche et noire		X	C6F1	1059
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est noire	X		C6M1	1060
7	2	<i>Eulemur mongoz</i>	Couleur du pelage de la tête est rouge		X	C7F1	1850
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est rouge claire	X		C7M1	1849
8	5	<i>Eulemur albifrons</i>	Couleur du pelage de la tête est blanche, taille la plus grande	X		C8M1	1846
			Couleur du pelage de la tête est blanche, taille moins grande que le premier	X		C8M2	1276
			Couleur du pelage de la tête est un peu blanche, taille un peu grande que l'individu suivant	X		C8M3	1277
			Couleur du pelage de la face jusque au cou est noire, taille moins grande que l'individu précédent		X	C8F2	1847
			Couleur du pelage de la face jusque au cou est noire		X	C8F1	1848

Localisation : Enclos non exposés au public							
N° Enclos	Nb total individus	Espèce	Description de chaque individu	Sexe		Code du terrain	Code du Laboratoire
				M	F		
1	2	<i>Eulemur rufifrons</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps		X	N1F1	1872
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est blanche claire	X		N1M1	1280
2	5	<i>Eulemur coronatus</i>	Couleur du pelage de la tête est constituée de noire et du jaune	X		N2M1	1845
			pelage au niveau de la tête en forme de « V » est bien précis, Couleur du pelage du dos est en majorité jaune		X	N2F3	1851
			pelage au niveau de la tête en forme de « V » est moins évident, Couleur du pelage du dos est un peu jaune		X	N2F4	1844
			pelage au niveau de la tête en forme de « V » est évident mais non précis, Couleur du pelage du dos est en majorité jaune		X	N2F1	1278
			Femelle de taille la plus petite que les Autres			N2F2	1279
3	2	<i>Eulemur mongoz</i>	Couleur du pelage autour du cou est blanche, taille un peu grande que l'individu suivant		X	N3F1	1331
			Couleur du pelage autour du cou est rouge, taille un peu petite que l'individu précédent	X		N3M1	1332
4	2	<i>Eulemur flavifrons</i>	Couleur du pelage de la tête est blanche	X		N4M1	1328
		<i>Eulemur coronatus</i>	pelage au niveau de la tête en forme de « V » de couleur constitué de rouge avec	X		N4M2	1327

Localisation : Cages rondes							
N° Enclos	Nb total individus	Espèce	Description de chaque individu	Sexe		Code du terrain	Code du laboratoire
				M	F		
1	5	<i>Eulemur macaco</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est noire, perte de poils à la base de la queue	X		C1M1	1425
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est constituée blanc et de rouge		X	C1F2	1426
2	2	<i>Eulemur flavifrons</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est noire, grand	X		C2M1	1871
			un peu petit		X	C2F1	
3	1	<i>Varecia rubra</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est rouge		X	C3F1	1870
4	5	<i>Eulemur rubriventer</i>	perte de poils de façon circulaire au dessus des yeux, le plus grand	X		R4M1	1357
			taille moins grand que le précédent	X		R4M2	1358
			la plus grande		X	C4F1	1423
			avec un pelage de couleur rouge	X		C4M3	1424
			la plus petite		X	C4F2	
5	4	<i>Eulemur coronatus</i>	Le plus petit	X		R5M2	1361
			La plus grande		X	R5F2	1362
			Le plus grand que le mâle précédent	X		R5M1	1360
			La plus petite que la femelle précédente		X	R5F1	1359
6	2	<i>Eulemur, flavifrons</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est noire		X	R6M1	
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est rouge sombre	X		R6F1	1363
7	2	<i>Eulemur catta</i>	la plus grande		X	C7F1	1422
8	2	<i>Eulemur rufus</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est blanc-jaune, le plus grand.	X		C8M1	1421
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est rouge, perte de poils à la base de la queue		X	C8F1	
9	5	<i>Eulemur fulvus</i>	Couleur du pelage entre les deux yeux est blanc		X	C9F1	1364
			la plus petite		X	C9F2	1365
			corps clair, face noire, grande taille		X	C9F3	1419
			face noire, de même taille que la précédente		X	C9F4	1420
			taille moins grand que les deux individus précédentes, longue poils	X		C9M1	1326

