

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار – عنابة

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR- ANNABA

FACULTÉ DES SCIENCES

DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE

LABORATOIRE DES ANALYSES BIOGÉOCHIMIQUES ET
ÉCOLOGIQUES DES MILIEUX AQUATIQUES



THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie environnementale et sanitaire (M.E.S)

THÈME

**Isolement et identification des bactéries Gram-
résistantes aux antibiotiques à partir des milieux
aquatiques contaminés dans le golf d'Annaba**

Présentée par : Mme KERBOUA Sarra

Directeur de thèse : Mr. BRANES Zidane

Professeur, Université BADJI Mokhtar-Annaba

Co-directrice de thèse : Mme. Nedjai Sabrina

Professeur, hospitalo-Universitaire BM-Annaba

DEVANT LE JURY :

Présidente : Mme. BOUTEFNOUCHET Nafissa

Professeur, Université BADJI Mokhtar-Annaba

Examinatrice : Mme. CHETTIBI Houria

Professeur, Université BADJI Mokhtar-Annaba

Examineur : Mr. AYARI Adel

MCA, Université Mohamed-Chérif

Messaadia Souk Ahras

Année Universitaire : 2024-2025

Remerciements

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات

Ces quelques lignes me permettront de remercier les responsables et les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail tant au niveau scientifique qu'au niveau personnel, et sans leur aide, ce travail n'aurait pas pu aboutir à sa fin.

Je tiens tout d'abord à remercier chaleureusement mon Directeur de thèse Monsieur **BRANES Zidane**, *Professeur à l'université BADJI Mokhtar d'Annaba*, qui a dirigé ce travail, ça ne sera jamais suffisant pour lui exprimer ma grande reconnaissance pour la confiance qu'il m'a acceptée pour faire avancer ce travail, pour sa gentillesse, et son esprit responsable, critique et rigoureux, *pour son orientation et suivie durant toutes ces années malgré ses nombreuses responsabilités.*

Mes remerciements s'adressent à Monsieur **HASSEN Touati**, *Maître-assistant classe B à l'université de Guelma*, et à Monsieur **ABDENNOUR Boucheke**, *Professeur à l'université BADJI Mokhtar d'Annaba*, pour son contribution dans la réalisation de l'analyse statistique de cette étude.

Je tiens aussi à remercier ma **Co-directrice de thèse** Madame **NEDJAI Sabrina**, *Professeur hospitalo-universitaire à l'université BADJI Mokhtar d'Annaba*, pour son aide à réaliser la partie de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées.

Je témoigne ma reconnaissance à Madame BOUTEFNOUCHET Nafissa, Professeur à l'université BADJI Mokhtar d'Annaba, pour m'avoir fait le grand honneur de présider le jury.

Je remercie vivement Madame CHETTIBI Houria, Professeur à l'université d'Annaba et Monsieur AYARI Adel, Maître-conférence classe A à l'université de Mohamed-Chérif Messaadia - Souk Ahras, pour m'avoir fait honneur d'accepter d'examiner ce modeste travail.

*Je tiens à remercier vivement Madame **Isabelle BATISSON** Maitre de Conférences -A- au laboratoire Microorganismes Génome et Environnement (LMGE) de l'Université Clermont Auvergne, France pour l'identification moléculaire isolée des souches bactériennes.*

Je tiens aussi à remercier l'ensemble du personnel de service microbiologie de l'hôpital Dr. Dorban d'Annaba.

Un immense merci à mes chères collègues du Département de Biochimie pour leur aide, soutien amical et encouragements durant la période de réalisation de ce travail.

Enfin, je tiens à exprimer mes sentiments les plus respectueux et ma profonde reconnaissance à ma famille :

***Ma mère et Mon père ...** Je sais qu'un simple merci ne suffit pas pour vous exprimer toute ma gratitude, et mon amour. Je vous remercie pour le soutien inconditionnel et moral, je vous remercie d'être toujours là pour moi. Que dieu vous garde et vous protège pour nous.*

***Mon époux et Mes frères Amine, Abd el Karim et Abd Raouf** pour leur présence, leur aide et leur compréhension et grâce à qui j'ai pu mener à bien ce travail que Dieu me les protège.*

***Enfin, je dédie cette thèse ... A mes deux poussins Belkis Alla et Ahmed** que Dieu me les protège.*

Merci à tous !

Résumé

La présence de bactéries pathogènes et l'émergence de résistances aux antibiotiques dans les milieux aquatiques représentent un enjeu sanitaire et environnemental mondial. En Algérie, bien que peu d'études aient été menées, l'usage intensif d'antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire suggère un impact préoccupant sur les écosystèmes aquatiques.

Ce travail a porté sur la qualité des eaux de deux plages de la ville d'Annaba (Sidi Salem et Jouannville), très fréquentées durant la période estivale et réceptrices des rejets de deux oueds : Seybouse et Bedjima. Quatre stations ont été choisies selon leur proximité à diverses sources de pollution. Des prélèvements mensuels ont été réalisés durant un an, de mars 2017 à février 2018.

Les paramètres physico-chimiques et microbiologiques ont été analysés selon des méthodes standardisées. Les bactéries indicatrices de contamination fécale ont été dénombrées par colimétrie, tandis que les bactéries potentiellement pathogènes ont été identifiées par analyses biochimiques et moléculaires. La sensibilité aux antibiotiques a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose Müller-Hinton.

Les résultats ont révélé des variations significatives ($p < 0,05$) selon les saisons. Entre stations, des différences très significatives ($p < 0,0001$) ont été observées pour la salinité, la conductivité et les matières en suspension. Une forte contamination fécale a été détectée, avec des taux de coliformes largement supérieurs aux normes.

Les bactéries isolées appartiennent principalement à la famille des Enterobacteriaceae, notamment *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter roggenkampii* et *Klebsiella pasteurii*. Les profils d'antibiorésistance ont révélé une large présence de souches multirésistantes, particulièrement aux bêta-lactamines. Ces résultats soulignent la nécessité d'une gestion rigoureuse de l'usage des antibiotiques et d'un renforcement des mesures de surveillance pour préserver la santé publique.

Mots clés : Résistance Aux Antibiotiques, Ville d'Annaba, Oueds, Contamination Fécale, Bactéries Potentiellement Pathogènes.

Abstract

The presence of pathogenic bacteria and the emergence of antibiotic resistance in aquatic environments represent a major global public health and environmental concern. In Algeria, although limited studies have been conducted on this issue, the intensive use of antibiotics in both human and veterinary medicine suggests a potentially alarming impact on aquatic ecosystems.

This study focused on the water quality of two beaches in the city of Annaba (Sidi Salem and Jouannville), which are heavily frequented during the summer season and receive discharges from two wadis: the Seybouse and the Bedjima. Four sampling stations were selected based on their proximity to various pollution sources. Monthly water samples were collected over a one-year period, from march 2017 to february 2018.

Physicochemical and microbiological parameters were analyzed using standardized methods. Fecal contamination indicator bacteria were enumerated by colimetry, while potentially pathogenic bacteria were identified through biochemical and molecular analyses. Antibiotic susceptibility was assessed using the disk diffusion method on Müller-Hinton agar.

The results revealed significant seasonal variations ($p < 0.05$). Between stations, highly significant differences ($p < 0.0001$) were observed for salinity, conductivity, and suspended solids. High levels of fecal contamination were detected, with coliform counts largely exceeding regulatory limits.

The isolated bacteria mainly belonged to the Enterobacteriaceae family, particularly *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter roggenkampii*, and *Klebsiella pasteurii*. Antibiotic resistance profiling revealed a widespread presence of multidrug-resistant strains, especially to beta-lactam antibiotics. These findings underscore the urgent need for strict antibiotic use management and enhanced monitoring measures to safeguard public health.

Key words: Antibiotic Resistance, Annaba City, Fecal Contamination, Potentially Pathogenic Bacteria.

تُعدّ وجود البكتيريا الممرضة وظهور مقاومة المضادات الحيوية في الوسط المائي قضية صحية وبيئية كبرى على الصعيد العالمي. في الجزائر، وعلى الرغم من قلة الدراسات في هذا المجال، فإن الاستخدام المكثف للمضادات الحيوية في الطب البشري والبيطري يشير إلى تأثير مقلق على النظم البيئية المائية.

ركزت هذه الدراسة على تقييم نوعية مياه شاطئين في مدينة عنابة، وهما Sidi Salem وJouannoville، اللذان يشهدان إقبالاً كبيراً خلال الفترة الصيفية، ويستقبلان مياه الصرف الواردة من واديين رئيسيين (Seybouse و Bedjima) تم اختيار أربع محطات لأخذ العينات بناءً على قربها من مصادر التلوث المختلفة، وأجريت عملية أخذ العينات شهرياً على مدار سنة كاملة، من مارس 2017 إلى فبراير 2018.

تم تحليل المعايير الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية وفقاً لطرق قياسية معتمدة. تم تعداد البكتيريا الدالة على التلوث البرازي باستخدام تقنية colimétrie، في حين تم تحديد البكتيريا المحتمل أن تكون ممرضة باستخدام التحاليل البيوكيميائية والجزئية. كما تم تقييم مقاومة المضادات الحيوية باستعمال تقنية الانتشار على وسط Müller-Hinton

أظهرت النتائج وجود فروقات موسمية ذات دلالة إحصائية ($p < 0.05$) كما كشفت المقارنة بين المحطات عن اختلافات شديدة الدلالة ($p < 0.0001$) في ملوحة المياه، والتوصيلية الكهربائية، والمواد العالقة. وقد كُشف عن مستويات مرتفعة من التلوث البرازي، حيث تجاوزت أعداد الـ coliformes الحدود المسموح بها وفقاً للمعايير المعتمدة.

أظهرت التحاليل أن غالبية السلالات المعزولة تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceae، وخاصة الأنواع *Escherichia coli*، و *Citrobacter freundii*، و *Enterobacter rogenkampii*، و *Klebsiella pasteurii*. قد كشفت أنماط مقاومة المضادات الحيوية عن انتشار واسع لسلالات متعددة المقاومة، لا سيما تجاه الـ β -lactamines. وتؤكد هذه النتائج على الضرورة الملحة لاعتماد إدارة صارمة لاستخدام المضادات الحيوية، وتعزيز آليات المراقبة بهدف حماية الصحة العامة.

الكلمات المفتاحية: مقاومة المضادات الحيوية، مدينة عنابة، الأودية، التلوث البرازي، البكتيريا الممرضة المحتملة

TABLE DES MATIERES

Résumé-Abstract-ملخص

Liste des Abréviations

Liste des Tableaux

Liste des Figure

INTRODUCTION 1

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DES ECOSYSTEMES AQUATIQUES

| | |
|--|----|
| 1. Pollution du milieu aquatique | 5 |
| 1.1. Sources de pollutions des eaux continentales et littorales..... | 5 |
| 1.2 Différents types de pollution..... | 6 |
| 1.2.1 La pollution physique | 6 |
| 1.2.2 La pollution chimique..... | 6 |
| 1.2.3 La pollution microbiologique..... | 7 |
| 1.3. Origine des pollutions | 8 |
| 1.3.1. Origine domestique | 8 |
| 1.3.2. Origine industrielle..... | 8 |
| 1.3.3. Origine agricole..... | 8 |
| 1.4. Contamination bactériologique de l'eau | 9 |
| 1.4.1. Les bactéries indicatrices de contamination fécale | 10 |
| 1.4.1.1. Coliformes totaux..... | 12 |
| 1.4.1.2. Coliformes fécaux (coliformes thermotolérants)..... | 12 |
| 1.4.1.3. Streptocoques fécaux..... | 14 |
| 1.5. Impact des pollutions des eaux..... | 15 |
| 1.5.1. Les conséquences écologiques..... | 15 |
| 1.5.2. Les conséquences sanitaires..... | 16 |
| 1.5.3. Les conséquences économiques | 21 |
| 1.6. La survie des microorganismes dans les milieux aquatiques | 22 |
| 1.6.1. Survie des bactéries | 24 |
| 1.6.2. Survie des virus et des protozoaires | 25 |
| 2. Evaluation de la qualité des eaux | 25 |
| 2.1. Paramètres physico-chimiques..... | 25 |
| 2.2. Paramètres bactériologiques..... | 28 |
| 2.2.1. Les méthodes de détection des bactéries..... | 29 |
| a). Méthodes phénotypiques..... | 29 |

| | |
|---|----|
| b). Techniques de biologie moléculaire..... | 30 |
| c). L'analyse phylogénétique..... | 32 |

CHAPITRE 2 : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACILLES GRAM NEGATIFS

| | |
|--|----|
| 1. Définition..... | 33 |
| 2. Classification et modes d'action | 33 |
| a). La paroi bactérienne..... | 33 |
| b). La membrane plasmique | 35 |
| c). les acides nucléiques | 35 |
| d). La synthèse protéique | 36 |
| e). Inhibiteurs de la synthèse des folates..... | 38 |
| 3. Résistance aux antibiotiques | 39 |
| 3.1. Types de résistance | 40 |
| 3.1.1 Résistance naturelle..... | 40 |
| 3.1.2 Résistance acquise..... | 40 |
| a). Résistances par mutation chromosomique..... | 41 |
| b). Résistances extra-chromosomiques..... | 41 |
| 3.1.3 Résistances croisées..... | 42 |
| 3.1.4 Les bactéries multi-résistantes..... | 43 |
| 3.2. Les mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques..... | 43 |
| 3.2.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique..... | 43 |
| 3.2.2. Modification de la cible..... | 44 |
| a). Diminution de l'affinité | 45 |
| b). Hyper-expression des PLP..... | 45 |
| c). Synthèse de nouvelles PLP..... | 45 |
| 3.2.3. Imperméabilité membranaire..... | 47 |
| 3.2.4. Efflux actif..... | 47 |
| 4. La résistance des bactéries Gram négatif..... | 48 |
| 4.1. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques..... | 50 |
| 4.1.1 Mécanismes de résistance aux β -lactamines..... | 50 |
| 4.1.2. Résistance aux aminosides..... | 52 |

| | |
|---------------------------------------|----|
| 4.1.3. Résistance aux quinolones..... | 53 |
|---------------------------------------|----|

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

| | |
|--|----|
| 1. Description de la zone d'étude..... | 54 |
| 1.1. Stations d'échantillonnages..... | 55 |
| 2. Stratégie de prélèvement..... | 57 |
| 3. Mesures des paramètres physico-chimiques..... | 57 |
| 3.1. Mesures <i>in situ</i> | 57 |
| 3.2. Mesures au laboratoire..... | 58 |
| 3.2.1. Détermination des matières en suspension (MES)..... | 58 |
| 3.2.2. Expression des résultats..... | 59 |
| 4. Analyse bactériologiques..... | 59 |
| 4.1. Préparation des dilutions décimales..... | 59 |
| 4.2. Recherche et dénombrement des germes totaux..... | 60 |
| 4.3. Recherche et dénombrement des bactéries indicatrices de la contamination fécale..... | 63 |
| 4.3.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes thermotolérants (Norme NFT 90-413)..... | 63 |
| 4.4. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux (Norme NF T 90-411)..... | 66 |
| 4.5. Recherche et identification des bactéries potentiellement pathogènes..... | 69 |
| 4.5.1. Recherche et isolement sélectif..... | 69 |
| 4.5.1.1. Isolement des entérobactéries..... | 69 |
| 4.5.1.2. Isolement de <i>Pseudomonas</i> | 70 |
| 4.5.1.3. Isolement des <i>Vibrio</i> | 70 |
| 4.5.2. Identification des isolats bactériens..... | 71 |
| 4.5.2.1. Examen macroscopique..... | 71 |
| 4.5.2.2. Examen microscopique..... | 71 |
| 4.5.2.3. Etude des caractères biochimiques..... | 72 |
| a). Mise en évidence des enzymes catalase et oxydase..... | 72 |
| b). Identification biochimique des bactéries isolées par l'Api système (bioMérieux)..... | 72 |
| 4.5.2.4. Conservation des souches..... | 74 |
| 4.5.2.5. Identification moléculaire des isolats bactériens..... | 75 |
| a). Extraction de l'ADN génomique..... | 75 |
| b). Amplification des gènes d'ADNr 16S par voie enzymatique (PCR)..... | 76 |
| c). Electrophorèse sur gel d'agarose des produits d'amplification..... | 77 |

| | |
|--|----|
| d). Séquençage des produits PCR..... | 79 |
| e). Analyses phylogénétiques des séquences..... | 79 |
| 4.6. Étude de la sensibilité aux antibiotiques | 79 |
| 5. Analyses statistiques des données | 83 |

III. RESULTATS ET DISCUSSION

| | |
|--|-----|
| 1. Variations spatio-temporelles des paramètres physico-chimiques de l'eau dans le Golfe d'Annaba..... | 84 |
| 1.1. La température..... | 84 |
| 1.2. Le potentiel d'Hydrogène..... | 85 |
| 1.3. L'oxygène dissous | 86 |
| 1.4. La salinité et la conductivité..... | 87 |
| 1.5. Les matières en suspension..... | 89 |
| 2. Résultats des analyses bactériologiques..... | 90 |
| 2.1. Contamination fécale des eaux du Golfe d'Annaba..... | 90 |
| 2.1.1. Concentrations en Germes Totaux (GT)..... | 91 |
| 2.1.2. Concentrations en coliformes totaux (CT) et en coliformes fécaux (CF)..... | 91 |
| 2.1.3. Concentrations en streptocoques fécaux (SF)..... | 93 |
| 3. Résultats des analyses statistiques..... | 95 |
| 3.1. Tests statistiques et méthodes multi-variées..... | 95 |
| 3.1.1. Comparaison inter-stations et inter-saisons : test Wilcoxon | 95 |
| 3.1.2. Corrélation linéaire simple entre les variables physicochimiques et bactériologiques | 97 |
| 3.2. Analyse en composantes principales (ACP) | 101 |
| 4. Recherche et identification des bactéries potentiellement pathogènes..... | 111 |
| 5. Antibio-résistance des bactéries isolées à partir des eaux étudiées | 121 |

IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES..... 131

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Liste des Abréviations

| | |
|-------------------|--|
| AB | Antibiotique |
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| AFNOR | Agence de Normalisation française |
| API | Appareils et Procédés d'Identification |
| ARNr16S | Gène codant la sous-unité 16S de l'ARN ribosomal |
| BGN | Bacilles à Gram négatif |
| BLAST | Basic Local Aligement Search Tool |
| CF | Coliformes fécaux |
| CT | Coliformes totaux |
| EC | <i>Escherichia coli</i> |
| EDTE | Éthylène diamine tétraacétique |
| Fertial (ASMIDAL) | Association des Fertilisants Algériens |
| GN | Gélose nutritive |
| JORA | Journal Officiel de la République Algérienne |
| LB | Lauria Bertani |
| MEGA | Molecular Evolutionary Genetics Analysis |
| MO | Matière Organique |
| mS | Milli siemens |
| NCBI | National Center for Biotechnology Information |
| NPP | Nombre le plus probable |
| O.M.S | Organisation Mondiale de la Santé |
| PCR | Réaction en chaîne par polymérase |
| rpm | Rotation par minute |

| | |
|-----|----------------------------|
| S/C | Simple concentration |
| SS | <i>Salmonella Shigella</i> |
| SF | Streptocoques fécaux |
| TBE | Tris-Borate-EDTA |

Liste des tableaux

| Tableau | Titre | Numéro de page |
|------------------|---|-----------------------|
| Tableau 1 | Coordonnées et descriptions des stations d'échantillonnage | 56 |
| Tableau 2 | Liste des antibiotiques utilisés pour le test de sensibilité. | 80 |
| Tableau 3 | Comparaison inter-stations et inter-saisons des paramètres physico chimiques et bactériologiques dans les quatre stations d'étude | 96 |
| Tableau 4 | Identification biochimique et moléculaire des 24 isolats bactériens sélectionnés | 112 |

Liste des figures

| Figure | Titre | Numéro de page |
|------------------|---|----------------|
| Figure1 | Principaux pathogènes rencontrés dans les eaux usées et principaux indicateurs microbiologiques de contamination (Carré, 2017) | 07 |
| Figure 2 | Sources et origines de pollution de l'eau (https://2cm.es/Wemd) | 09 |
| Figure 3 | <i>Escherichia coli</i> (https://2cm.es/Tw01) | 14 |
| Figure 4 | Streptocoques fécaux (https://2cm.es/WeKi) | 15 |
| Figure 5 | Devenir en mer des micro-organismes d'origine fécale (Boukef-Ben omrane, 2019) | 23 |
| Figure 6 | Diffusion des bactéries résistantes dans les environnements aquatiques (Petit, 2018) | 24 |
| Figure 7 | Aperçu schématique de la méthode Sanger (terminaison de chaîne) pour le séquençage de l'ADN (https://2cm.es/Twh3) | 32 |
| Figure 8 | Structure de la paroi bactérienne (https://2cm.es/TwjF) | 34 |
| Figure 9 | Cible des antibiotiques et mécanismes de résistance (https://shortlink.uk/TO21) | 39 |
| Figure 10 | Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques, d'après Alekshun & Levy (2007) | 42 |
| Figure 11 | Stratégies bactérienne de la résistance aux antibiotiques (La résistance aux antibiotiques, Véronique Fournier, Université de Laval, 2003) | 48 |
| Figure 12 | Localisation géographique des stations de prélèvements dans le Golfe d'Annaba. S1: Sidi Salem, S2: Oued Seybouse, S3: Jouannoville, S4: Oued Bedjima | 55 |
| Figure 13 | Multi-paramètres modèle SX 736 | 58 |
| Figure 14 | Schéma illustrant les différentes étapes des dilutions décimales | 60 |
| Figure 15 | Schéma général du dénombrement des germes totaux | 62 |
| Figure 16 | Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux et caractérisation d' <i>Escherichia coli</i> | 65 |
| Figure 17 | Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux | 68 |
| Figure 18 | Schéma de la recherche et l'identification des bactéries pathogènes | 74 |
| Figure 19 | Amplification de fragments d'ADN in vitro : PCR (https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/genetique-pcr-91) | 77 |
| Figure 20 | Schéma de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques | 82 |
| Figure 21 | Variations spatio-temporelles de la température de l'eau du Golfe d'Annaba | 85 |
| Figure 22 | Variations spatio-temporelles du pH dans les stations d'étude | 86 |
| Figure 23 | Variations spatio-temporelles de l'oxygène dissous de l'eau du Golfe d'Annaba | 87 |

| | | |
|------------------|---|-----|
| Figure 24 | Variations spatio-temporelles de la salinité de l'eau du Golfe d'Annaba | 88 |
| Figure 25 | Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique de l'eau du Golfe d'Annaba | 89 |
| Figure 26 | Variations spatio-temporelles des matières en suspension dans l'eau du Golfe d'Annaba | 90 |
| Figure 27 | Variations spatio-temporelles des teneurs en germes totaux enregistrés dans le Golfe d'Annaba | 91 |
| Figure 28 | Variations spatio-temporelles des teneurs en coliformes totaux enregistrés dans le Golfe d'Annaba | 92 |
| Figure 29 | Variations spatio-temporelles des teneurs en coliformes fécaux enregistrés dans le Golfe d'Annaba | 93 |
| Figure 30 | Variations spatio-temporelles des teneurs en streptocoques fécaux enregistrés dans le Golfe d'Annaba | 94 |
| Figure 31 | Corrélogramme montrant les corrélations entre les 10 variables physicochimiques et bactériologiques des eaux du golf d'Annaba pour les quatre sites étudiés. | 101 |
| Figure 32 | Analyse en composantes principales (ACP) des différentes variables au cours d'un cycle d'étude de mars 2017 à février 2018 sur les quatre stations d'étude : a. Corrélation entre les stations ; b. Corrélation entre les saisons | 103 |
| Figure 33 | Caractéristiques macroscopiques des colonies sur divers milieux de culture utilisés | 105 |
| Figure 34 | Aspect microscopique des isolats Gram négatif | 106 |
| Figure 35 | Identification des isolats bactériens à l'aide du système API | 107 |
| Figure 36 | Abondance relative des isolats potentiellement pathogènes dans les eaux étudiées. | 108 |
| Figure 37 | Distribution des isolats bactériens dans le Golfe d'Annaba. (Station 1) Sidi Salem, (Station 2) Seybouse, (Station 3) Jouannville, et (Station 4) Bedjima | 109 |
| Figure 38 | Les variations saisonnières des isolats bactériens potentiellement pathogènes dans les échantillons d'eau | 110 |
| Figure 39 | Relations évolutives entre neuf espèces parmi les 24 isolats sélectionnés | 114 |
| Figure 40 | Résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir des eaux des stations d'étude. | 116 |
| Figure 41 | Résistance aux antibiotiques des non entérobactéries isolées à partir des eaux des stations d'étude. | 118 |
| Figure 42 | Résistance d'une souche <i>Aeromonas hydrophila</i> à 5 antibiotiques (TET/CIP/LEV/CHL/SXT) | 120 |
| Figure 43 | Résistance d'une souche d' <i>Escherichia coli</i> à 9 antibiotiques (AMC/CZN/CTX/CAZ/IMP/AKN/GNM/FTN/TCC) | 121 |
| Figure 44 | Résistance d'une souche de <i>Pantoea spp1</i> à 9 antibiotiques (AMP/AMC/CZN/FOX/CTX/CAZ/IMP/GNM/SXT) | 121 |
| Figure 45 | Résistance d'une souche d' <i>Enterobacter cloacae</i> à 10 antibiotiques (AMP/AMC/CZN/FOX/CAZ/CTX/IMP/GNM/AN/SXT) | 121 |
| Figure 46 | Résistance d'une souche de <i>Serratia odorifera</i> à 11 antibiotiques | 122 |

(AMP/AMC/ATM/CZN/FOX/CTX/ETP/CHL/FTN/SXT/FO
S)

Figure 47 Résistance d'une souche de *Citrobacter freundii* à 14 antibiotiques 122

(AMP/AMC/CZN/FOX/CTX/CAZ/IMP/AKN/GNM/AN/CIP
/FTN/SXT/TCC)

Figure 48 Résistance d'une souche de *Morganella morganii* à 19 antibiotiques 122

(AMP/AMC/ATM
/CZN/FOX/CTX/CAZ/IMP/ETP/AKN/GNM/NA/CIP/Col/C
HL/NIT/SXT/TCC/FOS)

Introduction

Depuis plus de quatre décennies, le contenu du terme environnement s'est progressivement stabilisé autour des questions de pollution industrielle et urbaine, de protection de la nature et de qualité de vie des populations (**Hazourli et al., 2007**). En effet, la pollution de l'eau constitue un sujet majeur de santé publique et de l'environnement. Le problème de la pollution des eaux représente sans aucun doute un des aspects les plus inquiétant de la dégradation du milieu naturel et donc de son équilibre. Les rejets urbains, industriels et agricoles, de plus en plus importants, constituent un danger croissant pour le milieu naturel, leurs charges en matières en suspension et en substances dissoutes souvent toxiques altèrent et dégradent la qualité des eaux de surface, des eaux du littoral et des eaux souterraines (**Jalliffier-Verne, 2015**).

L'accroissement des populations et le développement des agglomérations et des unités industrielles ont eu pour corollaire une dégradation de la qualité de la mer Méditerranée qui est particulièrement exposé aux déversements de déchets agricoles, de particules en suspension dans l'air, d'eaux de ruissellement chargées d'agents pathogènes, de métaux lourds, de matières organiques polluantes, d'huiles et de substances radioactives (**MeHSIP, 2008**), ayant pour origine les activités industrielles, les transports maritimes (30% du trafic maritime mondial) et les activités domestiques avec des rejets en mer estimés à 6.10^5 tonnes chaque année, soit l'équivalent de 30 catastrophes de type "Erika" (**Guallini, 2008**).

Le principal problème de la Méditerranée, c'est le manque de forts courants et de marées, autre problème : celui d'une population côtière de plus en plus importante et un afflux touristique saisonnier surabondant. Il faut donc gérer les rejets occasionnés. Mais la mission est loin d'être accomplie sur le littoral de la méditerranée. La vigilance doit être journalière pour la raison essentielle, le manque de civisme des usagers du littoral (**Lacaze, 1993**).

La façade maritime algérienne s'étend sur 1200 km et se caractérise par la diversité remarquable de son milieu physique et naturel ainsi que par la variété de ces ressources.

Cette côte recèle de grandes plaines et plateaux littoraux et des reliefs ou s'inscrivent des échancrures assez larges pour former de larges baies où se sont implantés les principales villes et sites portuaires du pays. Une multitude de belles plages parsèment le littoral algérien (**Guide d'Alger, 2003**).

Les données disponibles sur la qualité de l'eau révèlent que la plupart des ressources en eau en Algérie sont polluées par les rejets non contrôlés des eaux usées municipales et des

effluents industriels non traités. Par conséquent, les milieux marins et plus particulièrement les milieux côtiers, subissent des changements perpétuels d'origine physique, chimique et bactériologique (**Aminot & Kérouel, 2004**). Cette situation est aggravée par la concentration d'importantes activités économiques et industrielles le long de la côte algérienne, où plus de 51 % des unités industrielles sont localisées. Les agglomérations d'Alger, d'Annaba, d'Oran, de Béjaïa et de Skikda regroupent à elles seules 3 876 unités, soit près de 74 % de l'activité industrielle du pays (**MATE, 2002**). Le golfe d'Annaba (extrême nord-est de l'Algérie) est particulièrement touché, car il reçoit des apports continentaux et des rejets urbains et industriels sans traitement préalable, d'une ville fortement industrialisée et urbanisée. Ce golfe subit ainsi les mêmes problèmes environnementaux que ceux rencontrés par le reste du littoral Algérien.

Les microorganismes jouent un rôle crucial dans l'équilibre des écosystèmes aquatiques notamment en régulant les cycles biogéochimiques et énergétiques (**Bianchi et al., 1989**). Cependant, la contamination des milieux aquatiques par des microorganismes d'origine fécale, souvent issus des eaux douces superficielles, représente un risque significatif pour la santé humaine et une préoccupation pour la pérennité de certains usages, tout particulièrement en zone littorale (**Pommepeuy et al., 2005**).

Des bactéries et virus pathogènes pour l'homme, d'origine entérique, se retrouvent dans les eaux et les coquillages, principalement en raison des rejets de stations d'épuration et du ruissellement provenant des zones d'élevage intensif. Ces agents pathogènes sont responsables de maladies hydriques telles que la dysenterie, la fièvre typhoïde, le choléra et autres (**Saab et al., 2007**), pouvant provoquer de vastes épidémies. Ils sont également impliqués dans des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC2) lors de la consommation de produits conchylicoles ou d'eaux contaminés ainsi que pendant les baignades (**Yoder et al., 2008 ; Iwamoto et al., 2010**). Avec l'essor des loisirs aquatiques, en particulier les baignades en mer, les risques infectieux ont augmenté (**Leclerc & Festy, 1982**).

La qualité microbiologique des eaux de baignade représente, depuis les années 1970, un enjeu majeur en matière de santé publique et fait actuellement l'objet d'une attention particulière, en raison du projet de révision de la directive communautaire 76/160/CEE du 23 décembre 1975, concernant la qualité des eaux de baignade, publiée le 05 février 1976 et modifiée par la directive 91/692/CEE, du 23 décembre 1991, publiée du 31 décembre 1991, relative au décret Algérien exécutif n° 93 - 164 du 10 juillet 1993 du JORADP n° 46, qui définit les exigences de qualité des eaux de baignade. On y trouve deux normes : l'une appelée valeur guide et l'autre appelée valeur

impérative (ou limite) (**Hebbar, 2005**).

La détermination de la qualité microbiologique de l'eau a longtemps reposé sur la recherche de coliformes totaux et fécaux. Cependant, des données recueillies au cours des 20 dernières années montrent que les coliformes thermotolérants, *E. coli* et les entérocoques fécaux sont des indicateurs de contamination fécale plus pertinents et valides que les coliformes totaux (**Carrillo et al., 1985 ; Fewtrell & Bartram, 2001**). Ces microorganismes témoignent, entre autres, de la survie dans l'environnement de diverses catégories de pathogènes, et des études épidémiologiques récentes ont établi une relation très significative entre leur présence et la morbidité liée à la baignade (**Hebbar, 2005**). C'est pourquoi, la recherche de ces deux indicateurs constitue la base de l'évaluation de la contamination fécale et de la présence des germes potentiellement pathogène dans l'eau, en raison du coût élevé et de la complexité des méthodes d'analyse de ces derniers.

Un autre phénomène très inquiétant quant à ses conséquences sur la santé publique est l'émergence et la dissémination des bactéries antibio-résistantes dans les environnements aquatiques, ainsi que les échecs de l'antibiothérapie dus à l'utilisation inconsidérée et à grande échelle des antibiotiques dans les domaines médical, vétérinaire et agricole.

Les résidus d'antibiotiques et les bactéries résistantes aux antibiotiques peuvent atteindre l'environnement par le biais des égouts, des stations d'épuration et par l'épandage du lisier sur les champs (**Ternes, 1998**). Via ces principales voies d'entrée, ces substances et ces micro-organismes peuvent finalement atteindre les écosystèmes aquatiques (eaux souterraines, eaux de surface et eaux littorale). Ces ressources hydriques, fondamentales, peuvent être utilisées directement ou indirectement pour l'approvisionnement en eau, tant pour la consommation humaine qu'animale.

Dans le cadre de cette étude, nous tenterons d'évaluer le degré de la contamination bactériologique de deux plages, à savoir la plage Sidi Salem et la plage Jouannoville, situées dans la ville de Annaba. Cette baie, ouverte à vocation industrielle, agricole, urbaine et touristique (**Sifi et al., 2007 ; Ouali et al., 2008**), subit une pression anthropique importante, à l'origine de sérieux problèmes de pollution (industrielle, agrochimique, atmosphérique et urbaine).

Ces deux plages, largement fréquentées durant la période estivale, constituent des réceptacles pour les rejets de deux principaux oueds, à savoir l'oued Seybouse et l'oued Bedjima respectivement. Les eaux de ces oueds sont destinées à plusieurs activités, telles que l'irrigation et la pêche. Par ailleurs, elles sont parmi les plus urbanisées et anthropisées de la région d'Annaba. Ainsi, cette étude vise à évaluer non seulement le degré de contamination

bactériologique de ces sites, mais également l'émergence de la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées.

Pour cela nous nous sommes fixés trois objectifs majeurs afin d'évaluer quantitativement et qualitativement les eaux littorales et continentales de la baie d'Annaba, au cours d'un cycle annuel :

- Suivre l'évolution des paramètres physico-chimiques (Température, pH, Oxygène dissous, salinité et matières en suspensions) de l'eau et estimer la corrélation de ces derniers avec l'abondance des bactéries indicatrices fécales.
- Estimation de la qualité bactériologique de l'eau par la recherche et le dénombrement des indicateurs de contamination fécale ainsi que des bactéries potentiellement pathogènes, en tenant compte de leur distribution spatio- temporelle.
- Évaluer la sensibilité des souches bactériennes isolées vis à vis 29 antibiotiques.

***I. SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE***

Chapitre 1

QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DES ECOSYSTEMES AQUATIQUE

1. Pollution du milieu aquatique

Le milieu aquatique, dans son ensemble, est un système très complexe qui est le siège d'un grand nombre de réactions chimiques, physiques et biologiques. Ce système est, de manière générale en étroite relation avec l'ensemble des autres systèmes ou compartiments constituant le milieu naturel et que l'on peut décomposer en trois grandes parties : l'atmosphère, l'eau et le sol (incluant les sédiments). A cause du cycle de l'eau, les écosystèmes aquatiques sont susceptibles d'être contaminés par des pollutions accidentelles ou chroniques (**Chouteau, 2004**).

1.1. Sources de pollutions des eaux continentales et littorales

Sur les 13 600 millions de km³ d'eau qui couvrent notre planète, seulement 0,014 % est de l'eau douce utilisable par l'homme sous forme d'eaux de surface (**Moudallal, 1997**). Si cette quantité est suffisante pour répondre aux futurs besoins de l'humanité, l'altération de la qualité de l'eau rend la part compatible avec les utilisations humaines de plus en plus petites (**Wheal, 1991**). En effet, diverses activités anthropogéniques ont généré des déséquilibres sérieux des écosystèmes aquatiques au cours des dernières décennies.

Ces activités humaines, telles que l'urbanisation, l'essor de l'industrie et l'agriculture intensive, ont contribué de manière accidentelle ou chronique à l'accroissement de la pollution des cours d'eau. Environ la moitié des oueds, fleuves et rivières de la planète sont contaminés (**Hunter et al., 1999**). De plus, les zones côtières, en raison de leur proximité avec les activités humaines, sont particulièrement exposées aux diverses formes de pollution (**Kadi, 1997 ; Bordjiba et al., 2009**). La conséquence directe de ces activités est bien établie : la qualité des milieux aquatiques, notamment les milieux marins qui reçoivent de manière continue les polluants urbains et industriels, est gravement affectée (**Geldreich & Kenner, 1987**).

La pollution de l'eau peut être ponctuelle ou diffuse d'origine urbaine ou agricole. Elle est souvent responsable des mêmes types de contaminants, tels que les pesticides, les herbicides, les nutriments, la matière organique, les métaux lourds, les macropolluants et les microorganismes. (**Warren et al., 2003 ; Islam & Tanaka, 2004**).

Les pollutions ponctuelles, souvent immédiates et facilement identifiables, peuvent être traitées par des stations d'épuration. Leur impact est plus marqué en période d'étiage estival, surtout lors des pluies estivales (**Seidl et al., 1998**). En revanche, les pollutions diffuses

mettent plus de temps à atteindre les milieux aquatiques sont difficiles à caractériser tant dans l'espace que dans le temps, car leurs quantités et leurs qualités varient considérablement. Elles dépendent beaucoup des événements pluvieux et des interactions avec les aquifères (**Thornton & Jeffrey, 1999**).

1.2 Différents types de pollution

La pollution de l'eau est une dégradation physique, chimique et/ou biologique de ces qualités naturelles, provoquée par l'homme et par ses activités. Elle perturbe les conditions de vie et l'équilibre du milieu aquatique (nuire à la faune et à la flore terrestre et aquatique) et porte atteinte à l'agrément des sites ou de gêner toute autre utilisation normale des eaux (**JORA, 2003**). Trois grandes familles caractérisent la pollution :

1.2.1 La pollution physique

Elle résulte de différents éléments solides entraînés par les rejets domestiques et industriels. On distingue :

- **Pollution solide** : Elle provient des particules solides apportées par les eaux industrielles, les eaux de ruissellement, ainsi que des décharges de déchets à ciel ouvert.
- **Pollution thermique** : Causée généralement par les eaux des circuits de refroidissement des usines, cette pollution entraîne des changements de température de l'eau qui ont des conséquences significatives sur l'équilibre écologique du milieu aquatique et sur la survie des organismes vivants.
- **Pollution radioactive** : Liée aux rejets des éléments radioactifs provenant des installations centrales nucléaires et des usines de traitement de déchets radioactifs (**Mekaoussi, 2014**).

