

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA – Bejaia



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences Biologiques
Option : Microbiologie Fondamentale

Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Evaluation des facteurs de risque de la bio-contamination des
fruits et des légumes avant récolte par des bacilles à Gram
négatif productrices des Carbapénèmases**

Présenté par :

HAMGA Massilia

HAMMAR Imane Adada

Soutenu le : 25/06/2023

Devant le jury composé de :

Mme SALMI A

MCA

Président

Mme ZENATI K

MAA

Encadreur

Mme TAFOUKT R

MAB

Examineur

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Nous tenons à remercier tout d'abord notre Dieu, le tout puissant de nous avoir donné la bonne santé, la patience, la force et la volonté pendant toutes ces années d'étude et pour réaliser ce travail.

*Nous adressons notre vive gratitude et nos sincères remerciements à notre encadreur Mme **ZENATI Karima**, qu'elle a bien voulu prendre en charge ce travail, on lui remercie chaleureusement pour sa gentillesse, pour son aide et pour ces précieux conseils.*

Nous exprimons nos remerciements aux membres du jury,

Mme SALMI. A ET Mme TAFUKT. R

D'avoir accepté de présider et d'examiner ce travail

Nos profonds remerciements vont à l'ensemble du personnel du laboratoire de microbiologie.

Nous tenons à remercier également tous les gens qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail.

Imane et Massilia

Dédicaces

A nos chers parents, famille et amis

Imane et Massilia

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Table de matière

INTRODUCTION1

Synthèse bibliographique

I.	Production et consommation des fruits et des légumes3
I.1.	Dans le monde3
I.2.	En Algérie5
II.	Les risque associés à la consommation des fruits et légumes frais6
III.	Les principales sources de contamination des fruits et des légumes.....7
III.1.	L'eau d'irrigation.....8
III.2.	Sol et épandage9
IV.	Les bacilles à Gram négatifs résistants aux carbapénèmes : Une énigme réelle dans la bio-contamination de l'environnement 11

Matériels et Méthodes

I.	Echantillonnage.....16
II.	Méthodes de préparation des échantillons.....16
III.	Criblage de souches de bacilles a Gram négatifs résistants aux carbapénèmes....17
III.1.	Sélection des souches résistantes à l'Ertapénème sur milieu CarbaMTL Broth.....17
III.2.	Isolement et purification des souches17
IV.	Identification des souches.....17
V.	Détermination de la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques18
VI.	Caractérisation des phénotypes de résistance aux B-Lactamines19
VI.1.	Recherche de la production de carbapénèmases par le test CMI (Carbapenem Inactivation Methode).....19
VI.2.	Recherche de la production de BLSE par test de synergie19

VII.	Evaluation de la sensibilité des souches vis-à-vis des métaux lourds	19
------	--	----

Résultats

I.	Répartition des prélèvements.....	21
II.	Criblage de souches de bacilles a Gram négatifs résistants aux carbapénèmes....	21
	II.1. Croissance sur milieu CarbaMTL Broth et résistance à l'Ertapénème.....	21
	II.2. Isolement et identification des souches	21
III.	Répartition des souches par espèce et par échantillons.....	23
IV.	Etude de la sensibilité des souches aux carbapénèmes.....	24
	IV.1. Etude de la sensibilité des souches de <i>Pseudomonas sp</i> aux carbapénèmes.	24
	IV.2 Etude de la sensibilité des souches d'Entérobactéries aux carbapénèmes...	25
V.	Etude de la sensibilité des souches aux métaux lourds.....	27

Discussion	29
------------------	----

Conclusion	31
------------------	----

Reference bibliographiques	32
----------------------------------	----

Annexes

Liste des tableaux

Tableau 1	Quantités de productions en tonnes de quelques fruits et légumes consommées crus dans le monde en 2021.	5
Tableau 2	types de végétaux et le taux de production	6
Tableau 3	Sites de prélèvement	16
Tableau 4	Antibiotiques testés	18
Tableau 5	Différente concentration des métaux lourds	20
Tableau 6	Nombre et Aspect de souches sur gélose chromagar TM orientation	22
Tableau 7	Repartition des souches isolés par région et par échantillon	24
Tableau 8	Diamètres des zones d'inhibitions des souches de <i>P. aeruginosa</i> résistantes à l'imipènème et test CMI	25
Tableau 9	diamètre des zones d'inhibition aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries	26

Liste des figures

Figure 1	Évolution de la production de fruits et de légumes, de 2000 à 2018	4
Figure 2	Facteurs affectant la survie des pathogènes dans les milieux de culture	10
Figure 3	Représentation schématique des voies du transfert des gènes de la résistance aux antibiotiques chez l'homme et l'animal vers l'alimentation et l'environnement	12
Figure 4	Représentation schématique des mécanismes de résistance chez les bacilles à Gram négatif	13
Figure 5	Criblage de la résistance aux carbapénèmes sur milieu carba-MTL	21
Figure 6	Aspects des colonies sur gélose VRBL	22
Figure 7	Aspect de certaines souches sur différents milieux d'identification	23
Figure 8	Test CIM positif de la souche <i>Pseudomonas</i> (IV E2-a) et la souche <i>E.coli</i> (IVE2-b)	27
Figure 9	Taux de résistance des souches d'entérobactéries <i>vis-à-vis</i> de la différente concentration en cuivre, zinc et cadmium en (mM)	27
Figure 10	Taux de résistance des souches de <i>Pseudomonas sp</i> <i>vis-à-vis</i> différentes concentrations de cuivre, zinc et cadmium en (mM).	28

Liste des abréviations

ATB : Antibiotique

AMC: Amoxicilline-Clavulanate

ATM : Aztréoname

BGN : Bacille à Gram Négatif

BLSE : β -Lactamases à Spectre Elargi (ou Etendu)

CAZ : Céftazidime

CIM: Cabapénèmes Inactivation Méthode

CT : Colistine

CTX: Céfotaxime

E.coli : Escherichia coli

EMB : Éosine Méthylène Bleu

EPT : Eau Peptoné Tamponé

EUCAST: European Comity on Antibiotic Susceptibility Testing

FAO: Food and Agriculture Organization

Mcr: Mobile Colistine Resistance

MDR: Multi-résistance Bactérienne aux Antibiotiques

MTL: Mairi-Touati-Lavigne

OMS: *Organisation Mondiale de la Santé*

TSI: Three Sugar Iron

Introduction

Introduction

La question de la sécurité alimentaire devient progressivement un défi majeur pour la santé publique dans de nombreux pays et les contaminants biologiques, en particulier les bactéries, constituent la principale cause des maladies d'origine alimentaire (**Ejo et al., 2016**). Les fruits et légumes sont devenus une composante importante de l'alimentation humaine en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé et de leur valeur nutritionnelle. Une alimentation propre et saine, exempte d'agents pathogènes et de produits chimiques agricoles est devenue l'une des principales préoccupations et exigences des consommateurs (**Hölzel et al., 2018 ; Sudsiri et al., 2023**).

Les avantages nutritionnels de la consommation de fruits et légumes sont largement reconnus, ce qui a provoqué des changements dans les habitudes alimentaires humaines. En conséquence, la production mondiale de fruits et légumes a bondi exponentiellement au cours des dernières décennies (**Alegbeleye et al., 2018**). Toutefois, Ces légumes qui ont été considérés comme un outil pour une vie plus saine ont également été fréquemment liés à des épidémies d'origine alimentaire (**Rahman et al., 2022**).

Les légumes et fruits consommés crus ou peu transformés, représentent un risque d'infection pour les consommateurs, ils sont naturellement porteurs d'une communauté microbienne non pathogène, mais peuvent être contaminés avec des agents pathogènes et cette dernière peut se produire à la fois avant et après la récolte (lavage, manipulation et transformation) (**Araújo et al., 2017**). Différentes sources peuvent être à l'origine de la contamination post récolte, au niveau de la ferme, allant de l'environnement à la manipulation humaine et à l'exposition aux animaux. L'épandage inapproprié d'engrais organiques et de fumier, l'intrusion du bétail dans les champs et l'utilisation d'eau insalubre pour l'irrigation contribuent tous à la contamination des végétaux sur place (**Mir et al., 2018 ; Rahman et al., 2022**).

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces du 21^{ème} siècle pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et sur l'environnement (**Zhang et al., 2019**). La résistance aux antibiotiques est actuellement illustrée par l'augmentation rapide de la résistance aux céphalosporines et aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif en particulier celle des entérobactéries, ce qui limite encore les options de traitement des infections causées par ces bactéries (**Touati et al., 2020**). Depuis 2017, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et les Entérobactéries résistants aux b-lactamines, notamment aux

carbapénèmes, ont été classés en première ligne des agents pathogènes pour lesquels la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques est une priorité (OMS, 2017 ; Kalpana et al., 2023 ; Kalpana et al., 2023). Cette résistance est un défi multidimensionnel à dimensions sociales, économiques et environnementales. L'approche « *One Health* » met en évidence le lien inextricable et l'interdépendance entre la santé des personnes, des animaux, de l'agriculture et de l'environnement (Tiedje et al., 2019).

La contamination des fruits et légumes par des bacilles à Gram négatif portant des déterminants de résistance aux C3G , aux carbapénèmes et à la colistine ont été rapporté ces dernières années dans le monde (Iseppi et al., 2018 ; Yang et al., 2019 ; Saksena et al., 2020 ; Rahman et al., 2022). En Algérie, la contamination des fruits et légumes par des bacilles à Gram négatif producteurs de carbapénèmases (bla_{OXA-48} et bla_{VIM-4}) (Touati et al., 2017 ; Chelaghma et al., 2022) et de BLSE (bla_{CTX-M}) (Mesbah-Zekar, 2017) ont été également rapportés. Bien que les voies de contamination potentielles des fruits et légumes consommés crus avant récolte soit connu pour les agents pathogènes d'origine alimentaire, leurs contributions relatives à la contamination des produits frais par les bactéries résistantes aux carbapénèmes n'ont pas encore été rapportées. Toutefois, des souches productrices de carbapénèmases ont été rapportées dans les eaux de rivière (Tafoukt et al., 2017) et des effluents hospitaliers (Yousfi et al., 2019).

L'objectif de ce travail consiste à évaluer les différentes sources impliquées dans la bio-contamination des fruits et légumes avant récolte, tout en cherchant à isoler et à identifier des bactéries à Gram négatif productrices des carbapénèmases à partir des sols, du fumier et des eaux d'irrigation au niveau de certaines fermes situées au nord de l'Algérie.

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

I. Production et consommation des fruits et des légumes

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) et l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) encouragent la consommation quotidienne de fruits et légumes dans le cadre d'une alimentation saine, en raison de leur haute valeur nutritionnelle corrélée à une faible valeur énergétique (Rahman et al., 2022). Ils sont définis comme « une plante, une racine, une graine ou une gousse utilisée comme aliment, en particulier dans les plats qui ne sont pas sucrés » dans le dictionnaire Cambridge (Hölzel *et al.*, 2018).

Appréciés de toutes les catégories d'âge, les fruits et légumes frais fournissent des nutriments essentiels à l'organisme, tels que les vitamines, les fibres, les minéraux et les antioxydants (TANGO *et al.*, 2014 ; Mesbah-Zekaret *et al.*, 2017). Ces produits ont un rôle crucial dans la prévention du cancer, des accidents vasculaires cérébraux, de la formation de cataracte, des maladies pulmonaires chroniques, de la diverticulose et éventuellement de l'hypertension (Van Duyn et Pivonka, 2000). Ils sont faciles à cultiver par irrigation et peuvent être consommés crus ou avec une transformation limitée et leur culture ne nécessite que de petites parcelles de terres et un minimum d'effort (Mritunjay et Kumar, 2015).

I.1. Dans le monde

La production agricole mondiale a considérablement augmenté au cours des dernières décennies non seulement pour améliorer la nutrition, mais aussi pour éradiquer la faim et améliorer le développement socio-économique. Le régime alimentaire s'est également orienté ces dernières années vers la consommation des céréales, des racines, des légumineuses ainsi que les fruits et les légumes frais (Ritchie *et al.*, 2023).

La superficie moyenne consacrée aux cultures maraîchères durant la période 2010-2019 est de 491 739 hectares (FAO, 2021). La pomme de terre, la tomate et l'oignons représente 57,5% de la production des cultures maraîchères moyenne comparé à 14% pour les melons et les pastèques. La figure ci-dessous représente l'évolution de la production des fruits et légumes à l'échelle mondiale entre 2000 et 2018 (Bessaoud, 2016 ; FAO, 2021).

