

*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 Appliquée au diagnostic**

**Réf : .....**

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

**Thème**

**Caractérisation des souches d'Entérobactéries résistantes aux antibiotiques et aux métaux lourds, leur virulence, et leur impact sur les écosystèmes agricoles en Algérie**

**Présenté par :**

**Ait Sadi Nawel**

**Amirouche Chahinez**

**Soutenu le : 02 /07/2025**

**Devant le jury composé de :**

M<sup>me</sup> GHAROUT A.

MCA

Présidente

M<sup>me</sup> ZENATI K.

MCA

Encadreur

M<sup>r</sup> BENSALD K.

MCB

Examineur

*Année Universitaire : 2024/2025*

## ***Remerciements***

*Nous souhaitons tout d'abord exprimer notre profonde gratitude à notre Dieu tout-puissant, qui nous a accordé la santé, la patience, la force et la volonté tout au long de nos années d'études, ainsi que pour la réalisation de ce travail.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements à notre encadrante, Mme ZENATI Karima, qui a accepté de prendre en charge ce travail. Nous lui sommes très reconnaissants pour sa gentillesse, son aide précieuse et ses conseils éclairés.*

*Nos remerciements vont également aux membres du jury, Mme GHAROUT ALIMA et Mr BENSALD KARIM., pour avoir accepté de présider et d'évaluer ce travail.*

*Nous tenons à exprimer ma sincère gratitude à Mme Mostefaoui Raouya, notre co-encadreur, pour son soutien précieux et ses conseils avisés tout au long de ce projet. Son engagement et sa disponibilité ont grandement contribué à la réussite de travail.*

*Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, nous ont soutenus et aidés dans la réalisation de ce travail.*

**Nawel et Chahinez**

## ***Dédicaces***

Je dédie ce travail à :

*Mes très chers parents, ainsi qu'à mes frères et sœurs, qui ont cru en moi, m'ont fait confiance, respecté mes choix, et m'ont soutenu et encouragé tout au long de mes études.*

*Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude à la personne la plus adorable et la plus gentille, « Wahid », qui m'a beaucoup aidé, initié à la recherche, encouragé et surtout soutenu tout au long de mon parcours. Je ne saurai jamais lui exprimer à quel point je lui suis reconnaissant.*

*Je dédie aussi cette réussite à toute la promotion de Microbiologie Appliquée en Diagnostic, ainsi qu'à tous mes ami(e)s et à toutes les personnes qui m'ont aidé et soutenu, de près ou de loin.*

***Nawel et Chahinez***

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	

## **Table des matières**

Introduction.....	1
-------------------	---

## **Matériel et Méthodes**

I. Cadre général et objectifs de l'étude .....	08
II. Méthodologie de prélèvement des échantillons .....	08
II.1. Prélèvement des sols .....	08
II.2. Prélèvement du fumier .....	09
II.3. Prélèvement des eaux utilisées pour l'irrigation .....	10
III. Criblage des souches d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques.....	10
III.1. Préparation des cultures .....	10
III.2. Criblage de souches résistantes au carbapénème sur milieu CarbaMTL Broth.....	10
III.3. Criblage de souches d'entérobactéries résistantes à la colistine .....	11
IV. Identification des souches résistantes .....	11
V. Étude de la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques.....	12
VI. Recherche de la production de $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE).....	13
VII. Recherche de la production carbapénèmases .....	13
VIII. Analyse de la tolérance des souches isolées aux Métaux lourds.....	13
IX. Détection de quelques facteurs de virulence.....	14
IX.1. Recherche de la production de lipase .....	14
IX.2. Test de production de protéase .....	15

IX.3. Recherche de l'hémolysine.....	15
--------------------------------------	----

## **Résultats et Discussion**

I. Répartition des prélèvements.....	16
II. Criblage des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes.....	16
III. Criblage des souches d'entérobactéries résistantes à la colistine.....	17
IV. Répartition des souches selon l'origine des échantillons.....	17
V. Étude de la sensibilité des souches isolées sur milieu Carba-MTL.....	18
V.1. Recherche de la production de carbapénémase.....	19
V.2. Recherche de la production de BLSE.....	19
VI. Etude de la sensibilité des souches isolées sur gélose à la colistine aux antibiotiques.....	20
VII. Etude de la sensibilité des souches aux métaux lourds.....	22
VII.1. Etude de la sensibilité des souches résistantes aux carbapénèmes vis-à-vis des métaux lourds.....	22
VII.2. Étude de la sensibilité des souches résistantes à la colistine vis-à-vis des métaux lourds.....	22
VIII. Détection de quelques facteurs de virulence.....	23
Discussion.....	25
Conclusion.....	29

Références bibliographiques

Annexes

## Liste des tableaux

Tableau I	Répartition des échantillons par localité et par origine de prélèvement	8
Tableau II	Antibiotiques testés	12
Tableau III	Niveaux de résistance de la souche <i>E. coli</i> K12 vis-à-vis des métaux lourds testés	14
Tableau IV	Répartition des souches isolées par régions et par types de prélèvement	16
Tableau V	Répartition des souches isolées par région et par types de prélèvement	17
Tableau VI	Caractéristiques des souches isolées sur CarbaMTL	19
Tableau VII	Sensibilité des souches entérobactéries isolées sur milieu additionné de colistine aux antibiotiques	21
Tableau VIII	Détermination des CMI et des phénotypes de résistance aux métaux lourds chez les souches résistantes aux carbapénèmes	22

## Listes des figures

Figure 01	Photos de quelques sols cultivés par des légumes	09
Figure 02	Exemple de fumiers utilisés pour l'épandage	09
Figure 03	Exemple de source d'eaux utilisées pour l'irrigation	10
Figure 04	Répartition des souches isolées sur les différents milieux utilisés selon leurs origines de prélèvement	18
Figure 05	Test CIM positif chez une souche de <i>K. pneumoniae</i> et une souche de <i>Serratia</i> sp. (S39)	19
Figure 06	Test de synergie positif chez la souche De <i>K. pneumoniae</i> E21	20
Figure 07	Taux de résistance des souches isolées <i>vis-à-vis</i> aux différentes concentrations de cuivre, zinc et cadmium ( $\mu\text{g/ml}$ )	23
Figure 08	Répartition des principaux facteurs de virulence produit chez les souches d'entérobactéries isolées	24

## Liste des abréviations

**ATB** : Antibiotique

**BGN** : Bacille à Gram Négatif

**BLSE** :  $\beta$ -Lactamases à Spectre Élargi

**ARG** : Antibiotic Résistance Gènes (Gènes de résistance aux antibiotiques)

**MRG** : Metal Resistance Genes (Gènes de résistance aux métaux lourds)

**MDR** : Multi-Drug Résistance (Multi-résistance aux antibiotiques)

**CTX** : Céfotaxime

**CAZ** : Céfotazidime

**AMC** : Amoxicilline-Clavulanate

**CT** : Colistine

**CIM** : Carbapenem Inactivation Method

**Mcr** : Mobile Colistin Resistance

**LBJMR** : Lucie Bardet Jean-Marc Rolain

**EUCAST** : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

**EPT** : Eau Peptonée Tamponnée

**EMB** : Éosine Méthylène Bleu

**FAO** : Food and Agriculture Organization

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PCR** : Polymerase Chain Reaction (Réaction de polymérisation en chaîne)

**EDTA** : Ethylene Diamine Tetraacetic Acid

**Cu** : Cuivre

**Zn** : Zinc

**Pb** : Plomb

**Cd** : Cadmium

**MTL** : Mairi-Touati-Lavigne

# *Introduction*

## Introduction

Face à une demande alimentaire croissante, les systèmes agricoles contemporains doivent relever le défi de produire des aliments à la fois sains, sûrs et durables. Cette exigence s'explique par l'augmentation rapide de la population mondiale, l'intensification des pressions environnementales et les changements climatiques qui menacent la sécurité alimentaire (**Bencheikh et al., 2017 ; Yadav et al., 2019**). Pour garantir la résilience de ces systèmes, des stratégies innovantes comme l'agroécologies, l'agriculture raisonnée ou encore la diversification des cultures sont aujourd'hui promues à l'échelle internationale (**Rockström et al., 2017 ; Pretty et al., 2018**). L'adoption de pratiques agricoles durables est essentielle pour concilier productivité, préservation des ressources naturelles et bien-être des populations (**Godfray et al., 2010 ; Reganold and Wachter, 2016**).

Les fruits et légumes jouent un rôle fondamental dans l'alimentation humaine, en raison de leur richesse en micronutriments essentiels et de leurs effets préventifs contre les maladies chroniques telles que le diabète, l'hypertension et certains cancers (**Lloyd et al., 2012 ; Aune et al., 2020**). La consommation régulière de ces produits est associée à une bonne santé et à une réduction du risque de mortalité prématurée (**Oyebode et al., 2014**). Toutefois, leur production et leur consommation soulèvent de sérieuses préoccupations sanitaires, en lien avec la présence fréquente de résidus de pesticides, des engrais azotés synthétiques, de métaux lourds ou encore d'agents pathogènes tels que *E. coli* et *Listeria monocytogenes* (**Bergmann et al., 2010 ; Sharma et al., 2020 ; Bai et al., 2024**).

Pour répondre à ces préoccupations, l'agriculture biologique s'impose comme une solution alternative, privilégiant l'utilisation de fertilisants organiques, la rotation des cultures et des méthodes de lutte naturelle contre les ravageurs (**Seufert et al., 2012 ; Jiménez-Belenguer et al., 2023**). Plusieurs études ont mis en évidence les bienfaits des fruits et légumes issus de l'agriculture biologique avec une qualité nutritionnelle supérieure, notamment en polyphénols et antioxydants, ainsi qu'un risque réduit d'exposition aux produits chimiques (**Komati et al., 2024**). Par ailleurs, la stratégie "De la ferme à la table" encouragent le développement de ce mode de production plus respectueux de l'environnement et de la santé humaine (**Fernqvist, 2021**).

La consommation croissante de fruits et de légumes crus, bien que bénéfique pour la santé humaine, expose également les consommateurs à des risques sanitaires liés à la contamination microbiologique (Araújo et al., 2017). Ces produits frais peuvent héberger naturellement une flore microbienne non pathogène, mais ils deviennent un vecteur potentiel de transmission de pathogènes lorsqu'ils sont exposés à des sources de contamination comme les sols pollués, les excréments d'animaux, ou l'utilisation de fertilisants organiques insuffisamment traités (Rahman et al., 2021). De nombreuses recherches récentes ont mis en évidence la persistance de bactéries pathogènes telles que *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* ainsi que *E. coli* sur la surface des produits légumes agricoles tels que la laitue et les tomates, malgré les processus de lavage ou de désinfection, en raison de leur capacité à former des biofilms ou à s'internaliser dans les tissus végétaux (Zhang et al., 2019 ; Kim et al., 2023).

Ces bactéries sont responsables de nombreuses infections alimentaires, allant des gastroentérites aux infections systémiques graves (Jiménez-Rojas et al., 2024). Ce qui aggrave la situation, c'est la présence croissante de souches multirésistantes, qui sont de plus en plus fréquentes sur les produits frais, notamment ceux cultivés dans des environnements où l'utilisation d'amendements organiques et d'irrigation avec des eaux non conformes est courante (Elshafiee et al., 2022). Les bactéries telles que *Klebsiella pneumoniae*, en particulier, sont devenues des agents pathogènes notoires en raison de leur capacité à résister à de multiples classes d'antibiotiques, rendant leur traitement difficile (Tang et al., 2020).

En raison des besoins croissants en fertilisation des sols, il est malheureusement fréquent que des résidus d'antibiotiques soient directement transférés des activités anthropiques vers les sols. Cette contamination soulève de plus en plus de préoccupations à l'échelle mondiale, notamment en ce qui concerne la présence d'antibiotiques, de bactéries résistantes et des gènes de résistance qui leur sont associés (Moghadam et al., 2023). Par ailleurs, l'utilisation intensive d'amendements organiques, bien qu'elle favorise la fertilité des sols, contribue également à l'amplification de la résistance aux antibiotiques dans les écosystèmes agricoles (Peng et al., 2017). Des études récentes ont démontré que les fumiers et composts, notamment ceux issus d'élevages industriels souvent traités aux antibiotiques, contiennent fréquemment des bactéries multirésistantes et des gènes de résistance aux  $\beta$ -lactamines (*bla*CTX-M), à la colistine (*mcr-1*) ou à la tetracycline (*tetA*), favorisant leur transfert horizontal dans le microbiote du sol, des plantes (Karwowska, 2024). Ces pratiques contribuent ainsi à la diffusion silencieuse de la

résistance dans l'environnement, mettant en péril la sécurité sanitaire des denrées végétales et des écosystèmes naturelle (**Deekshit and Srikumar, 2022**).

Par ailleurs, la pénurie d'eau douce s'intensifie à l'échelle mondiale sous l'effet du changement climatique, entraînant une dépendance accrue à l'égard des eaux récupérées ou usées pour l'irrigation agricole en particulier dans les zones arides (**Corwin, 2021 ; Santos et al., 2023**). Or, ces eaux, lorsqu'elles ne sont pas traitées, sont fortement contaminées par des bactéries pathogènes et des résidus d'agents à activités antimicrobiennes, amplifiant les risques de contamination des cultures et la dissémination de résistances dans l'écosystème agricole (**Sharma et al., 2020 ; Adenaya et al., 2025**). L'irrigation avec des eaux insalubres constitue ainsi un vecteur majeur d'introduction des bactéries résistantes dans la chaîne alimentaire, comme l'ont démontré plusieurs épidémies récentes liées à des fruits et légumes contaminés (**Iwu and Okoh, 2019**).