Les conséquences directes de ces rejets incluent l'élévation de la température des eaux naturelles, ce qui modifie le taux d'oxygène, augmente l'activité cellulaire et la respiration de la biocénose, diminue la diversité du phytoplancton et peut provoquer la prolifération d'espèces thermophiles (**Karelle, 1999 ; Zomahoun, 2005 ; Tenstdt, 2010**).

1.2.2 La pollution chimique

La pollution chimique est causée par des contaminants chimiques d'origine domestique et industrielle, telles que l'azote, le phosphate, les médicaments, les métaux lourds, les hydrocarbures, les pesticides, les engrais et les détergents (**Basilico et al., 2014 ; Benkaddour, 2018**). Ce type de pollution se produit lorsque les activités humaines, notamment l'utilisation

d'engrais dans les exploitations agricoles, entraînent le ruissellement de produits chimiques dans les cours d'eau, qui finissent par se jeter dans la mer.

1.2.3 La pollution microbiologique

La pollution microbienne est principalement liée aux eaux usées urbaines. Ces dernières sont très chargées en microorganismes (Figure 1) et (Tableau A1, Annexe 1): bactéries (coliformes, *Salmonella*, *Staphylocoques*, *vibrions*...), virus (virus de l'hépatite, entérovirus...), champignon (*Candida*, *Torula*...), protozoaires et les œufs de parasites (*Ascaris*, *Tenia*...) (Haslay & Leclerc, 1993 ; Guiraud, 1998 ; Anonyme, 1999). La principale source de contamination de l'eau par des microorganismes provient surtout des matières fécales. Les déchets des animaux et des humains renferment souvent des organismes pathogènes qui vivent à l'état commensal dans leur tube digestif et peuvent facilement contaminer une eau (Kadri, 2015).

L'abondance des agents pathogènes dans l'eau dépend de plusieurs facteurs, notamment le niveau de contamination, la persistance de ces agents dans les masses d'eau, ainsi que la présence de réservoirs biologiques, tels que les plantes aquatiques et les sédiments (Drechsel *et al.*, 2011).

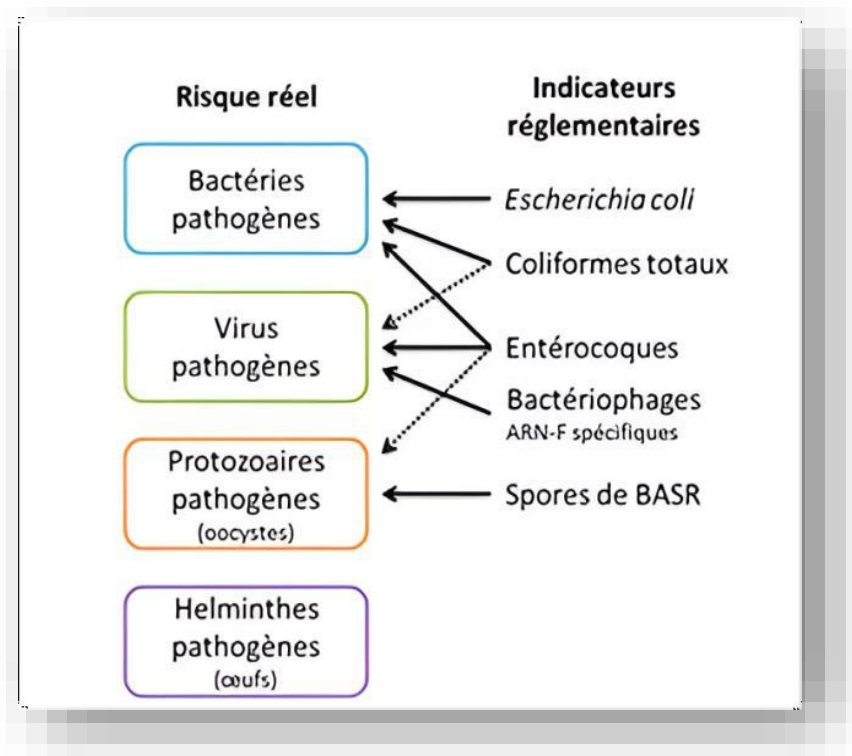


Figure 1: Principaux pathogènes rencontrés dans les eaux usées et principaux indicateurs microbiologiques de contamination (Carré, 2017).

1.3. Origine des pollutions

Selon l'origine des substances polluantes, on distingue trois catégories : pollution domestique, pollution agricole et pollution industrielle (Figure 2).

1.3.1. Origine domestique

Elle est principalement due aux rejets domestiques provenant des activités humaines quotidiennes. Ces activités génèrent divers polluants, notamment des substances biologiques, urinaires et fécales (**Radoux et al., 1991**). Parmi ces polluants, on trouve : des germes fécaux, des sels minéraux (d'azote et de potassium), des détergents, de fortes teneurs en matières organiques (**Faurie et al., 2002**).

1.3.2. Origine industrielle

La pollution d'origine industrielle provient des usines et comprend une grande diversité de produits ou de sous-produits issus de l'activité humaine, qui polluent les rivières et les nappes phréatiques, parfois de manière intensive, sans que l'on connaisse les effets à long terme. Les rejets industriels contiennent des substances diverses, sous forme soluble ou insoluble, d'origine minérale et/ou organique, dont le caractère biodégradable varie. Certains de ces polluants peuvent être toxiques même à de très faibles concentrations (**Boeglin, 2001 ; Faurie et al., 2002**).

1.3.3. Origine agricole

La pollution agricole est le résultat de pratiques liées à l'agriculture, à l'élevage, à l'aquaculture et à l'aviculture. Ces activités sont responsables du rejet de nombreux polluants, tant organiques qu'inorganiques, dans les eaux de surface et souterraines. La modernisation et l'intensification des pratiques agricoles ont souvent entraîné une utilisation excessive et irrationnelle des engrais azotés, ainsi que de produits phytosanitaires conçus pour protéger les cultures et accroître les rendements. Lorsqu'ils sont utilisés en excès, ces produits, parfois toxiques, contaminent les eaux de surface par ruissellement et les eaux souterraines par infiltration, en particulier lors de fortes pluies, provoquant ainsi des lessivages (**Djabri, 1996 ; Bordet, 2007**).



Figure 2: Sources et origines de pollution de l'eau (<https://2cm.es/Wemd>).

1.4. Contamination bactériologique de l'eau

Il est possible d'identifier plusieurs causes de contamination, expliquant l'arrivée de ces microorganismes fécaux dans le milieu naturel en quantité plus ou moins importante.

- **Les contaminations d'origine humaine** peuvent notamment être liées à un dysfonctionnement ou à une diminution de l'efficacité des systèmes d'assainissement des eaux usées par exemple :

✓ Le système d'assainissement collectif

Le système d'assainissement collectif, conçu pour collecter et traiter les eaux usées, peut subir plusieurs défauts pouvant compromettre son efficacité. Parmi ces problèmes figurent des dysfonctionnements des installations de traitement des eaux usées, l'utilisation de traitements inadaptés dans les stations d'épuration, ou encore la surcharge du réseau de collecte, notamment lors de pluies intenses. Ces dysfonctionnements peuvent entraîner le rejet d'eaux brutes ou peu traitées dans les milieux aquatiques, avec des conséquences néfastes sur la qualité de l'eau et l'environnement. En effet, cela conduit à un apport important de germes microbiens dans les milieux naturels, particulièrement, au niveau des points de rejet.

✓ Les installations d'assainissement non-collectif (ANC)

Elles peuvent aussi engendrer une contamination de l'environnement si elles ne sont pas conformes aux normes, en rejetant des effluents peu ou insuffisamment traités dans le milieu naturel. D'après l'Agence de l'Eau Loire-Bretagne (2013). Cette contamination est souvent plus difficile à quantifier que celle liée aux systèmes d'assainissement collectif. Par ailleurs, d'autres activités peuvent également contribuer à l'introduction de bactéries d'origine diverses :

• Contaminations d'origine humaine

Parmi les activités contribuant à l'introduction de bactéries d'origine humaine dans les milieux aquatiques, on peut citer :

- **Les activités de plaisance**, occupent une place importante, notamment lorsque les embarcations habitées ne disposent pas de système de récupération des eaux noires. En l'absence de telles installations, les eaux usées provenant des toilettes des bateaux sont directement rejetées dans l'eau, introduisant ainsi des agents pathogènes (bactéries, virus) d'origine fécale.
- **Les activités touristiques**, notamment les sports nautiques tels que la voile et le kayak de mer, attirent de nombreux visiteurs sur les plages, mais elles peuvent également avoir des impacts environnementaux significatifs. (Silva *et al.*, 2007 ; Díaz-Solano *et al.*, 2011). Pendant la haute saison, l'afflux de touristes entraîne souvent une augmentation des niveaux de bactéries fécales, y compris les entérocoques, dans les eaux de loisirs. Bien que les niveaux de contamination puissent diminuer légèrement après la saison touristique.

• Contaminations d'origine animale

Les animaux, qu'ils soient domestiques ou non, représentent une source de matière organique et de contamination fécale. Ils excrètent des germes d'origine fécale qui peuvent être pathogènes pour l'homme tel que *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Listeria monocytogenes*, ainsi que certains *astrovirus* et *rotavirus*. Le risque de portage de ces micro-organismes pathogènes peut être évalué par un suivi zoosanitaire des cheptels (Derolez, 2003). Cependant, une proportion significative d'animaux peut être porteuse saine : 23 % pour *Salmonella spp* chez les porcs et 7 % chez les bovins (Dupray, 1999). La contamination animale est principalement liée à l'élevage (Gould & Fletcher, 1978).

✓ **Bâtiment d'élevage**

Le ruissellement sur les sols souillés des bâtiments d'élevage peut engendrer des écoulements d'eau contaminée vers le milieu (**Hooda et al., 2000**).

✓ **Epandage**

L'épandage de lisier sur les cultures, notamment le maïs au printemps et les chaumes de céréales ou les prairies à l'automne, peut poser des problèmes de pollution diffuse

En effet, ces pratiques favorisent le ruissellement, qui peut transporter des micro-organismes pathogènes tels que *E. coli* vers les cours d'eau (**Hooda et al., 2000**). La concentration en *E.coli* dans les lisiers est estimée à 9.10^5 *E.coli/g* de poids sec (**Bougeard et al., 2008**). De plus, les industries agro-alimentaires peuvent également contribuer à cette pollution si leurs effluents ne sont pas correctement traités.

1.4.1. Les bactéries indicatrices de contamination fécale

La pollution de l'eau par des micro-organismes d'origine fécale, humaine ou animale, est un problème qui est apparu dès que l'eau a été utilisée pour l'élimination des déchets (**George & Servais, 2002**). Ces micro-organismes sont fréquents, et leur présence indique une contamination par des matières fécales. Les bactéries indicatrices, tel que les coliformes fécaux (coliformes thermotolérants) et *Escherichia coli*, sont présentes en grand nombre dans le tube digestif des animaux à sang chaud. Elles sont utilisées pour évaluer le niveau de contamination bactériologique et détecter la présence de germes potentiellement pathogènes dans l'eau (**Mouaz, 2017**).

Idéalement, un bon indicateur de contamination fécale doit avoir les propriétés suivantes :

- Il doit être absent des eaux non polluées et associé exclusivement à la présence de déchets fécaux d'origine animale et humaine. Il doit être présent dans les eaux contaminées par les matières fécales en même temps que les germes pathogènes, mais en plus grand nombre qu'eux.
- Il doit être incapable de se développer dans le milieu aquatique, tout en pouvant survivre plus longtemps que les germes pathogènes.
- Il doit être au moins aussi résistant à la désinfection que les germes pathogènes.
- Il doit être facilement détectable par une méthode spécifique et d'une grande sensibilité, et identifiable sans ambiguïté à l'aide de tests simples, rapides et peu coûteux.

- Un lien doit pouvoir être établi entre l'indicateur, sa nature, son abondance et la probabilité d'apparition d'infections.
- La densité des indicateurs doit être en corrélation directe avec le degré de contamination fécale (**Prescott *et al.*, 1999 ; George & Servais, 2002**).

1.4.1.1. Coliformes totaux

Le terme de « coliformes » désigne un groupe de certain nombre d'espèces bactériennes appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Selon l'Organisation internationale de standardisation (**ISO,1999**), il s'agit de bacilles gram négatif, non sporulés, oxydase négatifs, aérobies ou anaérobies facultatifs, capables de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires, et sont capables de fermenter le lactose (et le mannitol) en produisant de l'acide et de l'aldéhyde en 48 heures à des températures de 35 à 37 °C. Les genres de bactéries inclus dans cette catégorie comprennent: *Esherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia* et *Serratia* (**Rodier *et al.*, 1996**). Bien qu'elles soient principalement présentes dans les matières fécales, les coliformes totaux peuvent également se développer dans des milieux naturels (**Leyral *et al.*, 2002**). La valeur limite des coliformes totaux, selon l'OMS (**2004**) et le JORA (**1992**) est fixée à 50000 UFC/100 mL.

Le dénombrement de ces organismes est couramment désigné sous l'expression « dénombrement des coliformes totaux ». Ces bactéries constituent un groupe hétéroclite sur le plan taxonomique. Leur étude est traditionnelle et les informations fournies par cet examen sont d'une certaine utilité dans le domaine de la santé publique.

1.4.1.2. Coliformes fécaux (coliformes thermotolérants)

Ce sont un groupe de bactéries qui présentent des propriétés et des caractéristiques similaires aux coliformes totaux, mais qui se développent à des températures comprises entre 44 et 45 °C. Ce groupe inclut plusieurs espèces, notamment : *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Esherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica* (**Rodier *et al.*, 1996**). La présence de coliformes fécaux dans un milieu aquatique, et en particulier d'*E.coli*, est considérée comme un indicateur fiable d'une contamination récente du milieu par des matières fécales d'origine humaine ou animal à sang chaud (**George & Servais, 2002**). Néanmoins, leur détection dans l'eau ne prouve pas directement la présence

de pathogènes, elle suggère une contamination potentielle (**Craun et al., 1997**). Selon l'Organisation mondiale de la santé (**OMS**) et le **JORA**, la norme pour les coliformes fécaux dans les eaux de surface est fixée à 20 000 unités formant colonies (UFC) par 100 mL d'eau.

Un autre test pouvant fournir des indications similaires à celles du dénombrement des coliformes fécaux est le dénombrement des *E.coli* présumés. Ces *E.coli*, qui sont des coliformes thermotolérants, produisent de l'indole à partir du tryptophane à 44°C. L'analyse peut donc être orientée vers l'un ou l'autre de ces dénombrements (**Rodier et al., 1996**).

✓ *Escherichia coli*

Est une espèce particulière des coliformes thermotolérants, représente 94 % de ces coliformes selon l'**OMS (2004)**. Elle se distingue des autres espèces par sa capacité à produire de l'indole à partir du tryptophane et par son activité β -glucuronidase (**Beytout et al., 2002**). L'OMS considère *E. coli* comme l'indicateur le plus privilégié pour estimer la pollution fécale lors de l'évaluation de la qualité de l'eau, en raison de son abondance dans les fèces humaines, où elle peut atteindre jusqu'à 1 milliard de bactéries par gramme de matière fraîche. De plus, sa persistance dans l'eau, avec une durée de détection variant d'une semaine à un mois à 20 °C, en fait un paramètre essentiel à rechercher. (**Cheung et al., 1990**).

La plupart des souches d'*E.coli* (Figure 3) sont des organismes commensaux inoffensifs lorsqu'elles se trouvent dans leur habitat naturel, l'intestin. Elles représentent près de 80% de la flore intestinale aérobie chez l'adulte et peuvent également être présentes sur diverses muqueuses chez l'homme et chez les animaux (**Ferron, 1979**). Cependant, *E. coli* peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte sont affaiblies ou si la bactérie acquiert des facteurs de virulence spécifiques (**Khiati, 1998**). Plusieurs souches d'*E.coli* sont des agents pathogènes gastro-intestinaux dangereux pour les humains, et peuvent également affecter les jeunes animaux d'élevage (**FAO, 2011**). Selon **Sack (1975)**, *Escherichia coli* est associé à au moins quatre type de maladies entériques chez l'être humain :

- A une diarrhée qui se manifeste surtout chez les enfants de 0 à 2 ans.
- A une diarrhée accompagnée d'abondantes sécrétions séreuses.
- A une dysenterie semblable à celle qui est causée par les *Shigella*.
- A une colite hémorragique.

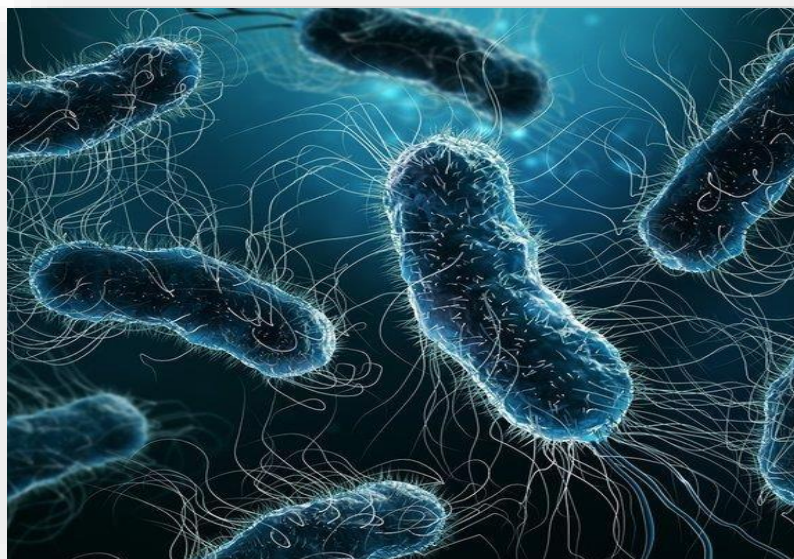


Figure 3: *Escherichia coli* (<https://2cm.es/Tw0l>).

1.4.1.3. Streptocoques fécaux

Les entérocoques sont des cellules bactériennes sphériques ou ovoïdes, gram positives, ne forment pas de spores et possèdent un métabolisme anaérobie facultatif. Capables de fermenter le lactose, elles contiennent l'enzyme β -D-glucosidase (ISO, 1999 ; Byappanahalli *et al.*, 2012). Ces bactéries se regroupent généralement en paires ou en chaînes et ne sont pas mobiles. Une caractéristique importante des entérocoques est leur capacité à hydrolyser l'esculine en présence de bile, ce qui est associé à la présence de l'antigène D de Lancefield (OMS, 2000) (Figure 4). Selon les recommandations de l'OMS (2004) et du JORA (1992), la norme des Streptocoques fécaux est de 10000 UFC/100 mL.

Les entérocoques montrent une résistance accrue dans l'environnement, ce qui les rend intéressants en tant qu'indicateurs de contamination fécale plus ancienne, même si certaines souches se retrouvent naturellement dans les sédiments ou les sols (Byappanahalli *et al.*, 2012). Plusieurs études mettent en évidence l'importance des entérocoques comme indicateurs de la présence et de la résistance des virus entériques lors des différentes étapes du traitement des eaux usées (NRC, 2004 ; Harwood *et al.*, 2005 ; AFSSA, 2008, Uyttendaele *et al.*, 2015). En ce qui concerne les protozoaires et les helminthes, la présence des entérocoques est significativement corrélée à celle de ces pathogènes. Cependant, l'absence d'entérocoques ne signifie pas forcément l'absence de risque, car ces bactéries sont généralement moins résistantes aux traitements de désinfection que les protozoaires (NRC, 2004 ; Harwood *et al.*, 2005 ; Byappanahalli *et al.*, 2012).



Figure 4: Streptocoques fécaux (<https://2cm.es/WeKi>).

1.5. Impact des pollutions des eaux

Les rejets dans les milieux aquatiques d'eaux usées sans traitement préalable peuvent occasionner des dégâts irréversibles sur la santé du vivant et sur les écosystèmes.

1.5.1. Les conséquences écologiques

Les impacts des polluants sont multiples et se manifestent par une diminution des ressources, une altération de la production des organismes, ainsi que des modifications des caractères organoleptiques. Comme tout milieu naturel, l'écosystème aquatique possède une capacité d'« autoépuration » (Bliefert & Perraud, 2001 ; Koller, 2004). Cependant, lorsque l'apport des substances indésirables dépasse cette capacité épuratoire, les conséquences écologiques peuvent être variées. Elles se traduisent principalement par :

- **Modification physico-chimique du milieu récepteur** : Cela inclut des changements de salinité, des variations de pH, ainsi qu'une augmentation de la turbidité et de la température de l'eau, perturbant ainsi la faune et la flore généralement sténothermes.
- **Diminution de la teneur en oxygène dissous** : plus la pollution organique est forte, plus le milieu s'appauvrit en oxygène (Koller, 2004), ce qui accroît les risques

d'absorption de quantités mortelles de polluants chimiques par les animaux aquatiques.

- **Eutrophisation** : La présence excessive d'azote et de phosphore favorise la prolifération de végétaux, diminuant ainsi la quantité d'oxygène dissous. À long terme, cela peut entraîner la mort de nombreux organismes vivants, tels que les poissons et les crustacés (Vouvé *et al.*, 2009).
- **Impact des éléments traces métalliques** : La présence de métaux lourds, comme le mercure et l'arsenic, peut avoir un impact néfaste sur les organismes les plus vulnérables, même à faibles doses, entraînant des dysfonctionnements et des troubles dans leurs fonctions physiologiques (nutrition, respiration et reproduction) (Vouvé *et al.*, 2009).

1.5.2. Les conséquences sanitaires

La contamination des eaux du littoral par des agents pathogènes représente un problème de pollution ancien et préoccupant. Cette situation entraîne une insuffisance ou une mauvaise qualité des ressources en eau, ce qui est à l'origine de nombreuses maladies, notamment dans les pays en développement, où 80 % des maladies sont liées à des problèmes d'eau (Cordova-Kreylos *et al.*, 2007 ; Fajardo & Martínez, 2008). Il peut s'agir, de pathologies liées à l'absorption d'eau polluée, de vecteur d'épidémies microbiologiques ou de produits toxiques, ou de pathologies liées à un simple contact avec le milieu aquatique (ce qui est le cas de nombreuses parasitoses) (Davies *et al.*, 2006).

Les maladies hydriques peuvent être classées selon six catégories différentes :

- I) Maladies transmises par l'eau (parasites, bactéries, virus) ;
- II) Infections de la peau et des yeux, dues au manque d'eau (trachome, gale, pian, lèpre, conjonctivite et ulcères);
- III) Maladies causées par un organisme aquatique invertébré ;
- IV) Maladies causées par des insectes vecteurs comme les moustiques et les mouches fourmillant à proximité de l'eau (ONU, 1992 ; Rogers, 1992).
- V) Infection due à l'Inhalation des germes (ce cas de figure est cependant très rare) (Agence de l'Eau Loire-Bretagne, 2013).

Au cours de XIX^e siècle, les maladies d'origine hydrique ont provoqué de vastes épidémies de dysenterie, de fièvre typhoïde et de choléra (**George & Servais, 2002**). Aujourd'hui, ces maladies entraînent un taux de mortalité très élevé parmi les populations des pays en développement. Chaque année, environ 6 millions d'enfants meurent des suites de gastro-entérites, et 100 millions de personnes souffrent de gastro-entérites d'origine hydrique de manière permanente. De plus, 260 millions d'individus sont atteints de bilharziose, et entre 2 et 3 millions de décès sont observés chaque année parmi les 800 millions de personnes touchées par le paludisme. Enfin, on recense 30 millions de cas d'onchocercose (**CNRS, 2004**).

Les agents pathogènes bactériens sont l'une des principales causes de gastro-entérite dans le monde (**Rincé et al., 2018**). Parmi les bactéries potentiellement pathogènes dans les milieux aquatiques, on peut citer les genres :

Salmonella

Les bactéries du genre *Salmonella*, appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, sont des agents pathogènes significatifs pour l'homme et divers animaux. Elles peuvent être disséminées dans le milieu extérieur par les excréta, mais ne s'y multiplient pas (**Ferron, 1979**).

- Identification : Les *Salmonella* ne fermentent pas le lactose, ce qui aide à les identifier en laboratoire (**Beytout et al., 2002**).
- Réservoirs : Elles se trouvent dans les intestins de nombreux animaux, y compris les mammifères, les oiseaux (notamment les volailles) et les reptiles. Leur réservoir s'étend à tout le règne animal.

- Transmission : La contamination humaine se fait principalement par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, souvent d'origine animale (comme la viande, les œufs ou les coquillages). Les infections peuvent également être causées par des manipulations humaines, lorsque le personnel est porteur de salmonelles (**Nauciel, 2000**).
- Infections : Les infections causées par *Salmonella*, connues sous le nom de salmonelloses, se manifestent généralement par des symptômes de gastro-entérite aiguë. Dans certains cas, elles peuvent évoluer vers des formes plus graves, comme la septicémie.
- Souches spécifiques : *Salmonella Typhi* et *Salmonella Paratyphi* provoquent des infections généralisées, telles que la fièvre typhoïde et les fièvres paratyphoïdes, cette dernière étant généralement moins sévère (**Teunis et al., 2010**).
- Réglementations : Selon l'OMS (2004) et le JORA (2011), les *Salmonella* doivent être absentes dans les eaux de surface, soulignant l'importance de la sécurité alimentaire et de l'hygiène.

Shigella

Les shigelles sont des bacilles à Gram négatif, immobiles et strictement humains, appartenant à la famille des Entérobactériaceae et caractérisés par leur faible activité métabolique (**Beytout et al., 2002**). Elles ne font pas partie de la flore intestinale normale et se trouvent uniquement chez les malades, les convalescents et les porteurs sains. Elles sont responsables de la dysentérie bacillaire, un problème historique qui décimait les armées en campagne. Actuellement, elles causent des colites infectieuses chez les adultes et des gastroentérites sévères chez les enfants, avec des symptômes tels que diarrhée mucopurulente et sanglante, fièvre et déshydratation. Ces infections surviennent souvent lors de petites épidémies familiales ou en collectivité.

En France, l'espèce la plus fréquemment isolée est *Shigella sonnei* (**Decoster & Lahieu, 2006**). De plus, des cas de shigellose peuvent être contractés après l'ingestion d'une très faible quantité de microorganismes (10 à 100 microorganismes seulement), notamment lors de baignades dans des eaux polluées (**Anonyme, 1992**).

Yersinia

Les *Yersinia* sont des bactéries ubiquitaires, présentes chez les animaux et dans l'environnement (sol, eaux), Elles peuvent contaminer l'homme et les animaux principalement par voie digestive. *Yersinia enterocolitica* est l'espèce la plus fréquemment responsable de gastro-entérites, mais elle peut également causer des syndromes appendiculaires, des polyarthrites, ou un érythème noueux (**Decoster & Lahieu, 2006**).

Le bacille pénètre par voie digestive et se multiplie dans les ganglions mésentériques. Chez le sujet fragilisé, l'évolution peut conduire à une septicémie. L'entérocolite causée par *Yersinia enterocolitica* se caractérise souvent par un début brutal, avec des symptômes tels que diarrhée intense, vomissements, douleurs abdominales et fièvre (**Avril et al., 2000**).

Vibrio

Les bactéries du genre *Vibrio* sont des bactéries en forme bâtonnets, soit incurvés en virgule, soit droits. Elles sont mobiles, aérophiles, Gram-négative et possèdent l'enzyme oxydase. Ces bactéries sont également halotolérantes, ce qui signifie qu'elles peuvent se développer en présence de chlorure de sodium (**Delarras, 2003**). *Vibrio cholerae*, l'espèce la plus connue du genre, se retrouve dans les environnements aquatiques, notamment marins, côtiers et estuariens, mais aussi dans certaines eaux douces, où elle peut être introduite par contamination fécale.

Certaines espèces de *Vibrio* sont pathogènes pour l'homme, tandis que d'autres affectent la faune marine, comme les poissons, crustacés et mollusques. Parmi ces espèces, *V. cholerae* sérotypes 01 et 0139 sont responsables des pandémies de choléra (**Mouaz, 2017**). Selon l'OMS (2004) et le JORA (2011) les *Vibrio* cholériques doivent être absentes des eaux de surface afin de prévenir les risques sanitaires.

Aeromonas

Ce sont des bacilles à Gram négatif, non capsulés et mobiles, que l'on retrouve fréquemment dans les environnements aquatiques. Certaines peuvent adopter une forme coccobacillaire. Elles appartiennent à la famille des Aeromonadaceae. L'espèce type du genre est *Aeromonas hydrophila*, qui se trouve couramment dans les eaux douces, les eaux usées et les matières fécales d'animaux à sang chaud. Sa prévalence est particulièrement élevée dans les eaux de consommation durant les saisons chaudes.

Conditions environnementales : *A. hydrophila* est capable de survivre dans une large gamme de conditions, avec un pH allant de 5,2 à 9,8 et des températures de 4 à 45 °C. Sa tolérance au sel est faible, ne dépassant généralement pas 4 % (**Anonyme, 1992 ; Anonyme, 2004**).

- ✓ **Infections :** Les infections causées par *A. hydrophila* peuvent être classées en quatre catégories principales :
- ✓ **Infections cutanées :** Cellulite ou infections de plaies, souvent liées à l'exposition à l'eau.
- ✓ **Gastro-entérites :** Diarrhée aiguë, généralement de courte durée.
- ✓ **Septicémie :** Cette infection peut survenir, souvent associée à des problèmes biliaires ou pancréatiques.
- ✓ **Autres infections :** Comprennent les infections des tissus mous, les infections urinaires, la méningite, la péritonite, l'otite et l'endocardite, en particulier chez les personnes immunodéprimées (**Anonyme, 1992**).

Pseudomonas

L'espèce la plus courante du genre *Pseudomonas* est *Pseudomonas aeruginosa*, également connu sous le nom de bacille pyocyanique. Cette espèce est dominante dans le genre *Pseudomonas* en raison de sa fréquence et de sa capacité à coloniser une grande variété de niches écologiques, notamment les eaux, les sols et les végétaux.

C'est un petit bacille fin, à Gram négatif, mobile grâce à une ciliature de type polaire monotriche et oxydase positive (**Denis et al., 1998 ; DIOP, 2001 ; Drame, 2001**). Bien qu'il résiste mal à la dessiccation, il fait partie de la flore commensale de l'homme, où l'on peut le trouver dans le tube digestif, sur la peau et dans les muqueuses, bien qu'il soit rarement présent dans la salive. Ce bacille peut survivre et se multiplier dans une infinie variété de liquides et de milieux, de supports et de matériels, en particulier lorsqu'ils sont humides (**Avril, 1991 ; Rolston & Bodey, 1992 ; Avril et al., 2000**).

Pseudomonas aeruginosa représente un problème majeur de santé publique. Les souches les plus pathogènes de cette espèce produisent des facteurs de virulence tels qu'une hémolysine thermostable, des exo-enzymes (protéases, phospholipase) et des toxines protéiques (exotoxine, entérotoxine). Sa virulence est multifactorielle (**Avril et al., 2000**).

Staphylococcus

L'espèce la plus fréquemment isolée de ce genre est *Staphylococcus aureus*. Ce sont des bactéries à Gram positif, de forme de cocci, regroupées en amas. Elles sont immobiles, non sporulées, catalase positives et oxydase négatives (Walid *et al.*, 2010). *S. aureus* est une bactérie ubiquiste, largement présente dans la nature (air, eau, sol) constitue un commensal fréquent de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux, notamment dans le rhinopharynx et l'intestin. Environ un tiers de la population humaine porte *S. aureus* sur la muqueuse nasale. Bien qu'elle puisse survivre longtemps dans l'environnement après élimination (Haslay & Leclerc, 1993 ; Huss, 1995 ; Bactériologie, 2003), cette bactérie est un germe pyogène responsable de nombreuses infections suppurées de la peau et des muqueuses, et elle "surinfecte" souvent les plaies négligées.

L'identification de *S.aureus* repose sur plusieurs caractéristiques: la catalase (permettant de la distinguer des streptocoques), la fermentation du glucose en anaérobiose (différenciation par rapport aux microcoques), la coagulase (qui la différencie de *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*), ainsi que la présence de DNase thermostable (Bactériologie, 2003).

✓ Risques sanitaire liée à la baignade

La baignade dans une eau de mauvaise qualité microbiologique présente des risques pour la santé (Tableau A2, Annexe 1), notamment des infections telles que les gastro-entérites, qui peuvent varier en gravité selon les germes impliqués. D'autres problèmes de santé, comme les otites et les dermatites, peuvent également survenir. Dans de rares cas, une eau contaminée peut entraîner des maladies infectieuses plus graves telles que la typhoïde et le choléra (Kischel, 2018).

1.5.3. Les conséquences économiques

En plus de l'enjeu sanitaire, les contaminations microbiologiques des eaux présentent également un enjeu économique. En effet, le déclassement ou la fermeture de zones de baignade et de pêche à pied récréative peut entraîner une baisse de la fréquentation touristique, ce qui affecte directement les revenus des commerces locaux, des restaurants et des services liés au tourisme. (Kischel, 2018). De plus, ces fermetures nuisent à l'image des destinations touristiques, entraînant une diminution de leur attractivité à long terme.

1.6. La survie des microorganismes dans les milieux aquatiques

La survie des microorganismes dans les milieux aquatiques, notamment dans les eaux marines, constitue un véritable défi en raison des conditions défavorables à la survie des bactéries et virus d'origine fécale. Ces microorganismes subissent les stress environnementaux caractéristiques de cet habitat (Figure 5). Les processus régissant leur devenir dans l'environnement aquatique peuvent être classés en trois catégories: processus hydrodynamiques, biotiques et physiologiques (**Troussellier et al., 1998**).

Les processus hydrodynamiques comprennent la dilution dans le milieu aquatique récepteur, qui est plus importante lorsque le rejet a lieu dans une zone exposée aux courants, tandis qu'elle est plus faible en milieu fermé. On peut également citer la dispersion, la sédimentation et la resuspension. Les deux premiers processus dépendent uniquement de l'hydrodynamique du système tandis que, les deux derniers sont conditionnés par l'attachement des bactéries fécales à des matières en suspension (**Garcia-Armisen, 2006**). Ces microorganismes peuvent ainsi se sédimenter sur des fonds vaseux, qui sont plus propices à leur survie. Ils peuvent être remis en suspension lors des marées, des tempêtes ou des opérations de dragage.

Les processus biotiques comprennent la lyse induite par des bactériophages, la compétition avec les flores autochtones et la prédation par des protozoaires (**Rozen & Belkin, 2001**). Un taux élevé de substances nutritives, tel que celui présent dans les effluents d'eaux usées ou dans les suspensions de matières fécales, peut prolonger la survie des bactéries et même favoriser leur croissance. Cependant, ces nutriments peuvent également encourager la prolifération des prédateurs bactériens. En présence de faibles concentrations de substances nutritives, on observe généralement une réduction substantielle des populations bactériennes. (**Haslay & Leclerc, 1993**).

-Les processus physiologiques se réfèrent à la réponse cellulaire des bactéries aux conditions stressantes rencontrées dans leur nouvel environnement. Les paramètres environnementaux responsables de stress incluent, entre autres, la température de l'eau, la lumière solaire, la carence en nutriments et la salinité (**Garcia-Armisen, 2006**).

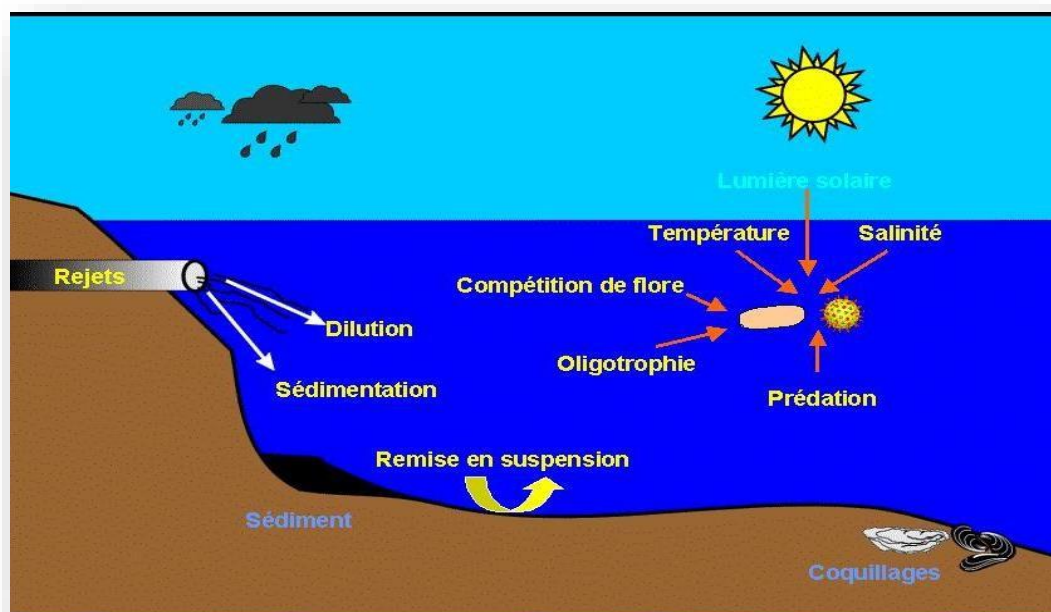


Figure 5 : Devenir en mer des micro-organismes d'origine fécale

(Boukef-Ben omrane, 2019).

- Aujourd'hui, un autre facteur influençant la présence et la résistance de la flore bactérienne dans les milieux aquatiques est l'utilisation des antibiotiques. En effet, par leurs actions bactéricides ou bactériostatiques, la contamination des eaux par ces substances peut inhiber l'activité des communautés bactériennes fonctionnelles et/ou sélectionner des souches antibiotico-résistantes (Cordova-Kreylos & Scow, 2007 ; Fajardo & Martínez, 2008).