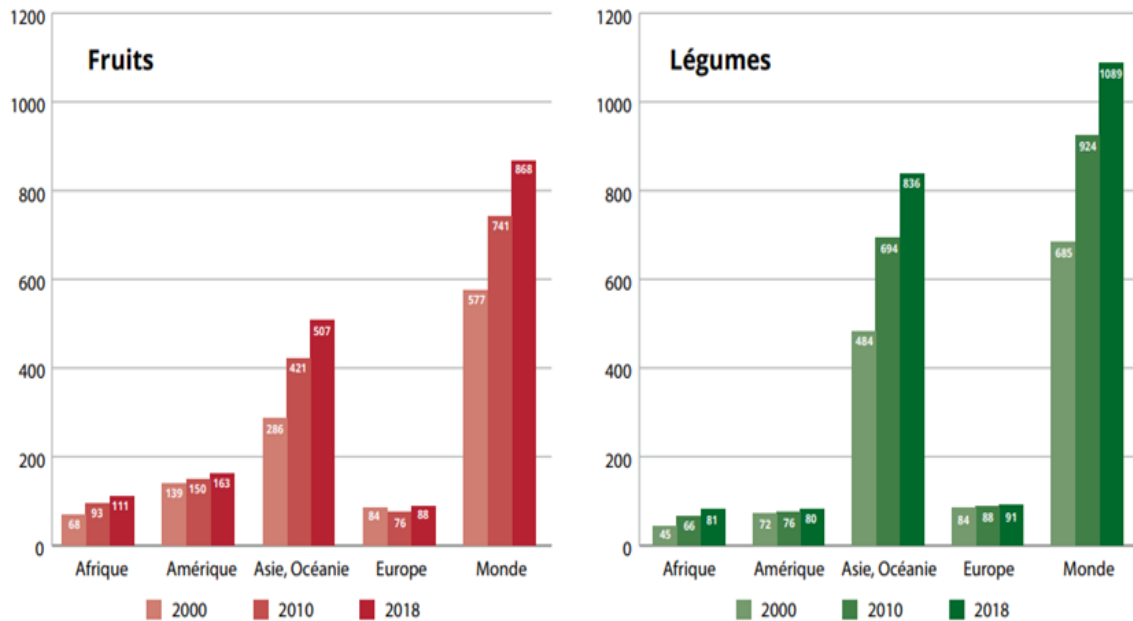


Figure 1: Évolution de la production de fruits et de légumes, de 2000 à 2018 (FAO, 2021)

La production agricole mondiale a radicalement changé au cours des dernières décennies. La quantité de la nourriture a augmenté rapidement en raison de deux facteurs : l'augmentation de la surface de terres cultivées ainsi que l'augmentation rapide des rendements des cultures. La Chine, l'Inde et les États-Unis sont au sommet de la production, avec respectivement 790 millions de tonnes, 227 millions de tonnes et 56 millions de tonnes de fruits et de légumes produites en 2018. La France, quant à elle, produit 14 millions (Demeter, 2022). Le tableau ci-dessous résume les statistiques sur la quantité de production de quelques fruits et légumes consommés crus dans le monde en 2021 (FAO, 2023).

Tableau I : Quantités de productions en tonnes de quelques fruits et légumes consommés crus dans le monde en 2021 (FAO, 2023).

Type de production	quantité de production a l'echelle mondiale
tomates	189,133,950 t
lettus	27,011,748 t
pasteque	101,634,720 t
fraises	9,175,384 t
raisins	73,524,200 t
oignons	106,592,090 t

I.2. En Algérie

Le gouvernement algérien a mis en place des investissements importantes dans le domaine de l'agriculture afin d'établir l'autosuffisance alimentaire nationale (Kachiet *al.*, 2016). Le secteur agricole joue un rôle important dans la croissance économique algérienne (Bouznitet *al.*, 2022).

L'Algérie se place en seconde position, après le Maroc, avec une production en fruits et légumes de 5.151.000 tonnes soit 0,37% de la production mondiale (FAO, 2004). Les fruits et légumes frais sont classés parmi les dix premiers produits cultivés entre 2016 et 2018 (de Vries, 2021). Le tableau ci-dessous représente des exemples de superficies cultivées ainsi que les rendements de certains fruits et légumes consommés crus en Algérie (2019/2018).

Tableau II : Types de végétaux, superficies cultivées et le taux de production

Types de végétaux	Superficie (ha)	Production (Qx)	Rendement (Qx/ha)
Tomate industrielle	24 804	16 492 150	664,9
Tomate	24 994	14 778 786	591,3
Oignons	50 292	16 137 298	320,9
Ails	13 403	2 233 113	166,6
Melons et Pastèque	62 656	22 068 666	352,2
Carottes	17 469	4 195 344	240,2
Piments	10 348	3 082 832	297,2
Poivrons	11 381	3 668 857	322,4
Concombres	4 078	1 660 456	407,2

II. Risques associés à la consommation des fruits et légumes frais

La sécurité des légumes et des fruits peut être compromise en raison de la présence de bio-contaminants tels que les bactéries, les virus, les parasites et les champignons, ou chimiques comme les mycotoxines, les nitrates, les pesticides et les métaux lourds. D’une façon générale, la contamination peut se produire à chaque étape de la chaîne d’approvisionnement (Macieira *et al.*, 2021).

Les maladies d’origine alimentaire liées à la consommation de tomates, de poivrons verts, artichauts, les feuilles de betterave, le céleri, le chou, les cantaloups, le chou-fleur, la coriandre, aubergines, endives, fenouil, oignons verts, cresson, persil, fraises, et pastèque démontrent clairement que ces derniers peuvent être des véhicules de microorganismes d’origine alimentaire et/ou de bactéries résistantes aux antibiotiques (Burnett et Beuchat, 2000, Buck *et al.*, 2003 ; Islam *et al.*, 2004 ; OMS, 2012 ; Rahman *et al.*, 2021). Plusieurs pathogènes d’origine alimentaire ont été isolés à partir de différents fruits et légumes consommés frais à savoir *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica*, (Islam *et al.*, 2004). Également des souches d’*Acinetobacter sp* résistante à différentes familles d’antibiotiques notamment aux carbapénèmes ont été isolées de la salade et des fruits (banane, pomme) (Carvalho *et al.*, 2017)

et des souches d'entérobactérie productrice de BLSE (Ben Said *et al.*, 2015) et de carbapénèmases (Rahman *et al.*, 2022 ; Saksena *et al.*, 2020) .

Dans des conditions environnementales favorables, les microorganismes peuvent survivre et se multiplier pendant de longues périodes à la surface des fruits et des légumes. Cela est particulièrement dangereux pour la santé parce qu'il est fréquent que ces derniers soient consommés crus (OMS, 2012). Ces microorganismes peuvent être soit à l'intérieur ou à l'extérieur du fruit ou du légume. La survie des microorganismes sur les produits frais est généralement affectée par certaines conditions défavorables comme la dessiccation ou par certains agents physiques ou chimiques (Whipps *et al.*, 2008). Malheureusement, cela n'empêche pas certaines bactéries comme *E. coli* O157:H7 et *Salmonella* de survivre sur ces derniers pendant de longues périodes (Islam *et al.*, 2004).

III. Les principales sources de contamination des fruits et des légumes

Dans les champs cultivés, la contamination par des microorganismes pathogènes provient, de manière directe, des matières fécales et, de manière indirecte soit une mauvaise hygiène personnelle des travailleurs, des matières fécales humaines et animales, y compris les déjections d'oiseaux dans les champs cultivés, des déchets fécaux non traités utilisés comme engrais (le fumier) des sources d'eau contaminées (OMS, 2012).

Le fumier, le compost, la poussière, le sol, l'eau d'irrigation, les matières fécales des animaux sauvages ou domestiques, les pesticides et l'activité humaine peuvent être des sources d'une contamination dite 'pré-récolte'. D'autre part, les procédures de manipulation, de stockage et de transport peuvent également être une cause de la contamination 'post-récolte' (Olaimatet Holley, 2012).

III.1. L'eau d'irrigation

L'eau est un outil indispensable aux exploitations agricoles. Il entre en contact avec la partie comestible des cultures et constitue des opportunités de transfert de pathogènes s'il est contaminé. De ce fait l'eau d'irrigation est souvent impliquée comme vecteur de transmission de pathogènes avec des risques microbiens différents selon les sources d'eau (Ferelli et Micallef, 2019).

L'irrigation des légumes avec de l'eau polluée ou avec des eaux usées non traitées est une pratique courante dans le monde entier pour surmonter la crise hydrique mondiale (N'Diaye *et al.*, 2013; Zerihunet *et al.*, 2020). En Algérie, les cultures sont irriguées au nord à partir de barrages ou de réservoirs et au Sud à partir de forages profonds qui puisent les eaux souterraines dans des aquifères. (Langenberg *et al.*, 2021). Toutefois, sur les 154 stations d'épuration exploitées par l'Office National d'Assainissement dans 44 wilayas, 16 stations sont concernées par la réutilisation des eaux usées épurées dans l'agriculture (Langenberg *et al.*, 2021). Les différentes sources d'eaux usées à savoir les eaux agro-industrielles, ménagères, les eaux usées municipales et les eaux usées hospitalières sont toutes uniques dans leur composition (Nyinbor *et al.*, 2019).

Les eaux usées constituent une source d'eau fiable, disponibles toute l'année, contrairement aux précipitations pluviales ou aux cours d'eau saisonniers. Par conséquent, elles permettent des rendements plus élevés, une production à l'année, tout en augmentant la gamme de cultures pouvant être irriguées, en particulier dans les zones arides et semi-arides (Jiménez Cisneros, *et al.*, 2011). Un autre avantage bien établi de la réutilisation des eaux usées est leur teneur en éléments nutritifs. Même lorsqu'elles sont traitées, les eaux usées sont riches en matières organiques et offrent une plus grande diversité d'éléments nutritifs que tout engrais commercial peut fournir (Jiménez Cisneros, *et al.*, 2011). Toutefois, leurs utilisations à un effet concomitant sur la culture irriguée et par extension sur l'homme. Bien que les polluants organiques et inorganiques puissent s'accumuler dans les cultures et les légumes, la présence d'agents pathogènes, de bactéries entériques et de virus est considérée comme la plus menaçante pour les légumes (Nyinbor *et al.*, 2019).

L'application de l'eau en agriculture peut se faire par différentes méthodes d'irrigations ; à titre exemple l'irrigation par aspersion conçue sur le modèle de la pluie naturelle. Autrement, dans le cas de l'irrigation par goutte à goutte ou également nommée micro-irrigation, l'eau est

acheminée sous pression dans des tuyaux à un débit constant, puis s'écoule près du pied des plantes. L'irrigation par sillons se base sur l'acheminement de l'eau dans des sillons en légère pente tracés entre les rangées de plants qui peut contribuer à la propagation des maladies causées par des pathogènes présents dans le sol par ruissellement (Beed *et al.*, 2021 ; Asres, 2023).

III.2. Le sol et l'épandage

Le type du sol a souvent une influence sur la survie des microorganismes en particulier les bactéries pathogènes, par exemple la survie *d'E.coli* dans un sol organique pendant une période de huit jours après l'épandage du fumier était trois fois plus élevée que dans un sol sableux (Jamieson *et al.*, 2002). En effet, le sol en tant qu'écosystème est constitué de divers microorganismes qui y survivent grâce à son approvisionnement en eau, en nutriments et en oxygène (Slobodiuk *et al.*, 2021).

Depuis des milliers d'années, les champignons et les bactéries du milieu naturel ont développé des mécanismes complexes pour empêcher leur destruction par des substances toxiques issues de la compétition microbienne, et ces substances ont permis de synthétiser la plupart des antibiotiques. Par conséquent, les sols doivent être évalués en tant que réservoirs potentiels de bactéries résistantes aux agents antimicrobiens et doivent être pris en compte dans l'évaluation des facteurs de risque qui contribuent à la propagation mondiale de la résistance à ces derniers (de Souza *et al.*, 2020). En 2012, Bhullar et ses collègues ont découvert des bactéries multi résistantes dans un microbiome de grotte isolé il y a plus de 4 millions d'années au Nouveau-Mexique, et certains de ces microorganismes étaient résistants à 14 antibiotiques commercialisés (de Souza *et al.*, 2020).

En générale, la source des pathogènes dans le sol implique l'utilisation d'eau d'irrigation contaminé, le fumier, le pâturage, les déchets solides municipaux et les autres effluents. L'irrigation à l'eau récupérée représente une autre voie majeure de propagation des gènes de résistance et de bactéries multi résistantes aux sols agricoles (Figure03) (Alegbeleye *et al.*, 2018).