Face à ces défis, des approches intégrées basées sur le concept « One Health » sont aujourd'hui préconisées pour surveiller et contrôler la dissémination des agents pathogènes et de la résistance aux antimicrobiens dans les systèmes agricoles (**Miller et al., 2022**). Une meilleure gestion des pratiques agricoles, le traitement préalable des amendements organiques, la surveillance microbiologique de l'eau d'irrigation et l'éducation des producteurs sont autant de leviers indispensables pour limiter les risques sanitaires liés à la consommation de fruits et légumes (**Shoushtarian and Negahban-Azar, 2020 ; Liu et al., 2023**).

Les légumes à feuilles, considérés comme des "points chauds" de contamination, peuvent abriter des bactéries résistantes aux antibiotiques, des gènes de résistance, ainsi que des éléments génétiques mobiles, augmentant ainsi le risque de propagation de ces résistances (**Kunhikannan et al., 2021**). Des études récentes montrent que les gènes de résistance aux antibiotiques présents chez les bactéries isolées du tissu végétal de la laitue et du sol étaient similaires, ce qui suggère que les résistomes des plantes et de leur environnement sont liés. Cela confirme que les gènes de résistance peuvent passer des sols aux légumes (**Huang et al., 2025**). Cette transmission est un phénomène préoccupant, car les plantes, particulièrement les légumes à feuilles, peuvent facilement devenir des vecteurs de bactéries résistantes lorsqu'elles sont cultivées dans des environnements contaminés (**Brown et al., 2019**). Des recherches ont également mis en évidence des épidémies alimentaires liées à la consommation de légumes et de fruits irrigués avec des eaux insalubres, ce qui souligne l'impact des méthodes d'irrigation sur la contamination des récoltes (**Aksouh et al., 2024**). Ces pratiques augmentent le risque de

transmission de pathogènes, notamment des bactéries résistantes aux antibiotiques, qui peuvent être présentes dans les eaux usées utilisées pour irriguer les cultures. Un exemple frappant est l'identification de *E. coli* sur les légumes et dans l'eau d'irrigation, ce qui suggère une contamination croisée dans plusieurs régions agricoles **(Du Plessis et al., 2021)**.

La résistance aux antibiotiques demeure une menace croissante qui affecte non seulement la santé publique, mais aussi la sécurité alimentaire, l'environnement et l'agriculture. Les bactéries du groupe ESKAPE ; *E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* et *Enterobacter spp.* sont reconnues comme des agents pathogènes multirésistants critiques, nécessitant l'élaboration de nouveaux traitements efficaces en urgence **(Miller and Arias, 2024)**. Malgré l'arrivée de nouveaux antibiotiques, ces bactéries, notamment celles produisant des  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) et des carbapénémases, représentent encore un défi thérapeutique majeur à l'aube de la troisième décennie du XXI<sup>e</sup> siècle. Elles se distinguent par leur capacité d'adaptation, leur utilisation de diverses stratégies pour développer des résistances ainsi que par la propagation mondiale de clones à haut risque **(Sivarajan et al., 2025)**. Ces dernières années, l'attention s'est accrue sur le rôle de la transmission environnementale de la résistance aux antimicrobiens dans le cadre du concept « One Health ». Récemment, une revue a mis en évidence le rôle que joue l'environnement comme réservoir pour ces bactéries résistantes, qui peuvent persister en dehors des hôpitaux, notamment dans l'eau et la chaîne alimentaire **(Martak et al., 2024)**.

Les carbapénèmes représentent depuis plusieurs années une option thérapeutique de choix pour traiter les infections graves causées par des bactéries multirésistantes, notamment celles produisant des BLSE ou des  $\beta$ -lactamases de type AmpC. Toutefois, l'émergence croissante de carbapénémases chez les entérobactéries telles que *E. coli* et *K. pneumoniae*, mais aussi chez *P. aeruginosa* et *A. baumannii*, compromet leur efficacité **(Owusu et al., 2023)**. Cette résistance est majoritairement due à la production de carbapénémases, des enzymes puissantes codées par des gènes tels que blaKPC, blaNDM, blaVIM et blaOXA-48, fréquemment retrouvés chez les souches multirésistantes et virulentes **(Elghanam et al., 2024)**.

Les gènes bla-TEM, bla-SHV, et en particulier bla-CTX-M, sont parmi les principaux responsables de la production de  $\beta$ -lactamases, notamment celles appartenant aux BLSE. Ces gènes confèrent une résistance accrue aux  $\beta$ -lactamines. Ils ont été fréquemment détectés chez des entérobactéries isolées à partir d'échantillons cliniques, d'animaux, ainsi que dans l'environnement, ce qui témoigne de leur large diffusion à travers différents écosystèmes

(**Elshafiee et al., 2022**). Cette dissémination rapide est facilitée par des éléments génétiques mobiles comme les plasmides, les transposons ou les intégrons, qui favorisent le transfert horizontal des gènes de résistance (**Jian et al., 2021 ; Michaelis and Grohmann, 2023**).

Face à cette impasse thérapeutique, la colistine a longtemps été considérée comme dernier recours contre les souches multirésistantes à Gram négatif (**Rhouma et al., 2016**). Cependant, son utilisation excessive dans l'élevage intensif, notamment comme facteur de croissance, a favorisé l'émergence de résistances transmissibles par plasmide, notamment via le gène *mcr* (**Anyanwu et al., 2020**). La résistance plasmidique a été retrouvée chez les animaux d'élevage, les végétaux, et dans l'écosystème agricole (**Abdullah et al., 2023**). De plus, l'épandage de fumier contaminé sur les sols agricoles constitue un vecteur préoccupant pour la dissémination environnementale de ces gènes de résistance (**Touati and Mairi, 2021**).

Les métaux lourds représentent un risque environnemental important dans les écosystèmes agricoles, en particulier dans les sols irrigués par des eaux usées ou fertilisés par des fumiers d'origine animale ou minérale. Bien que certains métaux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le fer (Fe), le manganèse (Mn) et le molybdène (Mo) soient essentiels à la croissance des plantes, d'autres comme le cadmium (Cd), le plomb (Pb) et le mercure (Hg) peuvent s'accumuler à des niveaux toxiques et nuire à la productivité agricole (**Kharazi et al., 2021 ; Rashid et al., 2023**).

Les pratiques agricoles intensives, notamment l'utilisation des phytosanitaires et des fertilisants minéraux, contribuent fortement à la contamination des sols et des eaux de surface par ces métaux (**Alam et al., 2020 ; Wei et al., 2020**). Cette contamination favorise l'émergence de bactéries tolérantes aux métaux lourds par divers mécanismes des ions métalliques tels que la séquestration intracellulaire, l'efflux actif ou la biotransformation. Parfois, cela peut aussi conduire à une co-résistance avec les antibiotiques (**Giller et al., 1998 ; Singh et al., 2024**). Ces mécanismes de résistance aux métaux peuvent également être génétiquement liés aux gènes de résistance aux antibiotiques (co-résistance) ; ils peuvent partager leur mécanisme de résistance avec les antibiotiques (résistance croisée), ou encore être exprimés en même temps que ces gènes en raison de systèmes de régulation liés (co-régulation). Ils peuvent se produire dans une grande variété d'environnements, y compris les eaux usées, les eaux douces, le fumier et les sols, en fonction de leur biodisponibilité (**Murray et al., 2024**).

La surveillance des bactéries résistantes aux antibiotiques est devenue de plus en plus courante dans la recherche sur la sécurité alimentaire, reflétant une prise de conscience

croissante des risques liés à la résistance aux agents antimicrobiens dans les systèmes agricoles. Cependant, cela reste difficile, car il existe des pratiques agricoles variées et des conditions environnementales différentes qui peuvent influencer la persistance et la propagation des gènes de résistances. Ce défi est particulièrement évident dans les pays à revenu faible et intermédiaire, où la diversité des conditions environnementales et les ressources limitées compliquent encore davantage la mise en place de systèmes de surveillance cohérents et efficaces (**Ombelet et al., 2022**).

En Algérie, plusieurs travaux de recherche ont documenté la présence de bactéries pathogènes résistantes dans fruits et légumes. Bellil et collaborateurs (2024) ont mis en évidence une contamination de pastèques par des souches de *Salmonella sp.* résistantes à l'acide nalidixique, à l'ofloxacine et à la ciprofloxacine. Par ailleurs, des bacilles à Gram négatif producteurs de carbapénémases tels que blaOXA-48 et blaVIM-4 ont été identifiés dans des échantillons de légumes frais (**Mesbah Zekar et al., 2017 ; Chelaghma et al., 2022**). D'autres études ont également rapporté la présence d'entérobactéries productrices de BLSE de type blaCTX-M isolées de végétaux destinés à la consommation (**Mesbah Zekar et al., 2017**).

La contamination peut survenir à différents stades durant la culture, la récolte, du conditionnement ou du transport. Ces étapes, souvent réalisées dans des conditions d'hygiène précaires, favorisent la colonisation des fruits et légumes par des bactéries multirésistantes (**Jiménez-Belenguier et al., 2023**). Toutefois, les études portant spécifiquement sur le rôle de l'environnement agricole comme réservoir de résistance restent peu nombreuses en Algérie. Certaines recherches ont malgré tout identifié des bactéries productrices de carbapénémases dans des eaux de rivière (**Tafoukt et al., 2017**) et dans des effluents hospitaliers (**Yousfi et al., 2019**). D'autres travaux ont démontré la présence de souches d'*E. coli* résistantes à la colistine et porteuses des gènes *mcr-1* et *mcr-3* dans l'eau d'irrigation, les sols agricoles et le fumier utilisés pour l'amendement des cultures (**Touati et al., 2020 ; Chelaghma et al., 2022**). Cependant, la prévalence de la résistance aux antibiotiques, en particulier aux carbapénèmes et à la colistine, reste peu connue, tout comme celle des métaux lourds et des facteurs de virulence qui y sont associés.

Ainsi, le présent travail a pour objectif de rechercher et de mettre en évidence la présence de souches d'entérobactéries résistantes et virulentes dans les sols cultivés, le fumier utilisé pour l'épandage, ainsi que dans les eaux d'irrigation, en tant que sources potentielles de contamination avant la récolte. Cela sera réalisé par l'isolement et l'identification des souches

d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes, à la colistine, ainsi qu'aux métaux lourds, tout en recherchant certains traits de virulence. À cet effet, des échantillons provenant d'exploitations maraîchères situées dans les régions de Béjaïa et Jijel ont été étudiés.

# *Matériel et Méthodes*

## I. Cadre et objectifs de l'étude

Cette étude a été menée entre mars et mai 2025 au sein du laboratoire de Microbiologie de l'Université Abderrahmane Mira de Béjaïa. Durant cette étude, un total de 82 prélèvements a été effectué dans sept (07) fermes maraîchères situées dans les wilayas de Béjaïa et de Jijel. Les échantillons ont été prélevés à partir de sols cultivés, d'eaux d'irrigation et de fumiers utilisés comme fertilisants (Annexe 1). Le tableau ci-dessous présente la répartition des échantillons selon leur origine et leur localisation.

**Tableau I : Répartition des échantillons par localité et par origine de prélèvement**

Wilaya	Localisation de la ferme	Sol	Eau irrigation	Fumier	Types de production	Types de culture
<b>Bejaia</b>	<b>Akbou</b>	8	3	1	Petit-pois, Fève, Oignon	Plein champ
	<b>Allaghen Tazemalt</b>	14	6	5	Courgette, Tomate, Fève, Carde, Oignon, Epinard, Petit-pois, Haricot, Blette, Pastèque, Piment	Sous-serre / Plein champ
	<b>Boudjellil Ighil Ali</b>	5	2	1	Oignon, Petit-pois	Plein champ
	<b>Ighzer Amoukrane</b>	5	4	3	Artichaut, Oignon, Tomate, Laitue, Petit-pois	Plein champ
	<b>Biziou Amalou</b>	5	3	3	Epinard, Fève, Petit-pois, Ail	Plein champ
<b>Jijel</b>	<b>El Milia</b>	5	1	2	Pomme de terre, Fève, Courgette, Tomate, Oignon	Plein champ
	<b>Sidi Abdelaziz</b>	4	1	0	Fraise, Piment, Courgette, Fève	Plein champ

## II. Méthodes de prélèvement

### II.1. Prélèvement de sol cultivé

Les échantillons de sol ont été prélevés à proximité des systèmes racinaires des plantes, à une profondeur d'environ 10cm. Pour chaque type de légume sélectionné, environ 1 kg de sol a été recueilli à l'aide d'une pelle (voir figure 01)



Culture de courgette



Culture des épinards



Culture de pomme de terre



Culture de laitue

**Figure 01 : Photos de quelques sols cultivés par des légumes**

## **II.2. Prélèvement de Fumier**

Parallèlement, la même quantité de fumier a été prélevée à partir de tas utilisés pour l'épandage des cultures. Le fumier provenait de vache, chèvre, mouton et cheval. Les échantillons ont été mis dans des sacs propres et transportés au laboratoire (figure 02).