L'émergence des bactéries résistantes aux antibiotiques dans les écosystèmes aquatiques est devenue un phénomène d'envergure mondiale. (Petit, 2010). Ce problème résulte des résidus d'antibiotiques et des bactéries résistantes déversés en quantités variées dans l'environnement, en raison d'une utilisation massive et souvent indiscriminée de ces substances dans les domaines médicaux, vétérinaires et agrochimique (Figure 6). Les eaux de surface sont le principal réceptacle de ces polluants et constituent également des sources d'eau directement ou indirectement utilisées pour la consommation humaine et animale.

Les bactéries résistantes aux antibiotiques, qu'elles soient pathogènes ou non, posent un problème de persistance dans l'eau. Les environnements naturels agissent donc comme des réservoirs favorisant le phénomène de la résistance et la diffusion des bactéries, ainsi que l'échange de gènes de résistance entre différentes espèces (humains et animaux) (Berthe *et al.*, 2005).

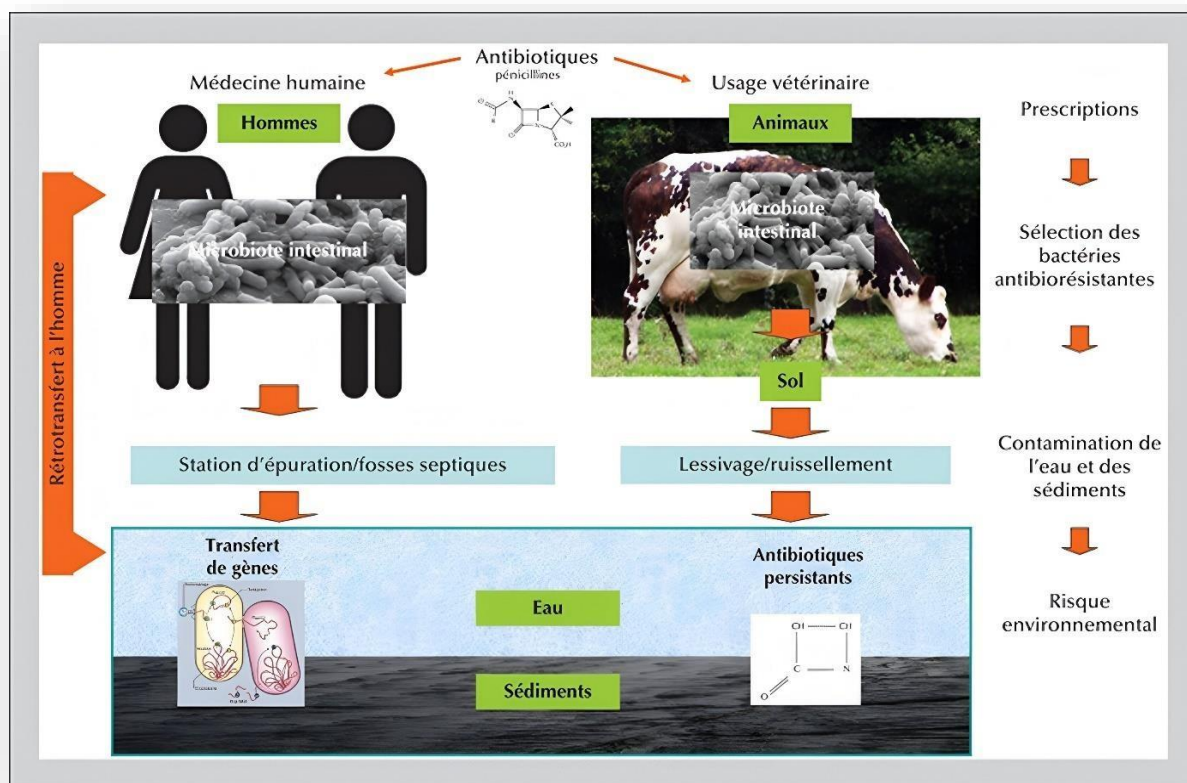


Figure 6 : Diffusion des bactéries résistantes dans les environnements aquatiques (Petit, 2018).

La survie des microorganismes varie selon qu'il s'agit de bactéries, de virus ou de protozoaires. Il n'est pas toujours facile de distinguer ce qui relève des propriétés de résistance propres aux microorganismes et des facteurs environnementaux.

1.6.1. Survie des bactéries

Les bactéries présentent des niveaux de résistance variés selon leur environnement. Par exemple, *Salmonella* est particulièrement résistante (Cherif *et al.*, 2001), tandis que *Yersinia enterocolitica* se distingue par sa grande aptitude à survivre et à se multiplier à des températures basses à + 4°C. Cette caractéristique contribue à sa stabilité dans les milieux aquatiques et souligne son potentiel pathogène pour l'homme.

En ce qui concerne les *E.coli* entéropathogènes, leur taux de survie est relativement faible, d'environ 10 jours, contrairement aux *E. coli* non pathogènes, qui peuvent survivre jusqu'à 60 jours (Haslay & Leclerc, 1993). De manière générale, les bactéries intestinales ont du mal à survivre dans les milieux aquatiques, où elles subissent un stress

physiologique qui limite leur capacité à se multiplier sur des milieux sélectifs et différentiels. Toutefois, ces coliformes stressés peuvent parfois être revivifiés avant leur identification (Prescott *et al.*, 1999).

1.6.2. Survie des virus et des protozoaires

Dans les milieux aquatiques, les virus ne peuvent pas se multiplier et tendent à disparaître sous l'effet de divers facteurs physico-chimiques et biologiques. La température joue un rôle déterminant dans leur survie ; des températures basses favorisent leur persistance, tandis que des températures élevées tendent à les inactiver. Le pH alcalin, souvent dû à la présence de composés ammoniacaux, contribue également à l'inactivation des virus. Plus l'eau est pure et exempte de matière organique, plus la survie des virus est prolongée, la persistance étant maximale dans l'eau distillée ou désionisée.

Les protozoaires, sous forme kystique, présentent une résistance exceptionnelle, surpassant celle des virus et des bactéries. Par exemple, Les kystes de *Giardia* ne peuvent pas être éliminés par une chloration usuelle. Leur destruction nécessite des traitements plus complexes, tels que la coagulation, la sédimentation et la filtration (Haslay & Leclerc, 1993 ; Mouaz, 2017).

2. Evaluation de la qualité des eaux

La qualité d'une eau est évaluée en mesurant différents types de paramètres physicochimiques et bactériologiques.

2.1. Paramètres physico-chimiques

Les caractéristiques physico-chimiques sont des facteurs clé qui structurent le fonctionnement des systèmes aquatiques. Des paramètres tel que le pH, l'oxygène dissous et la conductivité, conditionnent le maintien de la biodiversité aquatique et influencent le comportement et le devenir des contaminants dans la colonne d'eau. Ces paramètres jouent un rôle prépondérant dans le transfert des contaminants entre les différents compartiments aquatiques, permettant ainsi de développer des stratégies de surveillance pour détecter des perturbations. Un suivi régulier de ces indicateurs est essentiel pour adapter la gestion des

écosystèmes aquatiques et garantir leurs préservations (**Buffle & Chalmers, 1988 ; Burgess & Scott, 1992 ; Stumm & Morgan, 1996 ; Anras & Guesdon, 2007**).

La surveillance de l'environnement repose principalement sur un ensemble de techniques d'analyse physico-chimique, qui permettent d'évaluer les concentrations de polluants dans l'eau, les sédiments et les organismes vivants. Cependant, bien que ces méthodes soient essentielles pour détecter la présence de contaminants, elles ne fournissent pas d'informations sur l'impact réel des molécules chimiques sur les organismes vivants. C'est pourquoi le concept de biosurveillance (ou biomonitoring) a émergé ces dernières années, afin d'étudier les effets biologiques des polluants sur les organismes (**Kerambrun, 2011**).

La qualité physico-chimique des cours d'eau peut être évaluée à partir des valeurs de plusieurs paramètres :

Température

La température de l'eau dépend des variations journalières ou saisonnières de la température ambiante, ainsi que des rejets anthropiques, tels que les eaux utilisées pour le refroidissement. Ce paramètre joue un rôle crucial dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques en influençant la solubilité de l'oxygène et d'autres éléments (**Wilby *et al.*, 2014**). Les fluctuations de température affectent également la biodiversité, la reproduction des espèces et la dynamique des nutriments.

Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH est l'un des paramètres les plus importants de qualité de l'eau; représentant son acidité ou son alcalinité. Dans les eaux naturelles, il se situe généralement entre pH 6.5 et pH 8.5 (**Sigg *et al.*, 2006**). Le pH est influencé par la nature des terrains traversés, ainsi que par des facteurs externes tels que les précipitations acides, l'activité biologique et certains rejets industriels. (**Rice & Herman, 2012**).

Oxygène dissous (OD)

L'oxygène dissous est l'un des paramètres particulièrement utile pour l'eau et constitue un excellent indicateur de son état. Il est inversement proportionnel à la température ce qui entraîne des variations cycliques journalières et saisonnières très marquées. Dans les eaux de surface, l'OD est crucial pour l'autoépuration, et le maintien de la vie aquatique (**Ziani, 2017 ; Touati *et al.*, 2018**), car il favorise la croissance des micro-organismes capables de décomposer la matière organique. Cependant, une consommation excessive d'oxygène par ces micro-

organismes peut entraîner un déficit en oxygène dans les cours d'eau (**Smith et al., 1999 ; Diaz, 2001 ; Hull et al., 2008**), ce qui favorise le développement de germes pathogènes lorsque les niveaux d'OD sont faibles.

Salinité (Sal)

La salinité de l'eau, qui représente le pourcentage de chlorures présents, est un facteur clé dans la qualité des écosystèmes aquatiques. Les concentrations de chlorures varient considérablement en fonction de plusieurs sources :

- ✓ **Géologie** : L'eau peut percoler à travers des terrains salins, ce qui augmente sa salinité.
- ✓ **Infiltration marine** : Les eaux marines peuvent s'infiltrer dans les nappes phréatiques, notamment près des côtes.
- ✓ **Activités humaines** : Les rejets d'eaux usées, y compris les urines, ainsi que certaines activités industrielles, comme l'extraction pétrolière et les industries de sel, contribuent à la salinité.
- ✓ **Industries spécifiques** : Les industries de la soude et de la potasse représentent également des sources significatives de chlorures dans l'eau.

La salinité affecte non seulement la composition chimique de l'eau, mais également la biodiversité et la santé des écosystèmes aquatiques.

Conductivité électrique (Cd)

La conductivité de l'eau est un indicateur essentiel des changements de sa composition chimique et de la concentration globale de matériaux dissous. Elle est proportionnelle à la quantité de sels ionisables et renseigne sur le degré de minéralisation globale des eaux superficielles. La température influence également la conductivité en modifiant la mobilité des ions. Les eaux naturelles agissent comme solvants pour de nombreux solutés, qui peuvent être entièrement dissociés en ions ou partiellement ionisés. Une conductivité élevée peut indiquer des pH normaux, mais traduit souvent une salinité accrue (**El Morhit, 2009**). En règle générale, la conductivité des eaux naturelles varie entre 10 et 1000 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (**Chapman, 1996**), des changements notables des valeurs de ce paramètre peuvent signaler des apports importants de sels minéraux provenant du bassin versant ou des déversements ponctuels significatifs, tels que ceux provenant de l'industrie.

Matières en suspension (MES)

Les matières en suspension englobent toutes les substances minérales ou organiques qui ne se dissolvent pas dans l'eau, qu'elles soient biodégradables ou non. De faibles tailles et/ou de faible densité, elles se déplacent dans les rivières à la vitesse que l'écoulement de l'eau, sans toucher le fond. Une forte concentration de MES peut entraîner la dégradation des milieux aquatiques en augmentant la turbidité de l'eau, perturbant ainsi la vie aquatique, par exemple en colmatant les branchies des poissons. De plus, ces matières peuvent véhiculer de nombreux contaminants vers le réseau hydrographique et accumuler des substances toxiques telles que des métaux lourds, des pesticides, des huiles minérales et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (Hayzoun, 2014 ; Ziani, 2017). La compréhension du comportement des MES est essentielle, car elle influence le transport et le sort des polluants dans la colonne d'eau. Il est important de noter que les concentrations les plus élevées en matières en suspension sont généralement observées lors des événements pluvieux (Tessier, 2003 ; Radakovitch *et al.*, 2008 ; Nicolau *et al.*, 2012).

2.2. Paramètres bactériologiques

Les méthodes de recherche, d'identification et de quantification des divers germes pathogènes potentiellement présents dans les eaux ou les coquillages sont complexes et coûteuses (Bougeard *et al.*, 2008 ; Agence de l'Eau Loire-Bretagne, 2013). Cela s'explique par plusieurs facteurs:

- ✓ La grande variété et diversité des micro-organismes pathogènes pouvant être présents dans l'eau (virus, bactéries, protozoaires, etc.).
- ✓ La faible abondance de chaque espèce de pathogène, qui nécessite de concentrer de trèsgrands volumes d'eau pour les détecter.
- ✓ l'inexistence de méthodes standardisées et rapides pour la détection de tous ces micro-organismes pathogènes.

Pour ces raisons, l'évaluation de la qualité microbiologique des eaux repose principalement sur la recherche et le dénombrement de bactéries indicatrices de contamination fécale. Ces indicateurs, bien que non pas pathogènes en soi, signalent la présence de matières fécales, et leur abondance donne une indication du niveau de risque lié à la présence de micro-organismes pathogènes (Burton *et al.*, 1987).

Deux grands types de méthodes d'énumération des bactéries fécales sont régulièrement utilisés (Kadri, 2015) :

- **Détermination du nombre le plus probable (NPP)**: Cette méthode consiste à inoculer des dilutions décimales d'un échantillon dans une série de tubes contenant un milieu de culture liquide spécifique. Après incubation, on évalue la proportion de tubes positifs pour chaque dilution. En utilisant la loi de Poisson, il est possible de calculer le NPP à partir de ces proportions. Le NPP est généralement exprimé en unités par 100 ml.
- **Méthode de filtration sur membrane (MF)**: comprend une étape d'identification présomptive et de dénombrement des micro-organismes. Un volume défini de l'échantillon est filtré à travers une membrane qui retient les bactéries, puis cette membrane est incubée sur un milieu gélosé spécifique. Différents milieux et conditions d'incubation (temps et température) peuvent varier en fonction du type de bactéries fécales recherchées (Agence de l'Eau Loire-Bretagne, 2013). Après incubation, on dénombre les colonies visibles à l'œil nu, chaque colonie étant considérée comme le résultat de la multiplication d'une cellule bactérienne sur le milieu. Les résultats sont exprimés en unités formant colonie (UFC) par unité de volume.

2.1.1. Les méthodes de détection des bactéries

Il existe deux méthodes d'identification des bactéries

a) Méthodes phénotypiques

Les méthodes phénotypiques sont des approches classiques d'identification des bactéries, basées sur l'observation de caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques des isolats.

Cependant, ces méthodes présentent certaines limitations. Elles ne permettent pas toujours une identification précise au niveau de l'espèce ou de la souche (Bochner, 2008). De plus, elles sont souvent longues et laborieuses (préparation du milieu, dilution, ensemencement, incubation, comptage, isolement et caractérisation) (Justé *et al.*, 2008), avec des résultats obtenus après plusieurs jours. Une contrainte majeure est également leur incapacité à identifier les cellules non cultivables, car elles reposent sur la culture des bactéries. Ces méthodes comprennent plusieurs étapes essentielles :

- ✓ Isolement des souches sur des milieux sélectifs

Cette étape favorise la croissance de certaines bactéries tout en inhibant d'autres, permettant ainsi un isolement plus efficace.

✓ **Examen macroscopique**

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire permet de réaliser une première caractérisation et d'orienter les résultats durant l'identification.

✓ **Examen microscopique**

Une étude microscopique, réalisée à l'état frais ou après coloration (comme la coloration de Gram ou de Ziehl-Neelsen), permet d'analyser les caractères morphologiques (forme, arrangement et mobilité) et de vérifier la pureté d'une souche bactérienne.

✓ **Tests biochimiques**

En complément de l'analyse morphologique et culturale, l'identification des bactéries repose sur leur capacité à utiliser différents substrats. . Pour ce faire, on les met en contact avec un glucide, un peptide ou d'autres substrats plus complexes dans un milieu de culture. L'utilisation d'un substrat est généralement révélée par un changement de couleur d'un indicateur de pH, observable à l'œil nu.

Chaque espèce bactérienne possède des caractéristiques distinctes, ce qui permet de les regrouper selon des critères de base tels que l'utilisation du glucose avec ou sans oxygène, ou la réduction des nitrates. La combinaison des résultats obtenus permet de définir le profil métabolique de la bactérie analysée, facilitant ainsi son identification. Toutefois, une identification fiable ne peut être conclue qu'en tenant compte d'un ensemble cohérent de caractères.

b) Techniques de biologie moléculaire

Les techniques de détection moléculaire représentent une révolution dans le domaine de l'analyse et permettent d'assurer une surveillance plus complète et plus réactive de la qualité microbiologique de l'eau.

Contrairement aux méthodes traditionnelles d'identification, qui se fondent sur l'étude des caractéristiques morphologiques et physiologiques des micro-organismes, l'identification moléculaire repose sur la détection de séquences nucléiques spécifiques présentes dans l'ADN ou l'ARN des micro-organismes (bactéries, parasites, virus, etc.). Les principaux avantages des outils incluent leur rapidité, leur haut niveau de spécificité et de sensibilité, ainsi que leur capacité à être automatisés. Ils sont universels et peuvent être appliqués à l'analyse de tous les

micro-organismes, même ceux difficiles à identifier par les méthodes traditionnelles.

✓ **Technique de PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**

Constitue l'un des outils de diagnostic les plus prometteurs. Cette méthode d'amplification génique enzymatique permet de multiplier près d'un million de fois l'ADN cible du micro-organisme recherché, rendant ainsi inutile la culture des bactéries sur des boîtes de pétri. Parmi les nombreuses variantes de la PCR, on trouve la PCR en temps réel, la PCR multiplex et la RT-PCR.

✓ **Séquençage**

Le séquençage, en particulier celui du gène de l'ARNr 16S, est une méthode largement utilisée pour l'identification des souches bactériennes (**Mohania *et al.*, 2008**). Cette approche est reconnue (par la communauté scientifique) pour sa fiabilité et son efficacité dans la comparaison et la différenciation des bactéries (**Mohania *et al.*, 2008 ; Elberse *et al.*, 2011**).

• **Séquençage de Sanger**

Le séquençage Sanger, développé par Frederick Sanger en 1977, a révolutionné la détermination des séquences d'ADN, lui valant un deuxième prix Nobel de chimie en 1980. Cette méthode repose sur l'établissement de la succession des nucléotides dans une molécule d'ADN. Elle utilise des ADN polymérases (Taq) pour synthétiser un brin complémentaire à partir d'un brin matrice, en ajoutant alternativement des désoxyribonucléotides (dNTP) et des didésoxyribonucléotides (ddNTP), qui mettent fin à la réaction (**Sanger, 1981**).

Le séquençage de Sanger peut être effectué manuellement, mais il est généralement automatisé grâce à des séquenceurs modernes, ce qui facilite son utilisation dans les laboratoires de biologie moléculaire (Figure 7).

Pour identifier un microorganisme par séquençage, il faut au préalable isoler une colonie sur gélose, faire l'extraction de l'ADN et amplifier un gène cible par PCR. Ce dernier sera ensuite séquencé. La séquence obtenue est comparée avec l'ensemble des séquences de références accessibles via différentes bases de données.

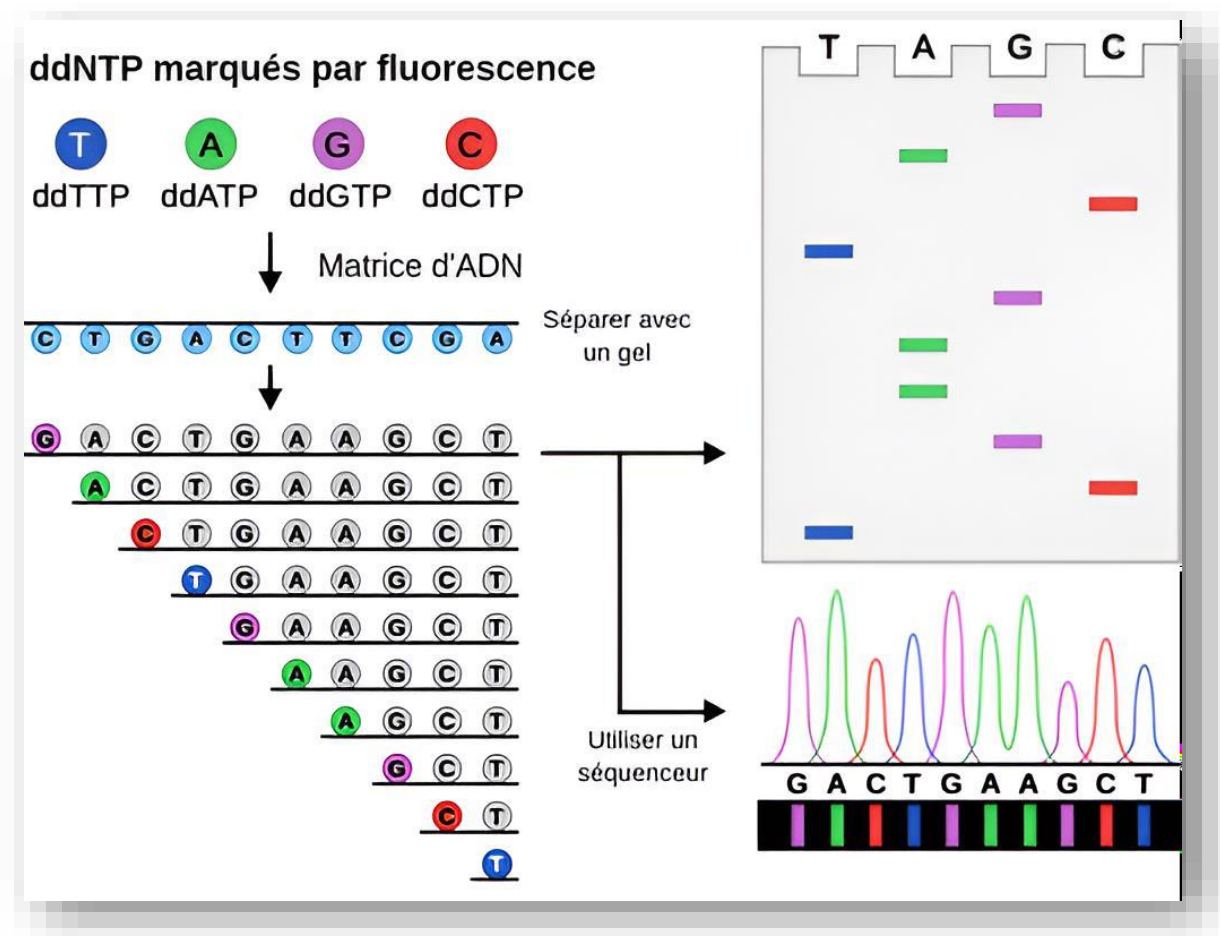


Figure 7 : Aperçu schématique de la méthode Sanger (terminaison de chaîne) pour le séquençage de l'ADN (<https://2cm.es/Twh3>).

c) L'analyse phylogénétique

La phylogénie moléculaire est l'étude de la parenté évolutive entre divers groupes de microorganismes. L'objectif de la construction d'arbres phylogénétiques significatifs est de calculer le degré de similarité et d'examiner les relations de parenté entre les bactéries étudiées et celles présentes dans les bases de données (Van Hoorde *et al.*, 2008 ; Patwardhan *et al.* 2014).

Lorsque le pourcentage d'homologie entre un isolat et une souche de référence dépasse 70 %, et que les caractéristiques phénotypiques correspondent à la définition de l'espèce, ces microorganismes peuvent être classés dans la même espèce (Anggraini *et al.*, 2018).

Chapitre 2

Résistance aux antibiotiques des Bacilles Gram négatifs

1. Définition

Les antibiotiques sont des composés d'origine biologique, synthétique ou semi-synthétique, agissent spécifiquement sur des cibles moléculaires, perturbant ainsi des étapes essentielles du métabolisme des bactéries, telles que la synthèse des protéines, la synthèse des acides nucléiques, la réplication, la transcription et le transport transmembranaire. En général, ils n'exercent pas d'effets toxiques sur les organismes supérieurs. Ces composés sont produits par un large éventail de micro-organismes, notamment des champignons et des bactéries (**Lavigne, 2007 ; Boulahbal, 2009**).

Il existe deux catégories d'antibiotiques : les antibiotiques à effet bactériostatique inhibent la croissance bactérienne en ralentissant puis en arrêtant la multiplication par contre les antibiotiques bactéricides lysent les bactéries (**Boulahbal, 2002**).

2. Classification et modes d'action

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme et le spectre d'action (**Yala et al., 2001**). Ils agissent au niveau précis de la structure bactérienne, appelé site d'action ou cible bactérienne (Figure 9).

Il existe des antibiotiques qui ciblent:

a). La paroi bactérienne

La paroi cellulaire des bactéries, constituée principalement de peptidoglycane, est essentielle à leur intégrité structurelle (Figure 8). Les antibiotiques bactéricides ciblent cette paroi en bloquant sa synthèse, entraînant ainsi la lyse des bactéries, notamment des Gram positifs (**Brahmia Rima Medareg Narou, 2016**). En revanche, Les bactéries Gram négatives sont généralement moins sensibles à ces antibiotiques, car leur membrane externe empêche l'accès des agents antibactériens à la couche de peptidoglycane (**Perry et al., 2002**).

Quelques exemples d'antibiotiques ciblant la paroi cellulaire :

✓ Les β -lactamines

Les β -lactamines, tels que la pénicilline, sont des antibiotiques qui agissent spécifiquement pendant la phase de croissance cellulaire des bactéries. Leur efficacité est maximale lorsqu'elles sont administrées pendant la division cellulaire et la biosynthèse de la

paroi cellulaire (**Piffaretti, 2002**), c'est-à-dire pendant la phase de synthèse du peptidoglycane, un polymère essentiel à la paroi cellulaire bactérienne.

Ces antibiotiques agissent en se liant à des protéines spécifiques dans les bactéries, appelées protéines liant les pénicillines (PLP) et transpeptidases (PBP). Cela inhibe une étape cruciale de l'assemblage du peptidoglycane, la transpeptidation, qui est nécessaire à la stabilité de la paroi cellulaire. Cette inhibition entraîne l'activation des autolysines bactériennes (des enzymes qui dégradent la paroi cellulaire). Ce processus, souvent accompagné d'une lyse cellulaire (**Sedrati, 2014 ; Konaré, 2016**).

✓ Glycopeptides

Exemples : Vancomycine, Teicoplanine. Ces antibiotiques bloquent la polymérisation du peptidoglycane, en se liant aux résidus peptidyl D-Ala-D-Ala des précurseurs qui émergent de la membrane cytoplasmique. Cela empêche l'incorporation de nouveaux éléments dans la paroi cellulaire (**Lavigne, 2007**).

✓ La fosfomycine

Cet antibiotique agit sur l'enzyme pyruvate-N-acétylglucosamine-transférase, essentielle pour la synthèse des précurseurs du peptidoglycane (**Lavigne, 2007**). En inhibant cette enzyme, la fosfomycine entrave la formation des composants nécessaires à la construction de la paroi cellulaire (**Cattoir, 2004**).

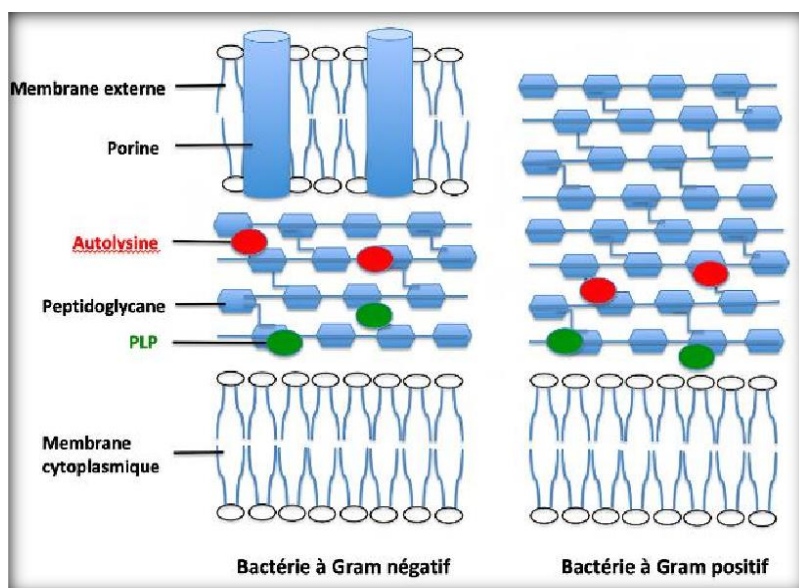


Figure 8 : Structure de la paroi bactérienne (<https://2cm.es/TwjF>).

b). La membrane plasmique

La membrane plasmique est essentielle à la survie des bactéries, car elle régule le passage des substances et maintient l'intégrité cellulaire. Certains antibiotiques de type polypeptidique, comme la polymyxine, ciblent spécifiquement cette membrane en perturbant sa structure. Bien qu'efficaces contre certaines infections bactériennes, ces antibiotiques présentent une toxicité pour les cellules humaines, ce qui limite leur utilisation clinique. Ces molécules naturelles sont produites par des bactéries du genre *Bacillus* (Moroh, 2013).

Les polymyxines B et E (également connues sous le nom de colistine) sont utilisées en thérapeutique. Ces antibiotiques cycliques sont moins toxiques que d'autres classes de polymyxines (A, C, D), isolés de *Bacillus polymyxa* (Konaré, 2016). Ils sont actifs contre les bactéries Gram négatif, à l'exception de *Proteus*, *Providentia*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii* et *Edwardsiella tarda*. Agissant comme des détergents cationiques, leur caractère amphipathique leur permet de pénétrer dans la cellule bactérienne et s'insérer dans les phospholipides des membranes externes et cytoplasmiques. Cela perturbe la perméabilité membranaire, entraînant une augmentation anormale de celle-ci et permettant la diffusion de substances hydrosolubles hors de la bactérie, ce qui conduit à sa destruction (Brücker, 1998 ; Cavallo *et al.*, 2002).

c). Les acides nucléiques

Certains antibiotiques ciblent spécifiquement les processus de synthèse et de fonctionnement des acides nucléiques, de différentes manières selon leurs familles (SOMIPEV, 2007). Par exemple :

✓ Quinolones, Fluoroquinolones

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Elles inhibent la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes essentielles: l'ADN topo- isomérase IV et l'ADN gyrase. Ces enzymes sont responsables de la régulation de la structure de l'ADN lors de sa réplication et de son élongation (Ziai, 2014). Les quinolones possèdent une région qui se lie à l'ADN bactérien par des liaisons hydrogène. Cette région, qui inclut le groupe carbonyle de la quinone, établit également des interactions spécifiques avec les enzymes de type topoisomérases (Nounsi, 2019).

✓ **Rifamycines**

Ce sont des antibiotiques bactéricides actifs principalement contre les bactéries à Gram positif, *Mycobacterium*, et certaines bactéries à Gram négatif, notamment *Neisseria meningitidis* (Tenstedt, 2010). Leur mécanisme d'action repose sur la liaison irréversible à la sous-unité β de l'ARN polymérase, inhibant ainsi la synthèse de l'ARN messager (Zomahoun, 2005).

✓ **Nitrofuranes**

Ces antibiotiques sont efficaces contre la majorité des entérobactéries, mais sont inactifs contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus*, *Serratia* et *Acinetobacter* (Konaré, 2016). Ils agissent directement sur l'ADN en provoquant diverses lésions, telles que des coupures et des substitutions de bases (Mohammedi, 2010).

✓ **Novobiocine**

Cet antibiotique a un effet bactériostatique qui inhibe la réplication de l'ADN bactérien. Parmi les germes sensibles, on trouve les staphylocoques, *Haemophilus* et *Neisseria*, tandis que les entérobactéries et les *Pseudomonas* sont généralement résistants (Karelle, 1999).

d). La synthèse protéique

La synthèse protéique est un processus essentiel pour la survie cellulaire, et de nombreux antibiotiques ciblent les ribosomes pour interférer avec ce mécanisme. Ils provoquent des erreurs dans la synthèse des protéines ou inhibent complètement ce processus, rendant ainsi les cellules bactériennes incapables de produire les protéines vitales à leur fonctionnement (Moroh, 2013). Certains agents se fixent sur la petite sous-unité 30S, tandis que d'autres s'attachent à la grande sous-unité 50S du ribosome. Plusieurs étapes de la synthèse peuvent être affectées, notamment la fixation de l'aminoacyl-ARNt, la formation de la liaison peptidique, la lecture de l'ARNm et la translocation (Prescott *et al.*, 2010). Cette inhibition entraîne une carence en protéines essentielles, ce qui peut s'avérer fatal pour les bactéries.

Quelques exemples d'antibiotiques ciblant la synthèse protéique :

✓ **Aminosides (ou Aminoglycosides)**

Ces antibiotiques sont des molécules de petite taille, bactéricides, qui présentent un large spectre d'activité. Ils sont particulièrement efficaces contre les bacilles Gram négatifs, notamment les entérobactéries, ainsi que certains bacilles Gram positif, comme *Listeria* (Yala

et al., 2001 ; Epote Ewane, 2014). Ils sont souvent utilisés en association avec d'autres classes d'antibiotiques, comme les β lactamines (Chouh *et al.*, 2019), pour renforcer leur efficacité. Leur mécanisme d'action repose sur l'inhibition de la synthèse des protéines, se liant à la sous-unité 30S du ribosome (Ziai, 2014). Cette liaison provoque la fixation d'un ARNt incorrect sur l'ARNm, entraînant des erreurs de décodage lors de la traduction et la synthèse de protéines erronées et défectueuses (Konaré, 2016 ; Nounsi, 2019), ce qui peut être létal pour les bactéries.

✓ **Tétracyclines ou cyclines**

Les tétracyclines sont des antibiotiques bactériostatiques qui pénètrent efficacement dans les cellules. Ces molécules présentent une grande homogénéité (Yala *et al.*, 2001 ; Niandou, 2005), et se fixent sur la sous-unité 30s du ribosome (Nauciel & Vildé, 2005). Cette fixation entraîne une inhibition de l'élongation de la chaîne polypeptidique, en empêchant la liaison de l'aminocyl-ARNt au complexe ribosome-messager. Cela bloque ainsi la synthèse protéique et inhibe la croissance bactérienne.

✓ **Phénicolés**

Les phénicolés, tels que le chloramphénicol et thiamphénicol, sont de petites molécules hydrophobes capables de traverser facilement les membranes externes et internes des bactéries à Gram négatif. Ils agissent comme des antibiotiques bactériostatiques à large spectre, ciblant à la fois les bacilles à Gram positif, les bacilles à Gram négatif, ainsi que les cocci à Gram positif et négatif. Leur mécanisme d'action repose sur la fixation à la sous-unité 50S du ribosome (Epote Ewane, 2014), inhibant ainsi l'activité de la peptidyl transférase, ce qui perturbe la synthèse des protéines. Bien qu'efficaces, leur utilisation nécessite des précautions en raison de risques d'effets indésirables, notamment la suppression de la moelle osseuse et des réactions allergiques.

✓ **Macrolides**

Lincosamides et Streptogramines, souvent regroupés sous l'acronyme MLS, sont des antibiotiques qui inhibent la synthèse des protéines en se liant à la sous-unité 50S du ribosome. Ils sont actifs principalement contre les bactéries à Gram positif et certaines à Gram négatif, mais ils sont généralement inefficaces contre les espèces d'*Enterobacter* et de *Pseudomonas* (Moroh, 2013). Ils agissent au niveau de la sous-unité 50S du ribosome. Leur mécanisme d'action se concentre sur l'inhibition de la croissance de la chaîne polypeptidique en formation, en se liant au site P du ribosome (Batraud, 2017), ce qui perturbe l'élongation de la chaîne protéique. Ces antibiotiques sont importants dans le traitement de diverses

infections bactériennes, notamment chez les patients allergiques aux pénicillines ou dans les cas d'infections causées par des germes résistants.

✓ **Acide fusidique**

C'est un inhibiteur de la synthèse protéique qui interfère avec le facteur d'élongation G (EF-G) et au GTP, formant un complexe stable au niveau de la sous unité 50S du ribosome bactérien. Cela bloque l'élongation de la chaîne polypeptidique en formation (**Visseaux & Calcagno, 2013**), perturbant ainsi la synthèse des protéines.

e). Inhibiteurs de la synthèse des folates

Les folates jouent un rôle fondamental dans les réactions de transfert des radicaux monocarbonés (formyl, formaldéhyde, hydroxy-méthyl), qui sont essentielles pour la synthèse des bases puriques et de la thymidine, ainsi que pour la formation des acides nucléiques, de la méthionine et de l'acide glutamique. L'acide tétrahydrofolique est le composé clé qui agit comme plaque tournante dans ces différents métabolismes (**Quinlivan et al., 2000**). Parmi les antibiotiques ciblant la synthèse des folates :

✓ **Sulfamides**

En raison de leur similitude structurale avec l'acide para-amino-benzoïque, les sulfamides agissent comme des inhibiteurs compétitifs dans la synthèse des folates, des acides puriques et des acides nucléiques. Ils bloquent l'enzyme dihydroptéroate synthétase (DHPS) (**Nauciel & Vildé, 2005 ; Adam & Drouillard, 2007**).

✓ **Triméthoprime**

Ce composé appartient à la famille des 2,4-diaminopyrimidines, qui inclut des antibactériens et des antiparasitaires. Il agit en inhibant la dihydrofolate réductase, entravant ainsi la synthèse des folates, des acides puriques et des acides (**Yala et al., 2001 ; Goldstein, 2006 ; Chouh et al., 2019**).

✓ **Association "sulfamide + triméthoprime" :**

L'association des sulfamides et du triméthoprime a effectivement un effet bactéricide synergique. Les sulfamides inhibent l'enzyme dihydroptéroate synthétase, tandis que le triméthoprime bloque la dihydrofolate réductase. En agissant à deux stades différents de la synthèse des folates, cette combinaison renforce leur activité antibactérienne (**Yala et al., 2001 ; Adam & Drouillard, 2007**).