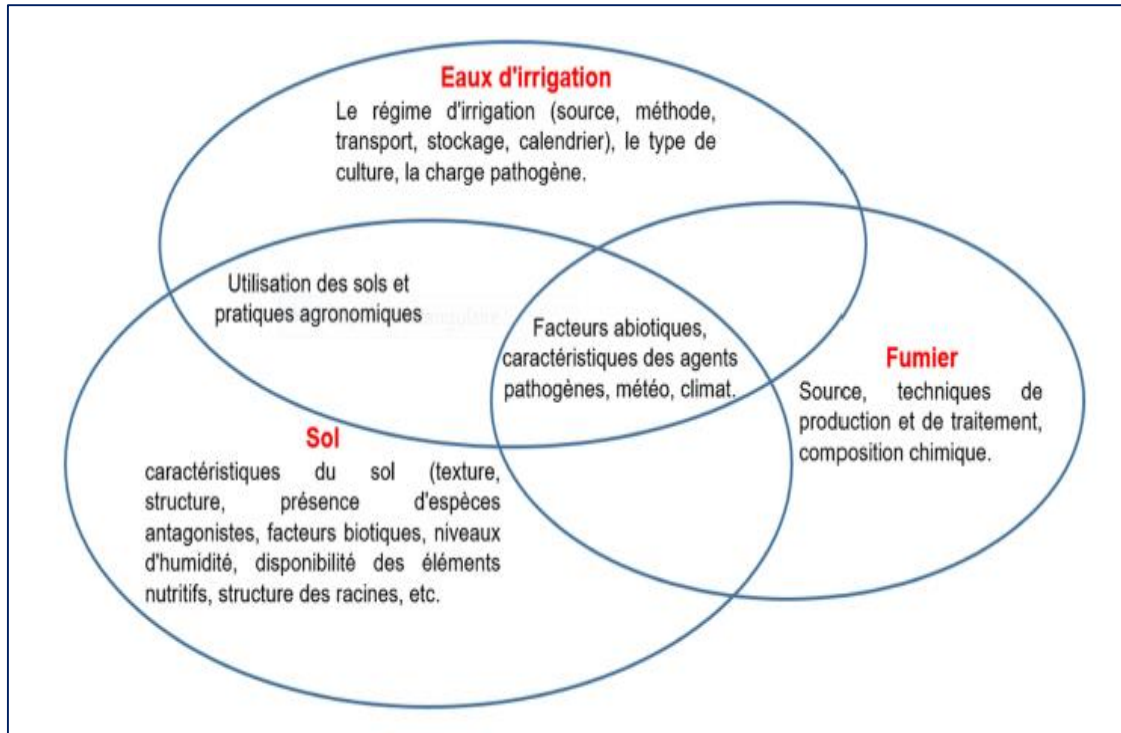


Figure 02 : Facteurs affectant la survie des pathogènes dans les milieux de culture (Alegbeleye *et al.*, 2018).

Les espèces de *Pseudomonas* sp, en raison de leur présence dans les réservoirs environnementaux (sol et eau), se retrouvent fréquemment sur les légumes ainsi les légumes feuillus et non feuillus tels que les carottes présentent un risque élevé de contamination par des bactéries du sol, provenant soit du microbiote naturel du sol, soit du fumier utilisé dans le sol (Yang *et al.*, 2019 ; Rahman *et al.*, 2022).

L'amendement biologique du sol est fréquemment utilisé pour améliorer ces propriétés physicochimiques. Les agents étiologiques des infections associées aux excréta sont libérés dans les excréta des personnes infectées et celles des animaux (Bos *et al.*, 2011 ; Andleeb *et al.*, 2020). Autrement dit, il est considéré comme une source riche en bactéries résistantes et en gènes de résistance (Cerqueira *et al.*, 2019) et son application sur les sols agricoles (figure 04) est supposée augmenter de manières significatives le taux des gènes de résistance ainsi que la pression de sélection dans les populations autochtone du sol (Heuer *et al.*, 2011).

IV. Les bacilles à Gram négatif résistants aux Carbapénèmes : Une énigme réel impliqué dans la bio-contamination de l'environnement

L'Organisation mondiale de la santé souligne la nécessité d'aborder le problème de la résistance aux antibiotiques dans le cadre d'une approche globale "*One Health*" et promeut une série de stratégies visant à endiguer la propagation et la surveillance des bactéries résistantes dans les différents environnements (Pérez-Etayo et *al.*, 2022).

L'écosystème agricole crée une plate-forme pour le développement et la diffusion de la résistance aux antibiotiques, favorisée par l'utilisation aveugle d'antibiotiques dans les secteurs vétérinaire, agricole et médical (figure 6). Il en résulte une pression sélective pour le développement intrinsèque et extrinsèque du phénomène de résistance en particulier au sein de l'aquaculture-animal-fumier-sol-eau-plante (Iwu et *al.*, 2020).

L'origine multifactorielle du scénario mondial actuel de la résistance aux antibiotiques rend le tableau complexe et difficile à intervenir. Bien que des études désignent l'environnement hospitalier comme le principal réservoir des gènes de résistance des bactéries qui colonisent et infectent l'homme, l'environnement communautaire contribue également à l'établissement d'un ensemble diversifié de gènes de résistance (de Souza et *al.*, 2020). Les antibiotiques, les bactéries résistantes ainsi que les gènes de résistance peuvent pénétrer dans le sol par l'épandage du fumier ou des fientes et par l'irrigation avec des eaux usées ce qui facilite leurs transmissions aux légumes. La contamination des plantes peut représenter un risque potentiel pour la santé humaine, compte tenu de la possibilité de transfert entre les bactéries résistantes aux antibiotiques non pathogènes et les agents pathogènes humains (He et *al.*, 2020). Certaines études ont rapporté que la consommation de fruits et légumes crus est la principale voie de diffusion des de la résistance dans le microbiome humain (Verrae et *al.*, 2013).

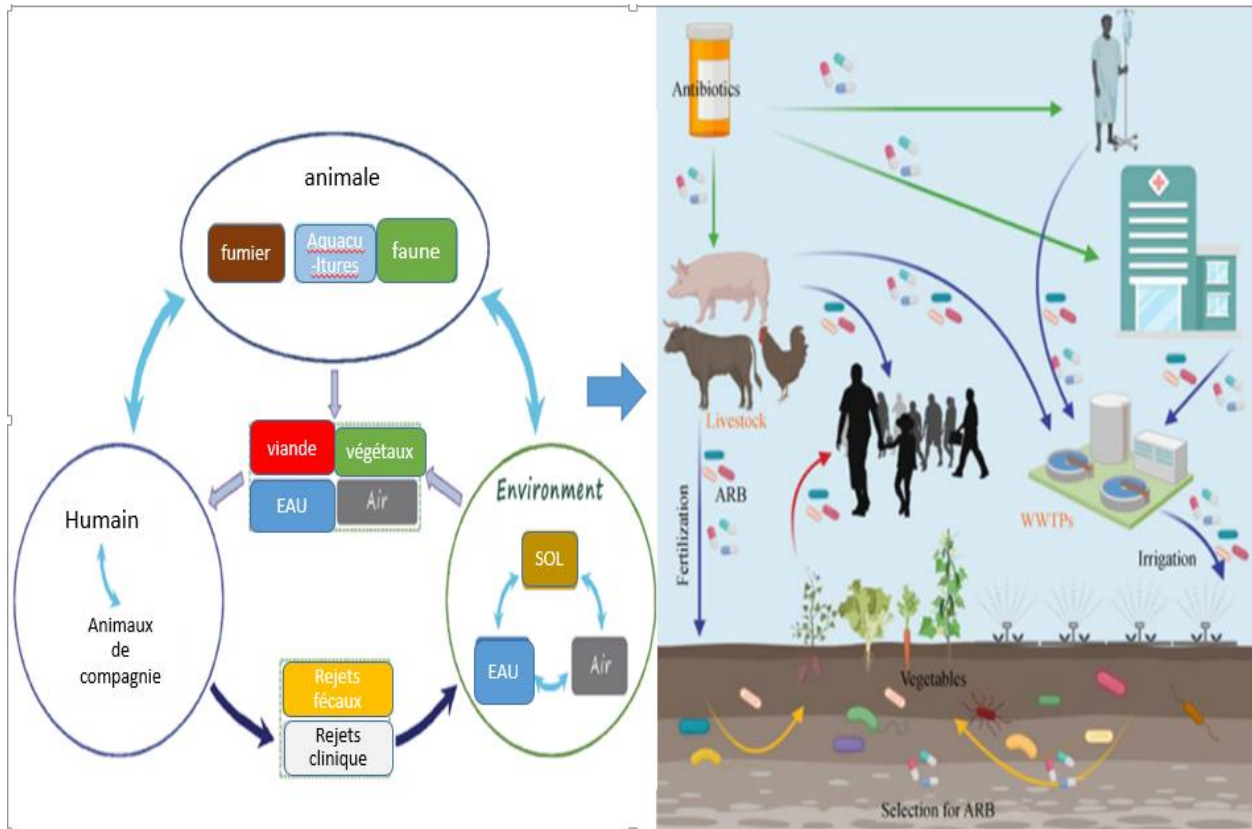


Figure 03 : Représentation schématique des voies du transfert des gènes de la résistance aux antibiotiques chez l'homme et l'animal vers l'alimentation et l'environnement (Hawkey, 2015 TIEDJE et *al.*, 2019).

Les antibiotiques non seulement tuent les bactéries sensibles et sélectionnent les bactéries résistantes, mais influencent également les mécanismes de variation génétique tels que la mutation, la recombinaison, la transposition et l'échange de gènes. De tels phénomènes peuvent être observés du sol au microbiote intestinal des humains ou des animaux exposés à de faibles concentrations (sous-dosage) (de Souza et *al.*, 2020). Des concentrations d'antibiotiques en mg/L ont été détectées dans les eaux usées agricoles et à de faibles niveaux en g/L dans les effluents d'eaux usées municipales (Zhang et *al.*, 2016). Cette pression sélective et le déséquilibre qui en résulte en raison de la mort de microorganismes sensibles permettent aux bactéries dotées d'une résistance intrinsèque ou nouvellement acquise de survivre et de proliférer (de Souza et *al.*, 2020).

Les bactéries du groupe ESKAPE pour *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter*

Synthèse bibliographique

Selon la classification d'Ambler, trois classes de carbapénèmases peuvent être distinguées à savoir les carbapénèmases de classe A, B et D. Selon la classification de Bush-Jacoby, les carbapénèmases de la classe A comprennent les β -lactamases, qui sont inhibées par l'acide clavulanique ou l'acide boronique. La classe B comprend les métallob β -lactamases capables d'hydrolyser tous les β -lactamines à l'exception de l'aztréonam et inhibées par l'EDTA et l'acide dipicolinique. La classe D comprend les oxacillinases inhibées par l'avibactam, capables d'hydrolyser les carbapénèmes mais pas (ou faiblement) les céphalosporines, et non inhibées par les inhibiteurs classiques (Rivera-Izquierdo *et al.*, 2021). En effet, les gènes codant pour les carbapénèmases les plus fréquemment exprimées par les isolats environnementales (KPC, VIM, NDM, GES et OXA-48) sont portés par des éléments génétiques mobiles, assurant leur transfert entre les espèces de bacille à Gram négatif (Singh-Moodley et Perovic, 2016 ; Ory *et al.*, 2019).

Les plasmides sont considérés comme le principal support des transferts des gènes de résistance à une large gamme d'antibiotiques, y compris les β -lactamines, les aminoglycosides, les tétracyclines, le chloramphénicol, les sulfamides, le triméthoprim, les macrolides et les quinolones. Ces déterminants de résistance, une fois propagés dans les écosystèmes environnementaux (eau, fumier et sol) peuvent engendrer des risques importants pour la santé publique et avoir un impact écologique sur la dynamique des populations et les interactions entre les communautés bactériennes (Figure 04) (Tahri *et al.*, 2021).

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

I. Echantillonnage

Notre étude s'est déroulée au niveau du laboratoire de Microbiologie de l'Université A/MIRA de Bejaia durant la période allant du mois de mai au mois de juin 2023.

Durant cette étude, 27 échantillons ont été récupérés au niveau de cinq fermes situées à Bejaia (n= 3), Boumerdes (n=1) et Alger (n=1) (tableau 03). Les prélèvements ont été effectués sur le sol cultivé, le fumier ainsi que l'eau utilisée pour l'irrigation puis acheminés au laboratoire de microbiologie dans une glacière, pour être étudiés.

Tableau 03: Sites de prélèvement

Ferme	Sol	Fumier	Eau d'irrigation	Type de production
Ouzellaguen	3	1	3	Tomates
El Kseur	2	0	2	
Semaoun	1	1	3	
Alger	2	1	3	Tomates
Boumerdes	2	1	2	Oignon

II. Méthode de préparation des échantillons

La préparation des suspensions bactériennes pour les échantillons de sol et de fumier a été réalisée en ajoutant 10 g de chaque échantillon dans 100 ml d'eau distillée stérile. Après agitation, 1 ml de que suspension a été utilisé pour ensemercer 4 ml d'eau peptonée tamponnée (EPT) en vue d'enrichissement. Les cultures obtenues sont ensuite incubées à 37°C pendant 24H.

Dans le cas de l'eau d'irrigation une filtration a été réalisé à l'aide d'une membrane en nitrate de cellulose de 0.22µm de diamètre (figure 8), le filtre ainsi récupéré est introduit dans un flacon contenant 4ml d'EPT pour enrichissement puis incubé à 37 °C pendant 24H.

III. Criblage de souches de bacilles à Gram négatifs résistants aux carbapénèmes

III. 1. Sélection de souches résistantes à l'Ertapénème sur milieu CarbaMTL Broth

A partir des bouillons d'enrichissement positifs, 50µl ont été prélevés et ajoutés à 1 ml du bouillon CarbaMTL (Mairi-Touati-Lavigne). Ce bouillon contient 0.5 µg/ml d'ertapénème, 250 µg/ml de cloxacilline et 64 µg/ml de vancomycine et permet la sélection des bacilles à Gram négatifs producteurs de carbapénémases. Il permet également d'inhiber les souches productrices de céphalosporinases et des bactéries à Gram positives (Mairi et al., 2019). Les cultures sont incubées à 37°C pendant 18h.