Fumier de mouton utilisé à Tazemalt



Fumier de cheval prélevé à Jijel

**Figure 02 : Exemple de fumiers utilisés pour l'épandage**

### **II.3. Prélèvement de l'eau utilisé pour l'irrigation**

L'eau utilisée pour l'irrigation des légumes et des fruits situés dans chaque ferme a été prélevée à raison de 1L dans des flacons stériles (figure 3). Ces derniers ont été étiquetés puis acheminés au laboratoire pour être analysée.



Bassins d'eau à Tazmalt



Eau de puits à Jijel

**Figure 03 : Exemple de source d'eaux utilisées pour l'irrigation**

## **III. Criblage des souches d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques**

### **III.1. Préparation des cultures**

Un enrichissement a été réalisé pour les échantillons de sol et de fumier en ajoutant 25g de chaque échantillon à 50ml du bouillon nutritif. Après agitation, les milieux d'enrichissements ont été incubés à 37°C pendant 24h.

Les échantillons d'eaux ont été filtrés à l'aide d'un système de filtration contenant une membrane en nitrate de cellulose stérile de 0.22µm de diamètre. Une fois, la filtration terminée, le filtre a été récupéré et introduit dans un flacon contenant 4ml de bouillon nutritif puis incubé à 37°C pendant 24h.

### **III.2. Criblage de souches résistantes au carbapénème sur milieu CarbaMTL Broth**

A partir des bouillons d'enrichissement positifs, 50µl ont été prélevés et ajoutés à 1ml du bouillon CarbaMTL (Mairi, Touati, Levigne) puis incubés à 37°C /24h. Ce milieu 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 bouillons MTL positifs ont été ensemencés sur des boites contenant de la gélose Mac Conkey ou EMB (éosine au bleu de méthylène). Après incubation à 37°C /24h, les boites ont été examinées selon les caractères cultureux des souches obtenus (forme, couleur, aspect, l'odeur). Le repiquage a été effectué pour chaque type de colonies successivement sur la même gélose jusqu'à obtention d'une culture pure.

### **III.3. Criblage de souches d'entérobactéries résistantes à la colistine**

A partir des bouillons d'enrichissement, une gélose spécifique aux bacilles à Gram négatif additionnée de 0.4µg/ml de colistine et de 64µg/ml de vancomycine a été ensemencée. Les boites ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, les colonies ont fait l'objet d'un repiquage successif sur le même milieu jusqu'à obtention d'une culture pure (Bardet et al., 2017).

## **IV. Identification des souches résistantes**

L'identification bactérienne a été réalisée en premier lieu par un criblage sur 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.

L'identification des espèces a été réalisée comme suit ;

- ✓ Les colonies de couleur bleu métallique appartenant au groupe KES (*Klebsiella-Enterobacter-Serratia*) ont été distinguées sur la base de présence de l'uréase, production d'indole, utilisation du citrate comme seul source de carbone et de la fermentation des sucres sur milieu TSI ;
- ✓ Les colonies de couleur rose suspectées d'être *E. coli* ont été confirmées par le repiquage sur gélose EMB pour l'observation du reflet vert métallique et de la recherche de la production d'indole à 44°C.

## V. Étude de la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques

La sensibilité des souches sélectionnées *vis-à-vis* des  $\beta$ -lactamines 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 et du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (EUCAST CA-SFM, 2024).

À partir d'une culture bactérienne de 24h, on réalise une suspension bactérienne en dissociant 4 à 5 colonies dans 4 ml d'eau physiologique stérile pour un inoculum d'environ 0.5 Mac Ferland ( $\approx 10^8$  UFC/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 gélases à l'aide d'une pince stérile.

Les boîtes ont été ensuite incubées pendant 24h à 37°C. 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 (2024) et CA-SFM (2013) (Tableau II).

**Tableau II : Antibiotiques testés**

Antibiotiques	Abréviation	Charge en $\mu\text{g}$	Marque	Diamètres critiques selon (ECAST CA-SFM, 2024)	
				S $\geq$	<R
<b>Amoxicilline + acide clavulanique</b>	AMC	30	Bioanalyse	19	19
<b>Céfotaxime</b>	CTX	30	Oxoid	20	17
<b>Céftazidime</b>	CAZ	30	Bioanalyse	22	19
<b>Céfoxitine</b>	FOX	30	Bioanalyse	18	18
<b>Imipénème</b>	IMP	10	Bioanalyse	22	19
<b>Aztéonam</b>	ATM	30	Oxoid	26	21
<b>Eertapénème</b>	ETP	10	Oxoid	23	23
<b>Meropénème</b>	MRP	10	Liofilchem	22	16

## **VI. Recherche de la production de $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE)**

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 de 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. Méthode d'inactivation des Carbapénèmes (CIM)**

Le test CIM est une méthode phénotypique de détection des différents types de carbapénémases (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, utilisée comme témoin négatif, ainsi qu'une souche productrice d'une carbapénémase, utilisée comme témoin positif, et une souche à tester, dans des tubes Eppendorf stériles contenant 500  $\mu$ l d'eau physiologique stérile.

Ensuite, un disque de méropénème de 10  $\mu$ g est introduit dans la suspension. Les tubes Eppendorf ont incubés à 37°C pendant 3 heures. À l'issue de cette incubation, les disques de méropénème sont retirés à l'aide d'une anse de platine et déposés sur une boîte de gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée avec une souche d'*E. coli* (ATCC 25922). L'incubation est ensuite poursuivie à 37°C pendant 24 heures. La lecture a été faite en mesurant les diamètres des zones d'inhibitions chez les souches testées et des témoins. L'interprétation en sensible, résistante et intermédiaire est réalisée conformément aux recommandations de l'EUCAST (2024).

## **VIII. Analyse de la tolérance des souches isolées aux Métaux lourds**

Étudier l'impact des métaux sur la flore du sol, l'eau d'irrigation et le fumier peut fournir des informations précieuses sur la pollution environnementale ainsi que sur la co-résistance aux antibiotiques. Dans cette optique, des souches d'entérobactéries ont été isolées à partir de ces écosystèmes en utilisant une gélose Mac Conkey à partir des bouillons de culture respective.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de 4 métaux lourds à savoir le cuivre, le cadmium, le plomb et zinc ont été déterminées pour chaque souche isolée. Des géloses Mueller Hinton ont été additionnées de concentrations en sels de métaux allant de 100, 200, 400 800µg/mL pour le Cu, Cd, Zn et de 800, 1600, 2400 et 3200µg/mL pour le Pb.

Une suspension bactérienne a été préparée à une densité de 0.1 ( $10^8$  UFC/ml) dans de l'eau physiologique. Par la suite, 10µl de chaque suspension bactérienne ont été 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 nu (**Işık et Akkan, 2021**).

La résistance des souches d'entérobactéries *vis-à-vis* des métaux lourds a été déterminée ont comparant les valeurs des CMIs obtenues à celles de la souche standard *E. coli* K12 rapporté dans la littérature (**Tableau III**). Si la souche étudiée peut se développer dans un environnement avec une concentration supérieur à la CMI de la souche d'*E. coli* K12, elle est considérée comme résistante (Işık et Akkan, 2021).

**Tableau III : Niveaux de résistance de la souche *E. coli* K12 *vis-à-vis* des métaux lourds testés (Işık et Akkan, 2021)**

Métaux lourds	CMI (µg/mL)
Cuivre	100
Cadmium	200
Plomb	1600
Zinc	100

## **IX. Détection de quelques facteurs de virulence**

### **IX.1. Recherche de la production de lipase**

Les isolats ont été repiqués sur une gélose enrichie en Tween 80. Une culture bactérienne a été déposée sous forme de spots de 10µl, directement à la surface du milieu, puis incubées à 37 °C/24 heures. La production de lipase se traduit par l'apparition d'une zone trouble autour des spots (**Mobarak-Qamsari et al., 2011**).

### **IX.2. Test de production de protéase**

La recherche de la production de protéase a été réalisée sur gélose au lait écrémé. Une culture bactérienne a été déposée sous forme de spots de 10µl, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures. L'apparition d'une zone claire autour des spots traduit une activité protéasique, correspondant à la dégradation des caséines du lait (**Noomi, 2018**).

### **IX.3. Recherche de l'hémolysine**

La détection de la production d'hémolysine a été réalisée sur une gélose contenant 5 % de sang humain. Une culture bactérienne a été déposée sous forme de spots de 10µl, directement à la surface du milieu, puis incubées à 37 °C/24 heures. L'apparition d'un halo clair autour des colonies indique une activité hémolytique (**Jasm et Yassein, 2020**).

# *Résultats et Discussion*

## I. Répartition des prélèvements

Dans le cadre de cette étude, 82 échantillons ont été collectés à partir de sept exploitations maraîchères réparties dans les wilayas de Béjaia (n = 58) et de Jijel (n = 24). Ces prélèvements comprenaient 45 échantillons de sol (annexe 01, tableau I), 17 échantillons de fumier (annexe 01, tableau II) et 20 échantillons d'eau d'irrigation (annexe 01, tableau III). Cette diversité d'échantillons a permis d'avoir une vue d'ensemble sur les différentes sources potentielles de contamination des fruits et légumes consommés dans ces régions.

## II. Criblage des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes

L'enrichissement sur bouillon nutritif a montré des résultats positifs pour tous les échantillons, dont 04 étaient positifs sur le milieu CarbaMTL. Au total, 04 souches appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* ont été isolées et purifiées pour des analyses complémentaires. Parmi celles-ci, on compte 02 souches de *K. pneumoniae*, 01 souche de *K. oxytoca* et 01 souche de *Serratia* sp. Les caractéristiques biochimiques et culturelles sur chromagar orientation des souches sont résumées en Annexe 01 (tableau 3).

D'après le tableau ci-dessous, les souches identifiées ont été isolées principalement à partir d'échantillons de l'eau (E7, E21 et E22), à l'exception d'une seule souche qui a été isolée à partir d'un sol cultivé (S39) par des petits-pois.

**Tableau IV : Répartition des souches isolées par régions et par types de prélèvement**

Code	Espèce	Types de prélèvement	Origine	Région	Type de production
E21	<i>K. pneumoniae</i>	Eau d'irrigation	Basin de Reserve	Béjaia	Laitues
E22	<i>K. oxytoca</i>	Eau d'irrigation	Basin de Reserve	Bejaia	Courgettes
E7	<i>K. pneumoniae</i>	Eau d'irrigation	Eau de barrage Tichihaf	Biziou (Amalou)	Fèves
S39	<i>Serratia</i> sp	Sol	Plein champ	Boudjellil (Ighil Ali)	Petit-pois

### III. Criblage des souches d'entérobactéries résistantes à la colistine

Le criblage sur gélose additionnée de 4 µg/ml de colistine a été positif pour 21 échantillons. Un criblage sur gélose chromagar orientation a ensuite été réalisé afin d'éliminer les souches présentant une résistance intrinsèque à la colistine. L'identification des souches isolées a permis de mettre en évidence 09 souches d'*Enterobacter* sp., 04 souches d'*E. coli* et 01 souche de *K. oxytoca* (Figure 04).

Les souches d'*Enterobacter* sp. et d'*E. coli* ont été isolées à partir de sol cultivé et de fumier utilisé pour épandage. Toutefois, la souche de *K. oxytoca* a été isolée de l'eau d'irrigation d'une parcelle d'artichaut à Ighzer Amoukrane wilaya de Bejaia (tableau V).