Localisation : Serres							
N° Enclos	Nb total individus	Espèce	Description de chaque individu	Sexe		Code du terrain	Code du laboratoire
				M	F		
1	4	<i>Eulemur coronatus</i>	perte de poils au niveau de la queue	X		S1M1	1298
			Femelle,		X	S1F1	1297
			Male,	X		S1M2	1299
			Male,	X		S1M3	1300
2	2	<i>Eulemur rubriventer</i>				S2R	1301
		<i>Eulemur coronatus</i>	Male,	X		S2C	1385
3	3	<i>Eulemur fulvus</i>	Couleur du pelage au niveau de la tête est constituée de rouge et de noire, taille la plus grande	X		S3M1	1386
			Couleur du pelage au niveau de la tête est constitué de rouge et du noire, perte de poils à la base de la queue	X		S3M2	
			Couleur du pelage sur une partie de la tête est un peu noire		X	S3F1	1387
4	3	<i>Eulemur fulvus</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est jaune, perte de poils à la base de la queue	X		S4M1	1388
			perte de poils au niveau de la queue		X	S4B	1302
			perte de poils au niveau de la queue, maigre		X	S4-	1303
5	2	<i>Eulemur rubriventer</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est blanche	X		S5M1	1389
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est rouge sombre	X		S5M2	1390
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est un peu clair, taille petit	X		S5M3	1329
			le plus petit des individus	X		S5M4	1330
6	3	<i>Eulemur macaco</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est noire	X		S6M1	1391
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est rouge clair		X	S6F1	1324
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est rouge sombre		X	S6F2	1325

7	4	<i>Eulemur coronatus</i>	la plus grande des femelles		X	D1F1	1392
			Male, Couleur du pelage de l'ensemble du corps est jaune, perte de poils à la base de la queue	X		D1M1	1814
			la plus petite		X	D1F3	1815
			taille moyenne		X	D1F2	
8	5	<i>Eulemur rufifrons</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est jaune, perte de poils à la base de la queue, mère de la plus petite femelle		X	D2F1	1816
			couleur jaune au dessus seulement de la tête, le plus grand	X		D2M1	1817
			Femelle, la plus petite			D2F2	
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est jaune mais la tête est noire		X	D2F3	1873
			Couleur du pelage au dessus de la tête est jaune, perte de poils à la base de la queue	X		D2M2	
9	2	<i>Eulemur fulvus</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est jaune		X	D4F1	1818
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est moins jaune	X		D4M1	1819
10	2	<i>Lemur catta</i>	grande		X	D5F1	1874
			petit	X		D5M1	1875
11	3	<i>Lemur catta</i>	Couleur du pelage de l'ensemble du corps est constituée de blanc et de rouge		X	D6F1	
			Le plus grand	X		D6M1	1876
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est constituée de noire et du blanc	X		D6M2	
12	4	<i>Eulemur rufifrons</i>	le grand et le plus coloré	X		D7M2	1877
			Pelage au niveau de la tête, derrière la cuisse et à la base de la queue est jaune .Perte de poils au niveau de la base de la queue	X.		D7M1	1820
			Couleur du pelage de l'ensemble du corps est jaune	X		D7M3	
			couleur marron au niveau seulement de la tête	X		D7M4	

13	3		couleur au dessus de la tête est marronsombre. Il est le plus grand des individus	X		D8M2	
		<i>Eulemur fulvus</i>	couleur au dessus de la tête est constituée de marron et jaune, moins grand que le précédent	X		D8M3	1879
		<i>Eulemur rufifrons</i>	couleur de la tête est jaune, le plus petit	X		D8M1	1878

Annexe 3 : Renseignements médicaux concernant chaque individu

Liste de quelques antibiotiques qui ont un impact sur la flore intestinale :

Amoxycilline, Erythromycine, Ceftriaxone, Céphalosporine, Ampicilline,
Tétracycline, Sulfamide, Streptomycine, Chloramphénicol...