III. 2. Isolement et purification des souches

A partir des bouillons CarbaMTL positifs, on ensemence une gélose Mac Conkey ou VRBL « Violet Rouge Bile Lactose » additionnée de vancomycine à raison 64 µg/ml. Après incubation pendant 24h à 37°C, les boîtes ont été examinées selon les caractères cultureux « couleur, forme et aspect » et chaque type de colonie a été repiqué successivement sur gélose VRBL jusqu'à obtention d'une culture pure.

IV. Identification des souches

Après isolement et purification des souches, l'identification bactérienne a été réalisée uniquement pour les souches résistantes à l'une des molécules de carbapénèmes testées (ertapénème, imipénème et méropénème). L'identification a été réalisée comme suit :

A : Ensemencement de la gélose Chromagar TM orientation. Ce milieu contient des substrats chromogènes permettant la coloration de la colonie suite à une dégradation par une enzyme bactérienne spécifique et la libération du chromophore. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, les groupes bactériens ont été reconnus en fonction de la différence de couleur (**Annexe ; Tableau N° II**) ;

B : Recherche de l'uréase, de la production d'indole et de la fermentation des sucres (TSI) ;

C : Ensemencement de la gélose EMB pour l'observation du reflet vert métallique des souches E.coli.

D : Croissance et visualisation de la pigmentation sur gélose cétrimide qui contient acide nalidixique pour les souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

V. Détermination de la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques

La sensibilité des souches *vis-à-vis* de différentes familles d’antibiotiques a été déterminée par la méthode de l’antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations de l’European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2023).

À partir d’une culture bactérienne de 24h, on réalise une suspension en dissociant 4 à 5 colonies dans 4 ml d’eau physiologique stérile pour un inoculum d’environ 0.5 Mac Ferland ($\approx 10^8$ cellules/ml). Les boîtes Muller Hinton ont étéensemencées avec les souches à tester par écouvillonnage et des disques d’antibiotiques ont été déposés à la surface des géloses à l’aide d’une pince stérile.

Les boîtes ont été ensuite incubées pendant 24H à 37°C. Au total, 11 antibiotiques appartenant à différentes familles ont été testés (tableau 04). Les différents diamètres des zones d’inhibition obtenus autour des disques d’antibiotiques ont été mesurés et l’interprétation en bactérie Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistante (R) a été effectuée selon les critères définis par l’EUCAST (2023) et le comité de l’antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2013).

Tableau 04 : Antibiotiques testés

Famille	Antibiotiques	Symbole	Charge	S	R
Pénicillines	Amoxicilline+ acide clavulanique	AMC	30	≥ 19	< 19
	Ticarcilline + Acide clavulanique	TIM	85	≥ 50	< 18
Céphalosporines	Céftazidime (C3G)	CAZ	30	≥ 22	< 19
	Céfotaxime (C3G)	CTX	30	≥ 20	< 17
	Céfoxitine (C2G)	FOX	30	≥ 19	< 19
Carbapénèmes	Imipénème	IMP	10	≥ 50	< 20
	Ertapénème	ERTP	10	≥ 25	< 25
Monobactames	Aztréonam	ATM	30	≥ 26	< 21
Aminoside	Gentamycine	CN	10	≥ 17	< 17
Rifamycine	Rifampicine	RD	5	-	-
Polymexine	Colistine	CS	30	≥ 18	< 15

VI. Caractérisation des phénotypes de résistance aux β -lactamines

VI.1. Recherche de la production de carbapénèmases par le test CIM (Carbapénèmes Inactivation Méthode)

Le test CIM est une méthode phénotypique de détection des différents types de carbapénèmases (KPC, NDM, OXA-48, VIM, IMP et OXA-23) (**Vander Zwaluw et al., 2015**).

Cette méthode consiste à suspendre une anse de culture bactérienne (*E. coli* ATCC 25922) sensible à tous les antibiotiques utilisés comme témoin négatif, une souche productrice d'une carbapénémase utilisée comme témoin positif et une souche à tester dans des tubes Eppendorf stériles contenant 500 μ l d'eau physiologique stérile. Par la suite, un disque de méropénème de 10 μ g a été introduit dans la suspension. Les tubes ont été incubés à 37°C pendant 3H. Au terme de la période d'incubation, les disques de méropénème ont été retirés à l'aide d'une anse de platine et déposés sur une boîte de gélose Muller-Hinton préalablement ensemencée par une souche d'*E. coli* (ATCC 25922). L'incubation a été effectuée à 37°C pendant 24H.

La lecture se fait par comparaison des zones d'inhibition des souches testées et des témoins utilisés. L'absence d'une zone d'inhibition autour du disque de méropénème du témoin positif indique la présence probable d'une carbapénémase (**Van der Zwaluw et al., 2015**).

VI. 2. Recherche de la production de BLSE par test de synergie

Le test de synergie consiste à placer des disques de Céfotaxime, Céftazidime et Aztréonam à une distance de 20 mm centre à centre d'un disque Amoxicilline-acide clavulanique. Le test est considéré comme positif lorsqu'une image synergie est observée entre les disques de Céfotaxime et/ou céftazidime, aztréonam et le disque d'amoxicilline-acide clavulanique, ce qui donne souvent une zone de forme caractéristique appelée "bouchon de champagne" (**Jarlier et al., 1988**).

VII. Evaluation de la sensibilité des souches *vis-à-vis* des métaux lourds

Les métaux lourds utilisés sont choisis selon leur utilisation comme oligo-éléments (zinc) dans le déroulement des processus biologiques et ou selon leur effet inhibiteur après utilisation comme détergents ou désinfectants (cuivre et cadmium) dans le milieu hospitalier (**Casas, 2005**).

Différentes concentrations en métaux lourds ont été préparées (tableau 05). A partir de ces solutions, des volumes bien déterminés ont été ajoutés au milieu Mueller Hinton en surfusion afin d'avoir les concentrations souhaitées.

Tableau 05 : Concentration en métaux lourds utilisées

	Zinc (ZnSO4)						Cadmium (3CdSO4)/ Cuivre (CuSO4)				
Concentration [mM]	5	10	15	20	25	30	2	4	6	8	10
Solution mère [mM]	7,5	15	22,5	30	37,5	45	3	6	9	12	15
Eau distillé [ml]	142,5	135	127,5	120	112,5	105	147	144	141	138	135
Mueller Hinton [g]							5,55				

Une suspension bactérienne a été préparée à une densité de 0.1 (10^8 UFC/ml) dans de l'eau physiologique. Par la suite, 10 μ l de chaque suspension bactérienne sont ensemencés en spot et à raison de trois répétitions sur chacune des concentrations. Après incubation à 37°C/24h, la présence ou l'absence d'une croissance est notée pour chaque souches et pour chaque concentration. Ainsi, la concentration minimale inhibitrice est déterminée par la plus faible concentration inhibant la croissance des souches visible à l'œil nue (**Perron et al., 2004**).

Résultats et discussion

Résultats

I. Répartition des prélèvements

Durant cette étude, 25 échantillons ont été analysés dont 9 échantillons du sol, 4 échantillons de fumiers et 12 échantillons d'eaux utilisées lors de l'irrigation.

II. Criblage de souches de bacilles à Gram négatifs résistants aux carbapénèmes

II.1. Croissance sur milieu CarbaMTL Broth et résistance à l'ertapénème

L'enrichissement sur bouillon EPT était positif (trouble uniforme du bouillon) pour tous les échantillons analysés. Par contre 17 /25 échantillons (68%) était positifs sur milieu CarbaMTL. Le virage de couleur du milieu du bleu foncé vers le jaune indique un test positif due à la présence d'indicateur du ph nitrate réductase (figure 08).

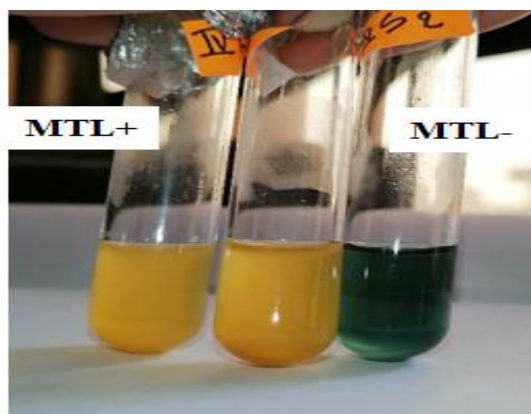


Figure 05: Criblage de la résistance aux carbapénèmes sur milieu carba-MTL

II.2. Isolement et identification des souches

Un total de 28 souches de bacilles Gram négatif ont été isolées. L'identification préliminaire basée sur les caractères cultureux (EMB, VRBL, Mac Conkey, cétrimide, production de pigment) de ces isolats a permis de mettre en évidence 2 groupes bactériens dont 17 souches d'entérobactéries (61%) et 11 souches de *Pseudomonas sp.* (39%) (figure 07).

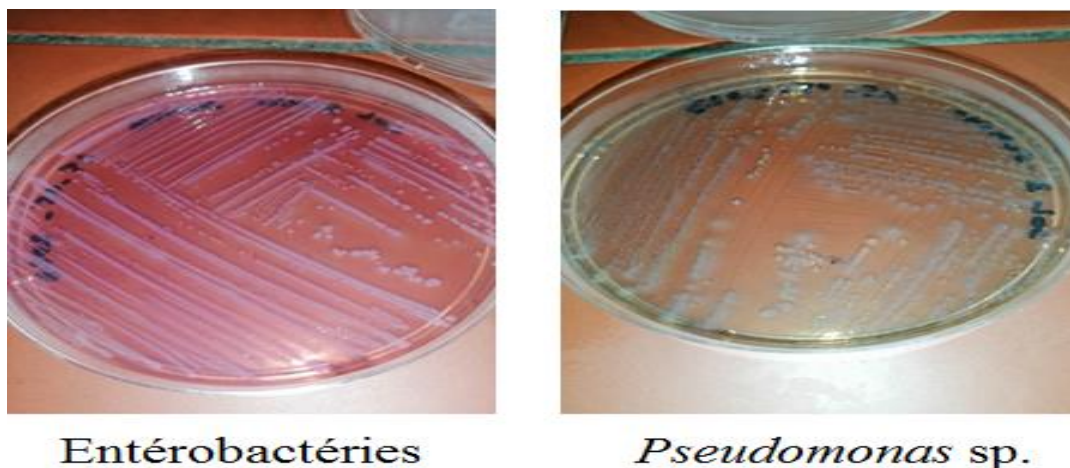


Figure 06: Aspects des colonies sur gélose VRBL.

Sur la base des caractéristiques biochimiques et l'aspect des souches d'entérobactéries sur milieu chromagar TM orientation (tableau 06), 05 souches d'*E.coli*. et 12 souches appartenant au groupe K-E-S ont été identifiés dont 08 souches d'*Enterrobacter* sp, 01 souche de *K. oxytoca* et 03 souches de *K. pneumoniae*. L'identification des souches de *E. coli* a été confirmée par la recherche de l'éclat métallique sur gélose EMB et celle des souches de *P. aeruginosa*. par la croissance et la production de pigmentation bleu verte sur gélose cétrimide.

Tableau 06 : Nombre et Aspect de souches sur gélose chromagar TM orientation

Aspect des colonies	Germe suspecté	Nombre de souches
Colonies roses pourpres de petite taille	<i>E. coli</i>	5
Colonies bleu métallique	Groupe K-E-S	12

La figure ci-dessous illustre l'aspect de certaines souches sur différents milieux utilisés pour l'identification (EMB, Cétrimide et Chromagar™ orientation).

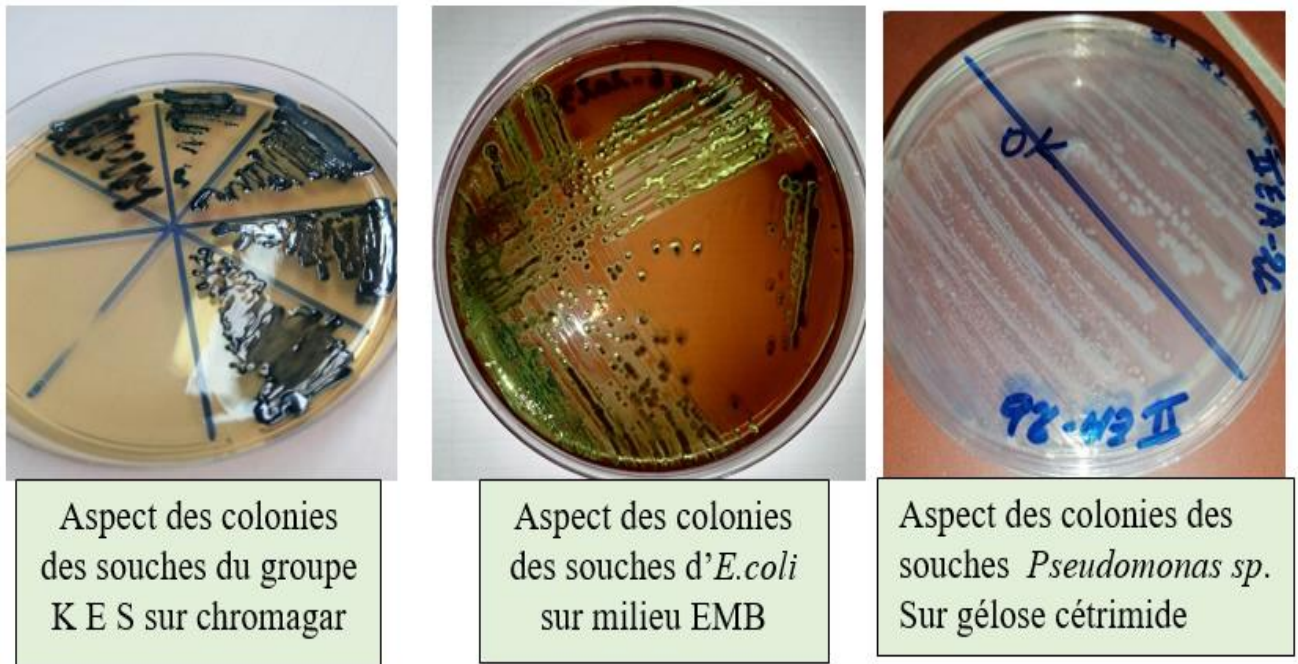


Figure 07: Aspect de certaines souches sur différents milieux d'identification (EMB, Cétrimide et Chromagar™ orientation).