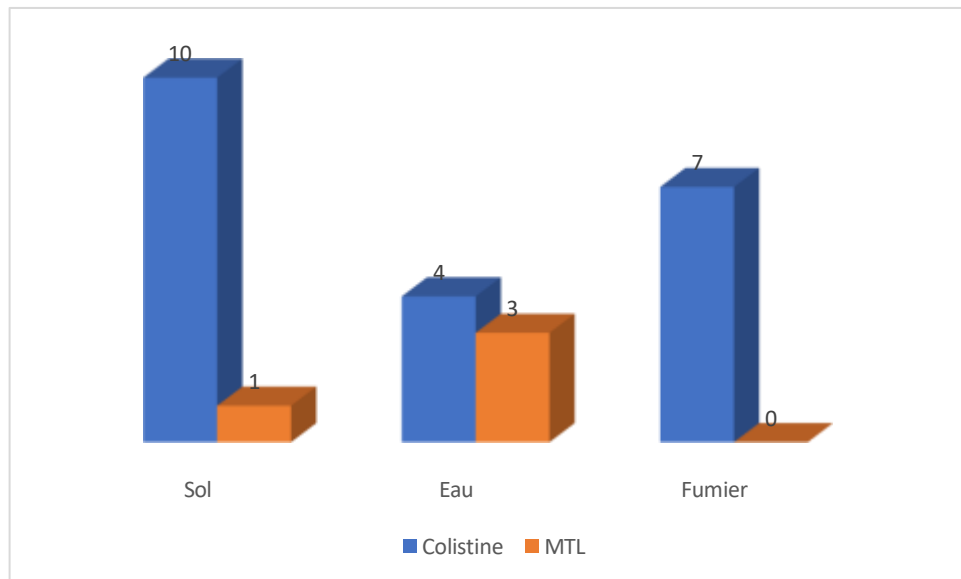
**Tableau V : Répartition des souches isolées par région et par types de prélèvement**

Code	Espèces	Types de prélèvement	Types de production	Région
LBS17 (2)	<i>Enterobacter</i> sp.	Sol	Blette	Allaghen (Tazemalt)
LBS18	<i>Enterobacter</i> sp.	Sol	Tomate	Allaghen (Tazemalt)
LBS44	<i>E coli</i>	Fumier	Fève	Allaghen (Tazemalt)
LBF3	<i>E coli</i>	Fumier	Oignon	Allaghen (Tazemalt)
LBF5	<i>E coli</i>	Sol	Oignon	Boudjellil (Ighil Ali)
LBF9	<i>Enterobacter</i> sp.	Fumier	Fève	Biziou (Amalou)
LBF12	<i>E coli</i>	Fumier	Fève	Biziou (Amalou)
LBF14 (1)	<i>Enterobacter</i> sp.	Eau	Epinard	Biziou (Amalou)
LBF14 (2)	<i>Enterobacter</i> sp.	Fumier	Artichaut	Ighzer Amoukrane
LBF17 R	<i>Enterobacter</i> sp.	Fumier	Artichaut	Ighzer Amoukrane
LBE4 M	<i>Enterobacter</i> sp.	Eau	Artichaut	Ichakhounen (Ighzer Amoukrane)
LBE4 R	<i>K. oxytoca</i>	Eau	Artichaut	Ichakhounen (Ighzer Amoukrane)
LBE5	<i>Enterobacter</i> sp.	Eau	Fève	Sidi Ali Akbou
LBE6	<i>Enterobacter</i> sp.	Fumier	Fève	Jijel (El Milia)

### IV. Répartition des souches isolées selon l'origine des prélèvements

Selon la figure 04 ci-dessous, les souches résistantes aux carbapénèmes ont été retrouvées principalement dans les échantillons de l'eau (E7, E21, et E22), à l'exception d'une seule souche qui a été isolée à partir du sol cultivé (S39). En revanche, les souches résistantes à la colistine ont été isolées majoritairement à partir des échantillons de sol cultivé suivi des échantillons du fumier.

L'eau utilisée dans les fermes visitées provient généralement de puits, de barrages ou d'eau de fourrage. Cependant, certains agriculteurs utilisent aussi l'eau de rivière, comme c'est le cas dans une ferme située à El Milia (Jijel).



**Figure 04. Répartition des souches isolées sur les différents milieux utilisés selon leurs origines de prélèvement**

## **V. Étude de la sensibilité des souches isolées sur milieu Carba-MTL**

La sensibilité des souches d'entérobactéries isolées a été évaluée par la méthode standard sur gélose Mueller-Hinton selon les recommandations de EUCAST (2024). Les quatre souches isolées ont montrées une résistance aux carbapénèmes testés à savoir l'ertapénème ou le méropénème. La totalité (3/4) des souches ont montrées une résistance *vis-à-vis* du céftazédime, à l'amoxicilline-acide clavulanique ainsi qu'à l'aztréonam. Toutefois, deux souches uniquement été résistantes au céfotaxime. Le tableau ci-dessous illustre les caractéristiques des souches résistantes aux  $\beta$ -lactamines testées.

Tableau VI : Caractéristiques des souches résistantes aux carbapénèmes

Code	Espèces	Types de prélèvement	Profil de résistance aux $\beta$ -lactamines										Test CIM	Synergie
			AMC		ATM		CTX		CAZ		MRP/ETP			
E21	<i>K. pneumoniae</i>	Eau	15	R	21	S	24	S	20	S	18	R	+	+
E22	<i>K. oxytoca</i>	Eau	6	R	15	R	10	R	6	R	18	R	+	+
E7	<i>K. pneumoniae</i>	Eau	10	R	20	R	8	R	12	R	18	R	+	-
S39	<i>Serratia sp.</i>	Sol	26	S	20	R	18	I	10	R	18	R	+	-

### V.1. Recherche de la production de carbapénémase

Le test CIM a permis de mettre en évidence la production probable d'une carbapénémase chez les quatre souches résistantes à ertapénème/méropénème. La figure suivante illustre un résultat positif chez une souche de *K.pneumoniae* (E7) isolée à partir d'une eau l'irrigation et une souche de *Serratia sp.* (S39) isolée à partir d'un sol cultivé.



Figure 05. Test CIM positif chez une souche de *K. pneumoniae* (E7), et une souche de *Serratia sp.* (S39)

### V.2. Recherche de la production de BLSE

Le test de synergie a permis de mettre en évidence une image de synergie en bouchon de champagne, chez une souche de *K. pneumoniae* E21 et une souche de *K. oxytoca* E22 indiquant ainsi la production probable d'une BLSE (figure 06). Ces deux souches ont montrés une sensibilité réduite *vis-à-vis* de l'ertapénème.



Figure 06. Test de synergie positif chez la souche d' *K. pneumoniae* E21

## VI. Etude de la sensibilité des souches isolées sur gélose à la colistine aux antibiotiques

Le tableau ci-dessous montre le profil de résistance des souches isolées sur gélose additionnée de colistine. La majorité de ces souches sont sensibles à la plupart des antibiotiques testés, mais quelques-unes présentent des résistances notables. Quatre souches d'*Enterobacter* sp. sont résistantes à AMC et à la céfoxitine. Les carbapénèmes n'ont pas été testés chez ces souches.

Tableau VII. Sensibilité des souches Entérobactéries isolées sur milieu additionné de colistine aux antibiotiques

Code	Espèces	Types de prélèvement	Région	Type de culture	Profil de résistance aux $\beta$ -lactamines									
					AMC		ATM		FOX		CTX		CAZ	
<b>LBS17 (2)</b>	<i>Enterobacter sp.</i>	Sol	Allaghen (Tazemalt)	Blette	12	R	28	S	6	R	30	S	22	S
<b>LBS18</b>	<i>Enterobacter sp.</i>	Sol	Allaghen (Tazemalt)	Tomate	10	R	28	S	6	R	30	S	24	S
<b>LBS44</b>	<i>E coli</i>	Sol	Boudjellil (Ighil Ali)	Oignon	S	S	36	S	S	S	38	S	40	S
<b>LBF3</b>	<i>E coli</i>	Fumier	Allaghen (Tazemalt)	Fève	28	S	26	S	ND		32	S	24	S
<b>LBF5</b>	<i>E coli</i>	Fumier	Allaghen (Tazemalt)	Oignon	30	S	34	S	3	S	30	S	24	S
<b>LBF9</b>	<i>Enterobacter sp.</i>	Fumier	Biziou (Amalou)	Fève	20	S	32	S	ND		28	S	24	S
<b>LBF12</b>	<i>E coli</i>	Fumier	Biziou (Amalou)	Fève	S	S	36	S	3	S	34	S	22	S
<b>LBF14 (1)</b>	<i>Enterobacter sp.</i>	Fumier	Ighzer Amoukrane	Artichaut	8	R	30	S	1	R	30	S	36	S
<b>LBF14 (2)</b>	<i>Enterobacter sp.</i>	Fumier	Ighzer Amoukrane	Artichaut	8	R	30	S	1	R	30	S	36	S
<b>LBF17 R</b>	<i>Enterobacter sp.</i>	Fumier	Jijel (El Milia)	Fève	S	S	34	S	2	S	36	S	18	R
<b>LBE4 M</b>	<i>Enterobacter sp.</i>	Eau	Ichakhounen (Ighzer Amoukrane)	Artichaut	S	S	26	S	S	S	24	S	20	S
<b>LBE4 R</b>	<i>K. oxytoca</i>	Eau	Ichakhounen (Ighzer Amoukrane)	Artichaut	S	S	30	S	2	S	30	S	22	S
<b>LBE5</b>	<i>Enterobacter sp.</i>	Eau	Sidi Ali (Akbou)	Fève	S	S	30	S	S	S	34	S	21	S
<b>LBE6</b>	<i>Enterobacter sp.</i>	Eau	Biziou (Amalou)	Epinard	24	S	32	S	ND		28	S	20	S

## VII. Etude de la sensibilité des souches aux métaux lourds

### VII.1. Etude de la sensibilité des souches résistantes aux carbapénèmes vis-à-vis des métaux lourds

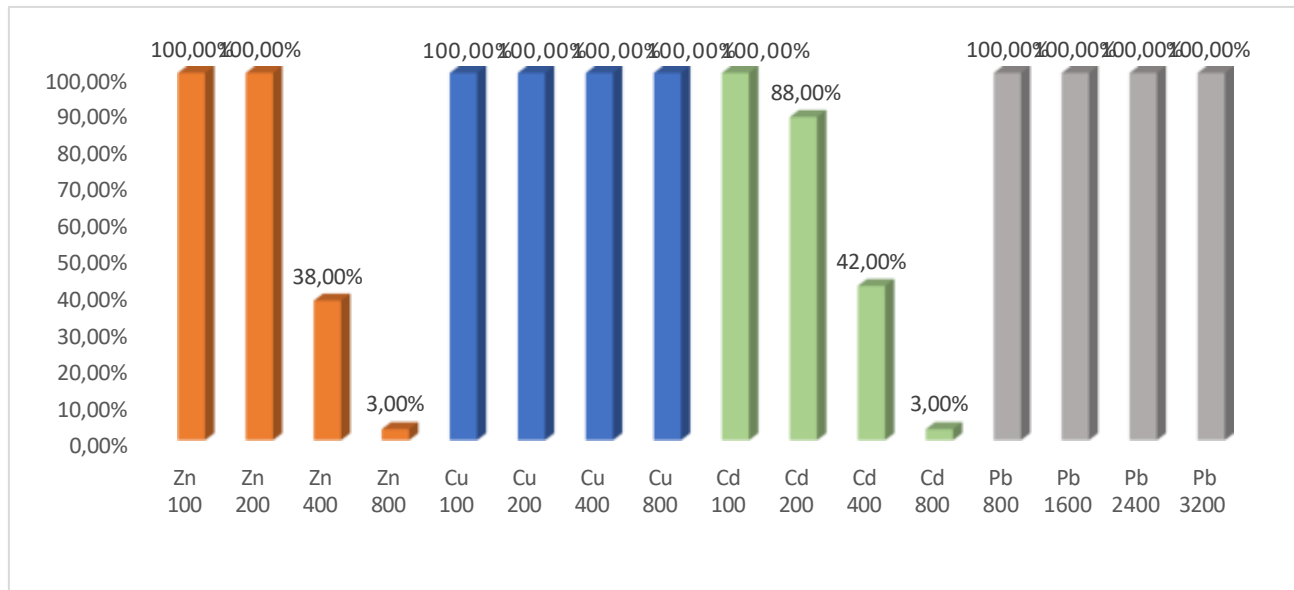
Les souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases associées ou non à une BLSE ont montrés des concentrations minimales inhibitrices de 800µg/mL vis-à-vis du cadmium et du zinc et supérieure à 800 et à 3200 µg/mL vis-à-vis du plomb et du cuivre respectivement (Tableau VIII). L'ensemble des souches bactériennes analysées démontre un profil de résistance élevée et vis-à-vis des quatre métaux lourds testés (Zn, Pb, Cd et Cu).

**Tableau VIII. Détermination des CMI et des phénotypes de résistance aux métaux lourds chez les souches résistantes aux carbapénèmes**

Code	Espèce	Origine	CMI Zn	Phénotype Zn	CMI Pb	Phénotype Pb	CMI Cd	Phénotype Cd	CMI Cu	Phénotype Cu
E21	<i>K. pneumoniae</i>	Eau	800	R	>3200	R	800	R	>800	R
E22	<i>K. oxytoca</i>	Eau	800	R	>3200	R	800	R	>800	R
E7	<i>K. pneumoniae</i>	Eau	800	R	>3200	R	800	R	>800	R
S39	<i>Serratia sp.</i>	Sol	800	R	>3200	R	800	R	>800	R

### VII.2. Étude de la sensibilité des souches résistantes à la colistine vis-à-vis des métaux lourds

La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) révèle que les souches résistantes à la colistine présentent une CMI supérieure à 800 µg/mL pour le cuivre. En ce qui concerne le zinc, les CMI varient de 400 à plus de 800 µg/mL, tandis que celles du cadmium se situent entre 200 et plus de 800 µg/mL. En revanche, une résistance marquée est observée vis-à-vis du plomb, avec des CMI comprises entre 3200 et plus de 3200 µg/mL (Figure 07). Contrairement aux antibiotiques, ces souches sont résistantes à l'ensemble des métaux lourds testés (annexe).