[illegible]

Annexe 4: Programme de réalisation des activités d'analyse bactériologique des selles

Date	Etapes
Lundi	-prélèvements
	-pré-enrichissement sur BN
Mardi	-isolement sur EMB, BGA, SS
Mercredi	-lecture
	-repiquage des colonies suspectées sur EMB, BGA, SS
Jeudi	-lecture
	-préparation pour identification des caractères biochimiques des colonies suspectées
Vendredi	-lecture des caractères biochimiques des colonies suspectées
	-résultats

Annexe 5: Fiche des prélèvements des selles des lémuriens

-Laboratoire d'analyse : Laboratoire Nationale de Diagnostic Vétérinaire

-Titre : Identification des entérobactéries dans les selles des lémuriens dans le parc botanique et zoologique de tsimbazaza.

-Préleveur :

-Envoyeur :

-Renseignement concernant les prélèvements :

-Nature des prélèvements : selle

-consistance : molle

-Heures de collecte des prélèvements : 11h à 14h.

Date des prélèvements	Nombre des prélèvements	Code du terrain	Code de laboratoire
07/07/2014	O2	C6F1	1059
		C6M1	1060
14/07/2014	07	C1F2	1274
		C2M1	1275
		C8M2	1276
		C8M3	1277
		N2F1	1278
		N2F2	1279
		N1M1	1280
21/07/2014	08	S1F1	1297
		S1M1	1298
		S1M2	1299
		S1M3	1300
		S2M1	1301
		S4B	1302
		S4	1303
		C5F1	1304
28/07/2014	09	S6F1	1324
		S6F2	1325
		C9M1	1326
		N4M2	1327
		N4M1	1328
		S5M3	1329
		S5M4	1330
		N3F1	1331
		N3M1	1332

18/08/2014	09	R4M1	1357
		R4M2	1358
		R5F1	1359
		R5M1	1360
		R5M2	1361
		R5F2	1362
		R6F1	1363
		C9F1	1364
		C9F2	1365
20/08/2014	08	S2M2	1385
		S3M1	1386
		S3F1	1387
		S4M1	1388
		S5M1	1389
		S5M2	1390
		S6M1	1391
		D1F1	1392
25/08/2014	08	C9F3	1419
		C9F4	1420
		C8M1	1421
		C7F1	1422
		C4F1	1423
		C4M3	1424
		C1M1	1425
		C1F2	1426
28/08/2014	07	D1M1	1814
		D1F3	1815
		D2F1	1816
		D2M1	1817
		D4F1	1818
		D4M1	1819
		D7M1	1820
01/09/2014	07	C1F1	1842
		C1F3	1843
		N2F4	1844
		N2M1	1845
		C8M1	1846
		C8F2	1847
		C8F1	1848
02/09/2014	04	C7M1	1849
		C7F1	1850

		N2F3	1851
		C2F2	1852
09/09/2014	05	C4F1	1868
		C5M1	1869
		C3F1	1870
		C2M1	1871
		N1F1	1872
16/09/2014	07	D2F3	1873
		D5F1	1874
		D5M1	1875
		D6M1	1876
		D7M2	1877
		D8M1	1878
		D8M3	1879

Annexe 6: Caractères biochimiques différentiels des principales espèces du genre *Escherichia*, *Klebsiella* et *Salmonella*

Entérobactéries	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	UREE	GLU	MAN	LAC	IND	H2S	MOB	GAZ
<i>Escherichia coli</i> 1	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-
<i>Escherichia coli</i> 2	-	-	-	-	-	-	+	+		+/-	-	-	-
<i>Escherichia hermannii</i>	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-
<i>Escherichia vulneris</i>	+	- / +	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-
<i>Escherichia fergusonii</i>	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp <i>pneumoniae</i>	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp <i>ozaenae</i>	+	-	+/-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae rhinoscleromatis</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-
<i>Raoultella terrigena</i>	+	-	+	-	+/-	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
<i>Salmonella enterica</i>	-		+		+	-			-	-	+	+	
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
<i>Salmonella paratyphi</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	-	+	+	+	-	+		-	-	+	+	+
<i>Salmonella gallinarum</i>	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
<i>Salmonella Choleraesuis</i> spp <i>arizonae</i>	+	+	+	+	+	-	+	+		-	+	+	
<i>Salmonella choleraesuis</i> spp <i>choleraesuis</i>	-	-	+	+	-	-	+	+		-	+	+	
<i>Shigella dysenteriae</i>	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-
<i>Shigella flexneri</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+/-	-	-	+/-
<i>Shigella boydii</i>	+/-	+/-	-	-	-	-	-	+	-	+/-	-	-	+/-
<i>Shigella sonnei</i>	+/-	-	-	+/-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