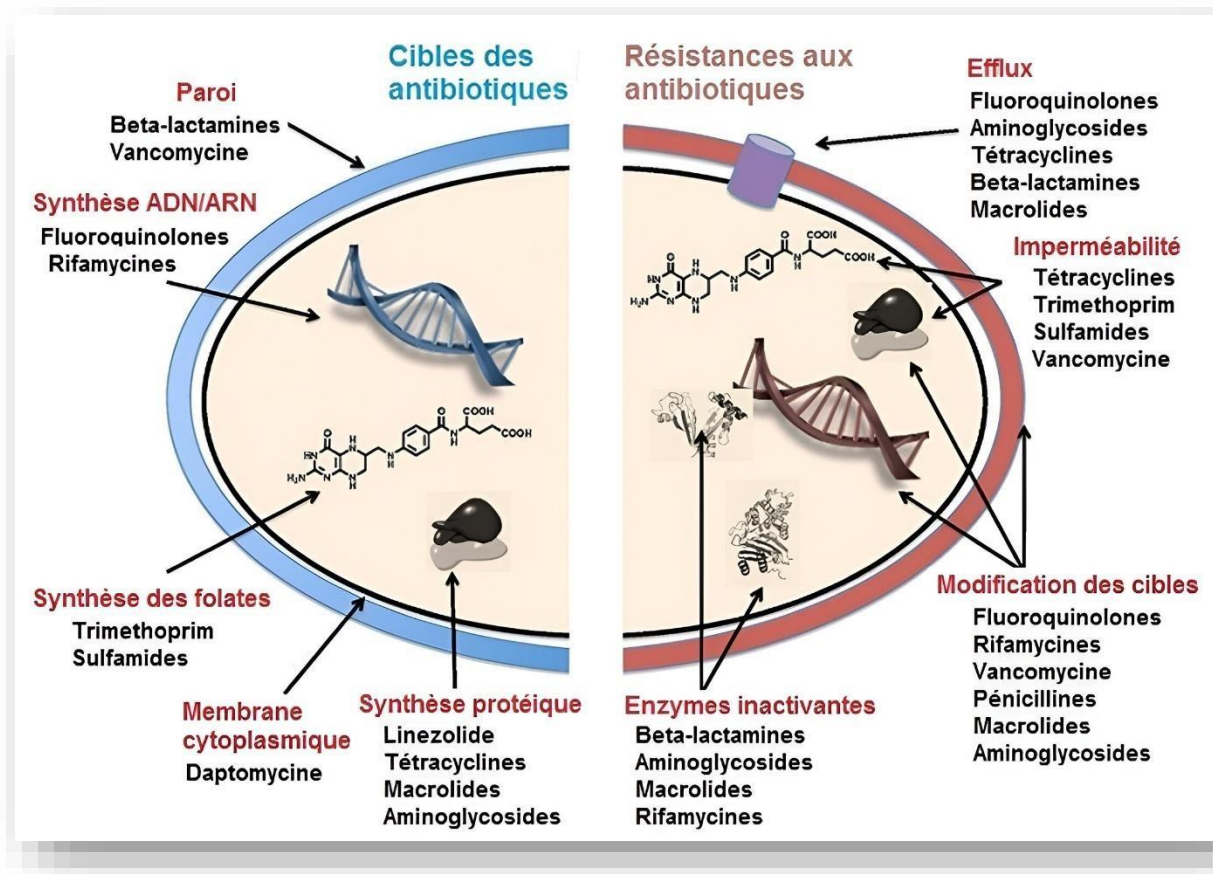


Figure 9 : Cible des antibiotiques et mécanismes de résistance (<https://shortlink.uk/TO21>).

3. Résistance aux antibiotiques

Après une période de forte efficacité contre les maladies infectieuses, les antibiotiques deviennent de moins en moins efficaces face à certaines infections bactériennes. Les bactéries s'adaptent aux antibiotiques et développent des résistances. Plusieurs définitions de la résistance bactérienne aux antibiotiques ont été retenues. Selon certains auteurs :

Un micro-organisme est dit résistant lorsque, pour l'une des raisons évoquées, il est capable de se développer en présence d'une concentration d'antibiotique significativement plus élevé que celle habituellement utilisée (**Philippon, 2007**). La notion de résistance clinique, est corrélative à un échec thérapeutique ; elle a une signification arbitraire en ce qui concerne le patient, mais elle n'a pas de sens à l'échelle des micro-organismes (**Meyer et al., 2004**).

Selon l'OMS, une souche résistante est celle qui supporte une concentration d'antibiotique supérieure à celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce (Azerbaidjan, 2011).

3.1. Types de résistance

La résistance aux antibiotiques se manifeste principalement sous deux formes : la résistance naturelle et la résistance acquise.

3.1.1. La résistance naturelle

La résistance naturelle, également appelée résistance intrinsèque, est présente chez certaines bactéries de manière innée. Elle est intégrée dans le génome bactérien, ce qui la rend fixe et constante au sein du taxon. Cette résistance est transmise à la descendance lors de la division cellulaire (transmission verticale), mais elle ne peut généralement pas être transférée d'une bactérie à une autre (transmission horizontale). Par conséquent, ces résistances constituent des critères d'identification des bactéries et déterminent leur phénotype « sauvage ». (Lavigne, 2007 ; Carle, 2009 ; Copyright Medical, 2012). On parle de résistance naturelle lorsque toutes les souches d'une même espèce sont résistantes à un antibiotique donné (Meziani, 2012). Un exemple notable de résistance naturelle se retrouve chez les entérobactéries et *Pseudomonas*, qui sont naturellement résistantes aux macrolides (Doublet, 2004).

3.1.2. Résistance acquise

La résistance acquise représente un mécanisme de défense des microorganismes face aux antibiotiques, distinct de la résistance naturelle. Ce type de résistance est souvent observé chez certaines souches d'une même espèce et peut varier considérablement en fonction de divers facteurs, notamment le temps, la localisation géographique (épidémie) et les pratiques d'utilisation des antibiotiques (Regnault, 2015). La résistance acquise peut résulter de mutations génétiques spontanées, modifiant ainsi le génome chromosomique de l'organisme. Alternativement, elle peut également se produire par transfert horizontal de gènes, où un microorganisme acquiert des gènes de résistance d'un autre (Figure 10) (Leclerc *et al.*, 1995, Moroh, 2013). L'expression de ces gènes acquis permet à la bactérie de tolérer des concentrations d'antibiotiques qui seraient normalement mortelles pour des souches sensibles de la même espèce (Regnault, 2015).

a). Résistances par mutation chromosomique

Les résistances bactériennes par mutation chromosomique sont induites par des modifications structurales qui peuvent se traduire soit par un problème de perméabilité à un ou plusieurs antibiotiques, soit par une indifférence des cibles spécifiques des antibiotiques (**Vaubourdolle, 2007**). Les résistances mutationnelles se caractérisent par plusieurs aspects :

- Spontanées: Ces mutations préexistent à l'utilisation de l'antibiotique et ne sont donc pas provoquées par sa présence ;
- Stables: Elles se transmettent verticalement au sein du clone bactérien, ce qui permet leur héritage dans les générations suivantes de bactéries (**Lavigne, 2007**) ;
- Spécifiques: Ces résistances affectent un antibiotique ou une famille d'antibiotiques partageant un même mécanisme d'action. Par conséquent, la résistance à un antibiotique peut entraîner une résistance croisée à d'autres antibiotiques de la même famille (**Zomahoun, 2005**);
- Rares: le taux de mutation se situe habituellement entre 10^{-7} et 10^{-8} mutations par gène par génération (**Leclerc *et al.*, 1995**), ce qui en fait un phénomène relativement rare.

b). Résistances extra-chromosomiques

Les résistances extra-chromosomiques sont courantes, représentant plus de 80 % des résistances acquises. Elles résultent du gain de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles, tels que les plasmides, les transposons ou les intégrons, les plasmides étant les plus fréquents.

Un plasmide est un fragment d'ADN qui existe en dehors du chromosome principal d'une bactérie et peut contenir un ou plusieurs gènes de résistance. Cette forme de résistance se transmet horizontalement entre bactéries cohabitant, même d'espèces différentes (**Leclerc *et al.*, 1995 ; Bathily Diarra, 2002**), facilitant ainsi la propagation de la résistance. Cependant, cette transmission est moins stable que celle des mutations chromosomiques, surtout en l'absence de facteur de sélection, tel que la présence d'antibiotiques, qui favorise la survie des bactéries résistantes (**Battraud, 2017**). Trois mécanismes principaux permettent la propagation de ces résistances (**Baudry & Brézellec, 2007**) :

✓ Transduction

Ce processus utilise des bactériophages comme vecteurs pour transférer des gènes de résistance d'une bactérie à une autre.

✓ Transformation

Une bactérie capture de l'ADN libre provenant de l'environnement, ce qui peut inclure des gènes de résistance.

✓ Conjugaison

Ce transfert direct de plasmides se produit entre deux bactéries, souvent par contact physique, et peut impliquer des espèces différentes.

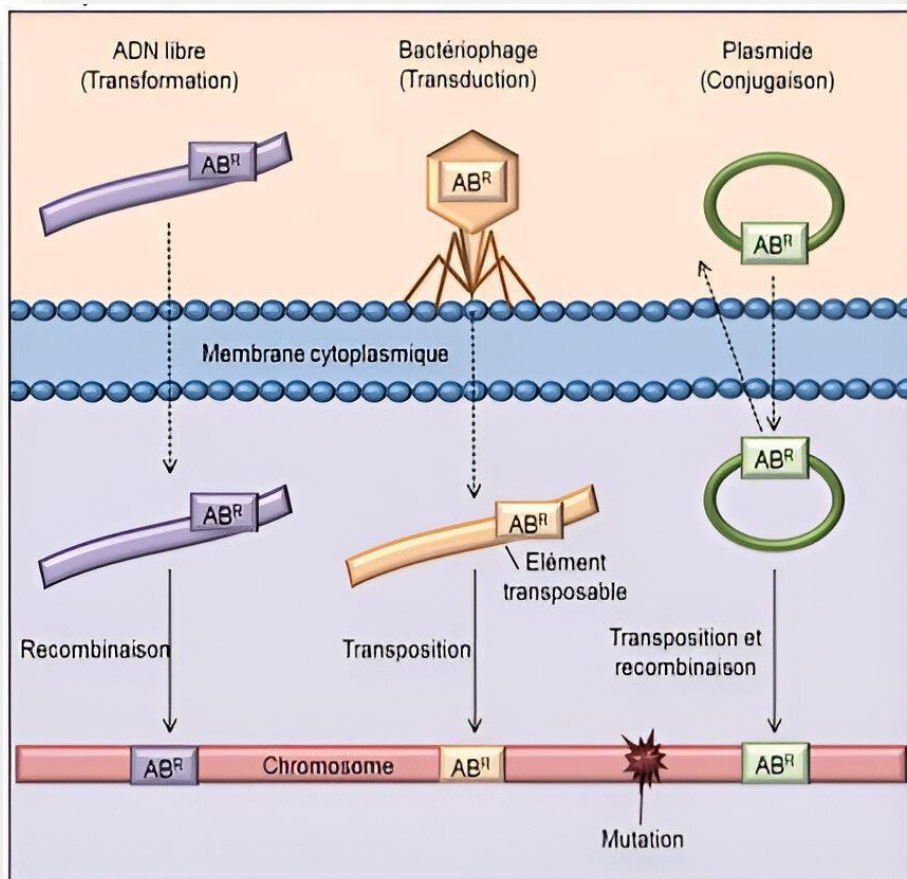


Figure 10 : Voies d'acquisition de résistance aux antibiotiques,

d'après Alekshun & Levy (2007).

3.1.3. Résistances croisées

La résistance croisée se produit lorsqu'une résistance à un antibiotique confère également une résistance à un autre, généralement par un même mécanisme biochimique. Le niveau de résistance peut varier selon les antibiotiques, étant généralement plus faible pour les

molécules les plus actives. Par exemple, des mutations peuvent entraîner une résistance aux fluoroquinolones (Courvalin, 2008 ; Carle, 2009).

Ce phénomène se manifeste également lorsque plusieurs antibiotiques ciblent la même cible. C'est le cas des macrolides, des lincosamides et des streptogramines B, qui agissent tous sur le ribosome. Une mutation unique au niveau de la sous-unité 50S de l'ARN ribosomal peut conférer une résistance élevée à ces trois classes d'antimicrobiens, malgré leurs différences structurales (Nounsi, 2019).

Une conséquence majeure de cette résistance est la sélection croisée, où n'importe quel antibiotique d'une classe donnée peut favoriser la survie de bactéries résistantes à tous les autres membres de cette classe (SOMIPEV, 2007).

3.1.4. Les bactéries multi-résistantes

Les bactéries sont considérées comme multi-résistantes aux antibiotiques lorsqu'elles accumulent des résistances naturelles et acquises, les rendant sensibles uniquement à un nombre limité d'antibiotiques habituellement utilisés en thérapeutique. Elles présentent une résistance à plusieurs antibiotiques, soit à au moins trois classes différentes d'antibiotiques (Ahmad *et al.*, 1999 ; Jones, 2001).

3.2. Les mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques

L'activité d'un antibiotique repose sur plusieurs étapes. Tout d'abord, l'antibiotique doit pénétrer dans la cellule bactérienne. Ensuite, il doit atteindre sa cible moléculaire, soit par l'intermédiaire d'un transporteur, soit par diffusion passive, et y parvenir sous une forme active pour exercer son effet, qu'il soit bactéricide ou bactériostatique (Jacquier, 2011). Chacune de ces étapes représente un point vulnérable pour l'antibiotique.

Les micro-organismes développent principalement quatre mécanismes de résistance (Figure 11) qui agissent à ces niveaux : l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif de la molécule, et la réduction de la pénétration de l'antibiotique dans la cellule.

3.2.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

L'inactivation enzymatique est un mécanisme de résistance bactérienne courant et efficace. Il permet aux bactéries d'inactiver les antibiotiques par la sécrétion d'enzymes qui détruisent les liaisons chimiques nécessaires à l'intégrité fonctionnelle de ces médicaments,

souvent avant même qu'ils n'entrent dans la cellule (Fournier, 2003 ; Babic *et al.*, 2006 ; Chouh *et al.*, 2019).

Les enzymes bactériennes catalysent plusieurs types de réactions biochimiques, telles que l'hydrolyse, l'acétylation, la phosphorylation, la nucléotidylation, l'estérification, la réduction et l'addition de glutathion. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Guardabassi & Courvalin, 2005 ; Alekshun & Levy, 2007 ; Nikaido, 2009), facilitant ainsi leur propagation au sein des populations bactériennes.

Les classes d'antibiotiques ciblées par ces enzymes incluent les β -lactamines, le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), les aminosides et les phénicolés (Bevilacqua, 2011). Ce type de résistance a également été observé pour les tétracyclines, la fosfomycine, et plus récemment, pour les fluoroquinolones (Muylaert & Mainil, 2013).

Un exemple bien connu est la β -lactamase, qui inactiverait la pénicilline. Plus de 350 types de β -lactamases ont été recensés, ces enzymes pouvant être codées par des plasmides (Saadaoui, 2008) ou par des gènes présents sur le chromosome bactérien selon l'espèce (SOMIPEV, 2007). Étant donné que les β -lactames sont les antibiotiques les plus prescrits au monde, la résistance à cette classe représente un problème de santé publique préoccupant (Yamashita *et al.*, 2000 ; Mandell *et al.*, 2009).

3.2.2. Modification de la cible

La modification de la cible antibactérienne est un mécanisme clé de résistance qui empêche les antibiotiques de se lier efficacement à leur site d'action (Chouh *et al.*, 2019). Ce phénomène peut se manifester de plusieurs manières (El Bouamri, 2017) :

✓ Modifications quantitatives

Une augmentation du nombre de cibles peut diluer l'effet de l'antibiotique (Nounsi, 2019), le rendant moins efficace.

✓ Modifications qualitatives

Cela inclut des altérations dans la structure des cibles, rendant celles-ci méconnues par l'antibiotique, ou l'apparition de nouvelles cibles qui ne sont pas affectées par le médicament (Rahal, 2013), parfois une association de plusieurs de ces mécanismes.

Ces modifications peuvent résulter de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou de mutations au niveau de la séquence nucléotidique de la cible (Muylaert & Mainil, 2013).

Ce mécanisme de résistance est observé pour la quasi-totalité des antibiotiques, notamment les pénicillines, les glycopeptides et les molécules du groupe MLS chez les bactéries Gram positif, ainsi que pour les quinolones chez les bactéries Gram positif et Gram négatif (Maiga, 2019). Citons comme exemples de ce phénomène de résistance :

➤ **Modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP), également appelées PBP**

L'altération ou la modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP), également appelées PBP, constitue un mécanisme clé de résistance aux antibiotiques de la classe des bêta-lactamines. Ces protéines, essentielles à la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne, peuvent subir plusieurs modifications (Lozniewski & Rabaud, 2010) :

a). Diminution de l'affinité

Certaines souches, comme *Streptococcus pneumoniae*, développent des mutations qui réduisent l'affinité de leurs PLP pour les bêta-lactamines, rendant ces antibiotiques moins efficaces.

b). Hyper-expression des PLP

Les bactéries peuvent augmenter la synthèse de PLP existantes, y compris celles qui possèdent naturellement une affinité faible pour les bêta-lactamines. Cette hyper-expression permet de compenser l'inhibition causée par ces antibiotiques.

c). Synthèse de nouvelles PLP

Certaines bactéries acquièrent ou modifient des gènes pour produire des PLP insensibles aux bêta-lactamines, leur permettant ainsi de synthétiser leur paroi cellulaire malgré la présence de ces antibiotiques.

Ce mécanisme de résistance est particulièrement fréquent chez les cocci Gram positif, tels que *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pneumoniae*, tandis qu'il est beaucoup moins courant chez les bactéries Gram négatif (Spratt *et al.*, 1989 ; Neuwirth *et al.*, 1995). Ces adaptations confèrent aux bactéries la capacité de survivre et de se multiplier même en présence d'antibiotiques ciblant leur paroi cellulaire.

➤ **Altération des sites de liaison ribosomaux**

Les ribosomes, qui sont essentiels à la synthèse protéique, peuvent être altérés par la fixation d'antibiotiques. Les modifications acquises par mutation des cibles ribosomales, affectant les sous-unités ribosomales des bactéries, permettent à ces dernières d'échapper aux effets antibactériens.

Ces mutations entraînent une incapacité à inhiber la synthèse protéique, car les antibiotiques ne peuvent plus se lier efficacement aux sites ribosomaux. On observe ainsi des résistances aux tétracyclines, macrolides, clindamycine, chloramphénicol, lincosamides, phénicolés, fucidine, et plus rarement, aux aminosides (Zomahoun, 2005 ; Carle, 2009).

➤ **Altération de la synthèse des acides nucléiques**

Les quinolones exercent leur effet bactéricide en inhibant l'ADN gyrase, une enzyme essentielle à la réplication de l'ADN. Des mutations spontanées touchant un seul acide aminé de l'ADN gyrase, ainsi que des altérations dans la topoisomérase IV, peuvent induire une résistance (Yamashita *et al.*, 2000 ; Pitout *et al.*, 2004 ; Mandell *et al.*, 2009). De plus, les rifampicines bloquent l'activité de l'ARN polymérase, indispensable à la synthèse de l'ARN messager. Les mutations qui entraînent la production d'une transcriptase modifiée sont responsables des résistances acquises.

➤ **Altération de la synthèse de la membrane cytoplasmique**

Des mutations dans le lipopolysaccharide (LPS) peuvent empêcher les polymyxines de se lier efficacement à leur cible, réduisant ainsi leur efficacité (Peleg & Hooper, 2010). Ce mécanisme de résistance est particulièrement problématique pour les traitements des infections causées par des bactéries à Gram négatif.

➤ **Altération des enzymes cibles**

La résistance aux antibiotiques tels que le triméthoprime et les sulfamides est souvent due à des modifications des enzymes impliquées dans la synthèse du folate. Par exemple, la production d'une dihydrofolate réductase insensible au triméthoprime ou d'une dihydroptéroate synthétase résistante aux sulfamides peut entraîner une perte d'efficacité des traitements (Huovinen *et al.*, 1995). De plus, chez les bactéries à Gram négatif, la résistance aux sulfamides est fréquemment associée à des plasmides qui codent pour des enzymes résistantes (Yamashita *et al.*, 2000 ; Pitout *et al.*, 2004 ; Mandell *et al.*, 2009).

3.2.3. Imperméabilité membranaire

La réduction de la perméabilité membranaire constitue un mécanisme de résistance bactérienne dû à des mutations au niveau des gènes codant pour les porines. Ces protéines transmembranaires forment des canaux remplis d'eau dans la membrane externe des bactéries Gram négatif, permettant l'entrée de molécules hydrophiles de faible masse moléculaire (**Figueiredo, 2011 ; Touati, 2013**).

Les mutations qui affectent les porines peuvent entraîner leur perte, réduire leur taille ou diminuer leur expression. Ces changements perturbent la pénétration des antibiotiques dans la cellule (**Muylaert & Mainil, 2013**), offrant ainsi une protection aux bactéries et les rendant résistantes, souvent à des niveaux variés vis-à-vis de nombreux antibiotiques.

Ce phénomène est lié à la structure de la paroi bactérienne (Gram+ ou-) et aux propriétés physicochimiques de l'antibiotique (**Touati, 2013**). Il est particulièrement fréquent chez les bactéries Gram négatif, qui sont ciblées par un large éventail d'antibiotiques (**Guardabassi & Courvalin, 2005**).

3.2.4. Efflux actif

L'efflux actif est un mécanisme de transport membranaire largement répandu chez les organismes vivants (**Bevilacqua, 2011**). Les bactéries, en particulier, synthétisent des protéines membranaires qui se trouvent à la fois dans la membrane plasmique et dans la membrane externe des bactéries Gram négatif (**Walsh, 2003**). Ces protéines agissent comme des pompes moléculaires, expulsant les antibiotiques à l'extérieur de la cellule grâce à des canaux spécifiques. Elles font partie d'une large famille de protéines transmembranaires, incluant également des transporteurs de sucres (**Nikaido, 1994**).

Cet efflux prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible, ce qui entraîne une diminution de sa concentration intracellulaire (**Jehl *et al.*, 2003 ; Lechat, 2015 ; Maiga, 2019**). Ce mécanisme joue un rôle essentiel dans la physiologie bactérienne en contribuant à maintenir l'équilibre physico-chimique à l'intérieur de la cellule, en empêchant l'accumulation de substances toxiques, qu'elles soient d'origine naturelle ou synthétique. En outre, il facilite le transport des nutriments et l'exportation des déchets (**Bevilacqua, 2011**). L'efflux actif est un facteur clé de la résistance intrinsèque des bactéries face à de nombreux agents antibactériens.

L'exposition aux antibiotiques peut entraîner une surexpression de ces transporteurs, souvent à la suite de mutations, ce qui accroît la résistance bactérienne (Schumacher *et al.*, 2006 ; Chevalier *et al.*, 2008). Ce phénomène a été initialement observé avec les tétracyclines (Poole, 2005), tant chez les bactéries Gram positif que chez celles à Gram négatif. Aujourd'hui, il est reconnu comme un mécanisme de résistance largement répandu, capable de réduire l'efficacité de presque toutes les classes d'antibiotiques, y compris les macrolides, les fluoroquinolones, les sulfamides et les aminoglycosides (Webber & Piddock, 2003).

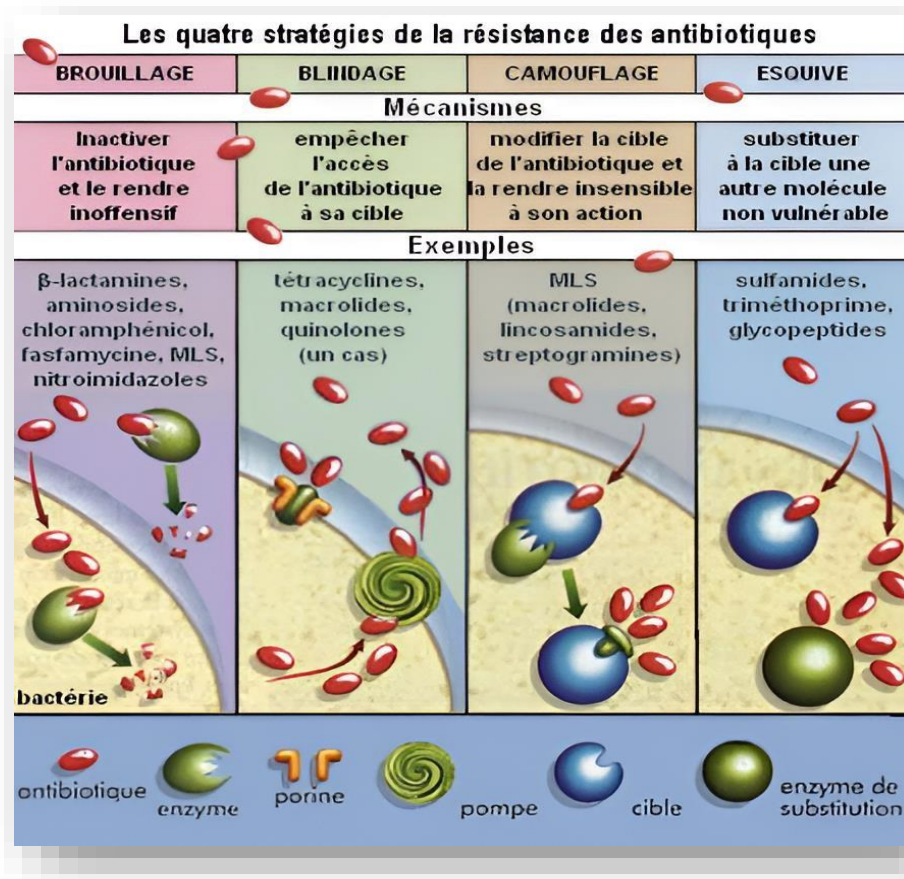


Figure 11 : Stratégies bactérienne de la résistance aux antibiotiques (La résistance aux antibiotiques, Véronique Fournier, Université de Laval, 2003).

4. La résistance des bactéries Gram négatif

Les bactéries Gram négatif (BGN) possèdent une structure enveloppante complexe, composée d'une membrane externe qui les rend naturellement résistantes à de nombreux antibiotiques. Contrairement aux bactéries Gram positif, qui ont une paroi cellulaire épaisse de peptidoglycane facilement accessible (Figure 8), les BGN présentent des difficultés

d'absorption pour les antibiotiques, en particulier ceux qui sont hydrophobes. Cela est dû à leur membrane externe, qui agit comme une barrière (Normark & Normark, 2002 ; Maiga, 2019).

Parmi les résistances naturelles observées chez les enterobactéries ou les *Pseudomonas*, on trouve une résistance aux macrolides, aux pénicillines G et M, à l'acide fusidique et à la vancomycine. Ces antibiotiques n'arrivent simplement pas à traverser la membrane souvent en raison de leur taille trop importante, ne parviennent pas à atteindre leur cible (Batraud, 2017). En outre, la membrane externe de certaines bactéries telles que *P. aeruginosa* est moins perméable que celle d'autres espèces, ce qui lui confère un niveau moins élevé de sensibilité aux antimicrobiens (Muylaert & Mainil, 2013). Citons d'autres exemples de résistance des Gram négatif :

- **Altération de cible-PLP**

L'altération des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) chez certaines bactéries à Gram négatif constitue un mécanisme de résistance aux bêta-lactamines. Dans le cas de *Neisseria gonorrhoeae*, des modifications des PLP1 et PLP2 ont été décrites, contribuant ainsi à sa résistance (Faruki & Sparling, 1986). De manière similaire, chez les entérobactéries, des souches de *Proteus mirabilis* résistantes à l'imipénème et au mécilinam ont été observées, en raison d'une diminution de l'affinité de la PLP2 et d'une réduction de la quantité de PLP1 (Lagha, 2015).

- **Réduction de la perméabilité membranaire**

La réduction de l'expression de la porine OmpF chez *E. coli*, entraîne une sensibilité réduite aux quinolones, aux bêta-lactames, aux tétracyclines et au chloramphénicol (Harder & Matsushashi, 1981 ; Livermore, 1988 ; Kumar & Schweizer, 2005). De manière similaire, la résistance acquise d'*Acinetobacter baumannii* aux carbapénèmes est liée à la perte de la protéine de membrane externe CarO, résultant de l'interruption du gène carO par différentes séquences d'insertion, notamment ISAb825. Cela illustre l'impact des modifications génétiques sur l'émergence de la résistance bactérienne (Mussi *et al.*, 2005).

- **Efflux actif**

L'efflux actif est un mécanisme crucial par lequel certaines bactéries, notamment les Gram-négatifs (GN), développent une résistance aux antibiotiques. Parmi ces mécanismes, les pompes de la famille RND (Resistance-Nodulation-Division) jouent un rôle majeur dans la

multi-résistance des entérobactéries (**Li et al., 2015**), en particulier chez des espèces comme *Acinetobacter baumannii*, qui présentent une prévalence élevée de ces systèmes (**Coyne et al., 2011**).

Pour *Klebsiella pneumoniae*, de nombreuses études ont clairement identifié l'implication des systèmes d'efflux dans la résistance aux β -lactamines, compliquant ainsi le traitement des infections (**Lagha, 2015**). De plus, certaines pompes d'efflux peuvent reconnaître et expulser plusieurs classes d'antibiotiques, entraînant une résistance croisée, un phénomène fréquemment observé chez des pathogènes tels que *Pseudomonas aeruginosa* (**Hernando-Amado et al., 2016**). Cela augmente les défis thérapeutiques en raison de la diversité et de la complexité des mécanismes de résistance.

4.1. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques

La résistance des entérobactéries aux antibiotiques varie selon les espèces et leurs origines, et elle constitue un problème majeur de santé publique, en particulier pour les souches responsables d'infections nosocomiales, telles que *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* et *Serratia marsecens* (**SOMIPEV, 2007**). Les principaux mécanismes de résistance observés chez les entérobactéries comprennent :

- Résistance aux β -lactamines par inactivation enzymatique par les β -lactamases;
- Résistance aux fluoroquinolones par modification de la cible;
- Résistance aux aminosides par inactivation enzymatique (**Fauchère, 1997**).

4.1.1 Mécanismes de résistance aux β -lactamines

Les β -lactamines représentent une classe essentielle d'antibiotiques, tant par la diversité des molécules disponibles que par leur large spectre d'action, leur faible toxicité et leur coût abordable pour certaines d'entre elles (**Livermore, 1995**). Cependant, leur utilisation extensive depuis plus de 60 ans a entraîné une augmentation significative de la résistance bactérienne.

Les entérobactéries utilisent plusieurs mécanismes pour développer cette résistance, qui peuvent être liés à des caractéristiques génétiques naturelles de chaque espèce ou être acquis par des modifications génétiques. Parmi ces mécanismes, on trouve l'inactivation enzymatique de l'antibiotique (production de β -lactamases), les troubles de pénétration ou l'excrétion de l'antibiotique (efflux actif ou modification de la cible) (**Lagha, 2015**).

➤ **Inactivation enzymatique de l'antibiotique**

La production des β -lactamases constitue le principal mécanisme de résistance naturelle et acquise aux β -lactamines, en particulier chez les bactéries à Gram négatif (**Philippon & Arlet, 2006**), comme les entérobactéries. Ces bactéries produisent une grande variété de ces enzymes, qui se subdivisent en plusieurs sous-groupes. Ces enzymes inactivent les β -lactamines en hydrolysant le pont amide du cycle β -lactame des pénicillines, des céphalosporines, des monobactames et des carbapénèmes, en donnant un produit qui perd totalement son activité antimicrobienne. L'acylenzyme formé se dégrade ensuite en acide inactif ; par exemple, les pénicillines se dégradent en acide pénicilloïque et les céphalosporines en acide céphalospoïque (**Harder *et al.*, 1981 ; Kumar & Schweizer, 2005**).

Trois principaux types d'enzymes doivent être connus :

✓ **Les pénicillinases**

Les pénicillinases sont des enzymes capables d'hydrolyser les pénicillines, contribuant ainsi à la résistance des bactéries aux antibiotiques. Ces enzymes sont principalement codées par des plasmides, ce qui permet leur transfert entre différentes espèces bactériennes. Cependant, certaines souches, comme *Klebsiella pneumoniae*, possèdent des pénicillinases chromosomiques, telles que SHV-1.

Les pénicillinases peuvent être classées selon leur niveau d'activité : celles de bas niveau sont responsables d'une résistance aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines et aux uréidopénicillines. En revanche, les pénicillinases de haut niveau, souvent produites par des espèces telles qu'*Escherichia coli*, *Proteus* et *Klebsiella*, confèrent une résistance non seulement aux pénicillines, mais aussi aux céphalosporines de première et deuxième génération, ainsi qu'aux antibiotiques inhibiteurs de β -lactamases (**Zahar & Moumile, 2013**).

✓ **Une enzyme dite TRI (TEM Béta lactamases, résistantes aux inhibiteur)**

Les enzymes de type TEM (Temoneira - nom du patient) telles que TEM-1 et TEM-2, sont des β -lactamases produites par diverses bactéries, notamment des entérobactéries comme *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri* et *Salmonella spp* (**Bradford, 2001**). Ces enzymes confèrent une résistance aux antibiotiques β -lactamines en hydrolysant leur structure.

✓ Les céphalosporinase

Les céphalosporinases sont des enzymes cruciales dans le contexte de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Elles sont codées par des gènes chromosomiques et se localisent dans l'espace périplasmique de certaines bactéries, notamment les genres *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus* indole +, *Morganella*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Serratia*. Ces bactéries présentent une résistance aux aminopénicillines et aux céphalosporines de première génération, tout en restant généralement sensibles aux céphalosporines de deuxième et troisième générations, ainsi qu'aux acylurédopénicillines, aux monobactames et aux carbapénèmes (Zomahoun, 2005).

De plus, de nombreuses entérobactéries peuvent acquérir des céphalosporinases plasmidiques, telles que les β -lactamases de classe C, ce qui leur confère un phénotype de résistance similaire à celui des céphalosporinases hyperproduites. Cela se traduit par une résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G), souvent associée à une résistance à l'acide clavulanique et à la céfoxitine, tandis que l'imipénème reste généralement efficace contre ces souches résistantes (Philippon *et al.*, 2002 ; Zahar & Moumile, 2013).

4.1.2. Résistance aux aminosides

La résistance aux aminosides chez les entérobactéries est principalement due à la synthèse d'enzymes modifiant ces antibiotiques, généralement codées par des éléments génétiques mobiles tels que des plasmides, des transposons ou des cassettes d'intégrons (Shaw *et al.*, 1993). Les aminosides, qui possèdent des groupes aminés et hydroxyles nécessaires à leur activité, peuvent être la cible de trois classes d'enzymes (sont classées en fonction de la réaction qu'elles catalysent) (Lambert, 1997 ; Wright, 1999 ; Azucena & Mobashery, 2001 ; Jana & Deb, 2006) :

- Acétylation d'un groupe aminé : médiée par l'Aminoglycoside N-ACetyltransferase (AAC).
- Phosphorylation d'un groupement hydroxyle : catalysée par l'Aminoglycoside O-PHosphotransferase (APH).
- Nucléotidylation d'un groupement hydroxyle : réalisée par l'Aminoglycoside O-NucleotidylTransferase (ANT).

La production des enzymes les plus prévalentes, AAC(3)-II et AAC (6')-Ib, est fréquemment associée à celle des BLSE de type CTX-M (Drieux *et al.*, 2009 ; Haldorsen *et al.*, 2014) ; soulignant ainsi un mécanisme de résistance complexe. Le variant AAC (6')-Ib-cr,

découvert en 2003 dans une souche de *E. coli* en Chine (Wang *et al.*, 2003 ; Robicsek *et al.*, 2006), représente une avancée préoccupante dans le domaine de la résistance bactérienne. En effet, cette enzyme est capable d'inactiver à la fois les aminosides et certaines fluoroquinolones, notamment la ciprofloxacine. Ce variant a été identifié dans de nombreuses espèces d'entérobactéries à l'échelle mondiale (Strahilevitz *et al.*, 2009 ; Ruiz *et al.*, 2012).

4.1.3. Résistance aux quinolones

La résistance acquise aux quinolones résulte principalement de mutations dans les gènes codant pour les topoisomérases de type II, à savoir l'ADN gyrase (composée des sous-unités GyrA et GyrB) et l'ADN topoisomérase IV (ParC et ParE) (Hooper, 2001). Ces mutations modifient les cibles des quinolones, entraînant une diminution de l'affinité des complexes ADN-enzyme pour ces antibiotiques. Ce mécanisme de résistance est observé chez les entérobactéries face aux quinolones de première génération, comme l'acide nalidixique et l'acide pipémidique, que pour les fluoroquinolones, telles que la péfloxacin, la norfloxacine, l'ofloxacine et la ciprofloxacine. Les modifications touchent principalement la structure secondaire et tertiaire des sous-unités GyrA et ParC, ce qui réduit encore davantage l'affinité des complexes pour les quinolones (Maxwell, 1997 ; Hooper, 2001). Cette résistance est croisée entre toutes les quinolones.

La progression de cette résistance est souvent graduelle, résultant de l'accumulation de mutations successives. En général, l'acide nalidixique est le premier à perdre son efficacité, suivi de la péfloxacin, de la norfloxacine, puis de l'ofloxacine, et enfin de la ciprofloxacine. Cette résistance peut également émerger au cours d'un traitement prolongé avec une quinolone en monothérapie (Debabza, 2015).

II. Matériels & Méthodes

Les expérimentations entrant dans le cadre de cette étude ont été réalisées au niveau du Laboratoire de Microbiologie de Département de Biochimie à l'Université Badji Mokhtar, Annaba et le Laboratoire Centrale de Microbiologie de l'Hôpital Dorban, Annaba.

1. Description de la zone d'étude

Le Golf d'Annaba, situé au niveau du littoral Est algérien, est une zone écologique complexe influencée à la fois par des facteurs naturels et anthropiques.

- **Géographie et écologie**

Le Golf est délimité par deux caps : le cap Rosa à l'Est ($8^{\circ} 15'E$ et $36^{\circ} 58'N$), et le cap de Garde à l'Ouest ($57^{\circ} 16'E$ et $36^{\circ} 58' N$), s'étendant sur environ 40 km. (Ayada, 2003 ; Guasmi *et al.*, 2006). Son plateau continental est étroit et accidenté, surtout au voisinage des deux caps. Il est restreint 7,2 km au Nord du cap de Garde, puis s'élargit dans le golfe jusqu'à 23,2 km et se rétrécit légèrement à l'Est.