III. Répartition des souches par espèces, par régions et par échantillon

Les souches de *P. aeruginosa* sont ubiquitaire et ont été isolées dans cette étude à partir des différents prélèvements mais particulièrement à partir de l'eau d'irrigation (tableau 07). Par contre, les souches d'entérobactéries ont été isolées principalement du fumier. L'espèce d'*E. coli* a été isolées majoritairement dans les échantillons de fumier et une seule souche a été isolée de l'eau d'irrigation.

On remarque également d'après de tableau ci-dessous, qu'uniquement deux souches de *P. aeruginosa* ont été isolées à partir du sol dans la région d'El-Kseur tandis que, dans les autres régions ou les sols sont épandés des entérobactéries ont été isolées.

Tableau 07 : Répartition des souches isolées par région et par échantillon

Région	Espèces	Nombre	Types d'échantillons
Ouzellaguen	<i>Pseudomonas sp.</i>	4	Sol, fumier, eaux
	<i>Enterobacter sp.</i>	2	Sol, eaux
	<i>E. coli.</i>	3	Fumier
El Kseur	<i>Pseudomonas sp.</i>	2	Sol
Semoun	<i>Pseudomonas sp.</i>	3	Sol, eaux
	<i>Enterobacter sp.</i>	4	Sol, eaux
	<i>K. oxytoca.</i>	1	Fumier
Alger	<i>Pseudomonas sp.</i>	1	Eaux
	<i>E. coli.</i>	1	Fumier
	<i>K. pneumoniae.</i>	2	Eaux
Boumerdas	<i>K. pneumoniae.</i>	1	Fumier
	<i>Enterobacter sp.</i>	2	Sol, eaux
	<i>E. coli.</i>	1	Eaux
	<i>Pseudomonas sp.</i>	1	Eaux

IV. Etude de la sensibilité des souches aux carbapénèmes

IV. 1. Etude de la sensibilité des souches de *Pseudomonas sp* aux carbapénèmes

La sensibilité des souches de *P. aeruginosa* aux carbapénèmes (imipénème ou méropénème) a été caractérisée par la méthode de l'antibiogramme standard. Toutes les souches de *Pseudomonas* été résistantes à l'imipénème. Le test CIM réalisé en présence du méropénème été également positif (figure ci-dessous) ce qui implique que ces souches sont probablement productrices de carbapénémases.

Tableau 08 : Diamètres des zones d'inhibitions des souches de *P. aeruginosa* résistantes à l'imipénème et test CIM

	Code des souches	Diamètre d'IMI	Test CIM
			Diamètre Méropénème
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	I S1-A	6 (R)	7(R)
	I Fp	6 (R)	6(R)
	I EF-A	6 (R)	9(R)
	I EG-A	6 (R)	9(R)
	II S2-A	6 (R)	6(R)
	II S3-B	6 (R)	6(R)
	III EF-d1	6 (R)	6(R)
	II S2-B2	6 (R)	6(R)
	II EA -2c	6 (R)	6(R)
	II EA -2b	6 (R)	6(R)
	IV E2-a	6 (R)	6(R)

IV. 2. Etude de la sensibilité des souches d'entérobactéries aux carbapénèmes

L'étude de la sensibilité des souches aux carbapénèmes à montrer que toutes les souches d'entérobactéries été sensible à l'ertapénème à l'exception d'une seul souche IVE2-b isolée à partir de l'eau irrigation dans la commune de Boumerdas (tableau08). La figure ci-dessous montre un test CIM positif de la souche d'*E. coli* (IV E2-b) d'un diamètre de 11mm.

Tableau 09 : diamètre des zones d'inhibition aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries

Code de la souche	AMC	CTX	CAZ	ATM	FOX	GEN	ERT	CS
IS2-c	6 (R)	28 (S)	29 (S)	31 (S)	20(S)	20(S)	32 (S)	13 (R)
I F-A	12 (R)	28 (S)	21 (I)	30 (S)	25 (S)	11 (R)	31 (S)	12 (R)
I F-B	20 (S)	29 (S)	28 (S)	30 (S)	26 (S)	22 (S)	30 (S)	13 (R)
I F-C	13 (R)	28 (S)	25 (S)	26 (S)	23 (S)	15 (S)	31 (S)	11 (R)
I EF-B	6 (R)	32 (S)	28(S)	32 (S)	6 (R)	22(S)	32 (S)	14 (R)
II S3-A	10 (R)	28 (S)	24 (S)	30 (S)	6 (R)	19 (S)	25 (S)	14 (R)
II F1	13 (R)	14 (S)	26(S)	22 (S)	6 (R)	20 (S)	26 (S)	15 (S)
III F1	20 (S)	30 (S)	26(S)	34 (S)	26(S)	17(S)	31 (S)	14 (R)
III ER-b	21 (S)	29 (S)	26(S)	28 (S)	22 (S)	20 (S)	30 (S)	15 (S)
II EA-2a	6 (R)	28 (S)	26(S)	29 (S)	6 (R)	20 (S)	30(S)	15 (S)
II ER-1	19 (R)	29 (S)	28 (S)	31 (S)	25 (S)	19 (S)	29 (S)	9 (R)
II EF-1	21 (S)	29 (S)	28 (S)	30 (S)	26 (S)	17 (S)	30 (S)	15(S)
III ER-a	16 (R)	28 (S)	27 (S)	31 (S)	23 (S)	18 (S)	31 (S)	15 (S)
IV S 1	6 (R)	27 (S)	29 (S)	29 (S)	6 (R)	20 (S)	28 (S)	16(S)
IV F1 -a	6 (R)	28 (S)	20 (I)	30 (S)	17(R)	18 (S)	26 (S)	14 (R)
IV F1-b	6 (R)	27 (S)	18 (R)	29 (S)	6 (R)	24 (S)	25 (S)	16 (S)
IV E2-b	6 (R)	31 (S)	18(R)	30 (S)	21(S)	20 (S)	24 (S)	16 (S)



Figure 08: Test CIM positif de la souche *P. aeruginosa* (IV E2-a) et la souche *E. coli* (IVE2-b)

V. Etude de la sensibilité des souches aux métaux lourds

La sensibilité des souches d'entérobactéries *vis-à-vis* du cuivre, zinc et du cadmium est représentée dans la figure ci-dessous. On remarque dans cette étude que les souches tolèrent moins la présence du zinc comparé aux cuivre et cadmium. Par contre toutes les souches ont poussés aux différentes concentrations du cuivre. Une seule souche d'*E. coli* (IVE2-b) présente une résistance à des concentrations élevées *vis-à-vis* du zinc (30Mm).

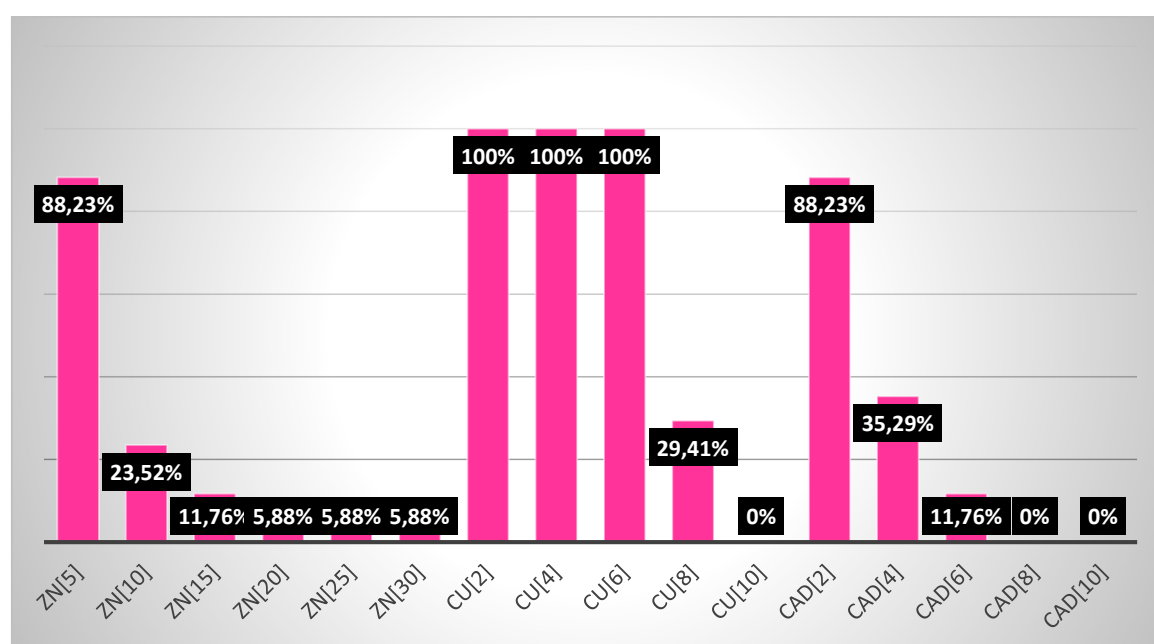


Figure 09 : Taux de résistance des souches d'entérobactéries *vis-à-vis* des différentes concentration en cuivre, zinc et cadmium en (mM) .

La sensibilité des souches de *Pseudomonas sp* vis-à-vis du cuivre, zinc et cadmium est représentée dans la figure ci-dessous. La totalité des souches de *Pseudomonas sp* était résistante a des concentrations de zinc de 10mM, du cuivre 6mM et du cadmium 6Mm. Une seule souche (I S1-A) à montrer une résistance à la concentration cuivre de 10mM .

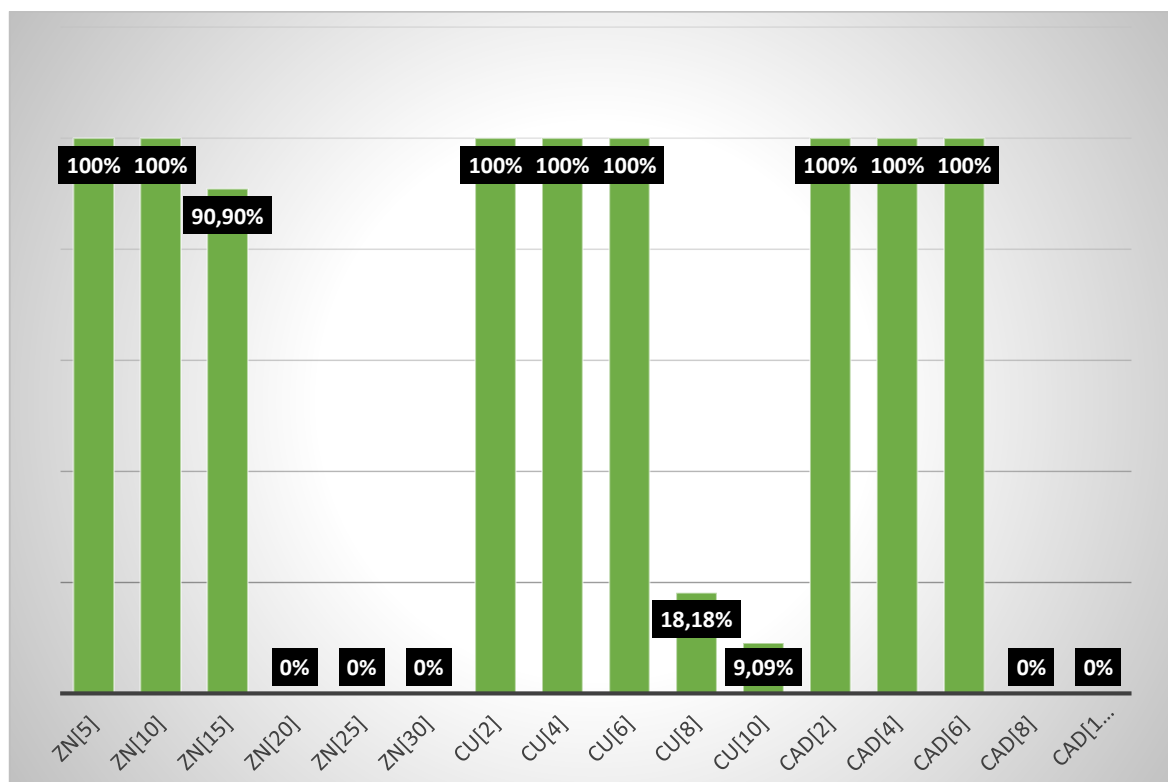


Figure10 : Taux se résistance des souches de *P. aeruginosa* vis-à-vis différentes concentrations de cuivre, zinc et cadmium en (mM).

