

## ETUDE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES ISOLEES DE *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*.

Kaouthar BOUAMAMA\*, M. EL BOUR, R. MRAOUNA et A. EL ABED.

\*Institut National des Sciences et Technologies de la Mer

28, Rue 2 Mars 1934, 2025 Salammbô- Tunisie

E-mail : kaouthar\_b@yahoo.fr

### ملخص

للمضادات الحيوية *Mytilus galloprovincialis* دراسة مقاومة بكتيريات المحار : قمنا بدراسة مقاومة مجموعات من أنواع البكتيريات الهوائية واللاهوائية تم عزلها من محار (*galloprovincialis Mytilus*)، للمضادات الحيوية من مختلف الأصناف. ولقد تم عزل ودراسة 70 من مختلف الأجدال البكتيرية والتي تم تعريفها بالطرق البيوكيميائية. وقد أثبتت النتائج المتحصل عليها وجود رسوم طيفية ذات مقاومات متعددة لـ 12 مضاد حيوي لدى البكتيريا اللاهوائية من نوع *Propioni acnes*. كما قمنا بعزل مكثف للبكتيريا من نوع *Aeromonas hydrophila*، وثبت لدى هذا النوع من البكتيريا وجود أكثر من ستة رسوم طيفية مختلفة. وتبين هذه النتائج كثافة تواجد البكتيريات متعددة المقاومة لدى المحار *Mytilus galloprovincialis* المتأني من بحيرة بنزرت، وذلك يشمل كل أنواع البكتيريا المعزولة (أكثر من 25 أصناف مختلفة).  
الكلمات المفاتيح : *galloprovincialis Mytilus* ، رسم طيفي، بحيرة بنزرت.

### RESUME

L'étude des résistances vis-à-vis de différentes substances antibiotiques pour des espèces bactériennes (aérobies et anaérobies) isolées chez *Mytilus galloprovincialis* a été réalisée par la méthode standard de l'antibiogramme. Ainsi, 50 souches bactériennes aérobies et 20 souches anaérobies appartenant à plus de 25 espèces différentes ont été isolées et testées. Les résultats obtenus montrent des profils à plusieurs résistances vis-à-vis des différentes familles d'antibiotiques testés. Les résultats obtenus révèlent des profils à 12 résistances différentes notamment chez l'espèce anaérobie (*Propioni acnes*). Aussi, chez l'espèce aérobie pré dominante (*Aeromonas hydrophila*) nous avons mis en évidence au moins 6 antibiotypes différents. Ces résultats montrent la prépondérance de bactéries multirésistantes aux antibiotiques hébergeant dans la moule *Mytilus galloprovincialis* prélevée d'un milieu naturel (la lagune de Bizerte).

**Mots clés :** *Mytilus galloprovincialis*, bactéries, profil de résistance aux antibiotiques, lagune de Bizerte.

### ABSTRACT

**Study of the antibiotic resistance of bacteria isolated from *Mytilus galloprovincialis* :** The sensitivity of various aerobic and anaerobic bacterial species isolated from *Mytilus galloprovincialis* to different types of antibiotics. Thus, sensitivity of 50 aerobic and 20 anaerobic species was tested to 15 antibiotics including (betalactams, aminosids, cephalo porins, phenicols, cyclins, macrolids, nitrofurans, sulfamids, rifamycins). According to results obtained, all strains tested demonstrate resistances profiles to 3 to 12 antibiotics tested. Multi resistant profiles to 12 different antibiotics were detected for the anaerobic species (*Propioni acnes*). For the main aerobic species isolated, *Aeromonas hydrophila* we described more than 6 different antibiotypes. According to these results, it seems that the multi resistant antibiotic bacteria were well spread in *Mytilus galloprovincialis* brought from natural Tunisian lagoon ecosystems (Lagoon of Bizerta).

**Key words:** *Mytilus galloprovincialis*, resistance profile, Bizerta Lagoon.

### INTRODUCTION

L'utilisation fréquente des produits antibiotiques en aquaculture ainsi que le rejet en eau de mer des populations bactériennes diverses sont considérées comme facteurs principaux de l'augmentation de la fréquence de micro-organismes résistants aux

antibiotiques dans l'environnement aquatique et côtier (Aviles et al., 1988).

Les bivalves filtreurs peuvent être indirectement infestés par ces germes multi résistants notamment du groupe des Entérobactéries qui constituent la part anthropique prépondérante des rejets pour les espèces (*Enterobacter*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Salmonella*). L'utilisation accrue des antibiotiques en aquaculture côtière ainsi que les rejets en mer d'eaux

usées épurées n'est pas sans incidence sur l'arrivée en ces zones de différentes populations de bactéries multi résistantes (El Bour et al, 2004). En dépit d'une anthropisation accrue sur ses berges, la lagune de Bizerte héberge la totalité des stations mytilicoles tunisiennes (Dellali et al, 2000). En vue d'évaluer la fréquence de multi résistance chez les populations bactériennes associées à *M.galloprovincialis* de la lagune de Bizerte, nous avons entrepris d'identifier ces différentes espèces bactériennes aérobies et anaérobies et de déterminer leurs profils de résistance vis-à-vis des différentes familles d'antibiotiques. Dans le cas de cette étude, nous décrivons les différents profils de résistance aux antibiotiques des bactéries isolées de la moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis* prélevée dans un écosystème tunisien côtier : la lagune de Bizerte.