VELIRANO

“Eto anatrehan’i Zanahary, eto anoloan’ireo mpikambana ao amin’ny Holafitra Nasionalin’ny Dokotera Veterinera Malagasy sy ireo mpampianatra ahy, mianiana aho fa hitandro lalandava ary hitaiza ny haja amam-boninahitry ny Dokotera Veterinera sy ny asa. Noho izany dia manome toky ary mianiana aho fa :

- a. Hanatanteraka ny asako eo ambany fifehezan’ny fitsipika misy ary hanaja ny rariny sy ny hitsiny ;
- b. Tsy hivadi-belirano amin’ny lalàn’ny voninahitra, ny fahamendrehana, ny fanajana ny rariny sy ny fitsipim-pitondran-tena eo am-panatanterahana ny asa maha Dokotera Veterinera ;
- c. Hanaja ireo nampianatra ahy, ny fitsipiky ny haikanto. Hampiseho ny sitraka sy fankatelemana amin’izy ireo ka tsy hivaona amin’ny soa nampianarin’izy ireo ahy ;
- d. Hanaja ny ain’ny biby, hijoro ho toy ny andry iankinan’ny fiarovana ny fahasalaman’izy ireo sy ho fanatsarana ny fiainany ary hikatsaka ny fivoaran’ny fahasalaman’ny olombelona sy ny toe-piainany ;
- e. Hitazona ho ahy samirery ny tsiambaratelon’ny asako ;
- f. Hiasa ho an’ny fiarovana ny tontolo iainana sy hiezaka ho an’ny fisian’ny fiainana mirindra ho an’ny zava-manan’aina rehetra ary hikatsaka ny fanatanterahana ny fisian’ny rehetra ilaina eo amin’ny fiaraha-monina tsy misy raoraon’ny olombelona sy ny biby ;
- g. Hiezaka hahafehy ireo fahalalana vaovao sy haitao momba ny fitsaboana biby ary hampita izany amin’ny hafa ao anatin’ny fitandroana ny fifanakalozana amin’ny hairaha mifandray amin’izany mba hitondra fivoarana ho azy ;
- h. Na oviana na oviana aho tsy hampiasa ny fahalalako sy ny toerana misy ahy hitondra ho amin’ny fahalovana sy hitarika fihetsika tsy mendrika.

Ho toavin’ny mpiara-belona amiko anie aho raha mahatanteraka ny velirano nataoko. Ho rakotry ny henatra sy ho rabirabian’ny mpiray asa amiko kosa aho raha mivadika amin’izany”

PERMIS D'IMPRIMER

LU ET APPROUVE

Le Directeur de Thèse

Signé : Professeur RAKOTOZANDRINDRAINY Raphael

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Le Doyen de la Faculté de Médecine d'Antananarivo,

Signé : Professeur SAMISON Luc Hervé

Name and first name : RAMAMONJISOA Hoby Tinah Eddy Rachel
Thesis Title : IDENTIFICATION ENTEROBACTERIACEAE IN SEATS
OF LEMURS IN PARK BOTANICAL AND
ZOOLOGICAL TSIMBAZAZA

Heading : Bacteriology

Number of pages : 55 Number of appendices : 07

Number of tables : 12 Number of references bibliographical : 37

ABSTRACT

Introduction: The enterobacteries belong to the intestinal flora which lives in commensalism with the host. The restrictive conditions of the captivity of the lemurs make that these bacteria constitute the causes of the frequently serious problems of intestinal and respiratory infection. By the presence of the faeces, these bacteria persist in the immediate environment of the lemurs.