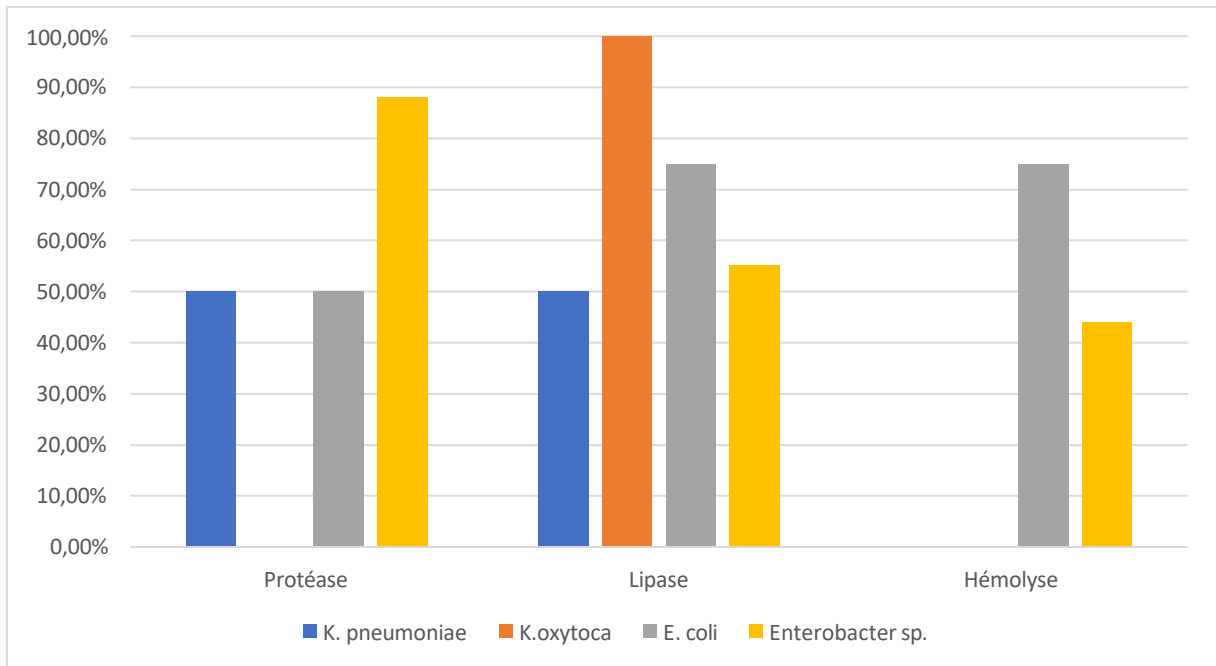


**Figure 07. Taux de résistance des souches isolées vis-à-vis aux différentes concentrations de cuivre, zinc et cadmium en (µg/ml)**

### VIII. Détection de quelques facteurs de virulence

La figure ci-dessous illustre la répartition des principaux facteurs de virulence produit chez les souches d'entérobactéries isolées dans cette étude. Nos résultats montrent que les espèces isolées présentent des profils de virulence variés, suggérant des mécanismes d'adaptation différenciés selon le type d'espèce.

L'analyse phénotypique a révélé une production significative d'enzymes extracellulaires associées à la virulence, notamment des lipases, des protéases et des hémolysines. Les résultats montrent une expression particulièrement élevée de l'activité lipolytique chez les souches étudiées. Par contre l'activité hémolytique est majoritairement détectée chez les souches d'*E. coli* (75 %) Les souches étudiées montrent une association marquée entre certains trait de virulence via la production d'enzyme lytiques, la résistance aux antibiotiques (notamment aux carbapénèmes, aux C3G et colistine) et aux métaux lourds (cuivre, zinc, plomb, cadmium).



**Figure 08. Répartition des principaux facteurs de virulence produit chez les souches d'entérobactéries isolées**

## **Discussion**

La contamination des fruits et légumes par des bactéries résistantes aux antibiotiques peut se produire à différents stades de la chaîne de production, en amont comme en aval de la récolte. En phase pré-récolte, plusieurs sources environnementales sont impliquées. L'utilisation de fumier animal, l'eau d'irrigation non conformes (notamment issues d'eaux usées ou de d'eau de sources polluées), ainsi que des sols déjà contaminés par des souches résistantes, constituent les principales voies d'introduction de bactéries multirésistantes ainsi que des gènes de résistances dans les cultures maraîchères (Alegbeleye et al., 2018 ; Iwu and Okoh, 2019). Ces environnements agricoles peuvent servir de réservoirs pour des pathogènes tels que *E. coli*, *K. pneumoniae* ou *Enterobacter spp.*, capables de survivre et de persister dans ces niches tout au long du cycle de production (Han et al., 2018).

Durant cette étude, 18 souches d'entérobactéries ont été isolées et identifiées, dont 04 souches ont été isolées à partir des sols cultivés, 07 souches à partir de l'eau d'irrigation et 07 souches à partir du fumier. *Enterobacter sp.* est l'espèce la plus dominante (n=9) suivie par *E. coli* (n=4). Egalement 02 souches de *K. pneumoniae* et de *K. oxytoca* et une souche de *Serratia sp.* ont été identifiées. La famille des *Enterobacteriaceae* font généralement partie de la flore normale de l'homme et des animaux. Elle comprend de nombreuses espèces couramment isolées à partir de cultures cliniques, notamment *E. coli*, *Klebsiella sp.* et *Enterobacter spp.* Elle représente la cause principale de maladies communautaires et de maladies liées aux soins. Au fil du temps ces bactéries ont développé une capacité innée à proliférer en développant une résistance aux agents antimicrobiens existants les rendant inefficaces en particulier *vis-à-vis* des antibiotiques de dernière ligne (Tilahun et al., 2021). Ces souches bactériennes issues des intestins humains et animaux, se retrouvent également dans l'environnement (plantes, sol, eaux usées). Ces pathogènes, prioritaires pour la recherche de nouveaux antibiotiques, posent un risque majeur en raison de leur résistance croissante, notamment dans les écosystèmes agricoles (Kalpana et al., 2024).

Dans la présente étude, seules quatre souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes ont été isolées à savoir deux souches de *K. pneumoniae*, une souche de *K. oxytoca* et une souche de *Serratia sp.* La majorité de ces isolats ont été isolés à partir de l'eau utilisée pour l'irrigation des cultures, tandis qu'une souche de *Serratia sp.* a été isolée à partir d'un sol cultivé. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Kiliane et Mammase

(2024), mais contrastent avec les observations de Hamga et Hammar (2023), qui ont rapporté une sensibilité totale des entérobactéries aux carbapénèmes. Cette variabilité des résultats pourrait être expliquée par les différences dans les sources et voies de contamination selon les zones de production. En effet, chaque exploitation agricole présente une configuration spécifique de facteurs de risque environnementaux, incluant la topographie, les pratiques culturales et les conditions climatiques locales. Ces paramètres influencent directement la présence, la persistance et la transmission des agents pathogènes d'origine environnementale, et donc, le risque de contamination des produits agricoles (**Alegbeleye et al., 2018**).

L'eau d'irrigation contaminée a souvent été impliquée dans la transmission de souches multirésistantes aux cultures. Des analyses génomiques ont révélé une forte similarité entre les bactéries isolées de l'eau, du sol et des plantes, indiquant un transfert environnemental. De plus, la proximité génétique entre ces souches et celles retrouvées dans les tissus végétaux suggère un résistome partagé, confirmant leur rôle en tant que réservoirs de bactéries résistantes (**Stocker et al., 2023 ; Shreshtha et al., 2024**). Nos résultats confirment ces observations par l'isolement de souches productrices de carbapénémase à partir de l'eau d'irrigation et du sol cultivé au cours de cette étude.

En raison de contraintes croissantes liées au changement climatique, à la rareté de l'eau, à la croissance démographique et à l'insuffisance des infrastructures de traitement, de nombreux agriculteurs, en particulier dans les régions arides, ont recours à l'utilisation d'eaux usées brutes ou partiellement traitées pour irriguer leurs cultures (**Faour-klingsbeil et al., 2018**). Dans cette étude, on a constaté que l'eau utilisée pour l'irrigation des récoltes été principalement une eau de puits situé dans les productions. Ces eaux, souvent issues des eaux usées, de drainage ou de réserves difficiles à traiter, peuvent contenir des agents pathogènes tels que bactéries, virus ou parasites. Lors de leur utilisation, ces agents peuvent transférer directement vers la surface ou l'intérieur des produits agricoles, compromettant leur sécurité sanitaire. La contamination peut survenir à différents stades, notamment lors de l'arrosage, du contact avec le sol ou des manipulations après la récolte (**Alegbeleye et al., 2018**).

La présence de souches productrices de BLSE dans les milieux agricoles constitue une menace croissante à l'échelle mondiale, comme l'ont démontré plusieurs études. Des entérobactéries productrices de *bla*CTX-M-55, *bla*CTX-M-65 et *bla*CTX-M-15 ont été identifiées chez des souches isolées à partir des sols, du fumier et des eaux d'irrigation en Amérique du Sud (**Montero et al., 2021**). Des gènes *bla*CTX-M, *bla*CMY et *bla*SHV ont

également été détectés au Népal et au Canada (Subramanya et al., 2021 ; Anderson et al., 2023). Tandis que les gènes *bla*CTX-M-1, *bla*CTX-M-14 et *bla*CTX-M-15 ont été retrouvés en Tunisie (Ben Said et al., 2015) et en Chine (Zheng et al., 2017). L'association de plusieurs gènes de résistance incluant la production de BLSE, de NDM-1 et la présence du gène *mcr-1* ont été rapporté chez des souches d'*E.coli* isolé de sol cultivé (Zheng et al., 2017).

En Algérie, la diversité des mécanismes de résistance aux antibiotiques observée dans les environnements agricoles est largement attribuée à la dissémination de la résistance plasmidique à la colistine. Des études menées par Touati et al. (2020) et Chelaghma et al. (2022) ont mis en évidence la présence du gène *mcr-like* chez des souches d'*Escherichia coli*, *Enterobacter sp.*, *Citrobacter sp.* et *Klebsiella sp.*, isolées à partir de sols, d'eaux d'irrigation et de fumiers issus d'exploitations agricoles locales. Dans cette étude 14 souches ont été isolés sur gélose additionnée de 4µg/ml de colistine. Toutefois, il n'est pas possible de conclure avec certitude que ces souches sont résistantes à cet antibiotique. Faute de temps, les résultats de la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) en milieu liquide pour la colistine n'ont pas pu être validés.

Malgré les données existantes, les informations restent limitées quant à la coexistence simultanée de résistances aux carbapénèmes, à la colistine et aux métaux lourds chez les bacilles à Gram négatif isolés des environnements agricoles, aussi bien à l'échelle internationale qu'en Algérie. Dans le cadre de notre étude, toutes les souches d'entérobactéries isolées ont présenté une résistance aux quatre métaux lourds testés (Zn, Pb, Cd et Cu). Ce phénomène s'explique par la remarquable capacité d'adaptation des microorganismes face aux pressions environnementales. Les résultats obtenus confirment que ces bactéries ont développé des mécanismes spécifiques de résistance aux métaux toxiques, leur permettant de survivre, se maintenir et même proliférer dans des environnements contaminés (Vats et al., 2022).

Les métaux lourds, omniprésents dans l'environnement à travers les effluents industriels, les rejets agricoles, les boues d'épuration et les pratiques aquacoles, exercent une pression de sélection continue sur les communautés microbiennes. Selon Vats et al., (2022), une corrélation positive entre la présence de métaux et les gènes de résistance aux antibiotique a été démontrée dans plusieurs compartiments environnementaux, notamment les sols agricoles, les zones minières, les systèmes d'aquaculture, les élevages porcins, les fermes laitières, ainsi que dans le microbiote intestinal d'animaux domestiques et sauvages.

La co-résistance entre le cuivre (Cu) et les antibiotiques est reconnue depuis plusieurs décennies. Des études récentes ont mis en évidence que le cuivre peut non seulement exercer une pression de co-sélection sur les gènes de résistance aux antibiotiques, mais également induire l'expression de certains facteurs de virulence. Par exemple, une augmentation significative de la production de pyoverdine a été observée chez *Pseudomonas aeruginosa* après exposition prolongée à de fortes concentrations de cuivre (**Lear et al., 2022**).

Bien que les liens entre métaux lourds, gènes de résistance aux antibiotiques et facteurs de virulence chez les souches multirésistantes d'entérobactéries restent encore peu étudiés, les résultats de cette étude apportent de nouvelles données en ce sens. En effet, certaines souches isolées ont montré la capacité à produire des enzymes lytiques telles que les lipases, protéases et hémolysines, associées à la virulence bactérienne. Ces mêmes souches présentaient une résistance concomitante aux antibiotiques, notamment aux carbapénèmes et aux céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération, ainsi qu'à plusieurs métaux lourds, suggérant une possible co-sélection de ces traits au sein de l'environnement agricole.

La détection de bactéries résistantes aux antibiotiques dans les sols agricoles et les eaux d'irrigation soulève des préoccupations majeures en matière de sécurité sanitaire des cultures maraîchères. Cette situation accroît le risque de transmission de ces agents pathogènes vers les fruits et légumes frais, souvent consommés sans cuisson, constituant ainsi une voie directe d'exposition pour les consommateurs. Pour limiter ce risque, il est essentiel d'améliorer les pratiques d'irrigation, notamment par l'utilisation d'eaux traitées respectant les normes microbiologiques en vigueur. Par ailleurs, une sensibilisation accrue des agriculteurs aux dangers liés à l'emploi de fumiers organiques non traités et d'eaux non conformes s'avère indispensable, afin de prévenir l'introduction et la dissémination de souches multirésistantes dans la chaîne alimentaire.

# *Conclusion*

## **Conclusion**

Cette étude met en évidence la présence de souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes, aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération et à la colistine dans l'environnement agricole de plusieurs exploitations maraîchères des wilayas de Béjaia et de Jijel. La consommation de fruits et légumes crus issus de ces sites, en particulier lorsqu'ils sont cultivés sur des sols amendés avec du fumier ou irrigués avec des eaux usées, pourrait constituer une voie de transmission de bactéries résistantes à l'homme via la chaîne alimentaire.