- **Pollution et décharges**

Ce site est soumis aux facteurs océanographiques externes, tels que les intrusions d'eau provenant du large à l'entrée du golfe, ainsi qu'à des décharges continentales directes qui introduisent d'importantes quantités de polluants. Ces influences résultent de facteurs naturels, comme les courants et les oueds, et d'activités humaines variées, notamment les rejets de plusieurs industries établies sur la côte, en particulier celle des produits phytosanitaires (Fertial), ainsi que les rejets urbains non traités (Khammar, 2007).

Le site reçoit la plupart des apports d'eaux de plusieurs oueds répartis le long du littoral, qui charrient les eaux de pluie et les eaux usées. Parmi eux, deux oueds principaux se distinguent: l'Oued Seybouse, le second oued d'Algérie après l'Oued Chéelif, qui constitue l'axe de drainage d'un bassin versant de 6471 Km^2 , et l'Oued Bedjima, qui collecte principalement les eaux usées domestiques de plus de 100 000 habitants de la plaine ouest de la ville.

- **Climat**

La région d'Annaba bénéficie d'un climat méditerranéen, caractérisé par une saison douce et humide suivie d'une période chaude et sèche (Boudraa *et al.*, 2011), ce qui influence à la fois la biodiversité et les activités humaines.

1.1. Stations d'échantillonnages

Les quatre stations retenues dans le cadre de cette étude (Figure 12) ont été sélectionnés en fonction de leur localisation par rapport aux agglomérations et de leur proximité avec diverses sources de pollution.



Figure 12 : Localisation géographique des stations de prélèvements dans le Golfe d'Annaba. S1: Sidi Salem, S2: Oued Seybouse, S3: Jouannville, S4: Oued Bedjima.

Les caractéristiques de ces quatre stations d'échantillonnage sont représentées dans le tableau 1.

Tableau 1:Coordonnées et descriptions des stations d'échantillonnage.

| <i>Station de prélèvement</i> | <i>Localisation dans le Golfe et caractéristiques</i> | <i>Vue générale des stations de prélèvement (prises en 2017/2018 par KERBOUA)</i> |
|--|---|---|
| <p>Sidi Salem (S1) (36°52'13.37 "N,7°46'30.36"E)</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Se situe à l'Est de la ville d'Annaba à proximité de l'embouchure d'Oued Seybouse -Très fréquenté en saison estivale par les baigneurs et les pêcheurs malgré non autorisé à la baignade. |  |
| <p>Oued Seybouse (S2) (36°52'04.22 "N,7°46'23.23"E)</p> | <ul style="list-style-type: none"> -Représente le second oued du pays, eu égard de son vaste bassin versant (6471 km²) et de sa longueur (240 km). -La zone d'étude est située environ 100m de l'embouchure - Reçoit les eaux usées industrielles (Fertial Est), urbaines et agricoles sans prétraitements ou mal traitées (faute de station d'épuration) des communes et des agglomérations situées dans le bassin versant. |  |
| <p>Jouannoville (S3) (36°52'43.67 "N,7°46'01.10"E)</p> | <ul style="list-style-type: none"> -La plage de Jouanoville est située à environ 300 mètres des déjections du groupe Asmidal -Le point de prélèvement a été sélectionné en tant que témoin des introductions directes des rejets de l'Oued Bedjima et des effluents du complexe d'engrais phosphatés de Fertial (bassin principale). - Est interdite à la baignade. |  |
| <p>Oued Bedjima (S4) (36°52'36.67 "N,7°45'50.31"E)</p> | <ul style="list-style-type: none"> -Parcourt la plaine ouest de la ville d'Annaba, il constitue aussi, le dernier affluent de l'oued Seybouse. Long de 15 km -La zone d'étude est située environ 100m de l'embouchure et à 20m des rejets de l'abattoir de cité Seybouse. -Reçoit toutes les eaux résiduaires du côté ouest de la ville d'Annaba, y compris les rejets d'un abattoir distant de quelques mètres de l'oued, avant d'aboutir dans le littoral. |  |

2. Stratégie de prélèvement

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est une opération nécessitant un soin particulier, car il conditionne les résultats analytiques et l'interprétation qui en sera donnée. L'échantillon doit être homogène, représentatif et prélevé de manière à ne pas altérer les caractéristiques physico-chimiques de l'eau, telles que les gaz dissous et les matières en suspension (**Rodier, 2009**).

Quarante-huit campagnes d'échantillonnage ont été réalisées mensuellement sur une période d'un an, de Mars 2017 à Février 2018, afin d'obtenir une image représentative de la qualité de l'eau et de ses variations saisonnières et annuelles. Les échantillons destinés aux analyses physicochimiques sont prélevés dans des flacons en plastique de 1,5 litre. Pour les analyses bactériologiques, des flacons en verre stériles d'une capacité de 250 ml sont utilisés, préparés dans des conditions d'asepsie rigoureuses (autoclave à 120 °C pendant 15 à 20 minutes) et étiquetés. Afin d'éviter toute contamination éventuelle de l'échantillon d'eau lors de sa prise, le flacon stérile est débouché et immergé à une profondeur d'environ 50 cm de la surface de l'eau, puis ouvert dans le sens opposé. Les échantillons sont immédiatement transportés du point d'échantillonnage au laboratoire dans une glacière, et ce, dans un délai de 2 à 4 heures.

Pour une meilleure évaluation de la qualité bactériologique des sites étudiés, il serait intéressant d'examiner la qualité physico-chimique de ces eaux. Cela permettrait de comprendre les relations qui peuvent exister entre certains paramètres physiques et chimiques et la structure des communautés bactériennes.

3. Mesures des paramètres physico-chimiques

3.1. Mesures *in situ*

Afin de réaliser des mesures *in situ* de cinq paramètres physico-chimiques: Température (T°), pH, oxygène dissous (OD), salinité (Sal), conductivité électrique (Cd), nous utilisons un appareil multi-paramètres de terrain, modèle SX 736 (Figure 13). Cet appareil est essentiel en raison des variations rapides de ces paramètres dans le temps.

Procédure de mesure

- Préparation de l'appareil : Avant utilisation, il est important d'étalonner la sonde conformément aux recommandations du fabricant afin d'assurer des résultats précis.

- Immersion de la sonde : Plongez la sonde appropriée dans l'eau à l'emplacement souhaité pour la mesure.
- Stabilisation : Attendez quelques secondes que l'affichage sur l'écran se stabilise, ce qui indique que la mesure est prête.
- Lecture des résultats : Une fois l'affichage stabilisé, lisez et enregistrez les valeurs pour chaque paramètre.



Figure 13:Multi-paramètres modèle SX 736.

3.2. Mesures au laboratoire

3.2.1. Détermination des matières en suspension (MES)

- **Principe « méthode par filtration »**

La méthode utilisée pour déterminer les matières en suspension dans l'eau repose sur une technique de pesée différentielle après filtration sur un filtre de fibre de verre Whatman GF/C de 47 mm de diamètre. Ce type de filtre permet la rétention de toutes les particules de taille comprise entre 0,47 μm et 250 μm (Aminot & Kéruef, 2004).

❖ Mode opératoire

- Préparation des Filtres : Mettre les filtres dans l'étuve à une température comprise entre 70 et 105°C pendant 2 heures, en les recouvrant d'une feuille d'aluminium pour les protéger de la poussière.

- **Pesée des Filtres** : Peser chaque filtre sur la balance jusqu'à obtenir d'un poids stable. Noter ce poids comme P1.
- **Filtration** : Placer le filtre dans la rampe de filtration. Puis, verser un volume d'eau de 100 ml à l'aide d'une éprouvette, jusqu'à ce que la filtration soit complète.
- **Séchage du Filtre** : Récupérer le filtre et le placer à l'étuve à 70°C pendant 2 heures.
- **Pesée Finale** : Après un refroidissement complet, peser le filtre et noter ce poids comme P2.

3.2.2. Expression des résultats

La teneur de l'eau en matières en suspension est exprimée en mg/L et est calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{MES} = (\text{P2}-\text{P1})/\text{V}$$

Où : **P1** : poids de filtre avant la filtration (mg). **P2** : poids de filtre après la filtration (mg). **V** : volume d'eau filtré (litre).

4. Analyse bactériologiques

La composition des milieux de culture, des réactifs et des colorants utilisés est détaillée en annexe.

Dans notre étude, l'objectif principal de ce type d'analyse est d'évaluer la qualité bactériologique des eaux d'oueds et en recherchant et en quantifiant les germes indicateurs de contamination fécale, comprenant les germes totaux, les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux. De plus, nous détectons et identifions les bactéries potentiellement pathogènes, ainsi que nous étudions leur sensibilité aux antibiotiques. Il est essentiel de noter qu'une analyse bactériologique ne peut être interprétée que si elle est effectuée sur un échantillon prélevé correctement, dans un récipient stérile, en suivant un protocole précis afin d'éviter toute contamination accidentelle. L'échantillon doit être transporté au laboratoire dans des conditions appropriées et analysé immédiatement ou après une brève période de conservation adéquate (**Rodier et al., 2005**).

4.1. Préparation des dilutions décimales

❖ Principe

Le choix du degré de dilution est principalement basé sur la charge microbienne de l'eau à analyser. Les dilutions décimales suivent des séries logarithmiques, où chaque

dilution est dix fois moins concentrée que la précédente. Les concentrations s'inscrivent ainsi dans une progression géométrique : 0.1 ; 0.01 ; 0.001 ; etc.

❖ Mode opératoire

Conformément aux normes **AFNOR NF VO8-010** et **ISO 6887-1**, on effectue des dilutions décimales pour chaque échantillon à l'aide d'eau distillée stérile, répartie à raison de 9 mL par tube. L'échantillon d'eau est agité soigneusement afin d'obtenir une suspension homogène de bactéries.

À l'aide d'une pipette stérile, prélever 1 mL de l'échantillon mère, l'introduire dans un premier tube. À partir de cette dilution 10^{-1} ainsi préparée, prélever à nouveau 1 mL avec une nouvelle pipette stérile et l'introduire dans un deuxième tube pour réaliser la dilution 10^{-2} . Poursuivre ce processus jusqu'à obtenir la dilution adéquate (Figure 14).

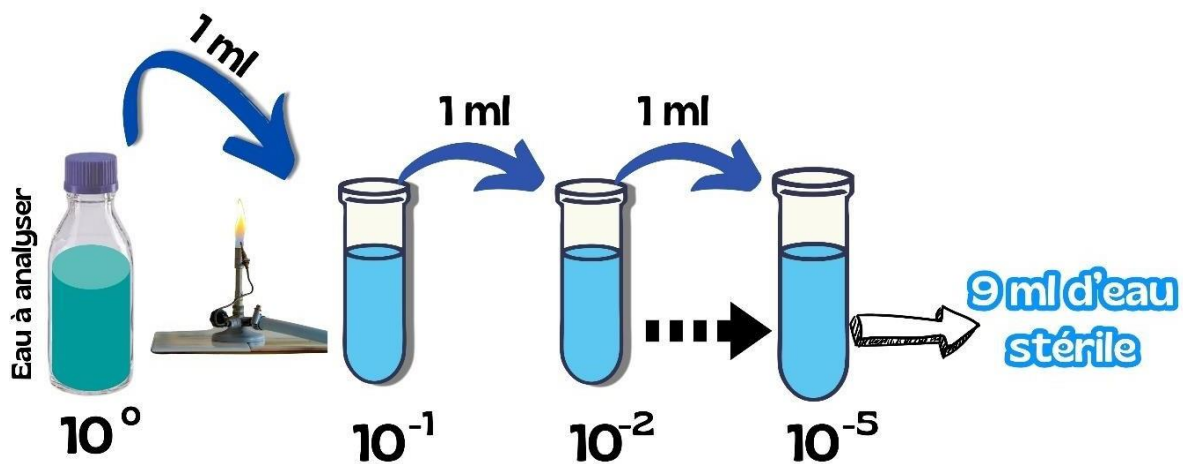


Figure 14: Schéma illustrant les différentes étapes des dilutions décimales.

4.2. Recherche et dénombrement des germes totaux

❖ Principe

La recherche de la flore totale ou des germes totaux (GT) vise à dénombrer les micro-organismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance : 20 °C pour les germes liés à l'eau et 37°C pour ceux issus de l'homme et des animaux à sang chaud.

❖ Mode opératoire

À partir de l'eau à analyser (solution mère et sa dilution décimale jusqu'à 10^{-5}), on met deux fois 1 ml dans deux boîtes de Pétri stériles et numérotées (Figure 15).

Compléter ensuite chaque boîte avec environ 15 ml de gélose PCA (*Plant Count Agar*) et mélanger délicatement la gélose et l'échantillon en effectuant un mouvement rotatoire, puis laisser solidifier.

Incuber une boîte à une température de 37 °C pendant 24 h à 48 h et l'autre à 22 °C pendant 72 h. La lecture se fait après chaque 24h. Après incubation, compter le nombre de colonies formées dans les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies, puis exprimer le résultat en nombre de germes par 100 ml d'échantillon (germes/100mL).

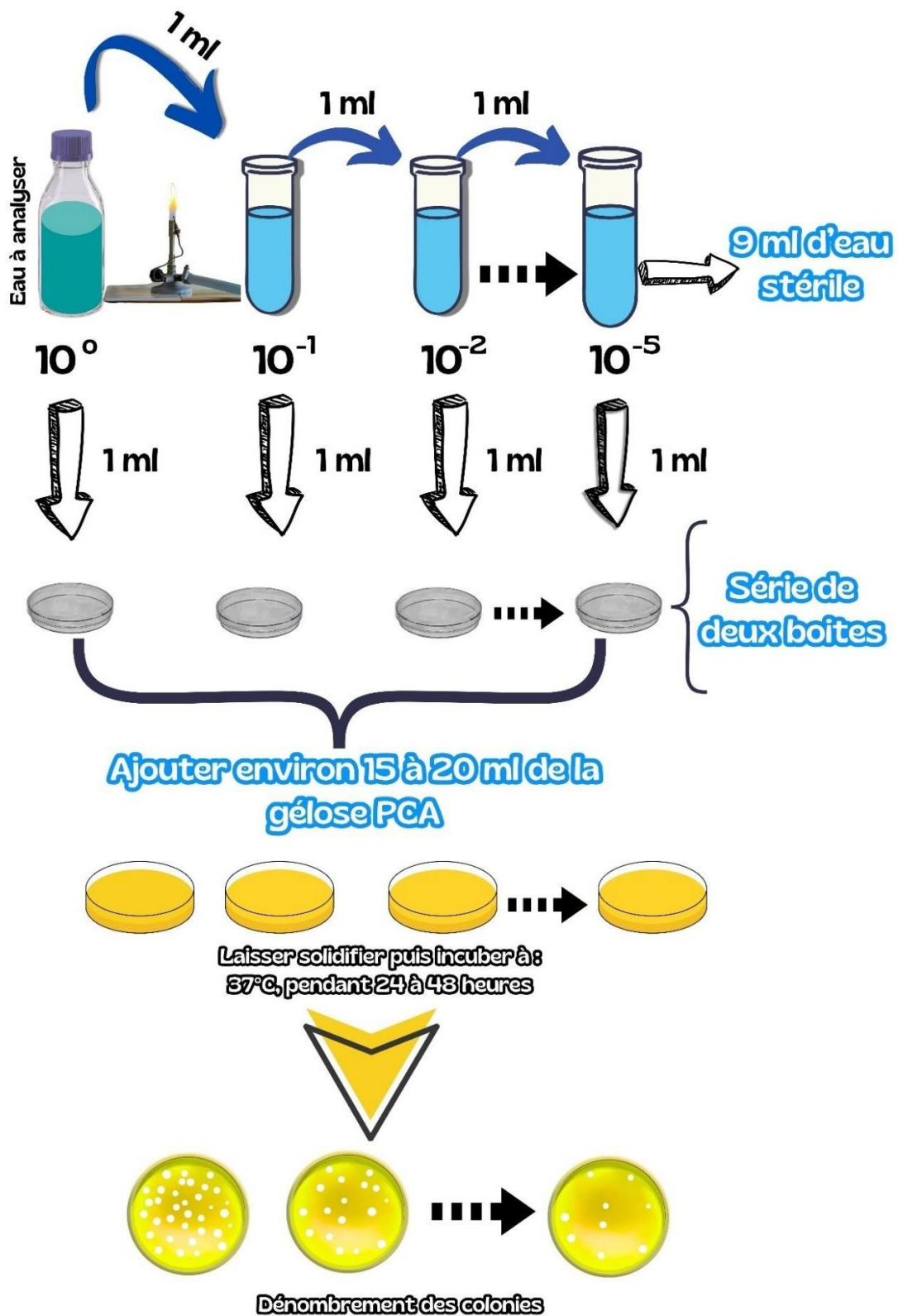


Figure 15: Schéma général du dénombrement des germes totaux.

4.3. Recherche et dénombrement des bactéries indicatrices de la contamination fécale

4.3.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes thermotolérants (Norme NFT 90-413)

❖ Principe

La recherche et le dénombrement des coliformes sont réalisés selon la méthode de colimétrie (Figure 16), une technique de numération en tubes multiples qui permet d'estimer le nombre de germes le plus probable (NPP) à l'aide de la table de Mac Grady. Cette technique en milieu liquide repose sur deux tests consécutifs:

- Test présomptif: Ce test est réservé à la recherche des coliformes totaux (CT).
- Test confirmatif (test de Mac Kenzie) : Ce test est destiné à la détection d'*Escherichia coli* présumé, tout en confirmant la présence des coliformes totaux et des coliformes fécaux (CF) (Rejsek, 2002 ; Degrement, 2005).

❖ Mode opératoire

➤ Test présomptif

Il consiste à utiliser des milieux liquides de bouillon Lactosé au Bromocrésol Pourpre (BCPL), dans des tubes équipés de cloches de Durham, afin de détecter le dégagement éventuel du gaz dans le milieu.

- Préparez 4 séries de 3 tubes, chacun contenant 9 ml de milieu BCPL à concentration simple S/C.
- Dans la première série, chaque tube reçoit 1 ml de la solution mère 10^0 . Les tubes de la deuxième, troisième et quatrième série reçoivent respectivement 1 ml de la dilution 10^{-1} , 1 ml de la dilution 10^{-2} et 1 ml de la dilution 10^{-3} .
- Éliminez l'air présent dans les cloches de Durham et mélangez soigneusement le milieu et l'inoculum. Incubez les tubes à 37°C pendant 24 à 48 heures.

❖ Lecture

Les tubes considérés comme positifs s'ils présentent un aspect trouble (indiquant une croissance bactérienne), une couleur jaune (virage de l'indicateur) et un dégagement de gaz (indiqué par la fermentation du lactose) dans la cloche de Durham, correspondant à environ 1/10 du volume de la cloche.

➤ **Test confirmatif**

À partir de chaque tube de BCPL positif, prélevez 2 à 3 gouttes etensemencez :

- Un tube de milieu Schubert et/ou eau peptonée exempte d'indole avec cloche de Durham (pour la recherche des coliformes thermotolérants). Incubation à $44^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ pendant 24 à 48 heures.

❖ **Lecture**

Considérez un tube comme positif si les deux critères suivants sont réunis :

- Dégagement du gaz observable, dépassant 1/10 de la hauteur de la cloche.
- Présence d'un anneau rouge ou rose en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après addition de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs dans le milieu Schubert ou eau peptonée exempte d'indole positif après incubation.

4.3.1.3. Dénombrement

Comptez le nombre des tubes positifs pour chaque type de milieu (coliformes totaux, coliformes thermotolérants et *E. coli*), et exprimez le résultat selon la table extraite de la norme NF T 90-413 (Tableau A3, Annexe 2). Pour déterminer le nombre le plus probable (N.P.P) de chaque groupe par 100 ml d'échantillon.

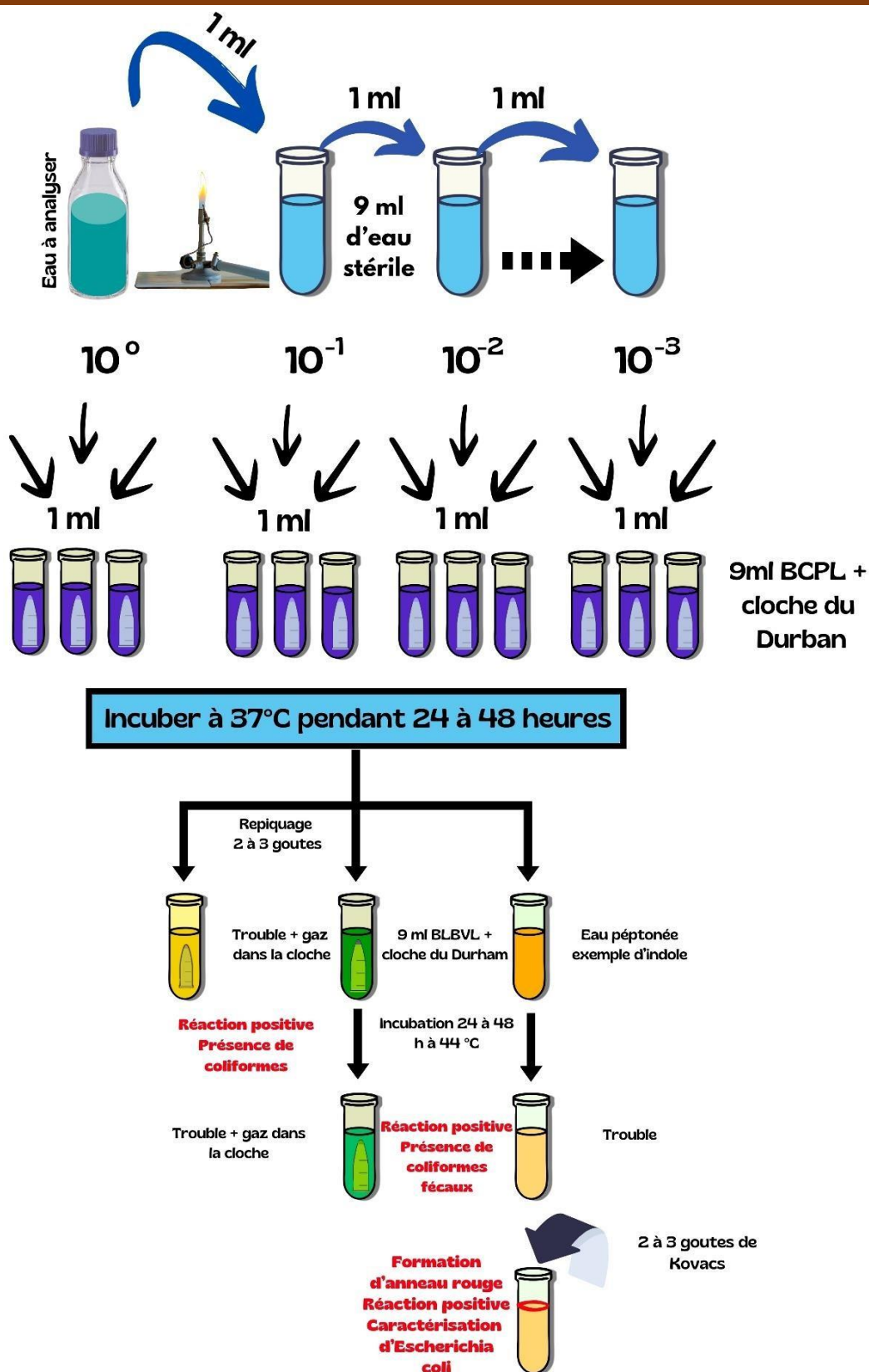


Figure 16 : Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux et caractérisation d'*Escherichia coli*.

4.4. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux (Norme NF T 90-411)

❖ Principe

La recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux se déroulent en deux étapes consécutives similaires à la méthode utilisée pour les coliformes, via la colimétrie en milieu liquide (**Guiraud, 1998**).

- Test présomptif: réservé à la recherche présomptive des streptocoques totaux, réalisé sur milieu Rothe qui contient comme agent sélectif l'azide de sodium (inhibiteur de la flore secondaire Gram négatif) simple concentré (S/C).
- Test confirmatif: réservé à la confirmation réelle des Streptocoques du groupe D, réalisé sur milieu Eva-Litsky qui contient en plus de l'azide de sodium, une faible concentration en cristal violet qui freine le développement des bactéries Gram positif, alors qu'il ne gêne pas celui des streptocoques (**Rejsek, 2002**).

❖ Mode opératoire

➤ Test présomptif

Ce test consiste en l'inoculation du milieu de Rothe comme suit :

- Préparer 4 séries de 3 tubes, chacun contenant 9 ml de ce milieu en simple concentration (S/C).
- Ajouter dans la première série de tubes 1ml de la solution mère 10^0 .
- Réaliser la même opération avec la 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} série, en ajoutant respectivement 1 ml de la dilution 10^{-1} , 1 ml de la dilution 10^{-2} et 1 ml de la dilution 10^{-3} .
- Incuber l'ensemble des tubes à 37°C pendant 24 à 48 h (Figure 17).

❖ Lecture

Les tubes seront considérés comme positifs si :

- Il y a un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu pendant cette période, en indiquant la présence présumée de Streptocoques fécaux.
- La lecture finale doit être effectuée selon les prescriptions de la table du NPP.

➤ Test confirmatif

Les tubes de Rothe présentant un trouble bactérien lors du test présomption seront soumis à un repiquage (2 à 3 gouttes de chaque tube positif) à l'aide d'un ose bouclé, dans des

tubes contenant 9 ml de milieu Eva- Litsky. Incuber ensuite les tubes à 37°C, pendant 24 h à 48 h.

❖ **Lecture**

Les tubes seront considérés comme positifs si :

- Un trouble microbien. Une pastille violette ou blanchâtre se forme au fond des tubes, indiquant une agglomération de la culture (**Rodier *et al.*, 1996**).
- La lecture finale doit être réalisée selon les règles de la table du NPP, et le nombre de Streptocoque fécaux sera exprimé pour 100 ml d'eau analysée.

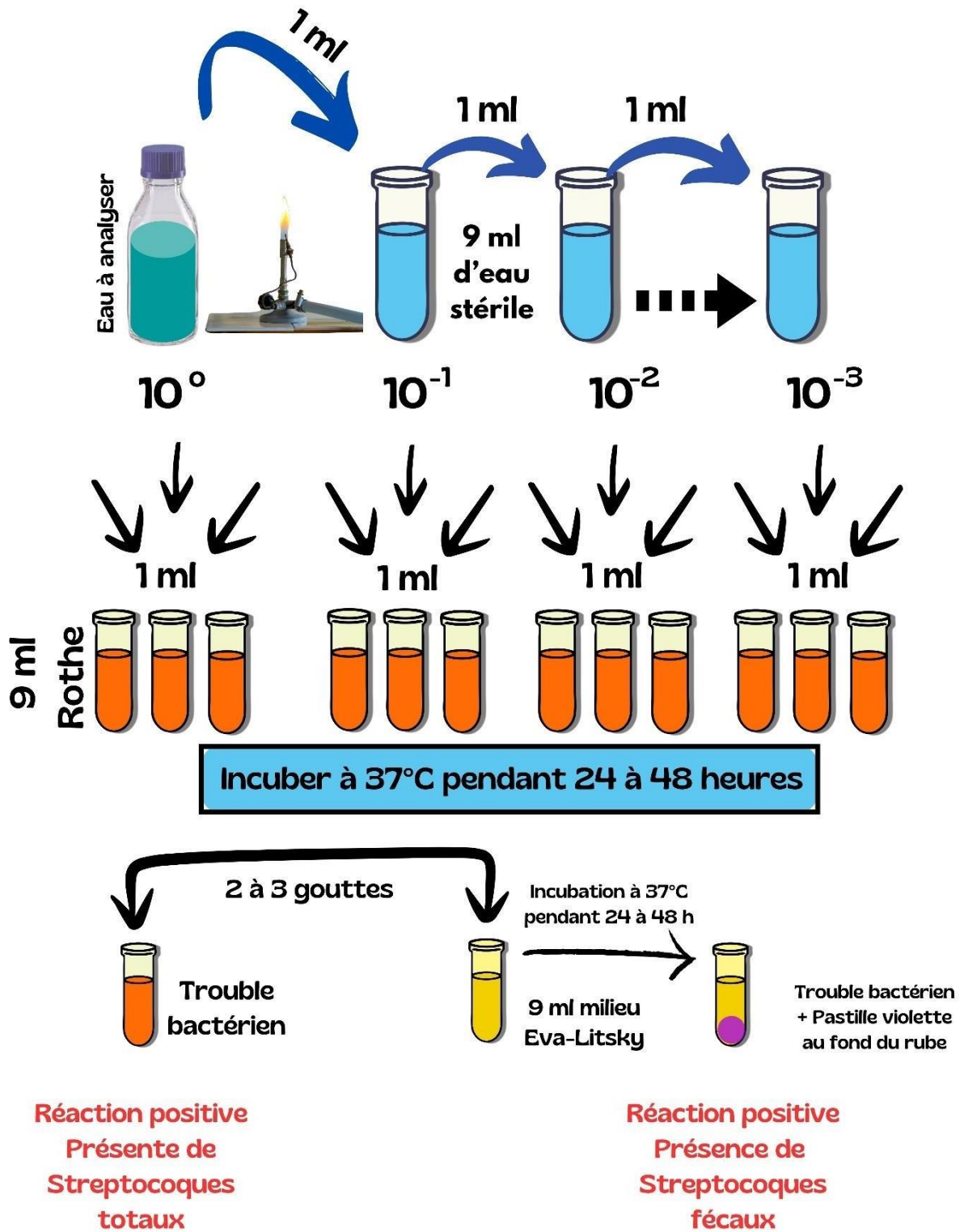


Figure 17 : Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.

4.5. Recherche et identification des bactéries potentiellement pathogènes

La recherche et l'identification des bactéries potentiellement pathogènes dans les eaux (Figure 18) ne font généralement pas partie des analyses de routine, mais revêtent une importance particulière lors des enquêtes épidémiologiques. Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à la recherche de certaines bactéries potentiellement pathogènes responsables d'infections d'origine hydrique, afin d'évaluer les niveaux de contaminations possibles et d'examiner la résistance aux antibiotiques, tout en considérant l'impact potentiel de ces eaux sur la santé humaine.

Les bactéries ciblées sont des bactéries à Gram négatif, notamment des entérobactéries et des bacilles non fermentaires, qui occupent une place très importante dans les pathologies infectieuses humaines. Parmi celles-ci figurent *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, et *Vibrio*.

4.5.1. Recherche et isolement sélectif

4.5.1.1. Isolement des entérobactéries

➤ Pré-Enrichissement

❖ Principe

C'est une étape non sélective dans le processus de détection des entérobactéries, visant à restaurer les capacités métaboliques des bactéries qui peuvent avoir subi des conditions de stress ou des dommages. Cette phase utilise un milieu liquide riche, tel que l'eau peptonée tamponnée ou le bouillon lactosé, favorisant ainsi la croissance des bactéries cibles au terme de leur incubation. Citant comme exemple le pré-enrichissement des salmonelles, leur permettent de se multiplier efficacement, même si elles sont présentes en faible quantité. En créant un environnement propice à leur croissance, ces bactéries deviennent plus facilement détectables lors des étapes analytiques suivantes.

❖ Mode opératoire

Elle s'effectue par l'introduction de 1 ml de la solution mère de chaque échantillon à analyser dans 10ml de l'eau peptonée tamponnée suivi par incubation à 37C° pendant 20 heures.

➤ Enrichissement

❖ Principe

L'enrichissement a pour objectif d'inhiber la croissance des coliformes et des entérocoques tout en favorisant la prolifération des *Salmonelles* et *Proteus*. Cela permet d'augmenter la détection de ces bactéries pathogènes dans un échantillon.

❖ Mode opératoire

- **Préparation du milieu d'enrichissement** : Introduire 1 ml du bouillon de pré-enrichissement dans 10 ml de bouillon sélénite-cystéine et incuber à 37°C pendant 24h. (**Larpen, 1997**).
- Ensemencement sur géloses :
- ✓ Prélever 0,1 ml de culture du milieu d'enrichissement.
- ✓ Ensemencer les géloses appropriées :
- Hektoen : c'est le milieu de choix pour l'isolement des entérobactéries pathogènes.
- Gélose *Salmonella-Shigella* (SS) : c'est le milieu sélectif pour l'isolement des Salmonelles et des Shigelles.
- Mac Conkey : milieu sélectif pour l'isolement général des entérobactéries.
- Gélose EMB (éosine bleu de méthylène) : facilite la distinction entre *Escherichia coli* et d'autres BGN, en particulier *Klebsiella aerogenes* (**Levine, 1918**).
- Incubation des géloses : Incuber à 37 °C pendant 18 à 48 heures pour favoriser la croissance des bactéries ciblées.

4.5.1.2. Isolement de *Pseudomonas*

Afin d'isoler le genre *Pseudomonas*, et notamment *P.aeruginosa*, on utilise selon la méthode décrite par (**Dellarras, 2000**) la gélose cétrimide, un milieu sélectif. Ce dernier inhibe la croissance de nombreuses bactéries grâce à la présence de l'antiseptique cétrimide et de l'antibiotique acide nalidixique.

D'autres milieux sélectifs utilisés pour l'isolement de ce genre incluent le milieu King A, spécifique à *Pseudomonas aeruginosa* et le milieu King B, qui permet d'isoler *Pseudomonas fluorescens* ainsi d'autres espèces. Ces milieux sont ensemencés en surface et incubés pendant 24 à 48 h à 37°C

4.5.1.3. Isolement des *Vibrio*

❖ Mode opératoire (**Rodier et al., 1996**)

- **Enrichissement** :
- Ajouter 1 ml de la solution mère de chaque eau à analyser dans un tube contenant 10 ml d'eau peptonée alcaline (E.P.A).
- Incuber à 37°C pendant 3h.

- Après incubation, prélever une anse de culture en surface du premier enrichissement et ensemer un nouveau tube contenant 10 ml d'E.P.A avec l'anse prélevée.
- Incuber à 37°C pendant 3 heures.

- **Isolement**

- Prélever à la surface du dernier milieu d'enrichissement et ensemer la gélose sélective TCBS (thiosulfate-citrate-sels biliaires-saccharose). Incuber à 37°C pendant 24h.

La purification des isolats bactériens se fait par repiquage successif par la technique de stries sur des milieux solide sélectif jusqu'à l'observation d'une culture pure (observation macroscopique de l'aspect des colonies de chaque isolat).

La vérification de la pureté d'une souche doit être réalisée par une observation microscopique après coloration de Gram.

4.5.2. Identification des isolats bactériens

4.5.2.1. Examen macroscopique

C'est le premier examen effectué après l'isolement des colonies, suite à l'incubation. L'observation de l'aspect macroscopique des colonies à l'œil nu ou sous la loupe binoculaire, permet d'effectuer une première caractérisation et d'orienter les résultats vers une identification plus précise. Cet examen est facilité par l'utilisation de différents angles d'éclairage. Les éléments d'identification macroscopiques incluent la forme, la taille, la couleur, l'odeur et l'adhérence des colonies.

4.5.2.2. Examen microscopique

L'examen microscopique des bactéries est essentiel pour leur identification et leur caractérisation. Il peut être réalisé de deux manières principales : à l'état frais et après coloration de Gram.

➤ **Observation à l'état frais**

C'est une méthode essentielle pour l'étude des bactéries, permet d'apprécier à la fois la forme, le mode de regroupement et surtout la mobilité des bactéries isolées (**Prescott et al., 1999**). Pour réaliser cette observation, une goutte de suspension bactérienne est préparée avec de l'eau physiologique et placée entre une lame et une lamelle. L'observation se fait à l'aide

d'un microscope optique, en utilisant un objectif x40.

➤ **Observation après coloration de Gram**

C'est une double coloration qui permet d'identifier les bactéries en fournissant des informations sur plusieurs caractéristiques clés, tel que la forme, le mode de regroupement, la pureté et la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées.

Cette méthode classe les bactéries selon leur capacité à fixer le cristal violet. Les bactéries à paroi cellulaire épaisse en peptidoglycane retiennent le colorant et apparaissent violettes (Gram positif). En revanche, celles possédant une enveloppe externe sont décolorées par l'éthanol et prennent une coloration rose après l'application de la safranine (Gram négatif).

La consistance et la valeur de la coloration de Gram correspond à des différences biochimiques entre la paroi des bactéries Gram positif et Gram négatif, ce qui peut avoir des implications cliniques importantes, notamment pour le choix des antibiotiques.

4.5.2.3. Etude des caractères biochimiques

a). Mise en évidence des enzymes catalase et oxydase

Des tests d'orientation rapides sont réalisés en fonction du Gram et des résultats des caractères morphologiques et cultureux.

➤ **Test de catalase**

Le test de catalase est un moyen rapide d'identifier la présence de l'enzyme catalase, qui décompose le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau (H₂O) et en oxygène gazeux (O₂) selon la réaction suivante :



La méthode consiste à prélever une colonie de la bactérie à analyser, à l'aide d'une pipette Pasteur que l'on dépose ensuite dans un volume de 10 µL de peroxyde d'hydrogène à 3 % sur une lame propre et sèche. Le dégagement de bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme.

➤ **Test d'oxydase**

Le test d'oxydase, également appelé phénylène diamine oxydase, est une enzyme impliquée dans divers couples d'oxydo-réduction. Ce test permet l'identification présomptive

des bactéries Gram-négatives. Il consiste à déposer, à l'aide d'une pipette Pasteur (l'utilisation d'une anse de platine est strictement interdite pour ne pas fausser les résultats), une goutte de suspension bactérienne pure sur un disque oxydase placé sur une lame propre et stérile. Ce disque contient de l'oxalate de diméthyl paraphénylène diamine. Les bactéries oxydase-positives produisent rapidement une coloration violette foncée, tandis que les bactéries oxydase-négatives ne montrent aucun changement de couleur.

b). Identification biochimique des bactéries isolées par l'Api système (bioMérieux)

C'est une technique rapide comparée aux méthodes classiques utilisant des galeries. Le système API propose des galeries miniaturisées et standardisées des techniques biochimiques conventionnelles. Le choix de la galerie àensemencer dépend des résultats d'une étude préalable des caractères morphologiques, culturels et biochimiques, tels que les tests d'oxydase et de catalase, qui sont indispensables pour l'interprétation des résultats.

✓ Galerie Api 20 E

C'est la première galerie développée, destinée à l'identification des entérobactéries (bactéries non oxydatives) et d'autres bacilles à Gram négatif non fastidieux.