## MATERIEL

**Prélèvement des moules :** *Mytilus galloprovincialis* provient de 3 stations mytilicoles de la lagune de Bizerte: Echaara (CH), Ferme Mytilicole de Bizerte (FMB), Menzel Jemil (MJ). Les prélèvements mensuels (5 individus/site) ont été effectués pendant 6 mois (de Mars à Septembre) de l'année 2001 (Figure 1).

## METHODES

### Préparation des échantillons et isolement bactérien :

Les différents prélèvements de moules sont maintenus au frais jusqu'à leur arrivée au laboratoire dans 2 h à 4h qui suivent l'échantillonnage. Au laboratoire, les analyses sont effectuées le jour même. Ainsi, les échantillons sont rincés, essuyés avec de l'alcool et stérilisés à la flamme au préalable d'être ouverts. La masse molle (un prélèvement de 5 individus) est broyée et les différents types de populations bactériennes sont isolées par technique de cultures sélectives et d'épuisement utilisant des milieux standards sélectifs: MaConkey, Tryptocase Caseine Soja, Thiosulfate Bile Sucrose, Gélose au Sang et Gélose Chocolat (Hariharan et al., 1995).

**Identification des différentes espèces bactériennes :** Les différentes espèces de bactéries aérobies et anaérobies mésophylles (poussant à des température entre 24 et 32C°) a été réalisé au moyen de tests morphologiques (types de colonies, coloration de Gram) ainsi que les tests biochimiques : détermination d'enzymes respiratoires (catalase et oxydase) ainsi ainsi que l'utilisation des systèmes : Api 20E, 20NE, Rapid 32A (Hariharan et al., 1995)..

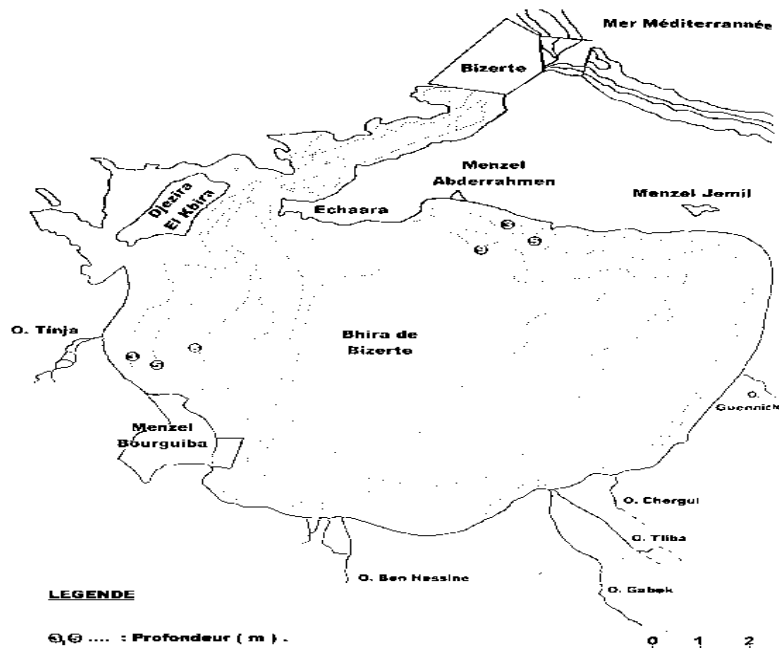


Figure 1 : présentation de la lagune de Bizerte avec les sites de prélèvements : CH, MJ et FMB.

## Détermination du profil de résistance aux antibiotiques

Effectuée selon la technique de l'antibiogramme (Chabbert, 1982). Pour chaque type de bactérie isolée, une préculture (24 h en bouillon TSB) est diluée au 1/2 en eau physiologique. La préparation est utilisée pour inonder des boîtes gélosées Mueller Hinton. Le surplus est aspiré et Les boîtes ainsi préparées sont séchées pendant 20mn avant de déposer les disques d'antibiotiques à la surface gélosée. Après incubation de 18 à 24h à 37°C, la lecture est faite en mesurant les diamètres d'inhibition en mm. Pour chaque antibiotique, le diamètre lu est comparé aux diamètres critiques D (diamètre maximal) et d (diamètre minimale) pour déterminer si la bactérie est sensible ou résistante à l'antibiotique. Les antibiotiques utilisés appartiennent à 9 familles différentes et sont les plus utilisés dans l'étude de la résistance des bactéries.