Les souches isolées ont également présenté une co-résistance à plusieurs métaux lourds tels que le cuivre, le cadmium, le plomb et le zinc. La contamination des sols, de l'eau et du fumier par ces souches résistantes à la fois aux antibiotiques et aux métaux lourds a été mise en évidence. Ainsi leur évaluation reste donc essentielle pour prévenir et gérer les risques liés à la dissémination de l'antibiorésistance dans le concept One Health

Au-delà de la caractérisation des profils de résistance, l'analyse de certains traits de virulence a révélé que plusieurs souches isolées étaient dotées de la capacité à exprimer des enzymes extracellulaires impliquées dans la pathogénicité, notamment des lipases et protéases. La coexistence de mécanismes de résistance aux antimicrobiens et de facteurs de virulence chez ces isolats constitue une menace préoccupante pour la santé publique, justifiant la mise en place de systèmes de surveillance intégrée et une réévaluation des pratiques agricoles.

Enfin, des études complémentaires, reposant sur un échantillonnage diversifié et élargi et à d'autres exploitations agricoles à grande échelle, sont nécessaires afin d'évaluer de manière plus précise l'ampleur du risque sanitaire, tant pour la santé publique que pour l'environnement.

*Références*  
*Bibliographiques*

- Abdullah, S., A. Almusallam, M. Li, M. S. Mahmood, M. A. Mushtaq, N. O. Eltai, M. A. Toleman and M. Mohsin (2023). "Whole genome-based genetic insights of bla NDM producing clinical E. coli isolates in hospital settings of Pakistant." *Microbiology Spectrum* 11(5): e00584-00523.
- Adenaya, A., A. A. Adeniran, C. L. Ugwuoke, K. Saliu, M. A. Raji, A. Rakshit, M. Ribas-Ribas and M. Könneke (2025). "Environmental Risk Factors Contributing to the Spread of Antibiotic Resistance in West Africa." *Microorganisms* 13(4): 951.
- Aksouh, M. Y., N. Boudieb, N. Benosmane, Y. Moussaoui, R. Michalski, J. Klyta and J. Kończyk (2024). "Presence of Heavy Metals in Irrigation Water, Soils, Fruits, and Vegetables: Health Risk Assessment in Peri-Urban Boumerdes City, Algeria." *Molecules* 29(17): 4187.
- Alam, M., Z. Hussain, A. Khan, M. A. Khan, A. Rab, M. Asif, M. A. Shah and A. Muhammad (2020). "The effects of organic amendments on heavy metals bioavailability in mine impacted soil and associated human health risk." *Scientia Horticulturae* 262: 109067.
- Alegbeleye, O. O., I. Singleton and A. S. Sant'Ana (2018). "Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: A review." *Food Microbiol* 73: 177-208.
- Anderson, R. E., G. Chalmers, R. Murray, L. Mataseje, D. L. Pearl, M. Mulvey, E. Topp and P. Boerlin (2023). "Characterization of Escherichia coli and other Enterobacterales resistant to extended-spectrum cephalosporins isolated from dairy manure in Ontario, Canada." *Applied and Environmental Microbiology* 89(2): e01869-01822.
- Anyanwu, M. U., I. F. Jaja and O. C. Nwobi (2020). "Occurrence and characteristics of mobile colistin resistance (mcr) gene-containing isolates from the environment: a review." *International journal of environmental research and public health* 17(3): 1028.
- Araújo, S., A. T. S. I, M. Tacão, C. Patinha, A. Alves and I. Henriques (2017). "Characterization of antibiotic resistant and pathogenic Escherichia coli in irrigation water and vegetables in household farms." *Int J Food Microbiol* 257: 192-200.
- Aune, D., A. Sen, T. Norat and E. Riboli (2020). "Dietary fibre intake and the risk of diverticular disease: a systematic review and meta-analysis of prospective studies." *European journal of nutrition* 59: 421-432.
- Bai, Y., J. Li, M. Huang, S. Yan, F. Li, J. Xu, Z. Peng, X. Wang, J. Ma and J. Sun (2024). "Prevalence and characterization of foodborne pathogens isolated from fresh-cut fruits and vegetables in Beijing, China." *International Journal of Food Microbiology* 421: 110804.
- Bardet, L., S. Le Page, T. Leangapichart and J.-M. Rolain (2017). "LBJMR medium: a new polyvalent culture medium for isolating and selecting vancomycin and colistin-resistant bacteria." *BMC microbiology* 17: 1-10.
- Bellil, Z., S. Meyer, V. Tilloy, A. Mairi, C. De Champs, O. Barraud and A. Touati (2024). "Prevalence and Genomic Investigation of Salmonella Isolates Associated with Watermelons and Their Environmental Reservoirs in Bejaia, Algeria." *Foodborne Pathogens and Disease* 21(12): 774-782.
- Ben Said, L., A. Jouini, N. Klibi, R. Dziri, C. A. Alonso, A. Boudabous, K. Ben Slama and C. Torres (2015). "Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in vegetables, soil and water of the farm environment in Tunisia." *Int J Food Microbiol* 203: 86-92.

- Bencheikh, A., A. Nourani and M. N. Chabaca (2017). "Sustainability evaluation of agricultural greenhouse structures in southern of Algeria using AHP, case of study: Biskra province." *Agricultural Engineering International: CIGR Journal* 19(1): 56-64.
- Bergmann, A., E. Berger, T. Coja, M. Pacher-Zavisin and C. Prohaska (2010). "Impact of metabolic and degradation processes on the toxicological properties of residues of pesticides in food commodities." *EFSA Supporting Publications* 7(5).
- Brown, E. E., A. Cooper, C. Carrillo and B. Blais (2019). "Selection of multidrug-resistant bacteria in medicated animal feeds." *Frontiers in microbiology* 10: 456.
- Chelaghma, W., L. Loucif, E. Bendjama, Z. Cherak, M. Bendahou and J. M. Rolain (2022). "Occurrence of Extended Spectrum Cephalosporin-, Carbapenem- and Colistin-Resistant Gram-Negative Bacteria in Fresh Vegetables, an Increasing Human Health Concern in Algeria." *Antibiotics (Basel)* 11(8).
- Corwin, D. L. (2021). "Climate change impacts on soil salinity in agricultural areas." *European Journal of Soil Science* 72(2): 842-862.
- Deekshit, V. K. and S. Srikumar (2022). "'To be, or not to be'—The dilemma of 'silent' antimicrobial resistance genes in bacteria." *Journal of Applied Microbiology* 133(5): 2902-2914.
- Du Plessis, E., S. Duvenage, L. Korsten and G. Sigge (2021). "Measurement of water pollution determining the sources and changes of microbial contamination and impact on food safety from farming to retail level for fresh vegetables." *Water Research Commission*: 1-281.
- Elghanam, M., M. Emara, M. Abdelhalim and W. Moustafa (2024). "Prevalence and Antibiotic Resistance Patterns of Multidrug-Resistant (MDR) Bacteria Isolated from Pediatric Intensive Care Units." *Egyptian Journal of Medical Microbiology* 33(1): 119-128.
- Elshafiee, E. A., M. Kadry, S. M. Nader and Z. S. Ahmed (2022). "Extended-spectrum-beta-lactamases and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from fresh produce farms in different governorates of Egypt." *Veterinary World* 15(5): 1191.
- Faour-Klingbeil, D. and E. C. Todd (2018). "The impact of climate change on raw and untreated wastewater use for agriculture, especially in arid regions: a review." *Foodborne pathogens and disease* 15(2): 61-72.
- Fernqvist, F. (2021). "Farm to Fork Strategy—a consumer perspective." *SLU Future Food Reports*(16).
- Giller, K. E., E. Witter and S. P. Mcgrath (1998). "Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review." *Soil biology and biochemistry* 30(10-11): 1389-1414.
- Godfray, H. C. J., J. R. Beddington, I. R. Crute, L. Haddad, D. Lawrence, J. F. Muir, J. Pretty, S. Robinson, S. M. Thomas and C. Toulmin (2010). "Food security: the challenge of feeding 9 billion people." *science* 327(5967): 812-818.
- Han, X.-M., H.-W. Hu, Q.-L. Chen, L.-Y. Yang, H.-L. Li, Y.-G. Zhu, X.-Z. Li and Y.-B. Ma (2018). "Antibiotic resistance genes and associated bacterial communities in agricultural soils amended with different sources of animal manures." *Soil Biology and Biochemistry* 126: 91-102.
- Huang, C., M. Cui, T. Li, C. Zheng, M. Qiu, M. Shan, B. Li, L. Zhang, Y. Yu and H. Fang (2025). "Migration of fungicides, antibiotics and resistome in the soil-lettuce system." *Journal of Hazardous Materials* 484: 136725.

- Iwu, C. D. and A. I. Okoh (2019). "Preharvest transmission routes of fresh produce associated bacterial pathogens with outbreak potentials: a review." *International journal of environmental research and public health* 16(22): 4407.
- Jarlier, V., M. H. Nicolas, G. Fournier and A. Philippon (1988). "Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns." *Rev Infect Dis* 10(4): 867-878.
- Jasm Mohammed, S., & Yassein, S. N. (2020). Characterization of some virulence factors of candida albicans isolated from subclinical bovine mastitis. *Plant Archives*, 20(1), 238-242.
- Jian, Z., L. Zeng, T. Xu, S. Sun, S. Yan, L. Yang, Y. Huang, J. Jia and T. Dou (2021). "Antibiotic resistance genes in bacteria: Occurrence, spread, and control." *Journal of basic microbiology* 61(12): 1049-1070.
- Jiménez-Belenguer, A. I., M. A. Ferrús, M. Hernández, J. García-Hernández, Y. Moreno and M. Á. Castillo (2023). "Prevalence and characterization of Beta-lactam and Carbapenem-resistant bacteria isolated from organic fresh produce retailed in eastern Spain." *Antibiotics* 12(2): 387.
- Jiménez-Rojas, V., D. Villanueva-García, A. L. Miranda-Vega, R. Aldana-Vergara, P. Aguilar-Rodea, B. López-Marceliano, A. Reyes-López and M. D. Alcántar-Curiel (2024). "Gut colonization and subsequent infection of neonates caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*." *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 13: 1322874.
- Kalpana, S., K. G. Babu, T. Padmavathi, B. Sharma, H. BS and M. Sudha (2024). *The Fusion of AI, IoT, and Agricultural Sensors for Self-Sustaining Agro-Technological Ecosystems: Industry 5.0. Convergence of Human Resources Technologies and Industry 5.0*, IGI Global: 274-299.
- Karwowska, E. (2024). "Antibiotic resistance in the farming environment." *Applied Sciences* 14(13): 5776.
- Kharazi, A., M. Leili, M. Khazaei, M. Y. Alikhani and R. Shokoohi (2021). "Human health risk assessment of heavy metals in agricultural soil and food crops in Hamadan, Iran." *Journal of Food Composition and Analysis* 100: 103890.
- Kim, J., S. Park, J. Lee and S. Lee (2023). "Internalization of Salmonella in Leafy Vegetables during Postharvest Conditions." *Foods* 12(16): 3106.
- Komati, N., F. Vieux, M. Maillot, N. Darmon, J. Calvarin, J.-M. Lecerf, M.-J. Amiot, L. Belzunces and D. Tailliez (2024). "Environmental impact and nutritional quality of adult diet in France based on fruit and vegetable intakes." *European Journal of Nutrition* 63(1): 195-207.
- Kunhikannan, S., C. J. Thomas, A. E. Franks, S. Mahadevaiah, S. Kumar and S. Petrovski (2021). "Environmental hotspots for antibiotic resistance genes." *Microbiologyopen* 10(3): e1197.
- Lear, L., E. Hesse, A. Buckling and M. Vos (2022). "Copper selects for siderophore-mediated virulence in *Pseudomonas aeruginosa*." *BMC microbiology* 22(1): 303.
- Liu, W., M. U. Arshad, L. Zhang, J. Wei and Y. Fu (2023). "Uncovering the key factors influencing sustainable green production behavior among Chinese medicinal herb growers." *Heliyon* 9(11).
- Lloyd, L. J., T. Foster, P. Rhodes, S. M. Rhind and D. S. Gardner (2012). "Protein-energy malnutrition during early gestation in sheep blunts fetal renal vascular and nephron development and compromises adult renal function." *The Journal of physiology* 590(2): 377-393.