Methods: To identify the enterobacteries in the stools of lemurs, a prospective cross-analytic study was conducted in the Botanical and Zoological Park of Tsimbazaza. Taking away for coproculture were obtained from 81 lemurs.

Results: The following enterobacteries were isolated from the saddles of the lemurs: *E.coli* 1 at 11 species, *E.coli* 2 at 01 specie, *K.pneumoniae subsp.pneumoniae* at 09 species, *K.sp* at 03 species, *R.ornithinolytica* at 02 species, *R.terrigena* at 02 species, *S.enteritidis* at 04 species, *S.choleraesius spp arizonae* at 08 species, *S.gallinarum* at 01 species, *S.enterica* at 06 species, *S.paratyphi* at 02 species, *S.sp* at 03 species. *R.terrigena* and *E.coli* 2 were insulated only respectively in the enclosures containing 04 and 05 individuals. *K.pneumoniae subsp.pneumoniae* were especially insulated in the over-populated enclosures.

Conclusion: The faeces of the lemurs present many bacterial species constituting a potential biological danger. All default biohazard can increase this risk. To minimize the cleaning and disinfection must be carried out strictly in the prophylaxis plan for the Park.

Key words: *Enterobacteriaceae*, lemurs, Madagascar, Tsimbazaza Zoological Park.

Director of thesis : Professor RAKOTOZANDRINDRAINY Raphael

Reporter of thesis : Professor RAKOTOZANDRINDRAINY Raphael

Author's address : tinaheddy5@yahoo.com

Nom et Prénoms: RAMAMONJISOA Hoby Tinah Eddy Rachel
Titre de la Thèse : IDENTIFICATION DES ENTEROBACTERIES DANS LES SELLES DES LEMURIENS DANS LE PARC BOTANIQUE ET ZOOLOGIQUE DE TSIMBAZAZA

Rubrique : Bactériologie

Nombre de pages : 55 Nombre d'annexes : 07

Nombre de tableaux : 12 Nombre de référence bibliographiques : 37

RESUME

Introduction: Les entérobactéries font partie de la flore intestinale qui vit en commensalisme avec l'hôte. Les conditions restrictives de la captivité des lémuriers font que ces bactéries constituent les causes des problèmes d'infection intestinale et respiratoire fréquemment graves. Par la présence des matières fécales, ces bactéries persistent dans l'environnement immédiat des lémuriers.

Méthodes: Pour identifier les entérobactéries dans les selles des lémuriers, une étude analytique transversale prospective a été réalisée dans le Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza. Des prélèvements pour coproculture ont été réalisés chez 81 lémuriers.

Résultats: Les entérobactéries suivantes ont été isolées des selles des lémuriers: *E.coli* 1 chez 11 espèces, *E.coli* 2 chez 01 espèce, *K.pneumoniae subsp.pneumoniae* chez 09 espèces, *K.sp* chez 03 espèces, *R.ornithinolytica* chez 02 espèces, *R.terrigena* chez 02 espèces, *S.enteritidis* chez 04 espèces, *S.choleraesuis spp arizonae* chez 08 espèces, *S.gallinarum* chez 01 espèce, *S.enterica* chez 06 espèces, *S.paratyphi* chez 02 espèces, *S.sp* chez 03 espèces. *R.terrigena* et *E.coli* 2 n'étaient isolées que respectivement dans les enclos contenant 04 et 05 individus. *K.pneumoniae subsp.pneumoniae* ont été surtout isolées dans les enclos surpeuplés.

Conclusion: Les selles des lémuriers présentent de nombreuses espèces bactériennes constituant un danger biologique potentiel. Tout défaut d'hygiène d'élevage peut augmenter ce risque. Afin de le minimiser, le nettoyage et la désinfection doivent être effectués rigoureusement dans le plan de prophylaxie du Parc.

Mots clés: Entérobactéries, lémuriers, Madagascar, Parc Zoologique de Tsimbazaza.

Directeur de thèse : Professeur RAKOTOZANDRINDRAINY Raphael

Rapporteur de thèse : Professeur RAKOTOZANDRINDRAINY Raphael

Adresse de l'auteur : tinaheddy5@yahoo.com