**Pénicillines :** Pénicilline (P)(6□ g), Amoxicilline (AMX)(25□ g), Oxacilline (OX)(5□ g), **Céphalosporines :** Céfoxitines (FOX)(30□ g), Céftriaxone (CRO)(30□ g),

**Aminosides :** Streptomycine (S)(10UI), Tobramycine (NN)(10□ g), Néomycine (N)(30UI),

**Phénicolés :** Chloramphénicol (C)(30□ g),

**Tétracyclines :** Tétracycline (TE)(30UI),

**Nitrofuranes :** Furanes (FM)(300□ g),

**Sulfamides :** Triméthoprim-sulfamide (SXT)(1,25+23,75□ g),

**Rifamycines :** Rifampicine (RA)(3030□ g), acide oxolinique (AR)(10□ g),

**Macrolides :** Oléandomycine (OL)(15UI).

## RESULTATS

### 1- Les différentes espèces bactériennes présentes chez *Mytilus galloprovincialis*

Par méthodes d'épuisement sélective, nous avons pu identifier 50 souches de bactéries aérobies qui appartiennent à 20 espèces différentes. Les espèces les plus fréquentes sont : *Aeromonas hydrophila* (31%), *Enterobacter sakazakii* (15%) et *Pseudomonas cepacia* (13%) (Tableau N°I et II). L'ensemble de ces espèces appartient essentiellement au groupe des Entérobactéries (48 souches). Les espèces non entérobactéries sont restreintes à deux souches : 1 souche de *V.alginolyticus* et une souche de *V. paraheamolyticus*. Par ailleurs, 20 souches anaérobies ont été isolées. Ces bactéries appartiennent à 6 espèces différentes dont l'espèce dominante est *Propriobacterium acnes* (65%) et *Clostridium perfringens* (15%). Les espèces : *Clostridium bif fermentans*, *Actinomyces meyeri*, *Capnocytophaga spp*, et *fusobacterium necrophrum* sont représentées chacune par une seule souche. (Tableau N°III).

### 2- Caractérisation antibiotypique des espèces bactériennes identifiées chez *Mytilus galloprovincialis*

Les résultats obtenus concernant les différentes fréquences de résistance antibactérienne ainsi que les différents antibiotypes pour les différentes populations aérobies et anaérobies sont représentés dans la Figure N°2 et le Tableau N°IV. Les résultats obtenus montrent que les antibiotypes des bactéries aérobies identifiées comptent des multi résistance allant de 3 à 11 antibiotiques différents. Parmi ces profils, c'est l'antibiotype à 8 résistances qui est le plus commun. Ce sont des résistances aux bêta lactamines, aminosides et macrolides en plus des cyclines. Pour les bactéries anaérobies, les antibiotypes révélés comptent des multi résistances allant de 6 à 12 antibiotiques différents. Ce sont les profils à 7 et 9 antibiotiques qui sont les plus communs. Pour toutes les espèces identifiées, il semblerait que ce sont les sulfamides, les furanes et le phénicolés qui demeurent les plus efficaces.

## DISCUSSION

La moule *Mytilus galloprovincialis* est un bivalve à large répartition méditerranéenne. En Tunisie, la production mytilicole est assez importante surtout au niveau de la lagune de Bizerte et représente 94% de l'ensemble des bivalves. Les travaux intéressants l'étude des populations bactériennes associées aux moules sont restreintes à l'étude de Chakroun (1964) et en Tunisie Dellali et al. (2000-2001a-b) et Dellali (2001).

Les résultats obtenus par Dellali (2001) sur les bactéries associées à *Mytilus galloprovincialis* au niveau de la lagune de Bizerte décrivent une prédominance d'*Aeromonas hydrophila* (82.24%) comme le démontre notre étude suivi d'autres espèces : *Vibrio parahaemolyticus* (10.68%), *Aeromonas sobria* (4.5%) et *Vibrio vulnificus* (2.2%). Beaucoup de travaux cependant, ont souligné la dominance des *Vibrionaceae* (Toti et al., 1996), (Bouchriti et El Marrakchi, 1995), (Harriharan et al., 1995), (Kiiyukia et al., 1989), (El Sahn et al., 1982), (Alonzo et al., 1981). Les études antérieures des populations bactériennes anaérobies sont restreintes à celles de Dellali et al. (2001), qui a détecté la présence de *Clostridium perfringens* chez les moules de la lagune de Bizerte, et Harriharan et al. (1995) qui a décrit chez *Mytilus*

*edulis* les espèces suivantes : *Clostridium difficile* (15%), *Clostridium sporogenes* (13%), *Bacteroides buccae* et *Fusobacterium*

Tableau I: Caractéristiques biochimiques des espèces aérobies identifiées par système Api 20E