- Mairi, A., A. Touati, A. Pantel, C. Dunyach-Remy, A. Sotto, C. De Champs and J. P. Lavigne (2019). "Performance of a new in-house medium Carba MTL-broth for the rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae." *J Infect Dev Ctries* 13(7): 591-602.
- Martak, D., C. P. Henriot and D. Hocquet (2024). "Environment, animals, and food as reservoirs of antibiotic-resistant bacteria for humans: One health or more?" *Infectious Diseases Now*: 104895.
- Mesbah Zekar, F., S. A. Granier, M. Marault, L. Yaici, B. Gassilloud, C. Manceau, A. Touati and Y. Millemann (2017). "From Farms to Markets: Gram-Negative Bacteria Resistant to Third-Generation Cephalosporins in Fruits and Vegetables in a Region of North Africa." *Front Microbiol* 8: 1569.
- Michaelis, C. and E. Grohmann (2023). "Horizontal gene transfer of antibiotic resistance genes in biofilms." *Antibiotics* 12(2): 328.
- Miller, S. A., J. P. Ferreira and J. T. LeJeune (2022). "Antimicrobial use and resistance in plant agriculture: a one health perspective." *Agriculture* 12(2): 289.
- Miller, W. R. and C. A. Arias (2024). "ESKAPE pathogens: antimicrobial resistance, epidemiology, clinical impact and therapeutics." *Nature Reviews Microbiology* 22(10): 598-616.
- Mobarak-Qamsari, E., Kasra-Kermanshahi, R., & Moosavi-Nejad, Z. (2011). Isolation and identification of a novel, lipase-producing bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* KM110. *Iranian journal of microbiology*, 3(2), 92.
- Moghadam, A. A., W. Shuai and E. M. Hartmann (2023). "Anthropogenic antimicrobial micropollutants and their implications for agriculture." *Current Opinion in Biotechnology* 80: 102902.
- Montero, L., J. Irazabal, P. Cardenas, J. P. Graham and G. Trueba (2021). "Extended-spectrum beta-lactamase producing-*Escherichia coli* isolated from irrigation waters and produce in Ecuador." *Frontiers in Microbiology* 12: 709418.
- Murray, L. M., A. Hayes, J. Snape, B. Kasprzyk-Hordern, W. H. Gaze and A. K. Murray (2024). "Co-selection for antibiotic resistance by environmental contaminants." *npj Antimicrobials and Resistance* 2(1): 9.
- Noomi, B. S. (2018). Detection of virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* in different animals by using bacteriological and molecular methods. *Iraqi Journal of veterinary sciences*, 32(2).
- Ombelet, S., G. Kpoussou, C. Kotchare, E. Agbobli, F. Sogbo, F. Massou, K. Lagrou, B. Barbé, D. Affolabi and J. Jacobs (2022). "Blood culture surveillance in a secondary care hospital in Benin: epidemiology of bloodstream infection pathogens and antimicrobial resistance." *BMC infectious diseases* 22(1): 119.
- Owusu, F. A., N. Obeng-Nkrumah, E. Gyinae, S. Kodom, R. Tagoe, B. K. A. Tabi, N. T. Dayie, J. A. Opintan and B. Egyir (2023). "Occurrence of carbapenemases, extended-spectrum beta-lactamases and AmpCs among beta-lactamase-producing Gram-negative bacteria from clinical sources in Accra, Ghana." *Antibiotics* 12(6): 1016.
- Oyebode, O., V. Gordon-Dseagu, A. Walker and J. S. Mindell (2014). "Fruit and vegetable consumption and all-cause, cancer and CVD mortality: analysis of Health Survey for England data." *J Epidemiol Community Health* 68(9): 856-862.
- Peng, S., Y. Feng, Y. Wang, X. Guo, H. Chu and X. Lin (2017). "Prevalence of antibiotic resistance genes in soils after continually applied with different manure for 30 years." *Journal of Hazardous Materials* 340: 16-25.

- Pretty, J., T. G. Benton, Z. P. Bharucha, L. V. Dicks, C. B. Flora, H. C. J. Godfray, D. Goulson, S. Hartley, N. Lampkin and C. Morris (2018). "Global assessment of agricultural system redesign for sustainable intensification." *Nature Sustainability* 1(8): 441-446.
- Rahman, M., M. U. Alam, S. K. Luies, A. Kamal, S. Ferdous, A. Lin, F. Sharior, R. Khan, Z. Rahman, S. M. Parvez, N. Amin, R. Hasan, B. T. Tadesse, N. Taneja, M. A. Islam and A. Ercumen (2021). "Contamination of Fresh Produce with Antibiotic-Resistant Bacteria and Associated Risks to Human Health: A Scoping Review." *Int J Environ Res Public Health* 19(1).
- Rashid, A., B. J. Schutte, A. Ulery, M. K. Deyholos, S. Sanogo, E. A. Lehnhoff and L. Beck (2023). "Heavy metal contamination in agricultural soil: environmental pollutants affecting crop health." *Agronomy* 13(6): 1521.
- Reganold, J. P. and J. M. Wachter (2016). "Organic agriculture in the twenty-first century." *Nature plants* 2(2): 1-8.
- Rhouma, M., F. Beaudry, W. Thériault and A. Letellier (2016). "Colistin in pig production: chemistry, mechanism of antibacterial action, microbial resistance emergence, and one health perspectives." *Frontiers in microbiology* 7: 1789.
- Rockström, J., J. Williams, G. Daily, A. Noble, N. Matthews, L. Gordon, H. Wetterstrand, F. DeClerck, M. Shah and P. Steduto (2017). "Sustainable intensification of agriculture for human prosperity and global sustainability." *Ambio* 46: 4-17.
- Santos, A. F., P. Alvarenga, L. M. Gando-Ferreira and M. J. Quina (2023). "Urban wastewater as a source of reclaimed water for irrigation: barriers and future possibilities." *Environments* 10(2): 17.
- Seufert, V., N. Ramankutty and J. A. Foley (2012). "Comparing the yields of organic and conventional agriculture." *Nature* 485(7397): 229-232.
- Sharma, M., E. T. Handy, C. L. East, S. Kim, C. Jiang, M. T. Callahan, S. M. Allard, S. Micallef, S. Craighead and B. Anderson-Coughlin (2020). "Prevalence of Salmonella and Listeria monocytogenes in non-traditional irrigation waters in the Mid-Atlantic United States is affected by water type, season, and recovery method." *PLoS One* 15(3): e0229365.
- Shoushtarian, F. and M. Negahban-Azar (2020). "Worldwide regulations and guidelines for agricultural water reuse: a critical review." *Water* 12(4): 971.
- Shreshtha, K., S. Raj, A. K. Pal, P. Tripathi, K. K. Choudhary, D. Mitra, A. Rani, S. de Los Santos-Villalobos and V. Tripathi (2024). "Isolation and identification of Rhizospheric and Endophytic Bacteria from Cucumber plants irrigated with wastewater: Exploring their roles in plant growth promotion and disease suppression." *Current Research in Microbial Sciences* 7: 100256.
- Singh, C. K., K. K. Sodhi, P. Shree and V. Nitin (2024). "Heavy Metals as Catalysts in the Evolution of Antimicrobial Resistance and the Mechanisms Underpinning Co-selection." *Current microbiology* 81(6): 148.
- Sivarajan, V., A. V. Ganesh, P. Subramani, P. Ganesapandi, R. Sivanandan, S. Prakash, N. Manikandan, A. Dharmarajan, F. Arfuso and S. Warriar (2025). "Prevalence and genomic insights of carbapenem resistant and ESBL producing Multidrug resistant Escherichia coli in urinary tract infections." *Scientific Reports* 15(1): 2541.
- Stocker, M., J. Smith and Y. Pachepsky (2023). "Spatial variation of tetracycline-resistant E. coli and relationships with water quality variables in irrigation water: a pilot study." *Applied Microbiology* 3(2): 504-518.

- Subramanya, S. H., I. Bairy, Y. Metok, B. P. Baral, D. Gautam and N. Nayak (2021). "Detection and characterization of ESBL-producing Enterobacteriaceae from the gut of subsistence farmers, their livestock, and the surrounding environment in rural Nepal." *Scientific reports* 11(1): 2091.
- Tafoukt, R., A. Touati, T. Leangapichart, S. Bakour and J.-M. Rolain (2017). "Characterization of OXA-48-like-producing Enterobacteriaceae isolated from river water in Algeria." *Water research* 120: 185-189.
- Tang, M., X. Kong, J. Hao and J. Liu (2020). "Epidemiological characteristics and formation mechanisms of multidrug-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*." *Frontiers in microbiology* 11: 581543.
- Tilahun, M., Y. Kassa, A. Gedefie and M. Ashagire (2021). "Emerging carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infection, its epidemiology and novel treatment options: a review." *Infection and drug resistance*: 4363-4374.
- Touati, A. and A. Mairi (2021). "Plasmid-determined colistin resistance in the North African countries: A systematic review." *Microbial Drug Resistance* 27(1): 121-133.
- Touati, M., L. Hadjadj, M. Berrazeg, S. A. Baron and J. M. Rolain (2020). "Emergence of *Escherichia coli* harbouring *mcr-1* and *mcr-3* genes in North West Algerian farmlands." *Journal of global antimicrobial resistance* 21: 132-137.
- van der Zwaluw, K., A. de Haan, G. N. Pluister, H. J. Bootsma, A. J. de Neeling and L. M. Schouls (2015). "The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods." *PloS one* 10(3): e0123690.
- Vats, P., U. J. Kaur and P. Rishi (2022). "Heavy metal-induced selection and proliferation of antibiotic resistance: a review." *Journal of applied microbiology* 132(6): 4058-4076.
- Wei, B., J. Yu, Z. Cao, M. Meng, L. Yang and Q. Chen (2020). "The availability and accumulation of heavy metals in greenhouse soils associated with intensive fertilizer application." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(15): 5359.
- Yadav, S. S., V. Hegde, A. B. Habibi, M. Dia and S. Verma (2019). "Climate change, agriculture and food security." *Food security and climate change* 1.
- Yousfi, K., A. Touati, B. Lefebvre, P. Garneau, S. Brahmi, A. Gharout-Sait, J. Harel and S. Bekal (2019). "Characterization of multidrug-resistant Gram-negative bacilli isolated from hospitals effluents: first report of a bla(OXA-48)-like in *Klebsiella oxytoca*, Algeria." *Braz J Microbiol* 50(1): 175-183.
- Zhang, Y. J., H. W. Hu, Q. L. Chen, B. K. Singh, H. Yan, D. Chen and J. Z. He (2019). "Transfer of antibiotic resistance from manure-amended soils to vegetable microbiomes." *Environ Int* 130: 104912.
- Zheng, B., C. Huang, H. Xu, L. Guo, J. Zhang, X. Wang, X. Jiang, X. Yu, L. Jin and X. Li (2017). "Occurrence and genomic characterization of ESBL-producing, MCR-1-harboring *Escherichia coli* in farming soil." *Frontiers in Microbiology* 8: 2510.

# *Annexes*

## Annexe I

**Tableau I : Répartition des échantillons de sol par région et résultats du criblage sur bouillon Carba-MTL et colistine**

Code	Type de culture	Région	Date	Colistine	MTL
BJS1	Petit pois	Ifren (Akbou)	03/04/2025	-	-
BJS2	Courgette	Allaghen (Tazemalt)	12/04/2025	-	-
BJS3	Courgette	Allaghen (Tazemalt)	12/04/2025	-	-
BJS4	Fève	Allaghen (Tazemalt)	12/04/2025	-	-
BJS5	Oignon	Tala Elbir (Boudjellil Ighil ali)	12/04/2025	-	-
BJS6	Petit pois	Biziou (Amalou)	12/04/2025	-	-
BJS7	Carde	Allaghen (Tazemalt)	02/04/2025	+	-
BJS8	Epinard	Biziou (Amalou)	12/04/2025	-	-
BJS9	Oignon	Allaghen (Tazemalt)	02/04/2025	-	-
BJS10	Epinard	Allaghen (Tazemalt)	02/04/2025	-	-
BJS11	Fève	Sidi Ali Ouchedad (Akbou)	12/04/2025	-	-
BJS12	Laitue	Ouzellaguen (Ighzer Amoukrane)	09/04/2025	-	-
BJS13	Artichaut	Ighil Oudles (Ighzer Amoukrane)	10/03/2025	-	-
BJS14	Artichaut	Ichakhounen (Ighzer Amoukrane)	08/04/2025	-	-
BJS15	Petit pois	Allaghen (Tazemalt)	18/04/2025	-	-
BJS16	Haricot	Allaghen (Tazemalt)	18/04/2025	-	-
BJS17	Blette	Allaghen (Tazemalt)	18/04/2025	+	-
BJS18	Tomate	Allaghen (Tazemalt)	18/04/2025	+	-
BJS19	Carde	Allaghen (Tazemalt)	18/04/2025	-	-
BJS20	Pasteque	Allaghen (Tazemalt)	18/04/2025	-	-
BJS21	Piment	Allaghen (Tazemalt)	18/04/2025	+	-
BJS22	Oignon	Allaghen (Tazemalt)	18/04/2025	-	-
BJS23	Oignon	Sidi Ali Ouchedad (Akbou)	19/04/2025	+	-
BJS24	Ail	Biziou (Amalou)	12/04/2025	-	-
JS25	Oignon	Jijel (El Milia)	15/04/2025	+	-
JS26	Pomme de terre	Jijel (El Milia)	15/04/2025	-	-
JS27	Tomate	Jijel (El Milia)	15/04/2025	-	-