Discussion

Il est largement reconnu que l'environnement joue un rôle énorme dans la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques d'intérêt médicale. Le programme des Nations Unies pour l'environnement a récemment identifié la résistance aux antimicrobiens dans l'environnement parmi les six principaux problèmes émergents préoccupants (Anyanwu et *al.*, 2020). Dans le concept One Health, la résistance aux antibiotiques est reconnue comme un véritable problème inter-domaines dans lequel la santé humaine et animale, l'agriculture et l'environnement sont les éléments essentiels et interdépendants. La surveillance de la résistance aux antibiotiques chez l'Homme, les animaux, le sol, les plantes, l'environnement aquatique et aquacole est crucial pour déterminer l'étendue de leur diffusion (Tiedje et *al.*, 2019).

Au cours des dernières décennies, les scientifiques ont commencé à s'intéresser à la sécurité alimentaire pour vérifier si les aliments peuvent être un vecteur direct ou indirect de transmission de bactéries résistantes aux antibiotiques vers l'Homme. Plus récemment, des recherches se sont penchées sur les origines de la contamination des fruits et légumes consommés crus, une catégorie importante dans l'alimentation humaine (Saksena et Gaind, 2020).

Les produits frais sont fondamentalement prédisposés à la contamination microbienne puisqu'ils sont cultivés en plein champ. Les intrants agricoles, y compris l'eau d'irrigation, le sol et le fumier brut ou mal composté peuvent introduire des microorganismes au stade de la pré-récolte (Han et *al.*, 2018 ; Ferelli et Micallef, 2019 ; Alegdeleye et *al.*, 2023).

Dans cette étude, les souches d'entérobactéries isolées à partir des eaux utilisées pour l'irrigation, des sols irrigués et du fumier étaient sensibles à la plupart des antibiotiques testés. Une seule souche de *E. coli* était résistante à l'ertapénème probablement par production de carbapénémase. Elle a été isolée à Boumerdes à partir de l'eau d'irrigation d'une production agricole de légume (salade) et de raisin de table. En Algérie, des carbapénémases de type OXA-48 ont été rapportés chez des isolats d'entérobactéries isolées de l'eau de rivière par Tafoukt et ces collaborateurs (2017 et 2018).

Une résistance à la FOX (41,18%) a été rapportée chez certaines souches d'*E. coli*. Ces souches possèdent naturellement une céphalosporinase constitutive de bas niveau et ont été rapportées auparavant chez des isolat du sol et du fumier (De Souza et *al.*, 2021).

Chez les bacilles à Gram négatif, la résistance aux C3G est principalement médiée par production de BLSE. Chez les espèces animales comme la volaille, le porc, le bétail et le cheval, les enzymes prédominantes sont CTX-M-2, CTX-M-8 et CTX-M-15. Des variants de BLSE ont été détectés dans l'étude de Ben Said et *al.*, (2015). Des BLSE de type CTX-M-15, CTX-M-14, CTX-M-1 et SHV-12) ont été isolées à partir des sols, du fumier ainsi que de l'eau d'irrigation dans des fermes (**Ben Said et al., 2015 ; De Souza et al., 2021**).

Des études ont rapporté la détection d'entérobactéries hébergeant le gène *mcr-1* dans les sols agricoles de la province en Chine (Zheng et *al.*, 2017) et aux Amériques du sud (Oliveira et *al.*, 2019) et suggèrent que ces bactéries peuvent contaminer la production agricole, particulièrement les fruits et légumes consommés crus (Yang et *al.*, 2019). Les carottes et les choux peuvent être particulièrement sensibles à la contamination microbienne, car ce sont des cultures souterraines et sont sujettes à la contamination par éclaboussures ou autrement par contact étroit avec le sol et l'eau (Alegdeleye et *al.*, 2023). En Algérie, une résistance à la colistine à médiation plasmidiques hébergeant le gène *mcr-like* chez des isolats d'*Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter* et de *Klebsiella*, isolées à partir du sol, des eaux d'irrigation et du fumier ont été rapportées (**Anyanwu et al., 2020 ; Touati et al., 2020**).

La contamination de l'environnement par des métaux lourds est l'un des problèmes environnementaux les plus alarmants et qui menace la santé humaine (Kone et *al.*, 2023). La contamination du sol par des métaux et des produits chimiques organiques autres que les antibiotiques favorise la co-sélection de la résistance aux antibiotiques. La contamination du sol par le cuivre et le zinc provenant des activités minières ou de l'épandage de fumier provenant d'animaux qui consomment des aliments enrichis en métaux peuvent co-sélectionner des éléments génétiques qui confèrent une résistance aux métaux et aux antibiotiques (Poole, 2017).

Dans cette étude, nous avons constaté que 2 souches de *P. aeruginosa* résistantes à l'imipénème sont également résistantes aux métaux lourds au cuivre plus précisément à des concentrations allant de 2 mM à 10mM. Perron et ses collaborateurs (2004) ont rapporté que l'exposition des souches de *P. aeruginosa* à des concentrations sub-létales de zinc provoquait une résistance au zinc, au cadmium et au cobalt, tandis que, des concentrations létales de zinc sélectionnaient des mutants qui étaient constitutivement résistants à ces métaux lourds. D'autre part on a obtenu une souche d'*E.coli* résistante à des concentrations de zinc allant de 5 mM à 30 mM isolée à partir des eaux d'irrigation comme il a été rapporté (Khalil et *al.*,2023).

Conclusion

Conclusion

Les fruits et légumes consommés crus peuvent être contaminés par des bactéries résistantes en particulier ceux provenant de fermes qui utilisent des eaux contaminées pour l'irrigation et de l'épandage de fumier mal composté. Nos résultats montrent que même si les souches de bacille à Gram négatif étaient majoritairement sensibles aux carbapénèmes, certaines souches peuvent être productrices de carbapénèmases (*Pseudomonas*, *E. coli*) et peuvent ainsi servir de réservoir de gène de résistances. Ces souches montrent également une co-résistance *vis-à-vis* des métaux lourds dont le zinc, le cadmium et le cuivre et peuvent être transmises à l'homme par la chaîne alimentaire.

Les contaminants des eaux, du sol et du fumier d'origine animale par des souches résistantes aux agents antimicrobiens pourraient propager un cocktail de gènes de résistances multiples (carbapénème et métaux lourds), constituant une menace inquiétante pour la santé humaine. Leur évaluation reste donc essentielle pour prévenir et gérer les risques liés à la dissémination de l'antibiorésistance dans le concept One Health.

Des études futures devraient être menées sur un nombre plus important d'échantillons pour évaluer le risque réel pour la santé humaine et l'environnement.

Par conséquent, la mise en place d'un réseau et d'une politique de surveillance systématique de l'antibiorésistance dans les eaux utilisées pour l'irrigation, les biofertilisants d'origine animale, les sols et les plantes est essentielle pour évaluer et gérer les risques associés à la diffusion des gènes de résistances dans l'environnement agricole

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Agegn Asres, Ligalem. 2023. « Alternative Techniques of Irrigation Water Management for Improving Crop Water Productivity ». *Reviews in Agricultural Science* 11 (0): 36-53. https://doi.org/10.7831/ras.11.0_36.

Ahmed, Sarfraz, Muhammad Zeeshan Ahmed, Safa Rafique, Seham Eid Almasoudi, Mohibullah Shah, Nur Asyilla Che Jalil, et Suvash Chandra Ojha. 2023. « Recent Approaches for Downplaying Antibiotic Resistance: Molecular Mechanisms ». Édité par Mahmoud Kandeel. *BioMed Research International* 2023 (janvier): 1-27. <https://doi.org/10.1155/2023/5250040>.

Ahmad, N., Joji, R.M. and Shahid, M. (2023) ‘Evolution and implementation of One Health to control the dissemination of antibiotic-resistant bacteria and resistance genes: A review’, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, p. 1065796. Available at: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1065796>.

Ali, Arslan, Nimra Amjad, Fatima Javed, Saima Muzammil, Muhamad Zeeshan Ahmad, Sadaf Oranab, Muhammad Umar, et Maria Sajid. 2022. « Farms in Faisalabad-Pakistan » 9 (4).

Alam, Md. Sajjad, Farahnaaz Feroz, Hasibur Rahman, Kamal Kanta Das, et Rashed Noor. 2015. « Microbiological Contamination Sources of Freshly Cultivated Vegetables ». *Nutrition & Food Science* 45 (4): 646-58. <https://doi.org/10.1108/NFS-04-2015-0032>.

Alegbeleye, Oluwadara Oluwaseun, Ian Singleton, et Anderson S. Sant’Ana. 2018. « Sources and Contamination Routes of Microbial Pathogens to Fresh Produce during Field Cultivation: A Review ». *Food Microbiology* 73 (août): 177-208. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.003>.

Anyanwu, Madubuike Umunna, Ishmael Festus Jaja, et Obichukwu Chisom Nwobi. 2020. « Occurrence and Characteristics of Mobile Colistin Resistance (Mcr) Gene-Containing

Références bibliographiques

Isolates from the Environment: A Review ». *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17 (3): 1028. <https://doi.org/10.3390/ijerph17031028>.

Araújo, Susana, Isabel A.T. Silva, Marta Tacão, Carla Patinha, Artur Alves, et Isabel Henriques. 2017. « Characterization of Antibiotic Resistant and Pathogenic Escherichia Coli in Irrigation Water and Vegetables in Household Farms ». *International Journal of Food Microbiology* 257 (septembre): 192-200. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.020>.

Asres, L. (2023). Alternative Techniques of Irrigation Water Management for Improving Crop Water Productivity. *Reviews in Agricultural Science*, 11, 36-53. doi:10.7831/ras.11.0_36

B

Ben Said, Leila, Ahlem Jouini, Naouel Klibi, Raoudha Dziri, Carla Andrea Alonso, Abdellatif Boudabous, Karim Ben Slama, et Carmen Torres. 2015. « Detection of Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-Producing Enterobacteriaceae in Vegetables, Soil and Water of the Farm Environment in Tunisia ». *International Journal of Food Microbiology* 203 (juin): 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.023>.

Ben Said, Leila, Naouel Klibi, Raoudha Dziri, Francesca Borgo, Abdellatif Boudabous, Karim Ben Slama, et Carmen Torres. 2016. « Prevalence, Antimicrobial Resistance and Genetic Lineages of *Enterococcus* Spp. from Vegetable Food, Soil and Irrigation Water in Farm Environments in Tunisia ». *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96 (5): 1627-33. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7264>.

Bourafa, Nadjette, Wafaa Chaalal, Sofiane Bakour, Rym Lalaoui, Nafissa Boutefnouchet, Seydina M. Diene, et Jean-Marc Rolain. 2018. « Molecular Characterization of Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacilli Clinical Isolates in Algeria ». *Infection and Drug Resistance* Volume 11 (mai): 735-42. <https://doi.org/10.2147/IDR.S150005>.

Bouznit, M., Elaguab, M., Selt, M. M., Himrane, M., & Aïssaoui, R. (2022). Climate Change and Agricultural Production in Algeria. In W. Leal Filho & E. Manolas (Eds.), *Climate Change in the Mediterranean and Middle Eastern Region* (pp. 249-268). Cham: Springer International Publishing.

C

Carattoli, Alessandra. 2013. « Plasmids and the Spread of Resistance ». *International Journal of Medical Microbiology* 303 (6-7): 298-304. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.001>.

Cerqueira, Francisco, Víctor Matamoros, Josep M. Bayona, Thomas U. Berendonk, Goffe Elsinga, Luc M. Hornstra, et Benjamin Piña. 2019. « Antibiotic Resistance Gene Distribution in Agricultural Fields and Crops. A Soil-to-Food Analysis ». *Environmental Research* 177 (octobre): 108608. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108608>.

D

DEMETER, C. (2022). Fruits et légumes. In *Le Déméter 2022* (pp. 379-384): IRIS éditions.

E

Ejo, Mebrat, Legesse Garedeew, Zabishwork Alebachew, et Walelgn Worku. 2016. « Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* Isolated from Animal-Origin Food Items in Gondar, Ethiopia ». *BioMed Research International* 2016: 1-8. <https://doi.org/10.1155/2016/4290506>.

Exner, M., Bhattacharya, S., Christiansen, B., Gebel, J., Goroncy-Bermes, P., Hartemann, P., ... Larson, E. (2017). Antibiotic resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria? *GMS hygiene and infection control*, 12.

F

Ferelli, Angela M.C., et Shirley A. Micallef. 2019. « Food Safety Risks and Issues Associated With Farming and Handling Practices for Organic Certified Fresh Produce ». In *Safety and Practice for Organic Food*, 151-80. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812060-6.00007-6>.

Forsberg, Kevin J., Alejandro Reyes, Bin Wang, Elizabeth M. Selleck, Morten O. A. Sommer, et Gautam Dantas. 2012. « The Shared Antibiotic Resistome of Soil Bacteria and Human Pathogens ». *Science* 337 (6098): 1107-11. <https://doi.org/10.1126/science.1220761>.