Souches	OX	CAT	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INOSOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	F %	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	+	+	-	-	v	-	-	+	v	v	+	+	+	-	-	-	v	v	+	+	31
<i>Enterobacter sakazakii</i>	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	v	+	v	+	+	+	-	+	+	+	+	+	15
<i>Pseudomonas cepacia</i>	+	+	v	-	v	v	-	-	-	+	-	v	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13
<i>Aeromonas salmonicida</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	v	-	4
<i>Bordetella alcalignes spp</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	-	+	-	v	v	v	+	+	-	+	v	+	-	-	-	-	-	+	-	v	4
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	+	-	+	-	-	+	-	v	v	v	v	v	+	-	-	-	v	-	+	+	v	4
<i>Aeromonas sobria</i>	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	2
<i>Enterobacter amnigenus</i>	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	2
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
<i>Listonella damsela</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
<i>Pasteurella spp</i>	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	2
<i>Salmonella arizonae</i>	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	2
<i>Serratia liquefaciens</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
<i>Sphingomonas multivorum</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	2
Tot. Souches																							48

Légende : (+) : réponse positive au test; (-) réponse négative au test ; (v) : réponse variable au test.  
 OX: oxydase; CAT: catalase; ONPG: ortho-nitro-B-D-galactopyranoside; ADH: arginine; LDC:lysine; ODC: ornithine; CIT: citrate de sodium;  
 H2S:thiosulfate de sodium; URE: urée; TDA: tryptophane; IND: tryptophane; VP: créatine pyruvate de sodium; GEL: gélatine de Kohn,  
 GLU: glucose; MAN: mannitol; INO: inositol; SOR: sorbitol; RHA: rhamnose; SAC: saccharose; MEL: melibiose; AMY: amygdaline;  
 ARA: arabinose.

Tableau II: Caractéristiques biochimiques des espèces aérobies identifiées par systèmes Api 20NE

Souches	OX	CAT	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADH	MLT	CIT	PAC
<i>Vibrio alginolyticus</i>	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-

Légende: (+) : réponse positive au test; (-) réponse négative au test ; (v) : réponse variable au test.  
 OX: oxydase; CAT: catalase; NO3: nitrate de potassium; TRP: tryptophane; GLU: glucose; ADH: arginine; URE: urée; ESC: esculine; GEL: gélatine;  
 PNPG; p-nitrophényl-B-D-galactopyranoside; GLU: glucose; ARA: arabinose; MNE: mannose; NAG: N-acetyl-glucosamine; MAL: maltose;  
 GNT: gluconate; CAP: caprate; ADI: adipate; MLT: malate; CIT: citrate; PAC: phényl-acétate.

Tableau III : Caractéristiques biochimiques des bactéries anaérobies identifiées par système Api ID 32A

Souches	OX	CAT	URE	ADH	$\alpha$ Gal	$\beta$ Gal	$\beta$ GP	$\alpha$ Glu	$\beta$ Glu	$\alpha$ Ara	$\beta$ Gur	$\beta$ NAG	MNE	RAF	GDC	$\alpha$ Fuc	NIT
<i>Propriوني acnes</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	V	-	-	-	+
<i>C. perfringens</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+
<i>C.bifermentans</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Actinomyces meyeri</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-
<i>F. necrophorum</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
<i>Capnocytophaga spp</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+

suite des tests :	IND	PAL	ArgA	ProA	LGA	PheA	LeuA	PyrA	TyrA	AlaA	GlyA	HisA	GGA	SerA	F %
<i>Propriوني acnes</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	65
<i>C. perfringens</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	15
<i>C.bifermentans</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
<i>Actinomyces meyeri</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	5
<i>F. necrophorum</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
<i>Capnocytophaga spp</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	5
<b>Total des souches</b>															<b>20</b>

**Légende:** (+) : réponse positive au test; (-) réponse négative au test ; (v) : réponse variable au test.

**OX:** oxydase; **CAT:** catalase; **URE:** urease; **ADH:** arginine dihydrolase;  **$\alpha$ GAL:** alpha GALactosidase;  **$\beta$ GAL:** beta GALactosidase;

**$\beta$ GP:** beta GALactosidase 6 phosphate;  **$\alpha$  GLU:** alpha GLUcosidase;  **$\beta$ GLU:** beta glucosidase;  **$\alpha$ ARA:** alpha arabinosidase;  **$\beta$ GUR:** beta GlucURonidase;

**$\beta$ NAG:** beta-N-Acetyl-Glucosaminidase; **MNE:** MaNosE; **RAF:** RAFinose; **GDC:** ac. Glutamique DeCarboxylase;  **$\alpha$  FUC:** alpha FUCosidase; **NIT:** nitrate;

**IND:** indole; **PAL:** Phosphate Alcaline; **ArgA:** arginine Arylamidase; **ProA:** Proline Arylamidase; **LGA:** Leucyl Glycine Arylamidase; **PheA:** Phenylalanine

arylamidase; **LeuA:** Leucine Arylamidase; **PyrA:** Ac.Pyroglutamique Arylamidase; **TyrA:** Tyrosine Arylamidase; **AlaA:** Alanine ;

Arylamidase; **GlyA:** Glycine Arylamidase; **HisA:** Histidine Arylamidase; **GGA:** Glutamyl ac. Glutamique Arylamidase; **SerA:** Serine Arylamidase.