✓ Galerie Api 20 NE

Cette galerie est conçue pour identifier des bacilles Gram négatif, non entérobactériens et peu exigeants ainsi que des bactéries oxydase positives (comme les *Pseudomonas* et apparentés, *Vibrio*, *Aeromonas*, ect).

Les réactions biochimiques durant l'incubation se manifestent par des virages de couleur, sauf pour certaines qui nécessitent l'addition de réactifs. La lecture des résultats doit être effectuée en se référant au tableau des caractères pour chaque milieu, ce qui permet une interprétation précise. L'identification finale peut être réalisée à l'aide du catalogue analytique ou, plus simplement, via le logiciel API Web TM (Murray *et al.*, 2003).

- **Conservation à long terme** : une colonie bactérienne isolée a été introduite dans un mélange constitué de 70 % de bouillon nutritif stérile et de 30 % de glycérol stérile. Ce mélange a été placé dans des tubes Eppendorf, puis congelé à -80°C , assurant la viabilité et la stabilité génétique des souches sur le long terme.

4.5.2.5. Identification moléculaire des isolats bactériens

Vingt-trois isolats bactériens ont été sélectionnés pour cette analyse en fonction de leur potentiel pathogène et de leur multi résistance aux antibiotiques.

L'analyse moléculaire, comprenant la PCR et le séquençage de l'ADNr 16S des souches bactériennes isolées, a été effectuée au Laboratoire de Micro-organismes Génome et Environnement (L.M.G.E) de l'Université Clermont Auvergne, France. L'amplification par PCR et le séquençage du gène 16S ADNr ont été réalisés à l'aide des amorces 27f et 1492r, comme décrit par **Batisson *et al.* (2009)**.

a).Extraction de l'ADN génomique

L'extraction de l'ADN génomique a été réalisée pour 23 souches, à partir de quelques colonies d'une culture bactérienne jeune, incubée pendant 18 à 24 heures sur milieu de culture LB (Luria Bertani). En utilisant le kit commercial Ultraclean Microbial DNA isolation (MoBio Laboratoires) selon les instructions du fournisseur.

❖ Mode opératoire

- Centrifuger 50 ml d'une suspension préparée dans de l'eau distillée stérile, à partir d'une culture bactérienne récente, à 20000 Trs/min pendant 30min. Eliminer le surnageant et récupérer le culot dans 545 μl de tampon TE à pH 8, puis conserver à -20°C .
- Ajouter 25 μl de lysozyme (50mg/ml). Mélanger et incuber 30min à 37°C
- Ajouter 30 μL de SDS 10% et 3 μL de protéinase K, Incuber à 37°C pendant 1h.
- Ajouter 100 μL de NaCl préchauffé et 80 μL de CTAB préchauffé à 65°C (dans l'ordre). Ne pas mélanger. Incuber 10 min à 65°C .
- Ajouter 1 volume d'alcool isoamylique (24 : 1) et centrifuger à 14000 rpm à 4°C pendant 30min.
- Après avoir récupéré la phase supérieure, ajouter 0.6 volume de d'isopropanol froid (-20°C) et incuber au minimum 45 min à -20°C .
- Centrifuger 20 min à 14000 rpm à 4°C , puis laver le culot avec 500 μL d'éthanol 70% froid (-20°C).

- Sécher sous vide. Ajouter 50 µL tampon TE à pH 8 et mettre à 4°C toute la nuit.
- Ajouter 50 µL RNase (1ng/ml) et incubé à 37°C pendant 30min.
- Ajouter 445 µL de TE à pH 8 et 50 µL d'acétate de sodium 3M (pH 5.2), puis 0.6 volume (350µL) d'isopropanol froid (- 20°C). Mélanger et incubé à - 20°C pendant au moins 1 heure.
- Centrifuger 20 min à 14000 rpm à 4°C. Laver le culot avec 0.5 ml d'éthanol 70%, puis sécher sous vide et le reprendre dans 50 µL tampon TE à pH 8. Incuber à 4°C toute la nuit.

b). Amplification des gènes d'ADNr 16S par voie enzymatique (PCR)

L'amplification enzymatique par réaction de polymérisation en chaîne est une méthode permettant d'amplifier spécifiquement, à partir d'une amorce universelle, une séquence d'ADN de façon exponentielle *in vitro* (Mullis, 1990). Elle repose sur le fonctionnement cyclique d'une ADN polymérase thermorésistante (Noha, 2015) (Figure 19). Une PCR comprend environ trente cycles, chacun d'eux comportant trois étapes essentielles :

- Dénaturation thermique : l'ADN double brin est dénaturé en ADN simple brin pendant 20s à 95°C;
- Hybridation : deux oligonucléotides (couples d'amorces) se lient aux brins cibles dénaturés à une température variant entre 50°C et 65°C ;
- Élongation enzymatique : l'ADN polymérase thermorésistante synthétise de nouveaux brins d'ADN à 72°C pendant 30 secondes pour chaque 500 pb. Cette enzyme reste fonctionnelle tous au long de la PCR (Samantha, 2017 ; Bentaalla & Bounous, 2016).
- L'ensemble des cycles de PCR est précédé par une étape de dénaturation initiale (10 min à 95°C) de l'ADN et suivi d'une élongation finale (105s à 72°C).

Le gène de l'ARNr 16S : Ce gène code la sous-unité 16S de l'ARN ribosomal (ARNr). C'est un outil standard pour les études phylogénétiques et taxonomiques des bactéries en raison de sa structure, très conservée à travers toutes les espèces bactériennes. En effet, il se compose de domaines conservés, qui servent de sites de complémentarité pour les amorces universelles utilisées lors du séquençage de ce gène, ainsi que de séquences spécifiques, appelées séquences signatures, propres à certains groupes de bactéries (espèce, genre, famille).

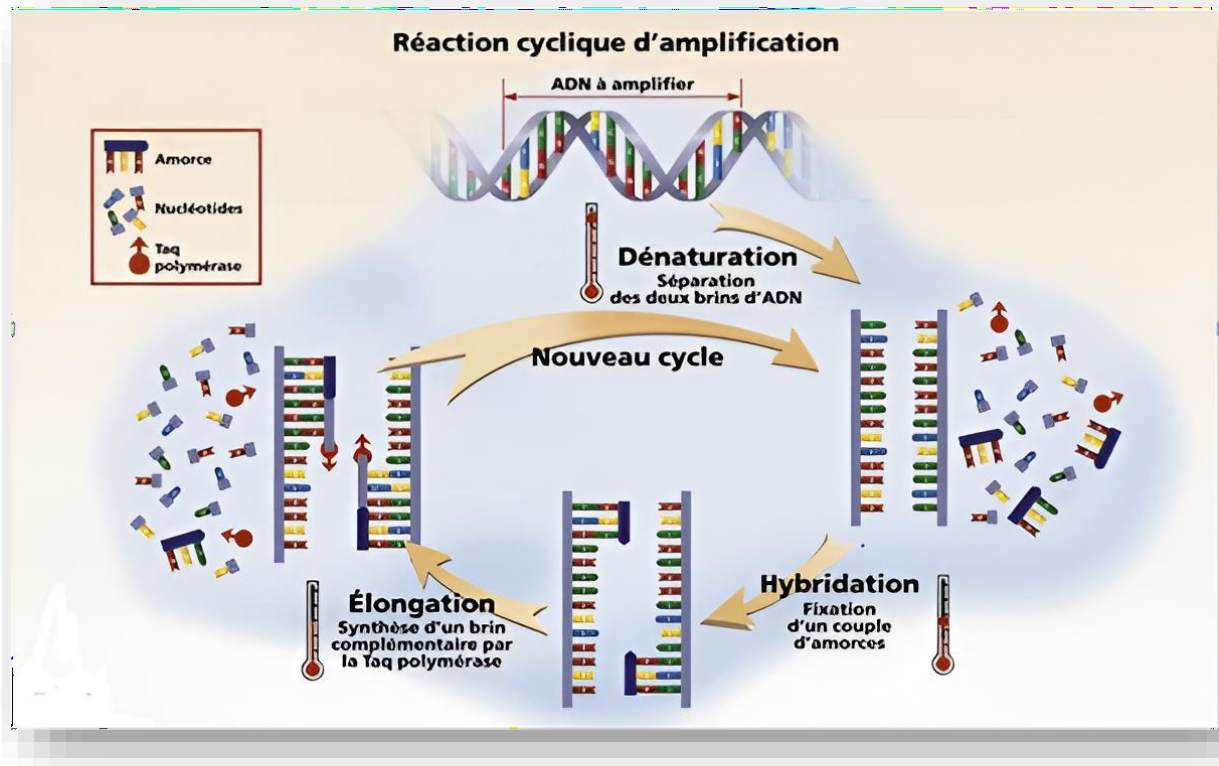


Figure 19 : Amplification de fragments d'ADN in vitro : PCR (<https://shortlink.uk/TOxx>).

❖ Mode opératoire

Les gènes de l'ARNr 16S de 23 bactéries isolés à partir des eaux d'oueds ont été amplifiés à l'aide d'amorces universelles 27F et 1492R.

Un total de 35 cycles de PCR, composés de trois étapes, a été réalisé dans un Thermocycleur automatisé afin de contrôler l'activité enzymatique à différentes températures. Chaque réaction de polymérase en chaîne (PCR), d'un volume de 50 μ L, contenait l'ADN matrice, 0,2 μ M de chacune des deux amorces utilisées (27F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' et 1492R 5'-GGTACCTTGTT ACGACTT-3') (Tableau A4, Annexe 4), 0,2 mM de dNTPs, 1,5 mM de MgCl₂, ainsi que 0,5 à 1 U de Taq DNA polymerase (Eurobio), selon le gène à amplifier, et son tampon réactionnel 1X final.

c). Electrophorèse sur gel d'agarose des produits d'amplification

Les produits d'amplification obtenus sont analysés par électrophorèse sur un gel d'agarose à 1,5 % afin de les séparer en fonction de leur taille, de leur charge électrique et

d'autres propriétés physiques. Cela permet de vérifier la présence d'une amplification adéquate du gène cible. Cette méthode garantit une évaluation précise de la spécificité et de la qualité des produits d'amplification.

❖ Mode opératoire

Réalisée en deux étapes :

➤ Préparation du gel

- Dans un flacon en verre stérile, mélanger 1g de poudre d'agarose avec 100 ml du tampon TBE (Tris, EDTA, acide borique) pour obtenir une concentration finale de 1X.
- Faire fondre le mélange d'agarose et de tampon à la micro-onde jusqu'à dissolution complète de l'agarose. Laisser refroidir légèrement.
- Ajouter 10 μ L de bromure d'éthidium (BET) ou Sybr Safe, un agent intercalant pour l'ADN, et mélanger soigneusement.
- Placez un peigne approprié dans le moule de gel pour créer des puits et verser l'agarose fondu. Laisser l'agarose se solidifier à la température ambiante puis retirer le peigne.

➤ Séparation des fragments d'ADN

- Placer le gel d'agarose dans la cuve d'électrophorèse et ajouter suffisamment de tampon TBE pour couvrir la surface du gel.
- Ajouter le tampon de charge (glycerol, bleu de bromophenole, xylen) aux produits de PCR. Déposer 6 μ l de ce mélange dans un puits du gel.
- Déposer 3 μ l du marqueur de poids moléculaire VI et un témoin négatif dans le puits qui suit le marqueur.
- Remettre le couvercle de la boîte de gel et s'assurer que les électrodes sont correctement branchées dans l'alimentation. Appliquer une tension de 100V pendant une 1h15.
- À la fin de l'électrophorèse, éteindre l'alimentation et retirez le couvercle de la boîte.
- Retirer le gel de la cuve et l'exposer à la lumière UV pour visualiser les bandes d'ADN, qui doivent apparaître fluorescentes en orange.
- Purifier les amplicons des produits PCR en utilisant des plaques à filtre. Réaliser ensuite une PCR BigDye, puis purifier les produits de cette réaction à l'aide de Sephadex (Sigma).

d). Séquençage des produits PCR

Le séquençage des produits PCR, notamment de l'ADNr 16S amplifié et purifié pour chaque isolat, a été réalisé selon la méthode de SANGER. Les séquences ont été obtenues à l'aide d'un séquenceur automatique d'ADN (Automate ABI 3730, Applied, Biosystems, Foster City, California, United States). Cette méthode est particulièrement adaptée pour obtenir des séquences précises et fiables.

e). Analyses phylogénétiques des séquences

Les séquences partielles d'ARNr 16S des 23 isolats sélectionnés ont été analysées en plusieurs étapes. Tout d'abord, une analyse préliminaire a été effectuée manuellement à l'aide du logiciel BioEdit (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Ensuite, les séquences ont été comparées à la base de données GenBank database du NCBI (<http://www.blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) via le logiciel d'alignement BLAST, permettant ainsi d'identifier les séquences par homologie avec celles déjà connues. Un alignement multiple des séquences a été réalisé avec le logiciel Clustal X (Kumar *et al.*, 2016). Par la suite, une analyse a été menée à l'aide du logiciel 'MEGA 5.05' (www.megasoftware.net) qui a permis d'établir une matrice de distance selon la méthode de Neighbor-Joining. Cette matrice a été représentée sous forme d'arbre phylogénétique. Des analyses de Bootstrap avec 1000 itérations ont également été effectuées pour vérifier la robustesse de l'arbre.

4.6. Étude de la sensibilité aux antibiotiques

❖ Principe de l'antibiogramme

L'antibiogramme est un examen biologique destiné à mesurer l'interaction entre différentes molécules antibactériennes utilisables et une souche bactérienne isolée, susceptible d'être pathogène (Figure 20). L'identification bactérienne doit souvent être complétée par un antibiogramme standard. Les résultats permettent d'évaluer la sensibilité de la souche bactérienne examinée ou sa résistance. Les résultats numériques bruts sont accompagnés d'une interprétation, qui peut être classée comme : résistant, sensible, intermédiaire (Scavizzi *et al.*, 2000).

Un antibiogramme doit obligatoirement être effectué sur une culture pure et identifiée. Cela garantit une densité d'inoculum adéquate, permet de choisir judicieusement les antibiotiques à tester et assure une lecture interprétative précise.

• Antibiotiques testés

Les profils de résistance aux antibiotiques des isolats bactériens trouvés dans l'eau des quatre stations étudiées ont été déterminés par la méthode de diffusion de disques sur gélose Mueller Hinton conformément à la recherche de **Bauer *et al.* (1966)** et aux recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (**CLSI, 2011**). Cette méthode est la plus couramment utilisée dans les laboratoires de diagnostic et n'est applicable qu'aux bactéries présentant une croissance visible après une incubation de 18 à 24 heures (culture jeune). Les antibiotiques testés sont illustrés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Liste des antibiotiques utilisés pour le test de sensibilité.

| Antibiotique | Famille | Classe | Charge (µg) |
|---|------------------|---|--------------|
| Ampicilline (AMP) | Bêta-lactamines | Pénicillines | 10 |
| Pénicilline (PEN) | Bêta-lactamines | Pénicillines naturelles | 10 |
| Ticarcilline (TIC) | Bêta-lactamines | Pénicillines semi-synthétiques | 75 |
| Pipéracilline (PIP) | Bêta-lactamines | Pénicillines uréidées | 75 |
| Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC) | Bêta-lactamines | Pénicillines + inhibiteur β-lact. | 20 + 10 |
| Ticarcilline + Acide clavulanique (TCC) | Bêta-lactamines | Pénicillines + inhibiteur β-lact. | 75 + 10 |
| Ertapénèm (ETP) | Bêta-lactamines | Carbapénèmes | 10 |
| Imipénèm (IMP) | Bêta-lactamines | Carbapénèmes | 10 |
| Aztréonam (ATM) | Bêta-lactamines | Monobactames | 30 |
| Céfazoline (CZN) | Bêta-lactamines | Céphalosporines 1 ^{re} génération | 30 |
| Céfoxitine (FOX) | Bêta-lactamines | Céphamycines 2 ^{ème} génération. | 30 |
| Céfotaxime (CTX) | Bêta-lactamines | Céphalosporines 3 ^{ème} génération | 30 |
| Ceftazidime (CAZ) | Bêta-lactamines | Céphalosporines 3 ^{ème} génération | 30 |
| Céfépime (FEP) | Bêta-lactamines | Céphalosporines 4 ^{ème} génération | 30 |
| Fosfomycine (FOS) | Fosfomycines | - | 200 |
| Colistine (Col) | Polymyxines | Polymyxine E | 10 |
| Amikacine (AKN) | Aminosides | - | 30 |
| Gentamycine (GEN) | Aminosides | - | 10 |
| Tobramycine (TOB) | Aminosides | - | 10 |
| Azithromycine (AZM) | Macrolides | - | 15 |
| Érythromycine (ERY) | Macrolides | - | 15 |
| Chloramphénicol (CHL) | Phénicoles | - | 30 |
| Tétracycline (TET) | Tétracyclines | - | 30 |
| Doxycycline (DOX) | Tétracyclines | - | 30 |
| Acide nalidixique (NA) | Quinolones | 1 ^{re} génération | 30 |
| Ciprofloxacine (CIP) | Fluoroquinolones | 2 ^{ème} génération | 5 |
| Lévofloxacine (LEV) | Fluoroquinolones | 3 ^{ème} génération | 5 |
| Sulfaméthoxazole + Triméthoprime (SXT) | Sulfamides | Association synergique | 1.25 + 23.75 |
| Nitrofurane (NIT) | Nitrofuranes | - | 300 |

Le choix des antibiotiques sur les différentes espèces bactériennes isolées, repose sur plusieurs facteurs essentiels. D'une part, il est crucial d'identifier le genre de la bactérie isolée, en tenant compte de son profil habituel de résistance, comprenant à la fois les résistances naturelles et les potentielles résistances acquises. D'autre part, il faut évaluer le spectre d'activité de chaque antibiotique, en précisant son efficacité contre les bactéries à Gram positif et/ ou à Gram négatif (Cohen, 1997). En Algérie, la sélection des antibiotiques prend également en considération leur disponibilité et leur fréquence d'utilisation en médecine humaine et vétérinaire, comme l'indique le Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (2011).

❖ Mode opératoire

- A partir d'une culture de 18 à 24 h sur milieu gélosé, prélever deux à trois colonies et préparer une suspension dans une solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland 0,5 (environ 10^8 UFC/mL) . Utiliser l'inoculum dans les 15 minutes suivant l'ajustement de la turbidité.

- L'ensemencement se fait par la méthode de Kirby-Bauer, par écouvillonnage ou par inondation de la gélose Mueller Hinton, en respectant les mesures de sécurité nécessaires. Après séchage des boîtes de gélose 15 à 20 minutes, l'application des disques d'antibiotiques se fait à l'aide d'une pince préalablement flambée, en appuyant légèrement pour éviter de percer le milieu.

Après incubation des boîtes 18 à 24 H à 37 °C, Les résultats sont exprimés en mm après mesure des diamètres des zones d'inhibition et sont interprétés en trois catégories: S= sensible, R= résistant, et I= intermédiaire, en se référant aux normes (CASFM, 2014). Regrouper les souches classées comme intermédiaires et résistantes dans la même catégorie « R » (Reinthalier *et al.*, 2003).

- **Remarque**

- La fréquence des bactéries antibio-résistante est calculée selon l'équation suivante :

$A/B \times 100\%$, où A représente le nombre d'isolats résistants à un antibiotique, et B est le nombre totale d'isolats. Une bactérie est considérée multi-résistante si elle présente une résistance à trois classes d'antibiotique ou plus (Vaz-Moreira *et al.*, 2012).

- L'indice de la résistance multiple aux antibiotiques (indice RMA) des bactéries isolés est calculé selon la formule suivante (**Sarter *et al.*, 2007**).

Indice RMA = $X / (Y \times Z)$, Où:

X = nombre total de cas de résistance aux antibiotiques,

Y = nombre total des antibiotiques utilisés dans cette étude,

Z = nombre total des isolats.

L'interprétation de cet indice est la suivante :

- Si indice RMA > 0.2 , cela indique que la souche présente une résistance à un grand nombre d'antibiotiques par rapport au total des antibiotiques testés ce qui suggère l'existence d'une source de contamination importante d'origine humaine ou animale, où les antibiotiques sont utilisés fréquemment;
- Si indice RMA ≤ 0.2 , cela signifie que l'antibiotique est rarement ou jamais utilisé dans les traitements des infections humaines ou animales (**Krumperman, 1983**).

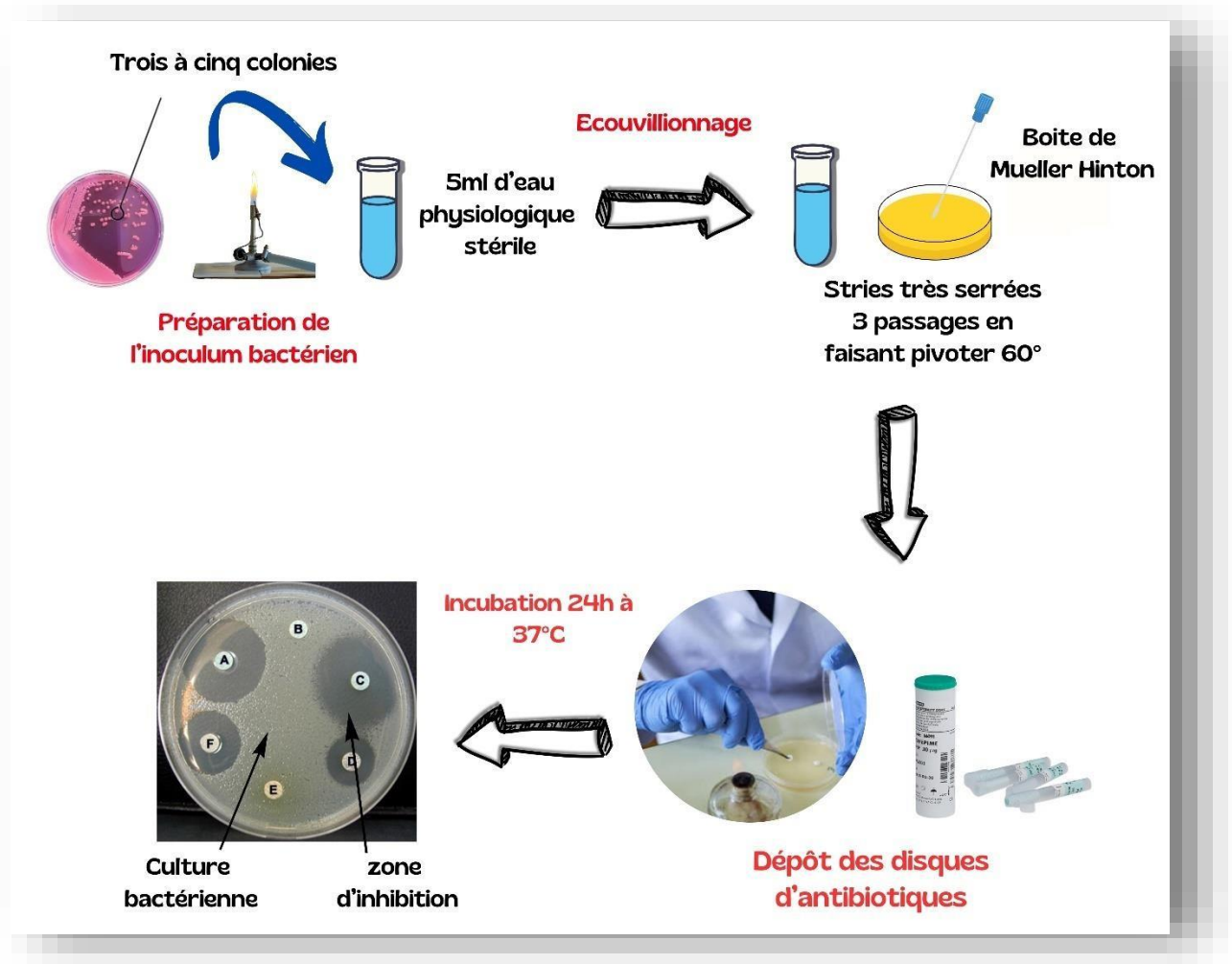


Figure 20 : Schéma de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques.

5. Analyses statistiques des données

Toutes nos analyses statistiques ont été effectuées à l'aide de logiciel R (R Development Core Team, version 4.0.1, 2020), développé par Ross Ihaka et Robert Gentleman (**Ihaka & Gentleman, 1996**). Ce logiciel est constitué à la fois un langage de programmation et un environnement de travail, utilisé pour la création de graphiques et l'exécution d'analyses statistiques à partir de données saisies.

Dans un premier temps, nous avons évalué la normalité des distributions de variables à l'aide de test Shapiro-Wilk, dont la valeur W a servi d'indicateur. Étant donné que nos données ne suivent pas une distribution normale (les distributions étant souvent asymétriques), nous avons opté pour des tests non paramétriques dans notre analyse statistique. Les différences

inter-stations et inter-saisons ont été évaluées à l'aide des tests non-paramétrique : Kruskal-Wallis et Wilcoxon.

Nous avons utilisé la bibliothèque « ggplot 2 » pour générer des boxplots, ainsi que la bibliothèque "corrplot" pour calculer le coefficient de corrélation entre les différents paramètres physico-chimiques et microbiologiques pour l'ensemble des quatre stations. Cela nous a permis d'analyser l'intensité des relations entre ces paramètres. Pour tous les essais, le seuil de signification des différences entre les valeurs critiques a été fixé à la valeur $p < 0,05$.

Nous avons également réalisé une analyse en composantes principales (ACP) à l'aide du package "factoextra". Cette méthode statistique multidimensionnelle descriptive vise à caractériser la structuration des quatre stations d'échantillonnage dans le Golfe d'Annaba à travers une approche multivariée.

***III. RESULTATS
ET DISCUSSION***

Un suivi des descripteurs physico-chimiques et bactériologiques de l'oued Seybouse, de Bedjima ainsi que de la mer à savoir Sidi Salem et Jouannville a été effectué durant l'année 2017–2018. Les prélèvements d'eau ont été réalisés au niveau de l'interface entre l'oued Seybouse et Bedjima, où convergent tous les rejets urbains (domestiques, industriels et agricoles), avant de déverser dans le Golfe d'Annaba.

1. Variations spatio-temporelles des paramètres physico-chimiques de l'eau dans le Golfe d'Annaba

1.1. La température

Les températures relevées dans les quatre stations de prélèvement, au cours d'un cycle annuel, sont très proches les unes des autres et varient selon un rythme saisonnier, avec des valeurs comprises entre 10°C et 29.02°C (Figure 21).

La température maximale atteinte en août sur la station 4, est de 29,02°C, tandis que la température minimale, de 10°C, a été enregistrée en janvier 2018 sur la station 1. Au cours de toute la période de l'étude, les valeurs mesurées n'ont jamais dépassé la limite de 30°C fixée par l'OMS (2004).

La température des eaux de surface est influencée par les variations saisonnières, les conditions climatiques locales (Rodier *et al.*, 2009), la situation géographique et les rejets d'eaux usées chaudes (Bengherbia *et al.*, 2014 ; Mutlu & Uncumusaoğlu, 2016). Elle impacte les propriétés physiques et chimiques de l'eau, ainsi que la vitesse des réactions chimiques et biochimiques, qui s'accélèrent avec l'augmentation de la température (Ben Aakame, 2015). De plus, la température joue un rôle crucial dans le développement et la croissance des organismes aquatiques, en particulier des microorganismes (WHO, 1987).

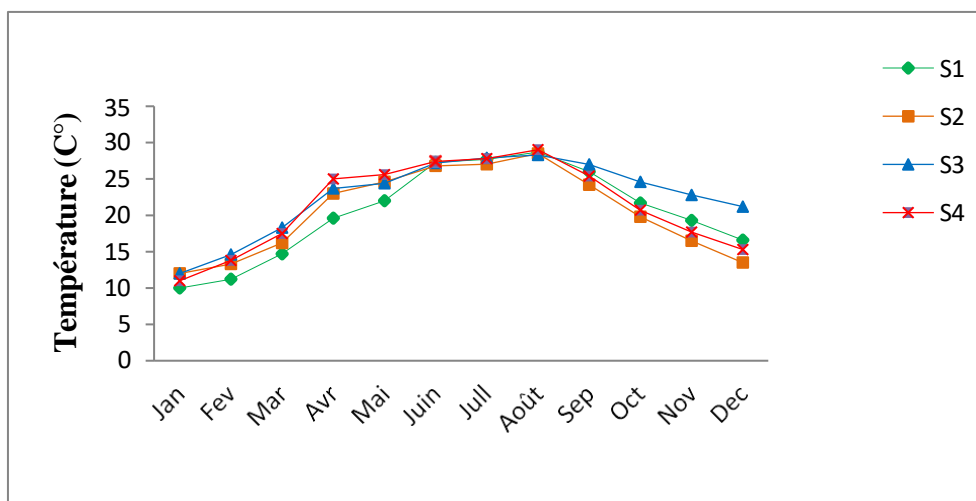


Figure 21: Variations spatio-temporelles de la température de l'eau du Golfe d'Annaba.

1.2. Le potentiel d'Hydrogène

Le potentiel d'hydrogène (pH) est une mesure de la concentration des ions hydrogène (H^+) dans l'eau, indiquant son acidité ou son alcalinité sur une échelle logarithmique de 0 à 14. Les variations du pH sont souvent corrélées avec d'autres variables abiotiques telles que la température, la salinité et l'oxygène dissous (**Benmessaoud, 2007**). Ce facteur influence la plupart des mécanismes chimiques et biologiques dans les milieux aquatiques (**Mouaz, 2017**).

L'évolution temporelle du pH a montré que toutes les eaux étudiées sont légèrement alcalines, avec des valeurs enregistrées variant entre 5,2 et 8,36 pour les eaux de mer et entre 5 et 8,16 pour les eaux des oueds (Figure 22). Les moyennes observées dans les stations 1, 2, 3 et 4 sont respectivement de 6,65 ; 6,50 ; 6,23 ; et 6,02.

Une légère diminution de cette variable a été observée dans les quatre stations durant les saisons automnale et hivernale. Cela peut être attribué à la dilution de l'eau (**Youbi et al., 2018**), à l'effet des rejets acides provenant des zones urbaines et industrielles, ainsi qu'à l'influence des oueds Seybouse et Bedjima. Cette diminution peut également être attribuée à l'activité bactérienne de décomposition de la matière organique et à un ralentissement de l'activité photosynthétique, qui consomme des protons H^+ (**Neal et al., 2000 ; Benchohra et al., 2009 ; CASFM, 2014**).

Dans l'ensemble, les valeurs de pH mesurées sont conformes à la norme algérienne préconisée par le **JORA (2011)**, qui stipule un pH compris entre 6,5 et 9. Le pH n'a pas d'impact

écologique direct significatif entre 5 et 9 et permet un développement normal de la faune et de la flore (**Blinda, 2007**). Certaines bactéries, comme *Escherichia coli*, montrent une préférence marquée pour un milieu basique, se reproduisant à des pH variant de 4,4 à 9. De même, les *Vibrio* peuvent se développer avec un pH optimal atteignant 9 (**Boudoukhana, 2008**). En revanche, le pH optimal pour la croissance des coliformes se situe entre 6 et 7 (**Bouadila et al., 2009**).

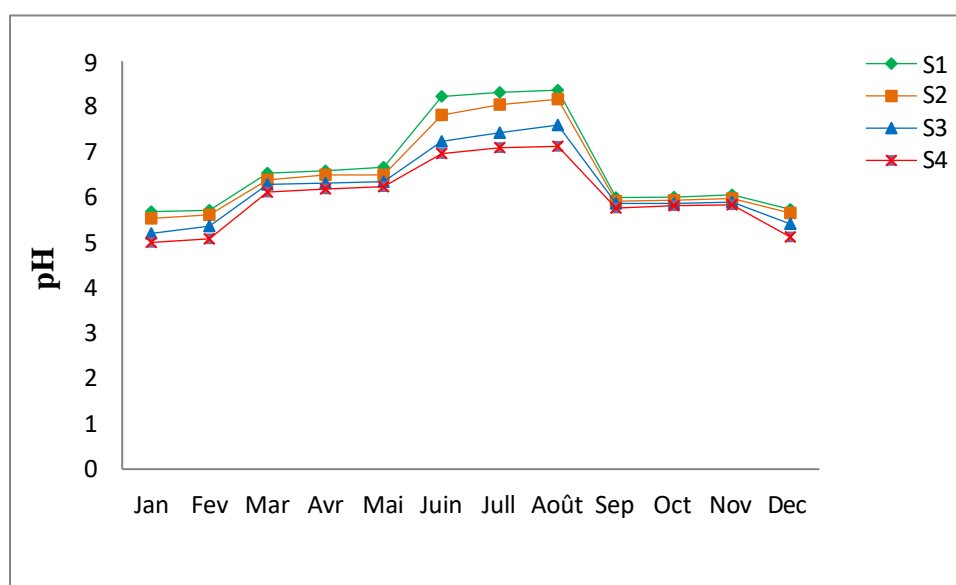


Figure 22: Variations spatio-temporelles du pH dans les stations d'étude.

1.3. L'oxygène dissous

Les mesures de l'oxygène dissous obtenus montrent que les valeurs minimales et maximales enregistrées sont respectivement de 0,06 mg/L (S4) et 9 mg/L (S1) (Figure 23). La valeur la plus faible a été observée pendant la période sèche (été), tandis que la plus élevée a été détectée durant la période humide pour tous les sites. Nos résultats ne sont pas comparables à ceux trouvés par **Amir (2005)**, **Bahroun & Bousnoubra (2011)**, et **Benchohra et al. (2009)**, ce qui pourrait suggérer des différences écologiques ou méthodologiques entre les études. En revanche, la cohérence avec les données de **Hacioglu & Dulger (2009)** renforce la validité de nos observations et pourrait indiquer des tendances similaires dans des environnements comparables.

D'après **Makhoukh et al. (2011)** et **Guasmi et al. (2006)**, l'eau froide contient une plus grande quantité d'oxygène dissous que l'eau chaude. En hiver, la baisse de la température de

l'eau favorise la solubilité de l'oxygène, entraînant ainsi une augmentation de son taux. De plus, la présence réduite de bactéries consommatrices d'oxygène dissous, liée à une décomposition moindre de la matière organique, contribue également à cette augmentation. Par ailleurs, les vitesses élevées du vent entraînent un brassage de la masse d'eau (Oueds- Mer), ce qui provoque un enrichissement de la phase dissoute en oxygène. (Millet, 1989 ; Schlumberger, 2002). La concentration de cette variable environnementale dépend de plusieurs processus physiques, chimiques et microbiologiques tels que la température et de la salinité de l'eau, ainsi que la pression et la température de l'air (Mouaz, 2017). En général, des valeurs faibles d'oxygène dissous favorisent le développement de germes pathogènes, nuisibles à la santé humaine (Krishnan *et al.*, 2007) et traduisent une dégradation plus ou moins marquée de la qualité des eaux étudiées, due à la diminution de la capacité d'auto-épuration des milieux aquatiques (Rodier *et al.*, 2009).

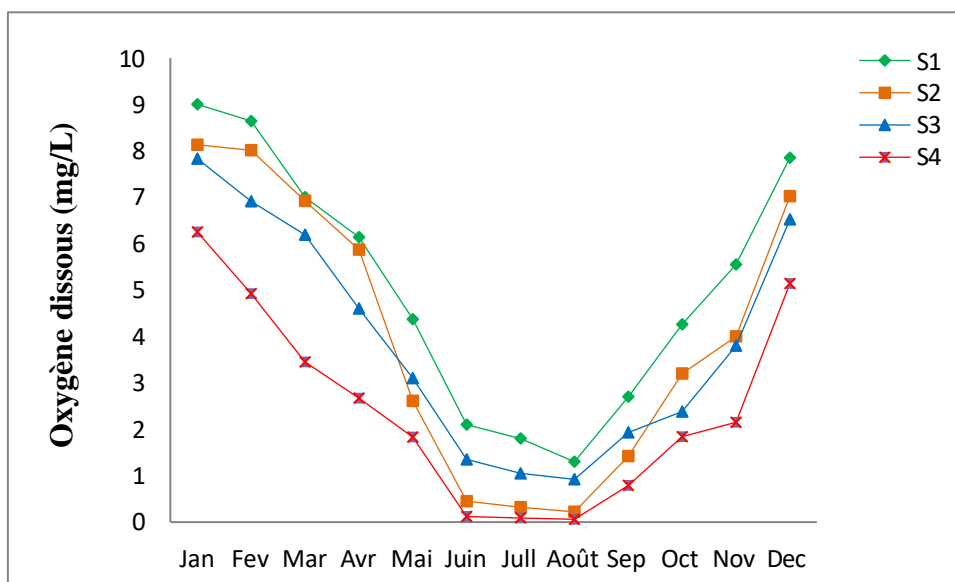


Figure 23: Variations spatio-temporelles de l'oxygène dissous de l'eau du Golfe d'Annaba.

1.4. La salinité et la conductivité

Les niveaux de salinité et de conductivité électrique de l'eau de mer, variant entre 18 et 39,1 g/L pour la salinité et entre 16,5 et 55,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ pour la conductivité, sont significativement plus élevés que ceux observés dans l'eau de l'oued, où la salinité se situe entre 0,9 et 10,2 g/L et la conductivité entre 1,22 et 10,64 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Figure 24). Cette différence s'explique par la forte concentration de sels dissous de l'eau de mer.

Les mesures de ces deux paramètres physico-chimiques montrent des fluctuations saisonnières similaires à celles de la température. En effet, des valeurs plus faibles sont enregistrées entre décembre et février, tandis que des valeurs plus élevées sont notées entre avril et octobre dans l'ensemble des stations étudiées.

Les fortes salinités et conductivités de l'eau enregistrées durant les périodes estivale et printanière s'expliquent par l'intensification de l'évaporation due à l'augmentation des températures (Rejsek, 2002), ainsi que par la caractérisation physico-chimique de l'eau, la diminution des précipitations, qui réduit les apports en eau douce, et la forte minéralisation des rejets.

En conclusion, la variation de ces deux variables environnementales dépend des conditions climatiques, des phénomènes d'évaporation de l'eau, du degré des précipitations et des apports de rejets domestiques, agricoles et industriels (Savary, 2003). Ces observations sont cohérentes avec les travaux d'Ouhmidou *et al.* (2015) et Saadali *et al.* (2015).