H

Références bibliographiques

Han, Xue-Mei, Hang-Wei Hu, Qing-Lin Chen, Li-Yuan Yang, He-Lian Li, Yong-Guan Zhu, Xiang-Zhen Li, et Yi-Bing Ma. 2018. « Antibiotic Resistance Genes and Associated Bacterial Communities in Agricultural Soils Amended with Different Sources of Animal Manures ». *Soil Biology and Biochemistry* 126 (novembre): 91-102. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.08.018>.

Heuer, Holger, Heike Schmitt, et Kornelia Smalla. 2011. « Antibiotic Resistance Gene Spread Due to Manure Application on Agricultural Fields ». *Current Opinion in Microbiology* 14 (3): 236-43. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.04.009>.

Hölzel, Christina Susanne, Julia Louisa Tetens, et Karin Schwaiger. 2018. « Unraveling the Role of Vegetables in Spreading Antimicrobial-Resistant Bacteria: A Need for Quantitative Risk Assessment ». *Foodborne Pathogens and Disease* 15 (11): 671-88. <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2501>.

I

Islam, Mahbub, Jennie Morgan, Michael P. Doyle, Sharad C. Phatak, Patricia Millner, et Xiuping Jiang. 2004. « Persistence of *Salmonella Enterica* Serovar Typhimurium on Lettuce and Parsley and in Soils on Which They Were Grown in Fields Treated with Contaminated Manure Composts or Irrigation Water ». *Foodborne Pathogens and Disease* 1 (1): 27-35. <https://doi.org/10.1089/153531404772914437>.

J

Jamieson, R C, R J Gordon, K E Sharples, G W Stratton, et A Madani. 2002. « Movement and Persistence of Fecal Bacteria in Agricultural Soils and Subsurface Drainage Water: A Review ». *CANADIAN BIOSYSTEMS ENGINEERING* 44.

Jongman, Mosimanegape, et Lise Korsten. 2016. « Genetic Diversity and Antibiotic Resistance of *Escherichia Coli* Isolates from Different Leafy Green Production Systems ». *Journal of Food Protection* 79 (11): 1846-53. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-117>.

Références bibliographiques

K

- Kaboré, Wendpoulomdé Ad, Ali Konaté, Evariste Bako, Touwendsida Serge Bagré, Sylvie Boisramé, Fathia Chandad, Alfred S. Traoré, Nicolas Barro, et Lassana Sangaré. 2016.** « Détection d' *Acinetobacter baumannii* , agent pathogène opportuniste et multirésistant dans les infections bucco-dentaires à Ouagadougou, Burkina Faso ». *Médecine Buccale Chirurgie Buccale* 22 (2): 105-12. <https://doi.org/10.1051/mcbcb/2016011>.
- Kachi, N., Kachi, S., & Bousnoubra, H. (2016).** Effects of irrigated agriculture on water and soil quality (case perimeter Guelma, Algeria). *Soil and Water Research*, 11(2), 97-104. Retrieved from <https://EconPapers.repec.org/RePEc:caa:jnlswr:v:11:y:2016:i:2:id:81-2015-swr>
- Kalpana, Pachillu, Timo Falkenberg, Sandul Yasobant, Deepak Saxena, et Christiane Schreiber. 2023.** « Vegetables as a Vehicle for Antimicrobial Resistance (VAMR): An Agroecosystem Exploration from the One Health Perspective in India ». *F1000Research* 12 (mars): 316. <https://doi.org/10.12688/f1000research.131679.1>.
- Kaur, Sukhvinder, Majid Rasool Kamli, et Arif Ali. 2011.** « Role of Arsenic and Its Resistance in Nature ». *Canadian Journal of Microbiology* 57 (10): 769-74. <https://doi.org/10.1139/w11-062>.
- Kone, Kagbagnan, Adjoumani Rodrigue Kouakou, Julien Bahino, Horo Kone, Kouakou Eric Adou, Ehouman Ahissan Donatien, et Kopoin Adouby. 2023.** « Human Health Risks from Exposure to Heavy Metals of Suspended Particulate Matter around the Tongon Gold Mine, CÔTe d'Ivoire ». *Journal of Agricultural Chemistry and Environment* 12 (02): 171-87. <https://doi.org/10.4236/jacen.2023.122014>.
- Khan, Sardar, Lin Aijun, Shuzhen Zhang, Qinhong Hu, et Yong-Guan Zhu. 2008.** « Accumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Heavy Metals in Lettuce Grown in the Soils Contaminated with Long-Term Wastewater Irrigation ». *Journal of Hazardous Materials* 152 (2): 506-15. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.07.014>.
- Khelil, Mohamed Naceur, Saloua Rejeb, et Monia Trad. 2010.** « Arrière effet des métaux lourds apportés par les eaux usées sur certaines cultures maraîchères ».

Références bibliographiques

L

Larsson, D. G. Joakim, et Carl-Fredrik Flach. 2022. « Antibiotic Resistance in the Environment ». *Nature Reviews Microbiology* 20 (5): 257-69. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>.

Latifa, Kalai, Rouis Mohamed Jamel, et Mnif Thameur. 2014. « Piégeage des métaux lourds dans le mortier à court terme ». Édité par A. Diouri, N. Khachani, et M. Alami Talbi. *MATEC Web of Conferences* 11: 03017. <https://doi.org/10.1051/matecconf/20141103017>.

Liu, Huakang, Yanluo Xie, Junjie Li, Guoquan Zeng, Hao Li, Fei Xu, Su Feng, et Heng Xu. 2020. « Effect of Serratia Sp. K3 Combined with Organic Materials on Cadmium Migration in Soil-Vetiveria Zizanioides L. System and Bacterial Community in Contaminated Soil ». *Chemosphere* 242 (mars): 125164. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125164>.

Luo, Xin, et Karl R. Matthews. 2023. « Recovery of Multi-Antibiotic Resistant and ESBL-Encoding Gene Positive Enterobacterales from Retail Lettuce and Seed Sprouts ». Preprint. SSRN. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4359687>.

Lynch, M. F., R. V. Tauxe, et C. W. Hedberg. 2009. « The Growing Burden of Foodborne Outbreaks Due to Contaminated Fresh Produce: Risks and Opportunities ». *Epidemiology and Infection* 137 (3): 307-15. <https://doi.org/10.1017/S0950268808001969>.

M

Mairi, Assia, Alix Pantel, Albert Sotto, Jean-Philippe Lavigne, et Aziz Touati. 2018. « OXA-48-like Carbapenemases Producing Enterobacteriaceae in Different Niches ». *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 37 (4): 587-604. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3112-7>.

Manderfeld, Marie-Helene. 2021. « Water in Agriculture in Three Maghreb Countries ». *Final Report*, mars.

Références bibliographiques

- Martinez, Jose L. 2009.** « The Role of Natural Environments in the Evolution of Resistance Traits in Pathogenic Bacteria ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276 (1667): 2521-30. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.0320>.
- Macieira, A., Barbosa, J., & Teixeira, P. (2021).** Food Safety in Local Farming of Fruits and Vegetables. *Int J Environ Res Public Health*, 18(18). doi:10.3390/ijerph18189733
- Mesbah Zekar, Ferielle, Sophie A. Granier, Muriel Marault, Lydia Yaici, Benoit Gassilloud, Charles Manceau, Abdelaziz Touati, et Yves Millemann. 2017.** « From Farms to Markets: Gram-Negative Bacteria Resistant to Third-Generation Cephalosporins in Fruits and Vegetables in a Region of North Africa ». *Frontiers in Microbiology* 8 (août): 1569. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01569>.
- Moreira Soares De Souza, Miliane, Cláudio Marcos Rocha-de-Souza, Dayanne Araújo De Melo, Cássia Couto Da Motta, Ramon Loureiro Pimenta, Irene Da Silva Coelho, et Shana De Mattos De Oliveira Coelho. 2021.** « Of Animal and Men: The Importance of Animal Environment to Antimicrobial Resistance: A One Health Approach ». In *Antimicrobial Resistance - A One Health Perspective*, édité par Mihai Mareş, Swee Hua Erin Lim, Kok-Song Lai, et Romeo-Teodor Cristina. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.92118>.

N

N'diaye, A., El Kory, M., Cheikh, M., Kankou, M., & Namr, K. I. Qualité des eaux usées traitées réutilisées en agriculture. *Le SIAAP redonne à l'eau son futur*, 40.

Nordmann, Patrice. 2010. « Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif ». *médecine/sciences* 26 (11): 950-59. <https://doi.org/10.1051/medsci/20102611950>.

O

Oliveira, C.C., E.S. Lopes, D. R. Barbosa, R. L. Pimenta, N. M. B. A. Sobrinho, S. M. O. Coelho, M. M. S. Souza, et I. S. Coelho. 2019. « Occurrence of the Colistin Resistance *Mcr* -

Références bibliographiques

Oliveira, Márcia, Pilar Truchado, Rebeca Cordero-García, María I. Gil, Manuel Abellán Soler, Amador Rancaño, Francisca García, Avelino Álvarez-Ordóñez, et Ana Allende. 2023. « Surveillance on ESBL-Escherichia Coli and Indicator ARG in Wastewater and Reclaimed Water of Four Regions of Spain: Impact of Different Disinfection Treatments ». *Antibiotics* 12 (2): 400. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020400>.

Olaimat, A. N., & Holley, R. A. (2012). Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review. *Food Microbiology*, 32(1), 1-19. doi.org/10.1016/j.fm.2012.04.016

Organisation mondiale de la Santé. 2016. *Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens*. Genève: Organisation mondiale de la Santé. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/249548>.

P

Pennington, Jean A.T., et Rachel A. Fisher. 2009. « Classification of Fruits and Vegetables ». *Journal of Food Composition and Analysis* 22 (décembre): S23-31. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.11.012>.

Pérez-Etayo, Lara, David González, et Ana Isabel Vitas. 2020. « The Aquatic Ecosystem, a Good Environment for the Horizontal Transfer of Antimicrobial Resistance and Virulence-Associated Factors Among Extended Spectrum β -Lactamases Producing E. Coli ». *Microorganisms* 8 (4): 568. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040568>.

Petit, Jacques, et Pierre Jobin. 2005. *La fertilisation organique des cultures: les bases*. Longueuil, Québec: Fédération d'agriculture biologique du Québec.

Pons, Marie-Noëlle, Mehdi Belhani, Jacques Bourgois, et Estelle Dupuit. 2008. « Analyse du cycle de vie - Épuration des eaux usées urbaines ». *Chimie verte*, janvier. <https://doi.org/10.51257/a-v1-g5820>.

Perron, Karl, Olivier Caille, Claude Rossier, Christian Van Delden, Jean-Luc Dumas, et Thilo Köhler. 2004. « CzcR-CzcS, a Two-Component System Involved in Heavy Metal and

Références bibliographiques

R

Rahman, Mahbubur, Mahbub-Ul Alam, Sharmin Khan Luies, Abul Kamal, Sharika Ferdous, Audrie Lin, Fazle Sharior, et al. 2021. « Contamination of Fresh Produce with Antibiotic-Resistant Bacteria and Associated Risks to Human Health: A Scoping Review ». *International Journal of Environmental Research and Public Health* 19 (1): 360. <https://doi.org/10.3390/ijerph19010360>.

Richter, Loandi, Erika M. Du Plessis, Stacey Duvenage, et Lise Korsten. 2019. « Occurrence, Identification, and Antimicrobial Resistance Profiles of Extended-Spectrum and AmpC β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* from Fresh Vegetables Retailed in Gauteng Province, South Africa ». *Foodborne Pathogens and Disease* 16 (6): 421-27. <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2558>.

Roger, Pierre Armand. 2015. « Roger PA, Garcia J-L (2001) Introduction à la microbiologie du sol. Polycopié de cours (Université de Provence, Université de la Méditerranée, Ecole Supérieure d'Ingénieurs de Luminy. 191pp ». <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5185.0729>.

S

Slobodiuk, Stacy, Caitlin Niven, Greer Arthur, Siddhartha Thakur, et Ayse Ercumen. 2021. « Does Irrigation with Treated and Untreated Wastewater Increase Antimicrobial Resistance in Soil and Water: A Systematic Review ». *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18 (21): 11046. <https://doi.org/10.3390/ijerph182111046>.

T

Tafoukt, Rima, Thongpan Leangapichart, Linda Hadjadj, Sofiane Bakour, Seydina M. Diene, Jean-Marc Rolain, et Abdelaziz Touati. 2018. « Characterisation of Bla OXA-538 , a New Variant of Bla OXA-48 , in *Shewanella Xiamenensis* Isolated from River Water in Algeria ». *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 13 (juin): 70-73. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.11.008>.

Tafoukt, Rima, Abdelaziz Touati, Thongpan Leangapichart, Sofiane Bakour, et Jean-Marc Rolain. 2017. « Characterization of OXA-48-like-Producing *Enterobacteriaceae* Isolated from.

Références bibliographiques

Tahri, Latifa, Fatima Zahra Hafiane, et Mohammed Fekhaoui. 2021. « Prevalence and Antibiotic Resistance of the Escherichia Coli in the Groundwater (Tadla-Morocco) ». *Groundwater for Sustainable Development* 13 (mai): 100572. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2021.100572>.