Tableau N°IV : Les profils antibiotypiques associés aux populations aérobies et anaérobies

Résistance aux antibiotiques	Profils des bactéries aérobies	Profils des bactéries anaérobies
12 ATB		<i>Propionibacterium acnes</i> : P-Amx-Ox-Fox-Cro-S-Nn-N-C-Te-Ar-Ol P- Amx-Ox-Fox-Cro-S- Nn- N-C-Fm-Ar -Ol (4)
11ATB	<i>Aeromonas hydrophila</i> : P-Amx-Ox- Fox-Cro-S-Nn-N-Te-Ra- Ol <i>Pseudomonas cepacia</i> : P-Amx-Ox-Fox-Cro-S-N-C-Te-Fm-Ol. <i>Pseudomonas fluorescens</i> : P-Amx-Ox- Fox- S-Nn-N-Te-Fm- Ra- Ol <i>Aeromonas hydrophila et Aeromonas sobria</i> : P-Amx-Ox-Fox-S- Nn- N-Te-- Fm- Ar- Ol <i>Bordetella alcalignes</i> : P- Amx- Ox-Fox- Nn-N-C-Te- Fm- Ar -Ol	<i>Propionibacterium acnes</i> : P-Amx-Ox-Fox-Cro- S-Nn- N-Te- Fm-Ol
10ATB	<i>Aeromonas salmonicida</i> : P- Amx-Ox- Fox-Cro-Nn-N- Te-Ra -Ol <i>Aeromonas hydrophila et Pseudomonas fluorescens</i> : P-Amx- Ox- Fox- S-Nn-N- Te-Fm-Ol <i>Aeromonas hydrophila (2) et Aeromonas sobria</i> : P-Amx-Ox-Fox-S-Nn-N- Te- Ra-Ol <i>Klebsiella oxytoca</i> : P- Amx- Ox- Fox- S-N- C- Te- Fm-Ol <i>Aeromonas sobria</i> : P-Amx-Ox-S-Nn-N-Te-Fm- Ra-Ol <i>Listonella damsela</i> : Amx-Ox-Fox-S-Nn-N-C-Fm-Ar-Ol	<i>Capnocytophaga spp.:</i> P-Amx-Ox-Fox-Cro- S- N-C-Fm-Ol
9ATB	<i>Aeromonas hydrophila</i> P-Amx-Ox-Fox-S-Nn-N-Fm-Ol (2) <i>Vibrio alginolyticus</i> : P-Amx-Ox- Fox- S-Nn-Te-Ar-Ol <i>Aeromonas sobria</i> : P-Amx-Ox-Fox -S-Nn-Fm- Ar-Ol P-Amx-Ox-Fox-Nn- N- C-Te-Ol <i>Bordetella alcalignes</i> : Amx-Ox- Fox-Cro- S- Nn-N- Te-Ol	<i>Propionibacterium acnes</i> : P-Amx- Ox-Fox- S-Nn-N-Te-Ol P-Amx- Ox-Fox-S-Nn-Te- Ra-Ol P-Amx-Ox- Fox- S-N- C-Te-Ol P-Amx-Ox-Fox-Nn- N-C- Fm-Ol (2)  <i>Clostridium bifermentans</i> : P-Amx-Ox-Fox-S-Nn-Fm-Sxt-Ol
	<i>Bordetella alcalignes</i> : P-Amx-Fox-Cro- N-Ra- Ol	