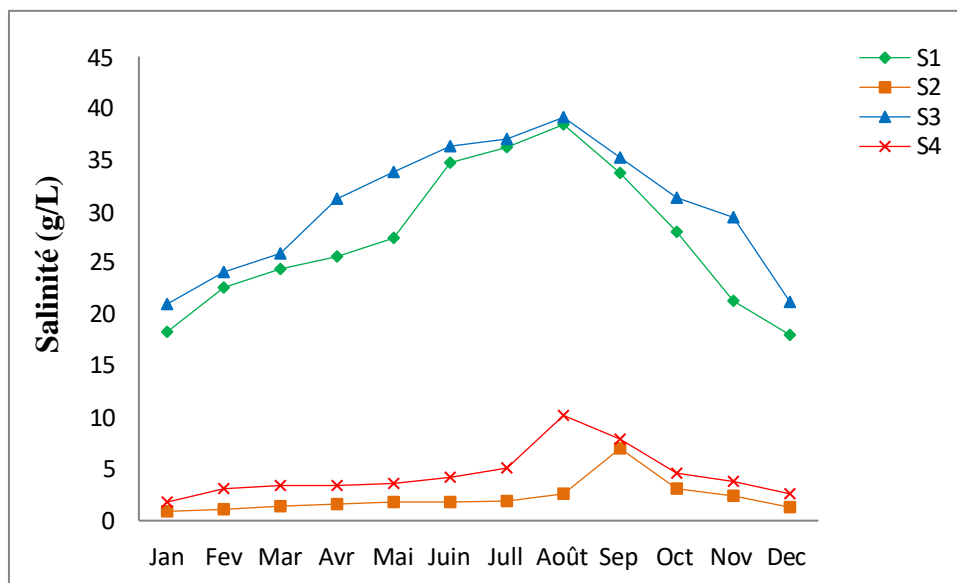


Figure 24: Variations spatio-temporelles de la salinité de l'eau du Golfe d'Annaba.

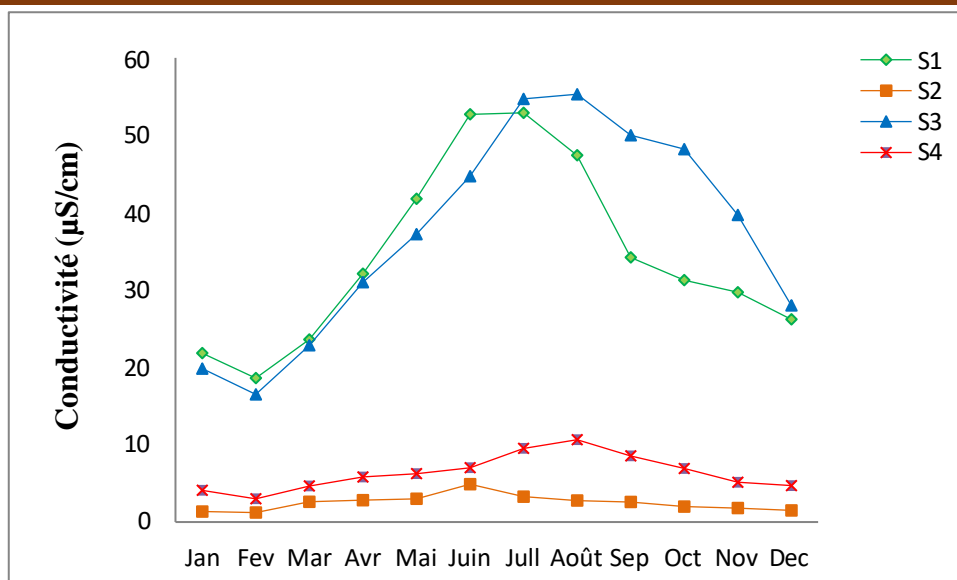


Figure 25: Variations spatio-temporelles de la conductivité électrique de l'eau du Golfe d'Annaba.

1.5. Les matières en suspension

Les matières en suspension comprennent toutes les particules minérales ou organiques qui ne se dissolvent pas dans l'eau ; Elles affectent la transparence de l'eau et diminuent la pénétration de la lumière, ce qui limite la photosynthèse. De plus, elles peuvent rendre l'eau trouble et lui donner un mauvais goût et une mauvaise odeur (**Baumont et al., 2003**). Ces observations ont également été confirmées lors des sorties sur terrain.

Les teneurs en MES enregistrées dans l'eau de mer fluctuent entre 44,3 et 352 mg/L, tandis que celles de l'eau de l'oued oscillent entre 52,8 et 498,2 mg/L (Figure 26).

Les valeurs enregistrées de ce paramètre physico-chimique sont comparables à celles rapportées par **Djedaoune (2015)** pour les eaux usées de la partie Nord-Ouest de la plaine d'Annaba.

Les mesures les plus élevées de cette variable ont été relevées en hiver. De nombreuses études ont montré l'importance des concentrations de matières en suspension lors des crues, particulièrement pendant la période hivernale (**Tessier, 2003 ; Ollivier et al., 2010 ; Djedaoune, 2015 ; Kadri et al., 2015**).

Des niveaux élevés de ces matières indiquent une forme de pollution. En référence à la valeur limite maximale de 25 mg/L admise par les autorités algériennes (**JORA, 2014**), Ainsi un note un dépassement de cette limite durant la période d'étude et dans l'ensemble des sites de prélèvement. La variation des matières en suspension dépend notamment des

fluctuations saisonnières et du régime d'écoulement des eaux. À cela s'ajoute l'abondance des précipitations durant cette période de l'année, qui sont à l'origine de lessivage des sols et d'importants apports allochtones (Dakki, 2003 ; Kerdoussi, 2010).

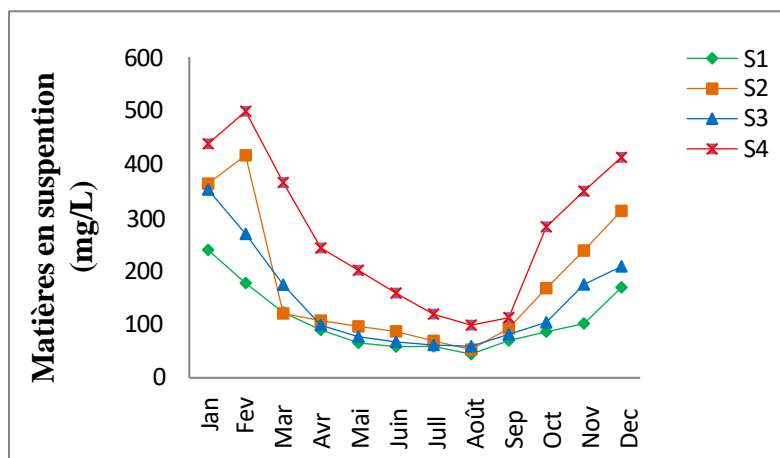


Figure 26: Variations spatio-temporelles des matières en suspension dans l'eau du Golfe d'Annaba.

2. Résultats des analyses bactériologiques

2.1. Contamination fécale des eaux du Golfe d'Annaba

Le suivi de l'évolution des germes totaux et des germes tests d'une contamination est la procédure bactériologique la plus couramment utilisée pour évaluer la qualité de l'eau (Hacioglu & Dulger, 2009 ; Mishra *et al.*, 2009). Les résultats de cette étude révèlent un niveau préoccupant de contamination fécale des eaux du Golf d'Annaba. Les analyses montrent des variations importantes des concentrations bactériennes, lesquelles semblent étroitement liées aux sources de pollution et aux périodes d'échantillonnage. Cette situation pourrait être liée à l'influence des activités anthropiques qui modifient les caractéristiques de l'eau et affectent sa qualité, ainsi qu'à la forte urbanisation de la ville d'Annaba. Elle résulte également du lessivage des terres agricoles voisines, de la pollution par les oueds chargés d'énormes quantités de fumier, et des rejets domestiques provenant d'établissements ruraux, notamment des fosses septiques qui se déversent à l'air libre. À cela s'ajoute la contamination naturelle provenant d'une importante colonie d'oiseaux marins présents sur les plages environnantes (Telailia, 2014). Nos résultats sont comparables à ceux rapportés par Uzoigwe *et al.* (2007), ont constaté que la qualité des eaux de surface de nombreux lacs et rivières souffrait également de niveaux élevés de coliformes fécaux, un meilleur indicateur de la contamination fécale. De même, les travaux de Bengherbia *et al.* (2014) sur l'eau de l'oued Beni Aza (Blida, Algérie) ont montré une grande variation spatio-temporelle des concentrations bactériennes au cours de la période d'étude. Cette

tendance est également corroborée par les résultats de **Rincé et al. (2018)** dans d'autres régions côtières de la mer Méditerranée.

- **Concentrations en Germes Totaux (GT)**

Les charges moyennes en germes totaux (GT) étaient de 14×10^3 UFC/100mL pour la station 1, 15×10^4 UFC/100mL pour la station 2, 30×10^3 UFC/100mL pour la station 3 et 35×10^4 UFC/100mL pour la station 4. Les eaux des oueds (stations 2 et 4) présentent ainsi une charge bactérienne plus élevée que celles des eaux de mer (stations 1 et 3) (Figure 27). La charge bactérienne minimale (12×10^1 UFC/100mL) a été observée à la station 1 en février, tandis que la charge maximale (93×10^4 UFC/100mL) a été enregistrée à la station 4 en août. Cela suggère une influence saisonnière marquée sur la qualité de l'eau, probablement due à une concentration plus importante des effluents en été par rapport aux mois d'automne et d'hiver. En revanche, ces résultats diffèrent de ceux observés par **Ouhmidou et al. (2015)**, qui indiquaient une charge bactérienne plus élevée durant l'automne et l'hiver dans les eaux de l'Oued Ziz en 2012. Ces différences pourraient refléter des variations dans les conditions environnementales ou par des divergences dans la gestion des effluents entre les deux études ainsi qu'au niveau des bassins versants des sites concernés.

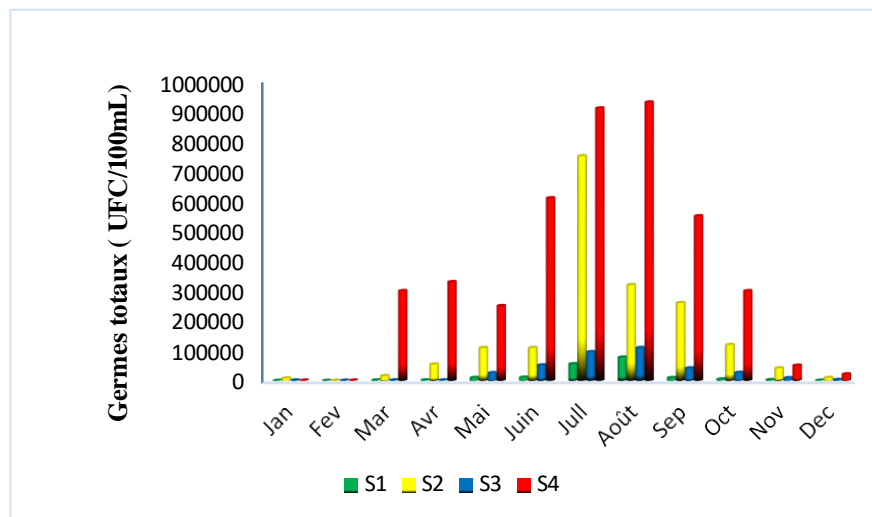


Figure 27: Variations spatio-temporelles des teneurs en germes totaux enregistrés dans le Golfe d'Annaba.

- **Concentrations en coliformes totaux (CT) et en coliformes fécaux (CF)**

La variation spatiale des coliformes fécaux (CF) est généralement similaire à celle des coliformes totaux (CT) (Figure 28 et 29). Nos résultats concordent avec ceux rapportés par **El**

Addouli et al. (2009) pour les eaux de l'oued Bouishak de la ville de Meknès, Maroc.

Les concentrations de ces deux paramètres bactériologiques ont largement excédé les seuils autorisés, soit 500 CT/100mL et 100 CF/100mL, conformément au décret exécutif n° 93-164 du 10/07/1993 (**JORA, 1993**) tout au long de la période d'étude. Ces résultats soulignent une problématique de contamination significative dans les sites analysés.

Les résultats obtenus montrent que les eaux des oueds présentent des teneurs en CT et en CF atteignant respectivement 26×10^3 CT/100mL et 21×10^3 CF/100mL en S2, ainsi que 99×10^3 CT/100mL et 35×10^3 CF/100mL en S4. Ces valeurs sont largement supérieures à celles trouvées dans les eaux de mer, qui affichent 34×10^2 CT/100mL et 18×10^2 CF/100mL en S1, ainsi que 59×10^2 CT/100mL et 27×10^2 CF/100mL en S3.

A l'échelle temporelle, la charge de ces deux variables est plus élevée pendant les mois les plus chauds de l'année, avec des niveaux maximums dans les oueds atteignant 58×10^4 CT/100mL et 12×10^4 CF/100mL, tandis que dans l'eau de mer, les concentrations maximales sont de 25×10^3 CT/100mL et 11×10^3 CF/100mL, toutes enregistrées pendant l'été. Ces variations sont comparables à celles observées par **Lamrani et al. (2013)**, **Boudraa et al. (2014)**, ainsi qu'aux résultats de **Kadri (2015)**

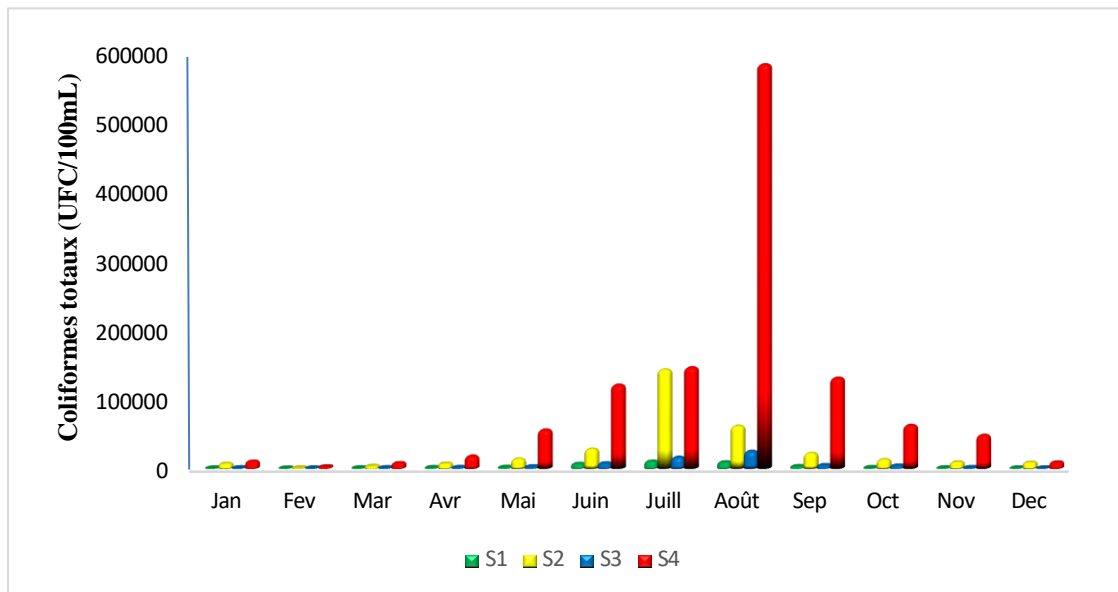


Figure 28: Variations spatio-temporelles des teneurs en coliformes totaux enregistrés dans le Golfe d'Annaba.

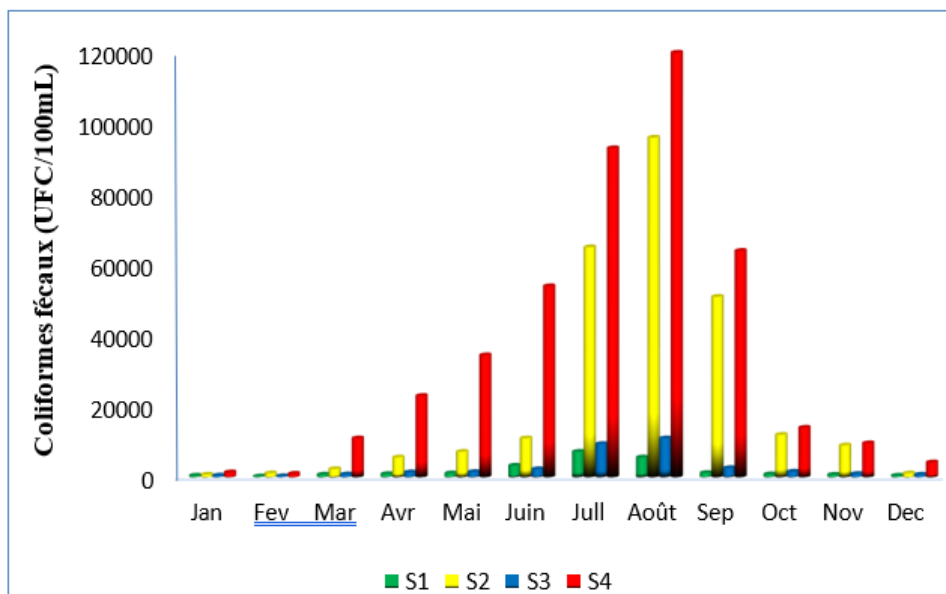


Figure 29: Variations spatio-temporelles des teneurs en coliformes fécaux enregistrés dans le Golfe d'Annaba.

- **Concentrations en streptocoques fécaux (SF)**

La charge en streptocoques fécaux rencontrée dans l'eau de mer varie entre 330 et 18×10^3 UFC/100mL, tandis que dans les eaux des oueds, elle se situe entre 350 et 13×10^3 UFC/100mL dans les eaux des oueds (Figure 30). Globalement, la concentration de streptocoques est plus faible que celle des coliformes dans l'ensemble des stations d'échantillonnage et durant toute la période d'étude. Ces résultats sont cohérents avec ceux des études antérieures (Hunter *et al.*, 1999 ; Aboukacem *et al.*, 2007 ; Bengherbia *et al.*, 2014). En revanche, d'autres recherches (Bordalo *et al.*, 2002 ; Kadri *et al.*, 2015 ; Islam *et al.*, 2017) indiquent que la concentration de SF est supérieure à celle d'*E. coli* dans presque tous les échantillons, vue à leur lente persistance dans l'eau que les coliforme.

La faible charge en streptocoques fécaux (SF) observée dans notre étude pourrait être due à l'influence de certains facteurs abiotiques présents dans l'environnement étudié, ainsi qu'à une phase de déclin rapide de ces bactéries. En effet, les SF, souvent utilisés comme indicateurs de contamination fécale, sont sensibles aux conditions environnementales comme la température, l'humidité, la lumière et le pH. Ces facteurs peuvent accélérer la réduction de leurs nombres, réduisant ainsi leur persistance dans l'environnement. Par conséquent, la concentration en SF peut être plus faible dans nos milieux d'étude en raison de cette phase de déclin rapide liée aux variations abiotiques (Hunter *et al.*, 1999).

En sus, certaines espèces bactériennes, comme *Streptococcus bovis* et *Streptococcus equinus*, sont fragiles et peuvent disparaître complètement en 24 heures à des températures comprises entre 10 et 20 °C (Degrémont, 2005). Cependant, la concentration de ces germes fécaux est plus élevée dans les échantillons d'eau de mer en S1 et S3 par rapport à celle enregistrée dans les oueds S2 et S4. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Boufafa *et al.* (2021) dans le golfe d'Annaba, Cette différence pourrait être expliquée par la tolérance des streptocoques fécaux à des concentrations élevées de salinité, les rendant d'excellents indicateurs de contamination fécale dans les eaux marines, comme l'indiquent Byappanahalli *et al.* (2012).

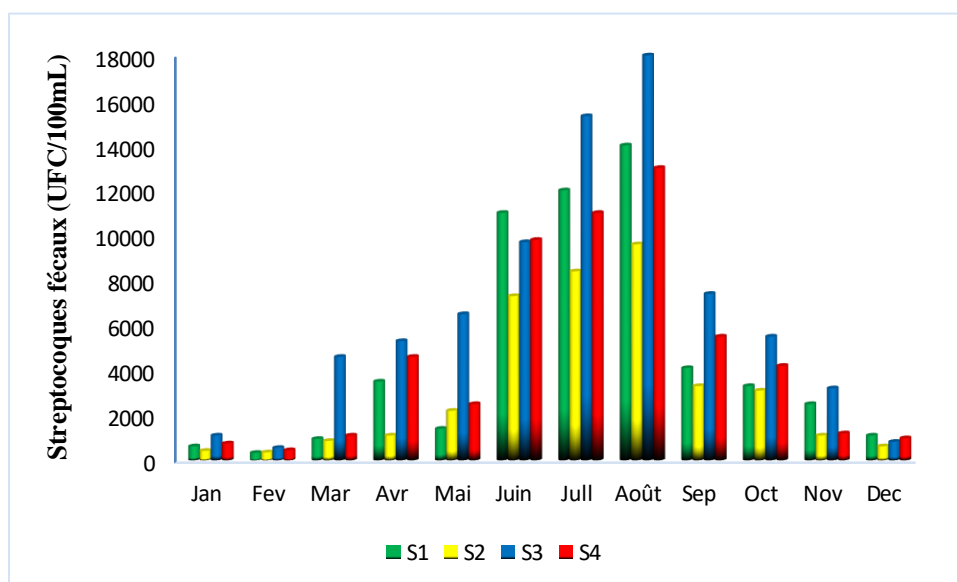


Figure 30: Variations spatio-temporelles des teneurs en streptocoques fécaux enregistrés dans le Golfe d'Annaba.

Les résultats obtenus montrent une contamination fécale significative, probablement due aux multiples déversements anthropiques variés, notamment les effluents liquides du complexe d'engrais phosphatés Asmidal (Fertial) et les eaux usées non traitées provenant de la ville d'Annaba et des zones urbaines environnantes. Ces polluants sont principalement acheminés vers la mer par les oueds Bedjima et Seybouse, où ils se déversent directement sur le littoral, entraînant une augmentation des concentrations en agents pathogènes, en particulier sur les sites S3 et S1. En conséquence, ces plages voisines ne sont pas conformes aux normes de baignade en vigueur en Algérie, selon le décret exécutif N°93-164 du 10 juillet 1993 (JORA, 1993).

Nous avons constaté que l'eau des oueds est plus contaminée que celle de la mer. Cette différence peut s'expliquer par l'effet de dilution de l'eau de mer, ainsi que par d'autres facteurs abiotiques qui réduisent les niveaux de contamination et influencent la survie des germes. De plus, les stations S1 et S3 sont soumis à un hydrodynamisme particulier, ce qui contribue à la dispersion des microorganismes dans la colonne d'eau (Figure 12).

L'oued Bedjima présente des niveaux alarmants de contamination fécale, avec des pics de bactéries indicatrices (CT, CF, et SF) dépassant ceux observés dans l'oued Seybouse. Cette situation est probablement due au manque de traitement préalable des rejets urbains provenant d'une grande partie de la ville d'Annaba, d'où il issue les eaux usées domestiques de plus de 100 000 habitants de la plaine ouest de la ville. De plus, les effluents domestiques de trois stations de relevage, ainsi que des nombreux raccordements d'eaux usées et des effluents mineurs du complexe d'Asmidal, auxquels s'ajoutent des apports de l'abattoir, situé à proximité de l'oued, aggravent la pollution (Figure 12). Par conséquent, l'oued Bedjima constitue un véritable émissaire d'eaux usées vers le Golfe (au niveau de station 3), posant des risques environnementaux majeurs (**Khammar *et al.*, 2009**).

Le degré de contamination fécale des cours d'eau, avec des particulièrement élevées durant les mois d'été et surtout sur les plages de baignade, représente un risque sanitaire réel pour l'homme. Cette pollution peut entraîner plusieurs maladies d'origine hydrique, notamment des maladies gastro-intestinales et des infections des voies respiratoires supérieures (**Müller *et al.*, 1977 ; Maipa *et al.*, 2001 ; Arnold *et al.*, 2016**).

3. Résultats des analyses statistiques

3.1. Tests statistiques et méthodes multi-variées

3.1.1. Comparaison inter-stations et inter-saisons : test Wilcoxon

Les résultats du test **Wilcoxon** appliqué pour comparer les médianes des 10 variables étudiées selon les deux facteurs « station » et « saison », sont résumés dans le tableau 3.

La synthèse de ces résultats montre :

➤ Comparaison Inter-Stations

- Salinité : Les différences entre les stations sont très significatives ($p < 0,0001$).
- Conductivité : Les différences observées sont également très significatives ($p < 0,0001$).
- Matières en Suspension : Une différence significative a été constatée ($p = 0,007$).

- Comparaison Inter-Saisons
- Tous les paramètres environnementaux et bactériologiques présentent des différences très significatives ($p < 0,05$) au cours de toute la période d'échantillonnage.

Ces résultats indiquent clairement que les conditions environnementales, tant à l'échelle spatiale qu'à l'échelle temporelle, influencent la variabilité des paramètres biotiques et abiotiques des eaux du Golfe.

➤ **Interprétation des résultats**

✓ **Différences Inter-Stations**

Les variations significatives de la salinité et de la conductivité entre les différentes stations suggèrent des influences locales, telles que l'impact des activités humaines, le drainage, ou l'apport en eaux douces.

✓ **Différences Inter-Saisons**

L'impact des conditions climatiques sur les paramètres mesurés indique que les variations saisonnières jouent un rôle crucial dans la qualité de l'eau. Les changements liés à la température, aux précipitations et aux cycles biologiques peuvent affecter la dynamique des écosystèmes aquatiques, entraînant des fluctuations dans les populations microbiennes et les caractéristiques physico- chimiques.

Tableau 3: Comparaison inter-stations et inter-saisons des paramètres physico-chimiques et bactériologiques dans les quatre stations d'étude.

| Paramètres | | Inter-stations | | | | | | Inter-saisons | | | | | |
|------------|----------|----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------------|-----------------|-------------|-------------------|---------------------|-----------------|
| | | S 1-S 2 | S 1-S 3 | S 1-S 4 | S 2-S 3 | S 2-S 4 | S 3-S 4 | Été - Automne | Hiver - Automne | Hiver - Été | Hiver - Printemps | Printemps - Automne | Printemps - Été |
| T (°C) | W-value | 37 | 58 | 68 | 57 | 61 | 78 | 143 | 14 | 0 | 0 | 132,5 | 23 |
| | P- value | 0.97 | 0.44 | 0.79 | 0.40 | 0.55 | 0.75 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| pH | W-value | 90 | 90 | 90 | 90 | 90 | 90 | 125 | 60 | 16 | 12 | 144 | 60 |
| | P- value | 0.31 | 0.31 | 0.31 | 0.31 | 0.31 | 0.31 | 0.00 | 0.51 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.50 |
| | W-value | 88 | 91 | 110 | 75 | 96 | 98 | 4 | 118 | 144 | 138 | 42 | 117 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|
| OD (mg/l) | P- value | 0.37 | 0.29 | 0.02 | 0.88 | 0.17 | 0.14 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.08 | 0.00 |
| | W-value | 144 | 53 | 144 | 0 | 17 | 144 | 99,5 | 59,5 | 40 | 45,5 | 81 | 47 |
| Sal (g/L) | P- value | 0.00 | 0.29 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.11 | 0.48 | 0.06 | 0.13 | 0.62 | 0.15 |
| | W-value | 144 | 63 | 144 | 0 | 5,5 | 144 | 96 | 48 | 45 | 41 | 89 | 58 |
| Cd (µS/cm) | P- value | 0.00 | 0.62 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.17 | 0.17 | 0.12 | 0.08 | 0.34 | 0.44 |
| | W-value | 111 | 56 | 108 | 33 | 36,5 | 108 | 99,5 | 144 | 144 | 144 | 81 | 47 |
| SS (mg/l) | P- value | 0.02 | 0.37 | 0.03 | 0.02 | 0.04 | 0.03 | 0.11 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.62 | 0.15 |
| | W-value | 24 | 53 | 22 | 106 | 47 | 31 | 124 | 26,5 | 8 | 17 | 95,5 | 48 |
| GT (GT/10 0ml) | P- value | 0.00 | 0.28 | 0.00 | 0.04 | 0.15 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.18 | 0.07 |
| | W-value | 19 | 54,5 | 8,5 | 114 | 42 | 12,5 | 118 | 42,5 | 8,5 | 26,5 | 89,5 | 37 |
| CT (CT/10 0ml) | P- value | 0.00 | 0.32 | 0.00 | 0.01 | 0.08 | 0.00 | 0.00 | 0.09 | 0.00 | 0.00 | 0.32 | 0.04 |
| | W-value | 22 | 55 | 10 | 110 | 51,5 | 17 | 120 | 43 | 7,5 | 18 | 97,5 | 35,5 |
| CF (CF/10 0ml) | P- value | 0.00 | 0.34 | 0.00 | 0.03 | 0.24 | 0.00 | 0.00 | 0.09 | 0.00 | 0.00 | 0.1 | 0.03 |
| | W-value | 97 | 53,5 | 68,5 | 44 | 54 | 87,5 | 139 | 24,5 | 2 | 6,5 | 114,5 | 29,5 |
| SF (SF/10 0ml) | P- value | 0.40 | 0.29 | 0.86 | 0.11 | 0.31 | 0.38 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.01 |
| | W-value | 97 | 53,5 | 68,5 | 44 | 54 | 87,5 | 139 | 24,5 | 2 | 6,5 | 114,5 | 29,5 |

3.1.2 Corrélation linéaire simple entre les variables physicochimiques et bactériologiques

Nous avons calculé les coefficients de corrélations entre les 10 paramètres étudiés, pris deux à deux, pour l'ensemble des quatre stations du Golf d'Annaba. Les résultats de la matrice de corrélation pour les sites d'échantillonnage 1, 2, 3 et 4 sont résumés dans la figure 31 et le tableau A5 (Annexe 5).

➤ Concernant les corrélations entre les différents paramètres abiotiques étudiés, l'analyse

statistique a révélé nombreuses corrélations significativement positives à $P < 0,001$ et $P < 0,01$, ainsi que certaines corrélations négatives. Parmi ces corrélations significatives, nous avons observé que :

- La température est corrélée positivement avec le pH, la salinité et la conductivité, tandis qu'elle est corrélée négativement avec l'oxygène dissous et les matières en suspension. Ces résultats concordent avec ceux de **Rodier et al. (2009)** et **Ouali et al. (2018)**, qui ont tous deux noté une corrélation négative entre la concentration en oxygène dissous (OD) et la température de l'eau, ainsi qu'avec la présence de polluants dans les cours d'eau. En revanche, nos résultats divergent de ceux de **Guemmaz et al. (2019)**, qui ont trouvé une corrélation positive entre l'oxygène dissous (OD) et la température de l'eau ainsi qu'avec la conductivité électrique (Cd). Ces différences pourraient s'expliquer par des variations dans les conditions locales, telles que la géographie, la saisonnalité ou la composition spécifique des cours d'eau étudiés.
- Le pH est positivement corrélé avec la salinité et la conductivité, ce qui souligne sa sensibilité aux variations de température, de salinité et de conductivité. Une augmentation du pH dû à l'augmentation de la température et la minéralisation de l'eau. De plus, on note une corrélation négative entre le pH, l'oxygène dissous et les matières en suspension.

Un pH plus élevé est souvent associé à des niveaux d'oxygène dissous plus faibles, ce qui peut résulter de la décomposition organique ou de la respiration microbienne. Les matières en suspension peuvent également influencer la luminosité et, par conséquent, la photosynthèse, affectant ainsi les niveaux d'oxygène.

- La teneur en oxygène dissous est positivement corrélée avec la concentration en matières en suspension, tandis qu'elle est négativement corrélée avec les niveaux de salinité et de conductivité.

- La conductivité présente une corrélation négative avec les matières en suspension

➤ D'après nos résultats, le coefficient de corrélation révèle une relation très élevée ($p < 0,0001$) entre les germes des quatre sites étudiés (Figure 31). Nous observons :

- Une corrélation significativement positive entre les GT, CT et CF, ainsi qu'entre les SF, CT et CF. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Saab et al. (2007)**, qui ont montré une corrélation significative ($P > 0,05$) entre les abondances des coliformes totaux et celles des coliformes fécaux, ainsi qu'entre les germes totaux et les coliformes fécaux. De plus, **Guemmaz et al. (2019)** ont noté que la densité de SF était positivement associée à l'augmentation des charges de CT et CF. Ces études soulignent l'interdépendance des différents paramètres biotiques dans nos sites d'étude.

➤ Les résultats de l'analyse des coefficients de corrélations entre les variables biotiques et abiotiques révèlent que les bactéries (germes totaux et fécaux) répondent différemment aux paramètres de l'eau dans les sites d'étude (Figure 31). Selon **Davies *et al.* (1995)** et **Hong *et al.* (2010)**, les propriétés physicochimiques de l'eau influencent significativement la survie et la croissance des bactéries coliformes.

▪ Par ailleurs, on constate que l'augmentation de la température, du pH, de la salinité (sal) et de la conductivité électrique (Cd) a entraîné une augmentation significative très élevée ($P < 0,0001$) des germes totaux, des coliformes totaux, des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux, qui présentent des corrélations positives entre eux. De plus, des corrélations négatives ont été observées entre les indicateurs fécaux et les autres paramètres physico-chimiques de l'eau ($P < 0,0001$), comme l'illustre la figure 31.

La température de l'eau est le facteur le plus important déterminant l'abondance des bactéries coliformes (**North *et al.*, 2014**). Une corrélation significativement positive entre les charges bactériennes et la température de l'eau a été révélée, ce qui est en accord avec d'autres recherches antérieures, telles que celles menées par **Garnier *et al.* (1992)** et **Aboukacem *et al.* (2007)**, qui ont également confirmé une relation positive entre les coliformes totaux et la température de l'eau. Nos analyses bactériologiques des eaux du Golfe d'Annaba ont montrés une augmentation des niveaux de bactéries indicatrices de contamination fécale pendant les mois les plus chauds de l'année. Cette situation pourrait être attribuée à plusieurs facteurs, notamment aux fortes températures et à l'afflux de touristes visitant les plages de la ville d'Annaba. La présence accrue de touristes peut entraîner une augmentation de la contamination fécale, tandis que la charge organique élevée provenant des effluents liquides et des rejets urbains de la ville, ainsi que des habitants situés à proximité des bassins versants S2 et S4, contribue également à cette augmentation pendant cette période. De plus, l'absence de stations de traitement et le faible débit d'eau réduisent la dispersion des germes fécaux dans la colonne d'eau. **Boufafa *et al.* (2021)** rapportent que les charges de bactéries hétérotrophes aérobies et d'entérobactéries augmentent avec la température de l'eau. **Bent & Goulder (1981)** et **Servais (1986)** mentionnent également que les pics d'abondance bactérienne dans les écosystèmes aquatiques sont généralement enregistrés durant l'été.

▪ D'autres études ne corroborent pas avec nos résultats concernant la corrélation positive trouvée entre le pH et les bactéries indicatrices de contamination fécale. En effet, certaines recherches, telles que celles de **Davies *et al.* (1995)**, **Mayo (1995)** et **Van der Steen *et al.* (2000)** indiquent une nette diminution de la survie des coliformes fécaux (CF) dans des pH alcalins, ainsi

qu'une augmentation des niveaux de coliformes thermotolérants (CT) dans des pH acides.

- La corrélation négative entre les germes fécaux et les MES peut s'expliquer par l'effet d'adsorption des bactéries par les MES. En hiver, l'augmentation du taux de MES favorise ce phénomène d'adsorption, ce qui peut fausser les résultats des dénombrements bactériens effectués en laboratoire (*in vitro*). Ainsi, les bactéries fixées sur les MES ne sont pas détectées, entraînant une sous-estimation de leur concentration réelle dans l'eau.
- La corrélation significativement négative entre la température, le pH et l'OD peut s'expliquer par la stimulation de l'activité et de la multiplication des micro-organismes, qui nécessitent une grande quantité d'oxygène (**Hassoune *et al.*, 2010**) avec l'augmentation de la température. Cette situation entraîne une élévation du pH et une diminution de l'oxygène dissous.

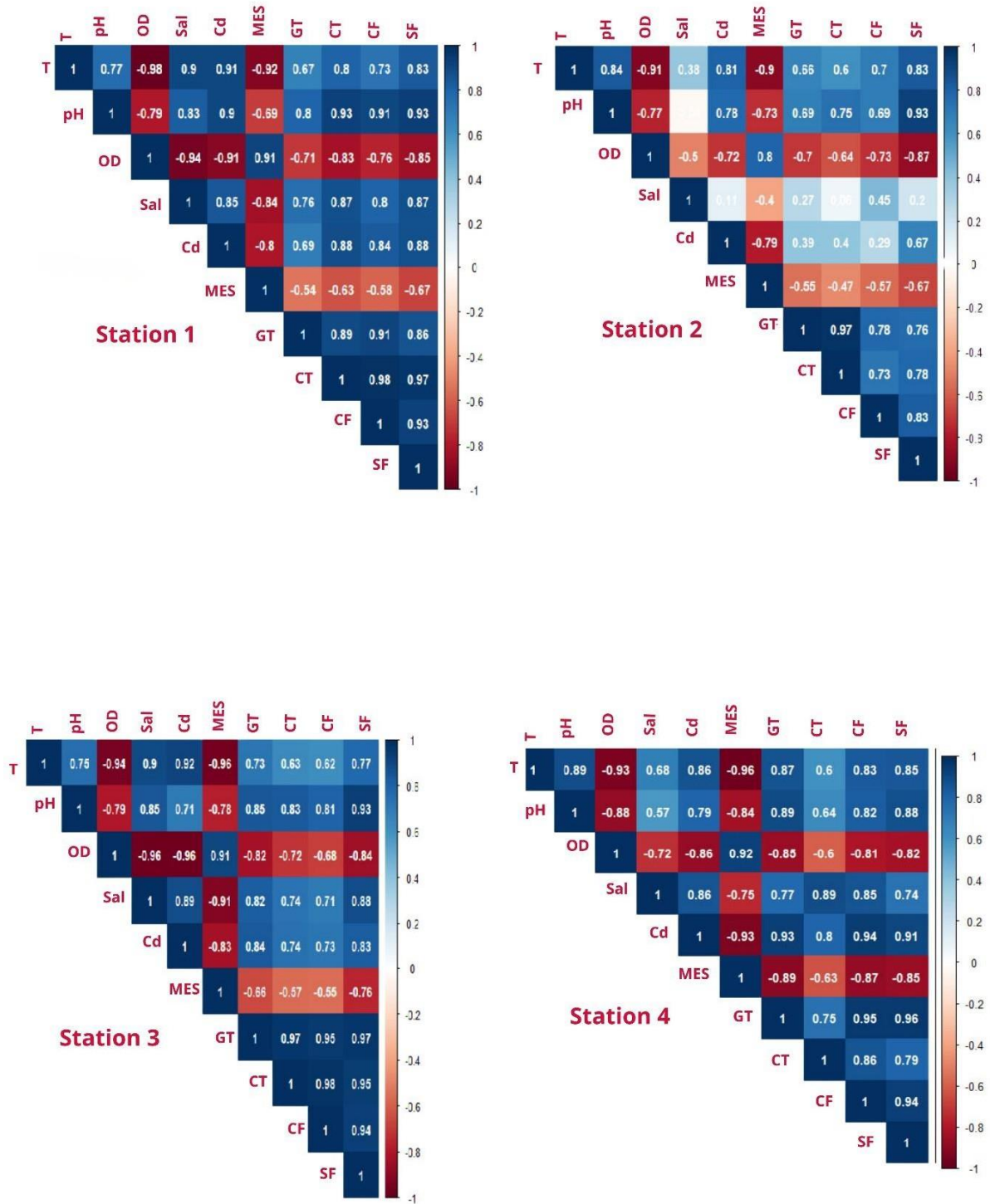


Figure 31:Corrélogramme montrant les corrélations entre les 10 variables physicochimiques et bactériologiques des eaux du golf d'Annaba pour les quatre sites étudiés. Couleur bleue : corrélation positive ; couleur rouge : corrélation négative ; absence de couleur.