Tahrani, Leyla. 2016. « Occurrence of Antibiotics in Pharmaceutical Industrial Wastewater, Wastewater Treatment Plant and Sea Waters in Tunisia ». *Journal of Water and Health*.

Tenover, Fred C. 2006. « Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria ». *American Journal of Infection Control* 34 (5): S3-10. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2006.05.219>.

Tran, Dao T.Q., Mark I. Bradbury, Floris F. Van Ogtrop, Hayriye Bozkurt, Brian J. Jones, et Robyn Mcconchie. 2020. « Environmental Drivers for Persistence of Escherichia Coli and Salmonella in Manure-Amended Soils: A Meta-Analysis ». *Journal of Food Protection* 83 (7): 1268-77.

V

Van Duyn, M. A. S., & Pivonka, E. (2000). Overview of the Health Benefits of Fruit and Vegetable Consumption for the Dietetics Professional: Selected Literature. *Journal of the American Dietetic Association*, 100(12), 1511-1521. [doi.org/10.1016/S0002-8223\(00\)00420](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(00)00420)

W

Wang, Jianlong, Libing Chu, László Wojnárovits, et Erzsébet Takács. 2020. « Occurrence and Fate of Antibiotics, Antibiotic Resistant Genes (ARGs) and Antibiotic Resistant Bacteria (ARB) in Municipal Wastewater Treatment Plant: An Overview ». *Science of The Total Environment* 744 (novembre): 140997. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140997>.

Whipps, J. M., Hand, P., Pink, D. A., & Bending, G. D. (2008). Human pathogens and the phyllosphere. *AdvApplMicrobiol*, 64, 183-221. [doi:10.1016/s0065-2164\(08\)00407-3](https://doi.org/10.1016/s0065-2164(08)00407-3)

Wu, Jie, Jinyang Wang, Zhutao Li, Shumin Guo, Kejie Li, Pinshang Xu, Yong Sik Ok, Davey L. Jones, et Jianwen Zou. 2023. « Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Agricultural

Références bibliographiques

Soils: A Systematic Analysis ». *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 53 (7): 847-64. <https://doi.org/10.1080/10643389.2022.2094693>.

Wu, Weihui, Yongxin Jin, Fang Bai, et Shouguang Jin. 2015. « Pseudomonas Aeruginosa ». In *Molecular Medical Microbiology*, 753-67. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00041-X>.

Wu, Xingbing, Qingyi Shi, Shimo Shen, Chen Huang, et Hongcheng Wu. 2021. « Clinical and Bacterial Characteristics of Klebsiella Pneumoniae Affecting 30-Day Mortality in Patients With Bloodstream Infection ». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 11 (septembre): 688989. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.688989>.

X

Xiao, Shuxing, Zuxin He, Weikun Zhang, et Xiaoming Qin. 2022. « The Agricultural Green Production following the Technological Progress: Evidence from China ». *International Journal of Environmental Research and Public Health* 19 (16): 9876. <https://doi.org/10.3390/ijerph19169876>.

Xu, Liangfei, Xiaoxi Sun, et Xiaoling Ma. 2017. « Systematic Review and Meta-Analysis of Mortality of Patients Infected with Carbapenem-Resistant Klebsiella Pneumoniae ». *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 16 (1): 18. <https://doi.org/10.1186/s12941-017-0191-3>.

Z

Zerihun, Belay, Gelgelu Edao, et Chala Bayissa. 2020. « Assessment of Microbiological Quality and Drug Resistance Patterns of Raw Vegetables Irrigated with Hasassa River, West Arsi Zone, Oromia Region, Ethiopia ». *African Journal of Microbiology Research* 14 (9): 507-15. <https://doi.org/10.5897/AJMR2019.9205>.

Zhang, Yu-Jing, Hang-Wei Hu, Qing-Lin Chen, Brajesh K. Singh, Hui Yan, Deli Chen, et Ji-Zheng He. 2019. « Transfer of Antibiotic Resistance from Manure-Amended Soils to

Références bibliographiques

Vegetable Microbiomes ». *Environment International* 130 (septembre): 104912.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104912>.

Zhuang, Mei, Yigal Achmon, Yuping Cao, Xiaomin Liang, Liang Chen, Hui Wang, Bupe A. Siame, et Ka Yin Leung. 2021. « Distribution of Antibiotic Resistance Genes in the Environment ». *Environmental Pollution* 285 (septembre): 117402.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117402>.

Annexes

Annexe I : Résultats d'enrichissement et d'isolements

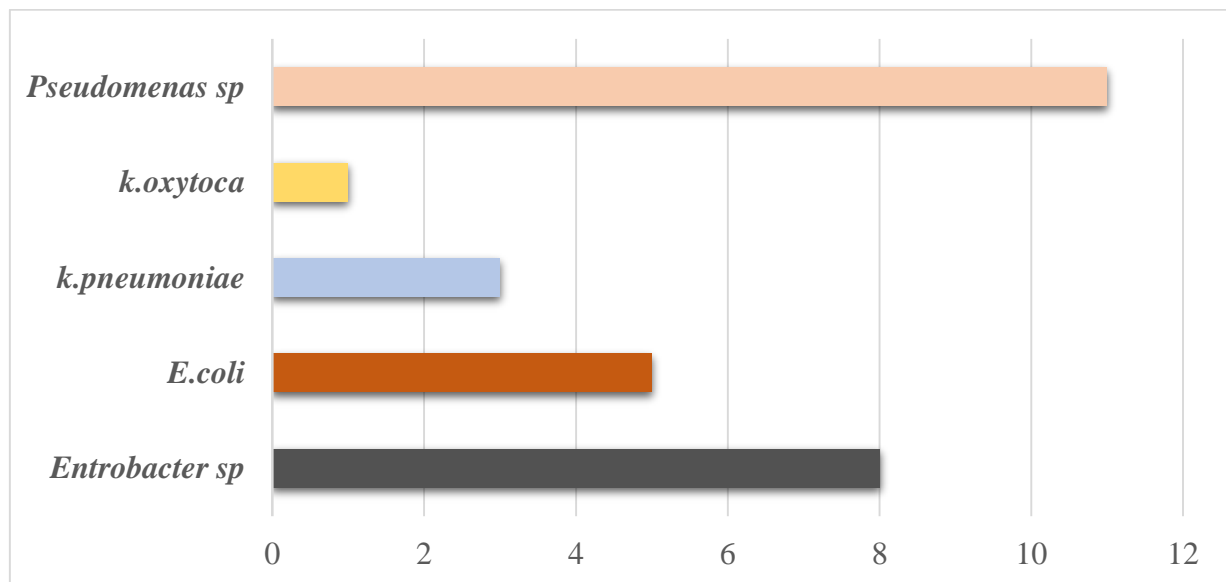
Code de la souche	EPT	MTL
I S1-A	+	+
I S2-c	+	+
I F p	+	+
I F-A	+	+
I F-B	+	+
I F-C	+	+
I EG-A	+	+
I EF- A	+	+
I EF-B	+	+
II S 1	+	-
II S 2-A	+	+
II S2-B	+	+
II S3-A	+	+
II S3-B	+	+
II F 1	+	+
II EA-2a	+	+
II ER	+	+
II EF-1	+	+
III S1	+	-
III ER-a	+	+
III ER-b	+	+
III EF-s	+	-
III EF-d1	+	+
III F 1	+	+
IV S 1	+	+
IV S2	+	-
IV F 1-a	+	+
IV F 1-b	+	+
IV E1	+	-
IV E2	+	+

Tableau II : résultats sur Chromagar™ orientation

Code des souches Entérobactéries	Chromagar™ orientation
I S2-c	Groupe K-E-S
I F-A	colonies rose pourpres <i>E.coli</i>
I F-B	colonies rose pourpres <i>E.coli</i>
I F-C	colonies roses pourpres <i>E.coli</i>
I EF-B	Groupe K-E-S
II S3-A	Groupe K-E-S
II F1	Groupe K-E-S
II EA-2a	Groupe K-E-S
II ER	Groupe K-E-S
II EF 1	Groupe K-E-S
III ER-a	Groupe K-E-S
III ER-b	Groupe K-E-S
III F1	colonies roses pourpres <i>E.coli</i>
IV S 1	<i>Groupe K-E-S</i>
IV F 1-a	Groupe K-E-S
IV F 1-b	Groupe K-E-S
IV E2 -b	colonies roses pourpres <i>E.coli</i>

Tableau III : production d'Uréase et d'indole

Code des souches Entérobactéries	Uréase	Indole
I S2-c	-	-
I F-A	-	+
I F-B	-	+
I F-C	-	+
I EF-B	-	-
II S3-A	-	-
II F1	+	+
II EA-2a	-	-
II ER	-	-
II EF 1	-	-
III ER-a	+	-
III ER-b	+	-
III F1	-	+
IV S 1	-	-
IV F 1-a	+	-
IV F 1-b	-	-
IV E2 -b	-	+



Nombre et type des souches isolés

Tableau V : résistances aux antibiotiques chez les *pseudomonas sp.*

Code de la souche	GEN	TCC	CS	RIF	IMI
I S1-A	20 (S)	16 (R)	18 (S)	9 (R)	6 (R)
I Fp	20 (S)	9 (R)	15 (S)	8 (R)	6 (R)
I EF-A	20 (S)	17 (R)	16 (S)	13 (R)	6 (R)
I EG-A	19 (S)	19 (I)	15 (S)	13 (R)	6 (R)
II S2-A	17 (S)	6 (R)	17 (S)	6 (R)	6 (R)
II S3-B	19 (S)	6 (R)	16 (S)	6 (R)	6 (R)
III EF-d1	18 (S)	11 (R)	16 (S)	8 (R)	6 (R)
II S2-B2	19 (S)	6 (R)	16 (S)	7 (R)	6 (R)
II EA -2c	18 (S)	12 (R)	16 (S)	7 (R)	6 (R)
II EA -2b	18 (S)	14 (R)	16 (S)	8 (R)	6 (R)
IV E2-a	23 (S)	15 (R)	20 (S)	10 (R)	6 (R)

Tableau VI : résistances des souches aux métaux lourds

	Code de la souche	Zinc					Cuivre					Cadmium					
		5	10	15	20	25	30	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IV E2-a	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
	I EF-A	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-
	II S2-B2	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
	I S1-A	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-
	II S3-B	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
	II S 2 -A	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
	II EA-2b	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
	I Fp	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
	III EF-d1	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
	II EA-2a	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
	I EG-A	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
Entérobactéries	II EF -1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	III ER-a	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	F1-B	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
	I EF-B	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
	III ER-b	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
	I S2-C	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
	II EA-2a	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
	IV F1-a	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
	III F1	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
	IV F1-b	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
	I F-c	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
	II F1	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	I F-A	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
	II ER-a	+	+		-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	IV S1	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
	II S3-A	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
IV E2-b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	

Résumé

Cette étude est sur l'évaluation des facteurs de risque de la bio contamination des fruits et légumes avant récolte par des bacilles à gram négatives productrices de carbapénèmase. Un total de 25 échantillons ont été collecté sols, fumier et eaux d'irrigation ont été effectués au niveau de trois wilaya différentes en Algérie. Tout d'abord, ces prélèvements ont été enrichis afin de revivifier les bactéries ensuite isolés sur le milieu CarbaMTL. Après isolement des souches sur gélose VRBL, leur sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose Muller-Hinton. Les phénotypes de résistances aux β -lactamines ont été déterminés par l'utilisation, DD test sans Cefipeme, ensuite des tests d'identifications ont été réalisé sur différents milieux chromagar, cétrimide, EMB, TSI, Urée-indole après, un test CIM été effectué et une recherches de résistances aux métaux lourds zinc, cuivre et cadmium avec différentes concentrations. Un total de 28 souches de BGN isolé, 17 souches d'entérobactéries, une seule parmi eux été résistante au carbapénèmes et au zinc allant de 5 à 30 mM 11 souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont probablement productrices de carbapénèmases et parmi ses dernières deux souches été résistantes a des concertations élevé en cuivre (2 à 10 mM). Les fruits et les légumes consommés crus présentent un risque de transmission des gènes de résistances vus leur contact direct et constant avec l'homme.

Abstract

This study is on the evaluation of risk factors for the bio contamination of fruits and végétales before harvest by gram negative bacilli producing carbapemase. A total of 25 samples were collected soils, manure and irrigation water at the level of three different wilaya in Algeria. First, these samples were enriched in order to revitalize the bacteria then they were isolated on the CarbaMTL medium. After isolation of the VRBL strains, their susceptibility to antibiotics was determined by the MH agar diffusion method. Phenotypes of β -lactam resistance were determined by use, DD test without Cefipeme, then identification tests were performed on various media chromagar, cetrimide, EMB, TSI, Uree-indole after, a CIM test was carried out and a research of resistance to heavy metals zinc, copper and cadmium with different concentrations. A total of 28 isolated BGN strains, 17 enterobacteria strains, only one of them was resistant to carbapenems and zinc ranging from 5 to 30 mM 11 strains of *Pseudomonas aeruginosa* are probably producing carbapenems and among its last two strains were resistant to high concentrations of copper (2 to 10 mM). Raw fruits and vegetables consumed present a risk of transmission of resistance genes due to their direct and constant contact with humans.