<p><b>8ATB</b></p>	<p><b><i>Klebsiella ornithinolytica</i> :</b> P-Amx- Ox-Fox-S-Nn-C-Ol <b><i>Enterobacter sakazakii</i></b> P-Amx-Ox-Fox-S-Nn- N-Ol Ox-Fox-S-Nn-Te -Fm-Ar -Ol <b><i>Pseudomonas aeruginosa:</i></b> P-Amx-Ox-Fox- S-Nn-Te-Ol <b><i>Enterobacter cloacae:</i></b> P-Amx-Ox-Fox- S-Te-Ra-Ol <b><i>Pseudomonas cepacia:</i></b> P-Amx-Ox-Fox-Te-Fm -Ra-Ol <b><i>Aeromonas salmonicida:</i></b> Amx-Ox-Fox-Nn-N- C- Ar -Ol</p>	<p><b><i>Propionibacterium acnes:</i></b> P-Amx-Ox-Fox-S-Nn- N-Ol</p> <p><b><i>Clostridium perfringens:</i></b> Amx-Ox- Fox-S-Nn-Te - Ar-Ol</p>
<p><b>7ATB</b></p>	<p><b><i>Enterobacter sakazakii:</i></b> P-Amx-Ox-Fox-S-N-Ol (2) <b><i>Aeromonas sobria</i> :</b> P-Amx-Ox-Fox-Nn-Te-Ol <b><i>Aeromonas hydrophila</i></b> P-Amx-Ox-S-Nn-N-Ol P-Ox-S-Te-Fm-Ra-Ol</p> <p><b><i>Enterobacter cloacae:</i></b> P-Ox-Fox- S-Te-Ra-Ol <b><i>Pasteurella spp. :</i></b> Amx-Ox-Fox-Nn- N-Fm -Ol <b><i>Klebsiella ornithinolytica et</i></b> <b><i>Pseudomonas cepacia:</i></b> Amx-Ox- Fox-Nn- C-Te-Ol <b><i>Sphingomonas multivarum:</i></b> Amx- Ox-Nn- N-Te -Fm -Ol</p>	<p><b><i>Clostridium perfringens :</i></b> P-Amx-Ox- Fox- S-Nn-Ol Amx-Ox-Cro-S-Nn-Ar -Ol</p> <p><b><i>Propionibacterium acnes:</i></b> P-Amx-Ox-S-Nn-Fm-Ol P-Ox-Fox- S-Te-Ra-Ol</p> <p><b><i>Actinomyces meyeri:</i></b> Amx-Ox-N-C-Te- Ar -Ol</p>
<p><b>6ATB</b></p>	<p><b><i>Vibrio parahaemolyticus :</i></b> Amx-Ox-Fox-Cro-Te-Ol <b><i>Pseudomonas aeruginosa et Serratia</i></b> <b><i>liquefaciens :</i></b> Amx-Ox-Fox-Nn-N-Te</p>	<p><b><i>Fusobacterium necrophorum:</i></b> Amx-Ox-Fox-Cro-Te-Ol</p>
<p><b>5ATB</b></p>	<p><b><i>Enterobacter sakazakii:</i></b> P-Amx- Ox-Nn-Ol <b><i>Aeromonas hydrophila</i></b> Ox-Fox-N- Ar -Ol</p>	
<p><b>4ATB</b></p>	<p><b><i>Klebsiella pneumonia:</i></b> Amx- Ox-N-Ol</p>	
<p><b>3ATB</b></p>	<p><b><i>Salmonella arizonae et Enterobater</i></b> <b><i>amnigenus :</i></b> Ox-Te- Ol</p>	

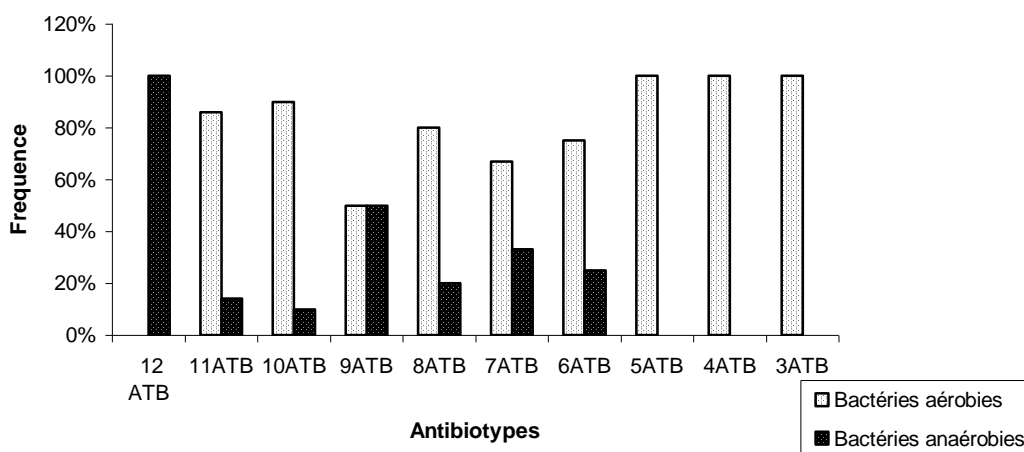


Figure N°2: Fréquence de résistance des populations bactériennes aérobies et anaérobies aux antibiotiques

*mortiferum* (8.7%), *Clostridium bifermentens* (6.5%) ainsi que d'autres espèces représentant les 5 % restant.

Grâce à son pouvoir de filtration, *Mytilus galloprovincialis*, peut concentrer différents types de polluants et de microorganismes ce qui peut lui conférer l'acquisition de résistances. L'étude antibiotypique menée pour étudier la sensibilité des germes aérobies et anaérobies isolées chez la moule *Mytilus galloprovincialis* a été effectuée vis à vis de 15 antibiotiques appartenant à 9 familles différentes.

Dans la présente étude nous avons constaté que tous les germes isolés sont résistants à un ou plusieurs antibiotiques. L'antibiotype le plus dominant est à 7 antibiotiques et se trouve à une fréquence de 22%. Ces profils présentent une résistance aux pénicillines, aux aminosides et aux oléandomycines.