<b>JS28</b>	Courgette	Jijel (El Milia)	15/04/2025	-	-
<b>JS29</b>	Fève	Jijel (El Milia)	15/04/2025	-	-
<b>BJS30</b>	Oignon	Akbou Ville	17/04/2025	-	-
<b>JS31</b>	Fraise	Jijel (Sidi Abdelaziz)	06/05/2025	-	-
<b>JS32</b>	Fève	Jijel (Sidi Abdelaziz)	06/05/2025	-	-
<b>JS33</b>	Courgette	Jijel (Sidi Abdelaziz)	06/05/2025	+	-
<b>BJS34</b>	Tomate	Selouana (Ighzer Amoukrane)	12/04/2025	-	-
<b>JS35</b>	Piment	Jijel (Sidi Abdelaziz)	06/05/2025	+	-
<b>BJS36</b>	Fève	Biziou (Amalou)	14/04/2025	-	-
<b>BJS37</b>	Petit pois	Biziou (Amalou)	14/04/2025	-	-
<b>BJS38</b>	Oignon	Ighzer Amoukrane	18/03/2025	-	-
<b>BJS39</b>	Petit pois	Boudjellil (Ighil Ali)	20/04/2025	-	+
<b>BJS40</b>	Fève	Biziou (Amalou)	14/04/2025	+	-
<b>BJS41</b>	Oignon	Tihrkatin (Akbou)	22/04/2025	-	-
<b>BJS42</b>	Epinard	Biziou (Amalou)	14/04/2025	-	-
<b>BJS43</b>	Oignon	Boudjellil (Ighil Ali)	19/04/2025	-	-
<b>BJS44</b>	Oignon	Boudjellil (Ighil Ali)	19/04/2025	+	-
<b>BJS45</b>	Oignon	Boudjellil (Ighil Ali)	19/04/2025	-	-

**Tableau II : Répartition des échantillons de fumier par région et résultats du criblage sur bouillon Carba-MTL et colistine**

Code	Type de production	Région	Date	MTL	Colistine
<b>BJF1</b>	Petit-pois	Ifren Akbou	03/04/2025	-	-
<b>BJF2</b>	Oignon	Boudjellil Ighil Ali	02//04/2025	-	-
<b>BJF3</b>	Féve	Allaghen Tazemalt	12/04/2025	-	+
<b>BJF4</b>	Courgette	Allaghen Tazemalt	12/04/2025	-	-
<b>BJF5</b>	Oignon	Allaghen Tazemalt	02/04/2025	-	+
<b>BJF6</b>	Epinard	Biziou Amalou	12/04/2025	-	-
<b>BJF7</b>	Courgette	Allaghen Tazemalt	12/04/2025	-	-
<b>BJF8</b>	Oignon	Allaghen Tazemalt	08/04/2025	-	-
<b>BJF9</b>	Féve	Biziou Amalou	02/04/2025	-	+
<b>JF10</b>	Tomate	Jijel El Milia	15/04/2025	-	-

<b>BJF11</b>	Tomate	Sellouana Ighzer Amoukrane	12/04/2025	-	-
<b>BJF12</b>	Féve	Biziou Amalou	14/04/2025	-	+
<b>JF13</b>	pomme de terre	Jijel El Milia	15/04/2025	-	-
<b>BJF14</b>	Artichaut	Ighzer Amoukrane	10/03/2025	-	+
<b>BJF15</b>	Artichaut	Ighzer Amoukrane	08/04/2025	-	-
<b>JF16</b>	Courgette	Jijel El Milia	15/04/2025	-	-
<b>JF17</b>	Féve	Jijel El Milia	15/04/2025	-	+

**Tableau III : Répartition des échantillons d'eau par région et résultats du criblage sur bouillon Carba-MTL et colistine**

Code	Source d'eau	Région	Date	Colistine	MTL
<b>E1</b>	Ain	Ighil Oudles (Ighzer Amoukrane)	10/03/2025	-	-
<b>E2</b>	Puit	Selouana (Ighzer Amoukrane)	12/04/2025	-	-
<b>E3</b>	Puit	Ighzer Amoukrane	18/03/2025	-	-
<b>E4</b>	Puit	Ichakhounen (Ighzer Amoukrane)	08/04/2025	+	-
<b>E5</b>	Barrage Tichihaf	Sidi Ali Akbou	19/04/2025	+	-
<b>E6</b>	Reserve (Pluie, barrage)	Biziou Amalou	14/04/2025	+	-
<b>E7</b>	Barrage Tichihaf	Biziou Amalou	14/04/2025	-	-
<b>E8</b>	Puit	Allaghen Tazemalt	03/04/2025	-	-
<b>E9</b>	Puit	Allaghen Tazemalt	12/04/2025	-	-
<b>E10</b>	Puit	Boudjellil Ighil Ali	12/04/2025	-	-
<b>E11</b>	Puit	Allaghen Tazemalt	02/04/2025	-	-

<b>E12</b>	Fourrage	Allaghen Tazemalt	12/04/2025	-	-
<b>E13</b>	Barrage Tichihaf	Biziou Amalou	12/04/2025	-	-
<b>E14</b>	Fourrage	Allaghen Tazemalt	12/04/2025	-	-
<b>E15</b>	Puit	Allaghen Tazemalt	02/04/2025	-	-
<b>E16</b>	Rivière	Jijel (El Milia)	15/04/2025	-	-
<b>E17</b>	Reserve	Jijel (Sidi Abdelaziz)	06/05/2025	-	-
<b>E18</b>	Fourrage	Village Agricole	08/05/2025	-	-
<b>E19</b>	Fourrage	Amizour	10/05/2025	-	-
<b>E20</b>	Puit	Tazemalt	17/04/2025	-	-
<b>E21</b>	Reserve	Bejaia	22/04/2025	-	+
<b>E22</b>	Reserve	Bejaia	22/04/2025	-	+



---

---

Colonies de couleur bleu	ND	ND	<i>Enterobacter sp.</i>
--------------------------	----	----	-------------------------

Groupe KES

+

+

+

-

-

-

+

ND

ND

*Enterobacter sp.*

Colonies de couleur bleu

Groupe KES

+

+

+

-

-

-

+

---

---

<b>LBE4 R</b>	Colonies de couleur bleu	Groupe KES	+	+	-	-	+	+	+	ND	ND	<i>K. oxytoca</i>
<b>LBE5</b>	Colonies de couleur bleu	Groupe KES	+	+	+	-	-	-	-	ND	ND	<i>Enterobacter sp.</i>
<b>LBE6</b>	Colonies de couleur bleu	Groupe KES	+	+	+	-	-	-	+	ND	ND	<i>Enterobacter sp.</i>

## Annexe III

Tableau I : Résultat de l'étude de la sensibilité de de l'ensemble des souches isolées vis-à-vis les métaux lourds testés (Zn, Cu, Cd, et Pb)

	Code	Espèce	Origine	Région	Zn				Cu				Cd				Pb				
					100a	200	400	800	100	200a	400	800	100a	200	400	800	800	1600a	2400	3200	
Colistine	LBS7	<i>Serratia sp</i>	Sol	Allaghen (Tazemalt)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
	LBS17 (2)		<i>Enterobacter sp.</i>	Allaghen (Tazemalt)	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	LBS18	<i>Enterobacter sp.</i>	Sol	Allaghen (Tazemalt)	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
	LBS21	<i>Serratia sp</i>	Sol	Allaghen (Tazemalt)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
	LBS23	<i>Serratia sp</i>	Sol	Sidi Ali Ouchedad (Akbou)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
	LBS25	<i>Serratia sp</i>	Sol	Jijel (El Milia)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
	LBS33	<i>Serratia sp</i>	Sol	Jijel (Sidi Abdelaziz)	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
	LBS35	<i>Serratia sp</i>	Sol	Jijel (Sidi Abdelaziz)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
	LBS40	<i>Serratia sp</i>	Sol	Biziou (Amalou)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
	LBS44	<i>E coli</i>	Sol	Boudjellil (Ighil Ali)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
	LBF3	<i>E coli</i>	Fumier	Allaghen (Tazemalt)	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	LBF5	<i>E coli</i>	Fumier	Allaghen (Tazemalt)	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	LBF9	<i>Enterobacter sp.</i>	Fumier	Biziou (Amalou)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-

MTL	LBF12	<i>E coli</i>	Fumier	Biziou (Amalou)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	LBF14 (1)		<i>Enterobacter sp.</i>	Ighzer Amoukrane	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
	LBF14 (2)		<i>Enterobacter sp.</i>	Ighzer Amoukrane	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
	LBF17 R	<i>Enterobacter sp.</i>	Fumier	Jijel (El Milia)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
	LBE4 M	<i>Enterobacter sp.</i>	Eau	Ichakhounen (Ighzer Amoukrane)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	LBE4 R	<i>K. oxytoca</i>	Eau	Ichakhounen (Ighzer Amoukrane)	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
	LBE5	<i>Enterobacter sp.</i>	Eau	Sidi Ali Akbou	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
	LBE6	<i>Enterobacter sp.</i>	Eau	Biziou (Amalou)	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
	BLSE2	<i>Klebseila sp</i>	Eau	Bejaia	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
	BLSE3	<i>Klebseila sp</i>	Eau	Bejaia	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
	S39	<i>Serratia sp</i>	Sol	Boudjellil (Ighil Ali)	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
	E7	<i>Klebseila sp</i>	Eau	Biziou (Amalou)	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+

## Annexe IV

Tableau I : Résultats de la recherche de facteurs de virulences

	Code	Espèce	Origine	Région	Protéase	Lipolyse	Hémolyse
Colistine	LBS17(2)	<i>Enterobacter sp.</i>	Sol	Allaguen tazemalt	+	-	-
	LBS18	<i>Enterobacter sp.</i>	Sol	Allaguen tazemalt	-	-	-
	LBS44	<i>E coli</i>	Sol	Boudjllil	+	+	+
	LBF3	<i>E coli</i>	Fumier	Allagen (Tazemalt)	-	-	-
	LBF5	<i>E coli</i>	Fumier	Allagen (Tazemalt)	+	+	+
	LBF9	<i>Enterobacter sp.</i>	Fumier	Biziou (Amalou)	+	-	-
	LBF12	<i>E coli</i>	Fumier	Biziou (Amalou)	-	+	+
	LBF14(1)	<i>Enterobacter sp.</i>	Fumier	ghzer Amoukrane	+	+	+
	LBF14 (2)	<i>Enterobacter sp.</i>	Fumier	Ighzer Amoukrane	+	+	+
	LBF17 R	<i>Enterobacter sp.</i>	Fumier	Jijel (El Milia)	+	+	+
	LBE4 M	<i>Enterobacter sp.</i>	Eau	Ichakhounen (Ighzer Amoukrane)	+	+	+
	LBE4 R	<i>K. oxytoca</i>	Eau	Ichakhounen (Ighzer Amoukrane)	-	+	-
	LBE5	<i>Enterobacter sp.</i>	Eau	Sidi Ali (Akbou)	-	+	-
	LBE6	<i>Enterobacter sp.</i>	Eau	Biziou (Amalou)	-	-	-
MTL	E21	<i>K. pneumoniae</i>	Eau	Béjaia	+	+	-
	E22	<i>K. oxytoca</i>	Eau	Bejaia	-	+	-
	S39	<i>Serratia sp</i>	Sol	Boudjellil (Ighil Ali)	-	-	-
	E7	<i>K. pneumoniae</i>	Eau	Biziou	-	-	-

# *Résumé - Abstract*

## Résumé

Cette étude vise à évaluer le degré de bio-contamination du sol agricole, de l'eau utilisée pour l'irrigation ainsi que le fumier par des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes, à la colistine et ainsi que la co-résistance avec les métaux lourds.

Ainsi, 18 souches d'entérobactéries ont été isolées à partir du sol cultivé, de l'eau d'irrigation ainsi que du fumier collecté à partir de 07 exploitation maraichères situés dans la wilaya de Bejaia et de Jijel. Quatre souches ont été isolées à partir du sol, 07 souches à partir de l'eau d'irrigation et 07 souches à partir du fumier. La production de carbapénémase été positif chez les 04 souches isolées sur milieu carbaMTL dont deux souches été également productrices de BLSE. Ces souches ont été isolées principalement de l'eau d'irrigation et une seul à partir d'un sol cultivé. Par contre toutes les souches isolées sur milieux additionnés de colistine ont montré une sensibilité casi total aux antibiotiques testé. Également, toutes les souches isolées dans cette étude ont montré une résistance à tous les métaux lourds testés et sont associées à la production de certains facteurs de virulence.

Ces résultats mettent en évidences de contamination des sols, de l'eau d'irrigation ainsi que du fumier par des souches résistantes aux antibiotiques et aux métaux lourds dotés d'un arsenal de facteur de virulence dans l'environnement agricole et qui peuvent se retrouver dans nos assiettes.

**Mots clés :** Agroécosystème, Carbapénème, colistine, métaux lourds, entérobactérie

## Abstract

This study aims to assess the level of bio-contamination in agricultural soil, irrigation water, and manure by Enterobacteriaceae strains resistant to carbapenems, colistin, and co-resistant to heavy metals.

A total of 18 Enterobacteriaceae strains were isolated from cultivated soil, irrigation water, and manure, collected from seven vegetable farms located in the wilayas of Béjaia and Jijel. Four strains were isolated from soil, seven from irrigation water, and seven from manure. Carbapenemase production was confirmed in the four strains isolated on CarbaMTL medium, two of which were also extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) producers. These strains were mainly isolated from irrigation water, with only one from cultivated soil.

Conversely, all strains isolated on media supplemented with colistin showed almost complete susceptibility to the antibiotics tested. Furthermore, all strains isolated in this study exhibited resistance to all tested heavy metals and were associated with the production of specific virulence factors.

These findings highlight the contamination of soil, irrigation water, and manure by antibiotic- and heavy metal-resistant strains harboring a range of virulence factors in the agricultural environment. These strains may potentially enter the food chain and pose a risk to human health.

**Keywords:** Agroecosystem, Carbapenem, colistin, heavy metals, enterobacterial strains.