Plusieurs travaux antérieurs faits en Tunisie ont noté qu'*Aeromonas hydrophila*: espèce ubiquiste, est parmi les genres non entérobactéries les plus fréquents aussi bien en eaux marines qu'en eaux douces. *Aeromonas hydrophila* espèce aérobie prédominante dans notre étude montre pour la plupart des isolats 6 antibiotypes différents. Ce germe a une résistance aux aminosides, aux céphalosporines, néomycines, oléandomycines. 90% des souches sont résistantes aux céfoxitine. Nos résultats sont confirmés par les travaux de Lakhil (2003) et Dellali (2001) qui montrent que les souches d'*Aeromonas* isolées des: eaux, sédiments et bivalves, sont résistantes aux: aminosides, aux céphalosporines de deuxième génération et aux cyclines, 80% des souches sont résistantes au céfoxitine. Pour ces germes *Aeromonas*, la résistance aux bêta-lactamines est caractérisée par une grande hétérogénéité inter et intra spécifique (Freney et al., 2000), (Burgos et al., 1990) et (Koehler et al., 1993).

*Pseudomonas aeruginosa*, une des bactéries opportunistes des plus résistantes aux antibiotiques a été décrite dans notre étude. Ce germe présente deux profils de résistances à 8 et 6 antibiotiques et présente une résistance aux: aminosides et tétracyclines. D'après Berche et Al. (1996), Cette espèce est naturellement résistante aux antibiotiques suivants: aminosides, colistine, pénicillines du groupe A (ampicilline et dérivés), céphalosporines de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération, chloramphénicol et tétracycline.

Pour les espèces *Vibrios*, *Vibrio alginolyticus* présente une résistance à 8 antibiotiques différents alors que *Vibrio parahaemolyticus* est résistant à 7 antibiotiques. Selon Freney et Al. (2000), ce germe est très résistant à l'ampicilline, carbénicilline et triméthoprime.

D'après l'étude de Berche et al. (1996), les résultats obtenus sur le genre *Enterobacter* ont montrés que ce sont les entérobactéries les plus résistantes aux antibiotiques. Dans notre étude, ce genre se trouve résistant aux: pénicillines, céphalosporines et aux oléandomycines.

Pour la résistance des espèces anaérobies aux antibiotiques, *Propionibacterium acnes* qui est le germe prédominant, présente 5 profils antibiotypiques et une haute fréquence de résistance à 9 antibiotiques. Nos résultats concordent avec celles observés par Dublanche (1993), cette espèce a une résistance naturelle aux: aminosides, les bêta-lactamines qui sont les antibiotiques les plus actifs ainsi que les tétracyclines, macrolides, chloramphénicol, oléandomycines qui sont considérés comme des antibiotiques de relais.

Dans notre étude, *Fusobacterium necrophorum* montre une résistance pour 6 antibiotiques et ne présente qu'un seul profil de résistance. Ces bactéries Gram négatifs, anaérobies strictes sont sensibles aux



clindamycines, chloramphénicol et pénicillines (Berche et al., 1996).

## CONCLUSION

La moule tunisienne *Mytilus galloprovincialis* est une des espèces de bivalves caractéristique de la lagune de Bizerte et représente la production totale tunisienne. Cette espèce constituant une ressource conchylicole importante a fait l'objet de plusieurs études de part sa biologie, reproduction et son écologie. Néanmoins, rares sont les études tunisiennes qui se sont intéressé d'évaluer l'effet des facteurs d'eutrophisation. La lagune de Bizerte est considérée comme un grand réceptacle où se déversent les rejets urbains, industriels et agricoles. Ces bivalves filtreurs concentrent les polluants bactériens et même chimiques donnant une indication sur les risques potentiels de contamination. L'acquisition de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries associées aux moules est liée aux eaux usées, des rivières polluées et des égouts déversés dans le milieu où elles vivent.

Des résultats obtenus, nous avons constaté :

La prédominance des germes aérobies (71.5%) par rapport aux germes anaérobies dans tous les prélèvements. Les populations des germes aérobies ont ségrégué en 20 espèces différentes. L'espèce aérobie dominante est *Aeromonas hydrophila* (31%). Les populations anaérobies associées aux populations aérobies ont été identifiées à 6 espèces différentes. L'espèce prédominante est *Propionibacterium acnes* (65%).

L'étude des profils antibiotypiques nous a permis de constater que toutes les souches isolées sont résistantes à deux ou plusieurs antibiotiques. L'antibiotype le plus fréquent chez toutes les espèces identifiées est à 7 résistances différentes avec une fréquence de 22%. Ce profil présente des résistances aux : amoxicilline, oxacilline, oléandomycine, streptomycine, tobramycine, tétracycline et néomycine. Par ailleurs, ces résultats dénotent la présence de plusieurs profils antibiotypiques différents chez une même espèce identifiée (6 profils antibiotypiques différents chez *Aeromonas hydrophila*,) et (5 profils antibiotypiques différents chez *Propionibacterium acnes*).

## BIBLIOGRAPHIE

Alonzo V., Bruni V., Lo curto R.B., Maugeri T.L., Russo D.I. et Scoglio M.E., (1981) : Occurrence of helophilic vibrios in mussels cultivated in a Brackish lake. *Rev. Int. Océanogr. Méd.* N:63-64. Pp 3-9.

Aviles M., De Vicente A., Codina J.C. et Romero P. (1988) : Antibiotic resistance of bacterial strains

from the marine environment. *Rapp. Comm. Int Médit.* 31 : 2. 173p.

- Berche P., Gaillaird J.L. et Simonet M., (1996) : Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. *Medecine Sciences.* Edit : Flammarion.
- Bouchriti B. et Marrakchi A.EL., (1995) : Occurrence of marine Vibrios in Moroccan coastal waters and shellfish. *Microbiology Aliments Nutrition*, Vol.13, 381-387.
- Burgos A, Qindos G., Martinez R, Rojo P. et Cisterna R. (1990) : *In vitro* susceptibility of *Aeromonas caviae*, *A. hydrophila*, *A. sobria* to fifteen antibacterial agents. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dist.* 9 : 413-418.
- Chabbert, Y.A., (1982) : L'antibiogramme. In: Bactériologie médicale L. Le Minor, M. Véron, (ed) : Flammarion. Médecine Science. Paris : 205-212.
- Chakroun F., (1964) : Contribution à l'étude de la microflore bactérienne de la moule *Mytilus galloprovincialis* Lmk. *Thèse de doctorat.* Faculté des Sciences de Paris. In : Annales N° XIV. *Ins. Nat. Sci. Tech.. Ocean. Pêche. Salammbô.* 1967 : 1-65p.
- Dellali M., El Bour M. et Aissa P., (2000) : Caractérisation des populations de *Vibrionaceae* de la lagune de Bizerte. *Jour. Europ. Hydrol.* 31(1) : 91-103.
- Dellali M., EL Bour M. et Aissa P., (2000) : Evaluation de la pollution bactérienne dans la lagune de Bizerte : Résultats préliminaires. *Jour. Rech. Océanogr.* Vol 26, n°1-2, pp 18-28.
- Dellali M., (2001) : Utilisation d'indicateurs microbiologiques et biochimiques chez *Ruditapes decussatus* et *Mytilus galloprovincialis* dans la biosurveillance de la lagune de Bizerte : Validation de certains biomarqueurs. *Thèse de doctorat.* Faculté des Sciences de Bizerte. Pp :218.
- Dellali M., El Bour M. et Aissa P., (2001b) : Caractérisation des populations de *Vibrionaceae* de la lagune de Bizerte. *Jour. Europ. Hydrol.*
- Dublanche A., (1993)- Bacteroides du groupe *fragilis* : Mécanisme et évolution de la résistance aux antibiotiques. *Rev. Franc. Labo.* 256 : 98-107.
- El Bour M., El Hili H., Mejri S., Lakhel F. et Mraoua R., (2004) : Etude de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes isolées de la frange côtière tunisienne. *Actes des 7èmes Journées tunisiennes de l'ATSMER* Pp113.
- EL-Sahn M.A., El-Banna A.A. et El-Tabey Shata A.M. (1982) : Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in selected marine invertebrates, sediment and seawater around Alexandria, Egypt. *Can. J. Microbiol.* 28 : 1261- 1264

- Freny J., Renaud B., Hansen W. et Bollet C., (2000): Précis bactériologie clinique. *Edit. ESKA*. pp1692
- Hariharan J.S., Giles, Heany S.B., Arsenault G., Mc Nair N., ET Rainnie D.J., (1995) : Bacteriological studies on mussels and oysters from six river systems in Prince Edward Island, Canada. *Journal Shellfish Research.*, 14 (2), 527-532
- Khoehler J. et Ashdown L.R. (1993): *In vitro* susceptibility of tropical strains of *Aeromonas* species from Queens land Australia to 22 antimicrobial agents. *Antimicrobi. Al. Agents . Chemother.* 37 : 905-907.
- Kiiyukia C., Venkateswaran K., Navarro I.M., Nakano H., Kawakam et Hashimoto H., (1989): Seasonal distribution of *Vibrio parahaemolyticus* serotypes along the oysters beds in Hiroshima coast. *J. Fac. Appl. Biol. Sci.* Vol. 28 . pp : 49-61.
- Lakhal F., (2003) : Etude et suivi de la croissance d'*Aeromonas hydrophila* en eau de mer. *Mémoire de DEA*. Faculté des Sciences de Tunis. Pp 85.
- Toti L., Serratore P., Croci L., Stacchini A.L., Milandri S. et Cozzi L., (1996): Bacteria isolated from seawater and mussels : Identification and toxin production. *Microbiologie- Aliments- Nutrition*, Vol. 14, 161- 165