3.2. Analyse en composantes principales (ACP)

L'analyse en composantes principales des données obtenues a permis de visualiser la structuration de la variation temporelle et spatiale au niveau de l'eau de quatre stations étudiés, en tenant compte de neuf variables mesurées : 3 biotiques (coliformes totaux (CT), coliformes

fécaux (CF), et streptocoques fécaux (SF)) et 6 abiotiques (température (T), pH, oxygène dissous (OD), conductivité (Cd), salinité (Sal) et matière en suspension (MES)). Cette approche a révélé des patterns sous-jacents, facilitant l'identification des relations entre les variables et la comparaison des stations en fonction de leurs caractéristiques hydriques.

La projection des variables et des individus a été réalisée sur 2 axes, représentant 81,7 % de la variance totale. L'axe 1 représente 51,9 % de la variance (Figure 32), constituant ainsi la composante la plus significative. Il est corrélé positivement avec presque toutes les variables, à l'exception de l'OD et des MES. Le deuxième axe, quant à lui, représente 28,8 % de la variance et présente des corrélations positives avec la salinité (Sal) et la conductivité électrique (Cd), tout en étant négativement corrélé avec les CT, et les CF.

La figure 32 (a) met en évidence une nette distinction entre les stations 1 et 3 par rapport aux stations 2 et 4, en ce qui concerne les variables Sal, Cd, MES, OD, CF et CT. Cela pourrait refléter des différences écologiques ou anthropiques influençant la qualité de l'eau ou les écosystèmes locaux. En termes de variation temporelle, l'axe 1 montre une nette différence entre les saisons, notamment entre l'été et l'hiver, par rapport au pH, T, SF, CF, OD et MES (Figure 32b). Cela affirme l'importance des facteurs saisonniers dans la dynamique des systèmes aquatiques étudiés.

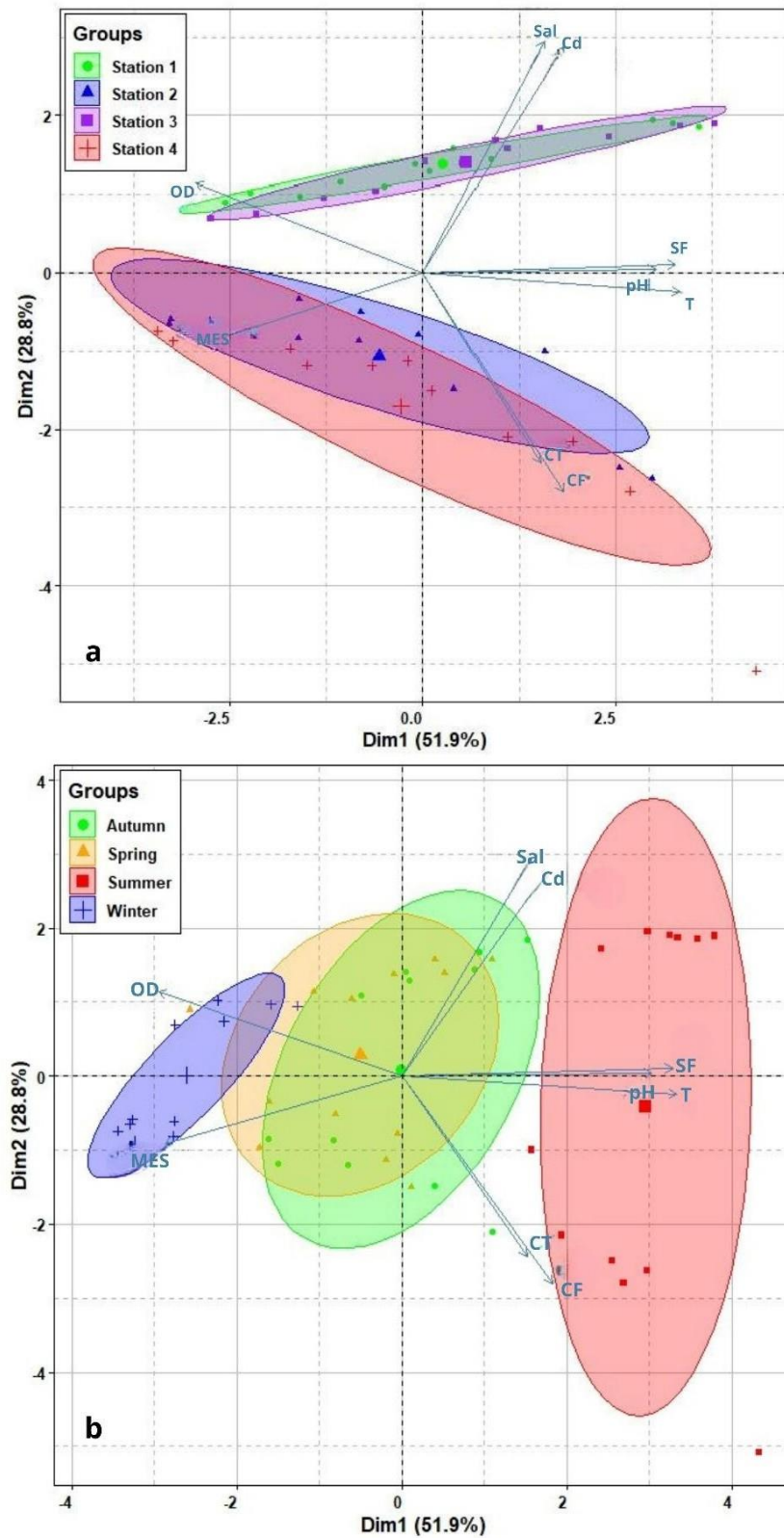


Figure 32: Analyse en composantes principales (ACP) des différentes variables au cours d'un cycle d'étude de mars 2017 à février 2018 sur les quatre stations d'étude : a. Corrélation entre les stations ; b. Corrélation entre les saisons.

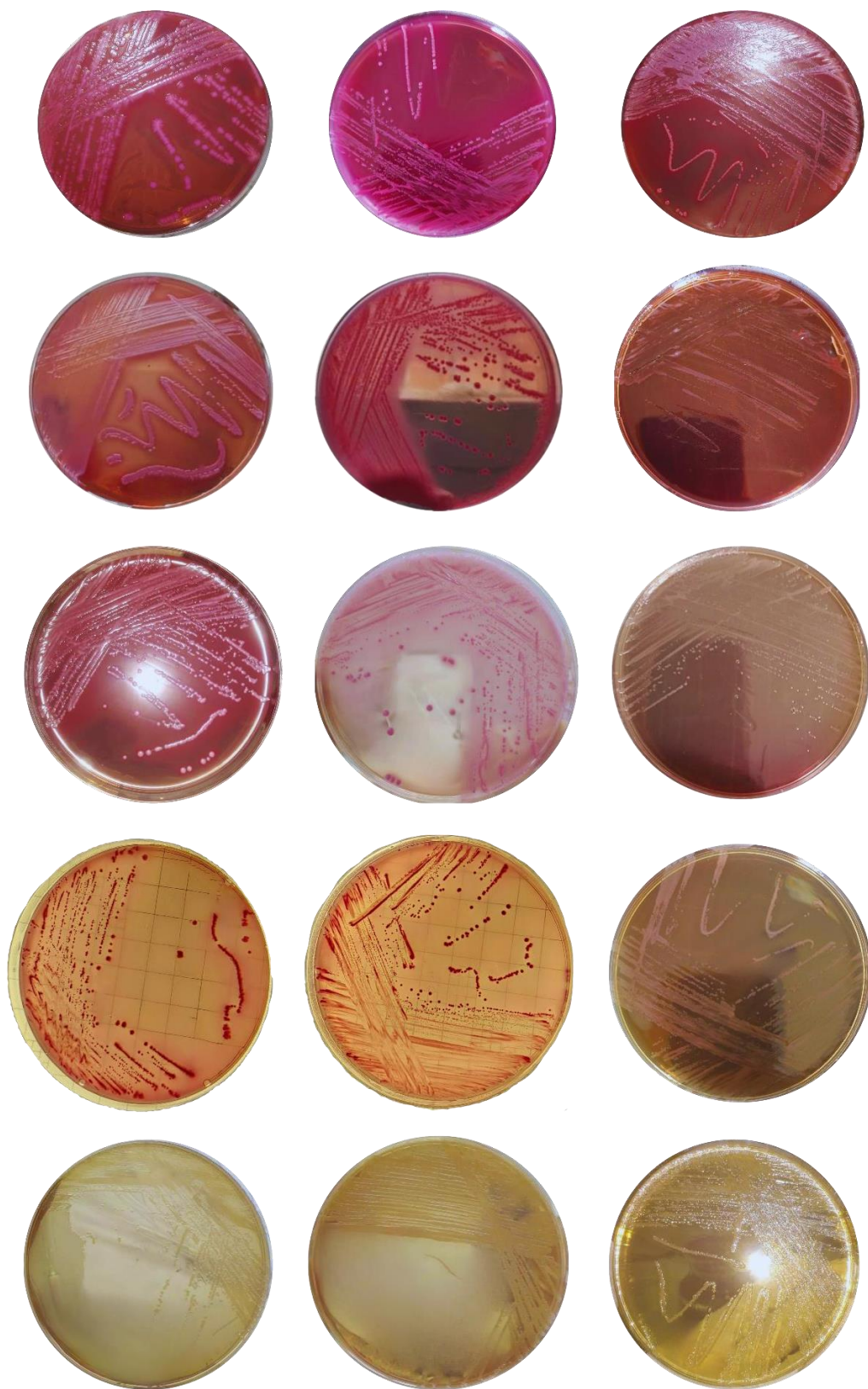
4. Recherche et identification des bactéries potentiellement pathogènes

Au cours de notre étude, nous avons sélectionné et purifié 276 souches appartenant aux différentes espèces de bactéries que nous recherchions.

- **Caractérisation macroscopique**

La caractérisation initiale a été réalisée sur la base des caractéristiques culturelles et de la morphologie des colonies. L'isolement des souches bactériennes se fait à partir des colonies suspectes identifiées sur des milieux spécifiques. L'examen macroscopique est sur les colonies purifiées, permettant d'observer des traits distinctifs tels que la taille, la forme, la couleur et la texture. L'aspect morphologique de ces colonies bactériennes isolées est représenté dans la figure 33.

Gélose Mac Conkey



**Gélose
Hektoen**



**Gélose
Cétrimide**



Figure 33: Caractéristiques macroscopiques des colonies sur divers milieux de culture utilisés.

- **Caractérisation microscopique**

L'observation microscopique des isolats, réalisée après une coloration de Gram, a révélé la présence de bacilles et de coccobacilles à Gram négatif (Figure 34).

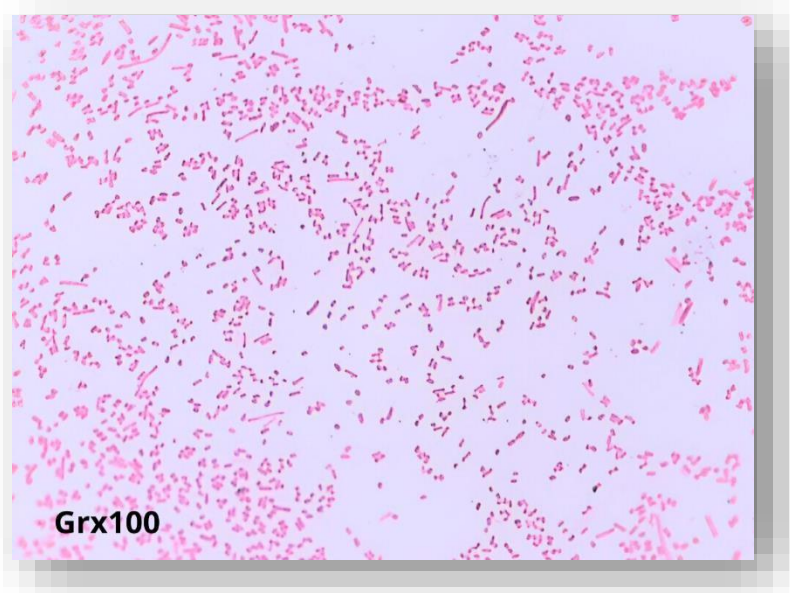


Figure 34: Aspect microscopique des isolats Gram négatif.

- **Étude biochimiques**

- **Recherche de catalase**

Le test de recherche de catalase a révélé une catalase positive chez tous les isolats analysés.

- **Recherche de l'oxydase**

Dans notre étude sur l'activité de l'oxydase, nous avons examiné 276 isolats de bactéries. Parmi ceux-ci, 159 isolats ont montré une oxydase négative, tandis que 117 isolats ont présenté une oxydase positive, se traduisant par une coloration violette.

• Identification des isolats bactériens par Api système

L'identification des isolats bactériens a été réalisée à l'aide du système API, qui repose sur des galeries biochimiques (Figure 35). Au total, 276 souches de bactéries ont été isolées à partir d'échantillons d'eau prélevés sur quatre stations étudiées. Ces souches appartiennent à 20 genres et 45 espèces différentes (Tableau A6, Annexe 6).



Figure 35: Identification des isolats bactériens à l'aide du système API.

L'isolat le plus fréquent parmi tous les échantillons était *Escherichia coli* (12.68 %), suivi par *Aeromonas hydrophila* (8.69%), *Vibrio vulnificus* (5.43%), *Citrobacter freundii* (5.07%), *Pantoea spp* et *Aeromonas sobria* (4.43%), *Serratia marcescens*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas luteola* (3.62%), *Proteus mirabilis* (3.26%), *Klebsiella oxytoca* et *Enterobacter cloacae* (2.89%), *Vibrio hollisae* (2.53%), *Serratia ficaria*, *Serratia odorifera*, *Enterobacter vulneris* et *Pasteurella spp* (2.17%), *Klebsiella pneumoniae spp*

III. RESULTATS ET DISCUSSION

pneumoniae, *Citrobacter koseri*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* et *Acinetobacter baumannii* (1.81%), *Escherichia vulneris*, *Serratia liquefaciens*, *Salmonella spp* et *Pseudomonas putida* (1.44 %), *Pantoea spp2*, *Pantoea spp1*, *Pantoea spp 3* et *Citrobacter farmeri* (1.08%), *Pantoea spp4*, *Shigella spp*, *Hafnia alvei*, *Aeromonas salmonicida spp masoucida*, *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas mendocina*, *Plesiomonas shigelloides*, *Pasteurella pneumotropica* et *Mannheimia haemolytica* (0.72%), (Figure 36).

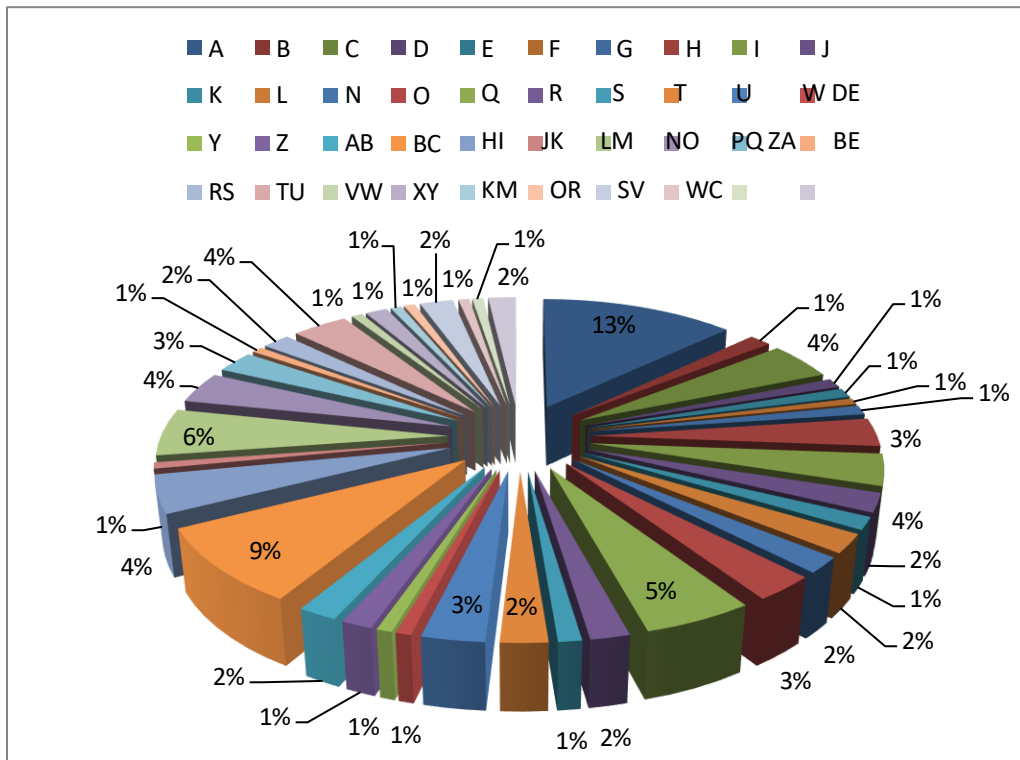


Figure 36: Abondance relative des isolats potentiellement pathogènes dans les eaux étudiées. A = *Escherichia coli*, B = *Escherichia vulneris*, C = *Pantoea spp*, D = *Pantoea spp2*, E = *Pantoea spp1*, F = *Pantoea spp4*, G = *Pantoea spp3*, H = *Proteus mirabilis*, I = *Serratia marcescens*, J = *Serratia ficaria*, K = *Serratia liquefaciens*, L = *Serratia odorifera*, N = *Klebsiella pneumoniae spp pneumoniae*, O = *Klebsiella oxytoca*, Q = *Citrobacter freundii*, R = *Citrobacter koseri*, S = *Citrobacter farmeri*, T = *Enterobacter vulneris*, U = *Enterobacter cloacae*, W = *Shigella spp*, Y = *Hafnia alvei*, Z = *Salmonella spp*, AB = *Burkholderia cepacia*, BC = *Aeromonas hydrophila*, DE = *Aeromonas sobria*, HI = *Aeromonas salmonicida spp masoucida*, JK = *Vibrio vulnificus*, LM = *Vibrio parahaemolyticus*, NO = *Vibrio hollisae*, PQ = *Vibrio alginolyticus*, RS = *Pseudomonas fluorescens*, TU = *Pseudomonas luteola*, VW = *Pseudomonas aeruginosa*, XY =

Pseudomonas putida, ZA = *Pseudomonas mendocina*, BE = *Plesiomonas shigelloides*, KM = *Pasteurella spp*, OR = *Pasteurella pneumotropica*, SV = *Mannheimia haemolytica*, WC = *Acinetobacter baumannii*.

Dans la figure ci-dessus (Figure 36), seules les espèces présentes dans plus de deux isolats par échantillon sont représentées. La liste complète se trouve dans le tableau A6 (Annexe 6).

- **Distribution spatiale des isolats bactériens identifiés**

D'après nos résultats, l'oued Bedjima est la station la plus contaminée, avec le plus grand nombre de souches bactériennes identifiées, totalisant 101 souches (36,59 %). Il est suivi par l'oued Seybouse, qui présente 73 souches (26,45 %), puis par Jouannville avec 62 souches (22,46 %). Enfin, la Plage Sidi Salem compte 40 souches (14,50 %) (Figure 37).

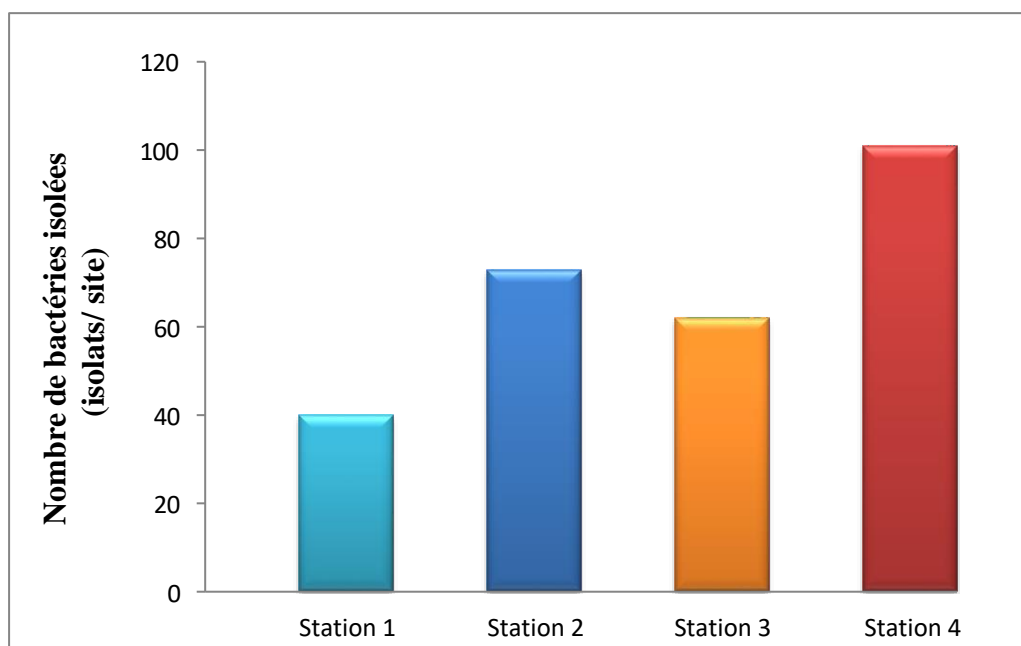


Figure 37: Distribution des isolats bactériens dans le Golfe d'Annaba. (Station 1) Sidi Salem, (Station 2) Seybouse, (Station 3) Jouannville, et (Station 4) Bedjima.

- **Abondance saisonnière des isolats bactériens**

Les variations saisonnières des isolats bactériens potentiellement pathogènes dans les stations étudiées (Figure 38) ont montré que la diversité augmente pendant la période chaude de l'année, entre Juin et septembre, La diversité la plus élevée a été enregistrée pour les quatre sites durant l'été.

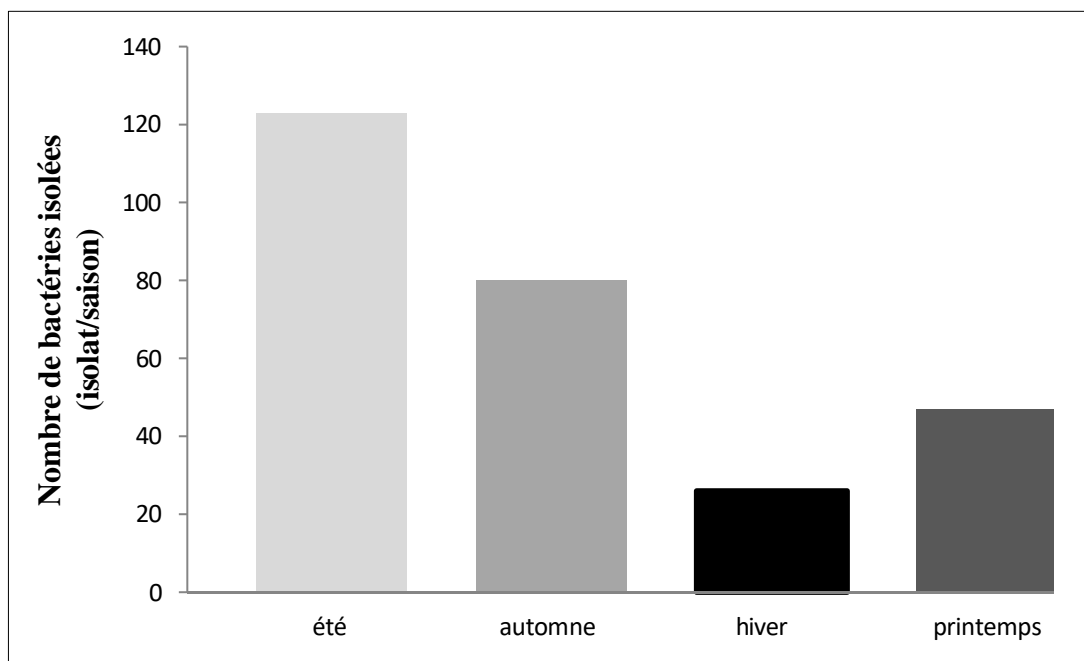


Figure 38: Les variations saisonnières des isolats bactériens potentiellement pathogènes dans les échantillons d'eau.

La présence de bactéries pathogènes dans l'eau peut provoquer des maladies, allant des infections aiguës à des complications graves, en fonction des hôtes et des conditions environnementales. Les résultats de l'étude sur l'identification des bactéries potentiellement pathogènes dans les eaux analysées ont révélé une abondance d'espèces de la famille des Enterobacteriaceae, représentant 57,48 % de tous les échantillons. Cela confirme l'influence des effluents urbains sur la qualité des eaux du Golfe d'Annaba, en particulier dans les échantillons provenant de l'oued Bedjima, qui est directement affecté par les rejets de l'abattoir. Ce phénomène entraîne une diversité des espèces bactériennes isolées plus élevée par rapport à celles de l'oued Seybouse et des plages de Jouannville et Sidi Salem. Les faibles charges microbiennes observées dans la Seybouse pourraient être attribuées à la mise en service du traitement des eaux usées d'Allelik-El Bouni, situé en amont de la station S2, ou à la présence de produits nocifs déversés par le bassin de Fertial (Asmidal Est).

De nombreuses études ont révélé qu'une proportion significative des bactéries appartenant à la famille des Enterobacteriaceae se trouve dans les eaux douces, les effluents issus des municipalités, les secteurs industriels, les activités vétérinaires, les hôpitaux ainsi que les systèmes de traitement secondaires (Njiné *et al.*, 2001 ; Galvin *et al.*, 2010 ; Harris *et al.*, 2014).

L'espèce *E.coli* est la plus abondante parmi celles trouvées dans les échantillons analysés. Son habitat d'origine est le tractus entérique de l'homme et des animaux à sang chaud.

Bien qu'elle soit généralement considérée comme non pathogène, certaines souches peuvent devenir des agents pathogènes graves en produisant des entérotoxines. Ces souches peuvent provoquer des diarrhées, notamment chez les enfants et les voyageurs, ainsi que des infections de plaies (**Pelczar et al., 1993**).

Les résultats de l'identification biochimique montrent la présence de diverses bactéries environnementales, notamment des espèces du genre *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* et *Burkholderia*, dans les quatre sites d'échantillonnage.

Les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentescibles, tels que *Aeromonas*, *Vibrio*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* et *Pasteurella*, occupent une place très importante dans la pathologie infectieuse humaine. Cette importance résulte à la fois de la diversité des espèces qui les composent et de leur impact sur la santé des populations. La fréquence et la gravité des infections, telles que les septicémies, les méningites et les gastro-entérites causées par des agents bactériens comme *Shigella*, *Salmonella*, *Aeromonas hydrophila*, *V. vulnificus*, ainsi que la fièvre typhoïde et les paratyphoïdes A, B et C (Salmonelles), mettent en lumière les défis liés à leur prise en charge, notamment en raison des difficultés d'identification et de la résistance aux antibiotiques (**Ramdani, 2017**).

- **Identification moléculaire des isolats bactériens**

En plus de l'identification biochimique, 23 isolats bactériens ont été sélectionnés pour une identification plus précise à l'aide de leurs gènes ARNr 16S, afin d'étudier leur taxonomie et leur phylogénie. Les résultats de l'identification moléculaire des isolats sélectionnés, après amplification et séquençage de leurs ADNr16S, sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4: Identification biochimique et moléculaire des 23 isolats bactériens sélectionnés.

| Code des souches | Identification biochimique | Identification moléculaire ADN_r16S |
|-------------------------|---|--|
| AHM35 | <i>Morganella morganii</i> | <i>Shigella flexneri</i> strain GBB2T |
| AHM18 | <i>Escherichia coli</i> | <i>Escherichia coli</i> strain 85QC2CO |
| AHM24 | <i>Escherichia coli</i> | <i>Escherichia coli</i> strain 3QC3O2 |
| AHM32 | <i>Escherichia coli</i> | <i>Escherichia coli</i> strain 85QC2CO |
| BLK9 | <i>Escherichia vulneris</i> | <i>Escherichia coli</i> strain A201 |
| AHM4 | <i>Citrobacter freundii</i> | <i>Citrobacter freundii</i> strain KCOM 1023 |
| AHM23 | <i>Citrobacter freundii</i> | <i>Stutzerimonas stutzeri</i> strain SGAir0442 |
| AHM12 | <i>Citrobacter farmeri</i> | <i>Citrobacter</i> sp. S39 |
| AHM27 | <i>Citrobacter koseri</i> | <i>Citrobacter freundii</i> strain CH-GX-LA13-2022 |
| AHM5 | <i>Enterobacter vulneris</i> | <i>Enterobacter rogenkampii</i> strain 13840 yvys |
| AHM2 | <i>Enterobacter cloacae</i> | <i>Citrobacter freundii</i> strain L75 |
| AHM34 | <i>Serratia marcescens</i> | <i>Citrobacter portucalensis</i> strain FDAARGOS_738 |
| AHM21 | <i>Serratia ficaria</i> | <i>Pseudomonas</i> sp. GD0 3919 |
| AHM47 | <i>Serratia ficaria</i> | <i>Pseudomonas putida</i> strain: MUF69 |
| AHM11 | <i>Salmonella</i> spp | <i>Pseudomonas oleovorans</i> strain CGKV/78e2013 |
| AHM31 | <i>Klebsiella oxytoca</i> | <i>Klebsiella pasteurii</i> strain KO200 862 |
| AHM10 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i> | Uncultured <i>Klebsiella</i> sp. clone 1-2-43 |
| AHM29.1 | <i>Plesiomonas shigelloides</i> | <i>Escherichia coli</i> strain M3 |
| BLK3 | <i>Pseudomonas putida</i> | <i>Pseudomonas oleovorans</i> JCM 13981 |
| AHM45 | <i>Pseudomonas luteola</i> | <i>Escherichia coli</i> strain Y8-2 |
| AHM13 | <i>Aeromonas sobria</i> | <i>Escherichia coli</i> strain Y8-2 |
| AHM16 | <i>Acinetobacter baumannii</i> | <i>Escherichia coli</i> strain GT8 |
| Ia1 | <i>Burkholderia cepacia</i> | <i>Pseudomonas</i> sp. SW3 |

Le séquençage du gène ARNr 16S a confirmé l'identification de certaines souches (environ la moitié soit 11 sur 23), en fournissant des résultats d'identification du genre cohérents avec ceux obtenus par les tests API. Cependant, pour le reste des souches, les identifications obtenues par séquençage diffèrent de celles fournies par les galeries. Cela peut être attribué à plusieurs facteurs, tels que :

- Les limites des tests API, notamment dans la base de données de référence, ainsi que la spécificité et la sensibilité des tests. Ces éléments peuvent parfois mener à des résultats moins précis ou fiables pour certaines souches, en particulier pour des espèces génétiquement proches. Le gène ARNr 16S est largement utilisé pour l'identification des bactéries, car il est présent chez presque toutes les espèces bactériennes et contient à la fois des régions conservées et des régions variables, ce qui permet de les distinguer. Cependant, certaines espèces partagent des séquences ARNr 16S très similaires, ce qui complique leur identification précise. Les différences subtiles dans ces séquences peuvent être détectées plus efficacement par le séquençage que par les tests API. En général, le séquençage est plus précis pour l'identification taxonomique, car il fournit des informations sur les relations phylogénétiques basées sur la séquence génétique, révélant ainsi des distinctions qui peuvent échapper aux tests API.

➤ Analyses phylogénétiques

L'arbre phylogénétique a été construit pour 23 isolats sélectionnés avec leurs plus proches voisins selon GenBank.

L'arbre optimal avec une longueur de la somme des branches = 0,00164940, est représenté dans la figure 39. Il a été généré pour visualiser la position évolutive de nos bactéries environnementales par rapport à leurs plus proches parents étudiés. Les analyses évolutives ont été réalisées avec le logiciel MEGA 5 (**Tamura et al., 2011**), sur la base de 47 séquences de 1355 paires de bases. *Micromonospora acroterricola* 5R2A7 (MG725918) a été utilisé comme groupe externe. Le pourcentage d'arbres répétés dans lesquels les taxons associés se sont regroupés lors du test bootstrap (500 répliqués) est indiqué à côté des branches (**Felsenstein, 1985**). Les distances évolutives ont été calculées à l'aide de la méthode du maximum de vraisemblance composite (**Tamura et al., 2004**) et sont exprimées en unités de substitutions de bases par site. L'analyse a porté sur des séquences de g nucléotides, incluant les positions de codon 1er+2ème+3ème et non codant. Toutes les positions ambiguës ont été supprimées pour chaque paire de séquences, et le jeu de données final comportait 608 positions au total.

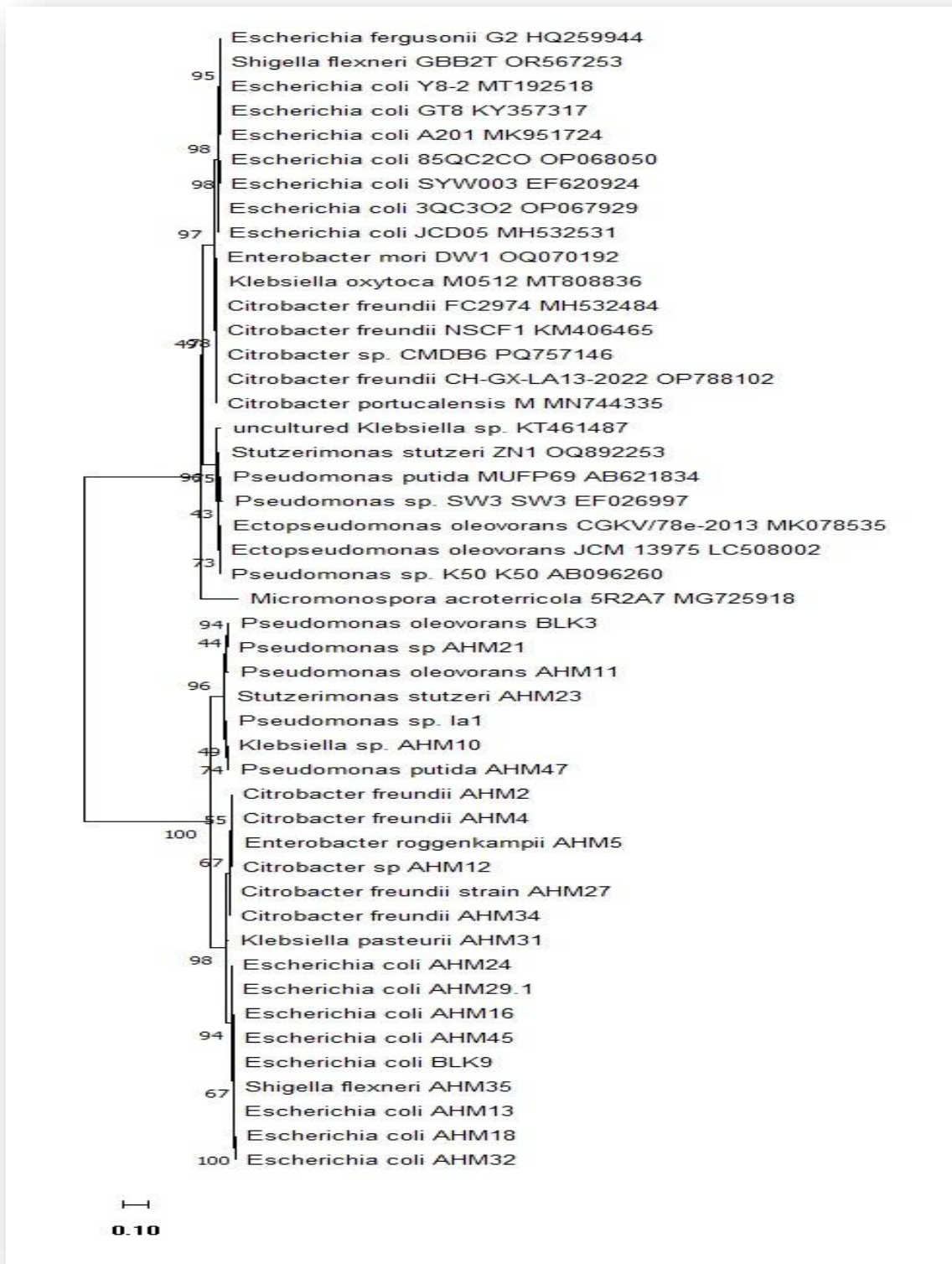


Figure 39: Arbre phylogénétique des 23 isolats sélectionnés et de leurs plus proches voisins selon GenBank.

5. Antibio-résistance des bactéries isolées à partir des eaux étudiées

L'étude des profils d'antibiorésistance de 276 souches bactériennes isolées a été effectuée en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les antibiogrammes ont été réalisés conformément aux normes établies par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM, 2014).

Les résultats de cette étude ont révélé que la plupart des isolats étaient résistants à plusieurs antibiotiques. Ces constatations sont cohérentes avec celles rapportées par **Chitanand et al. (2008)** et **Wawire et al. (2013)**, qui ont également observé une forte prévalence de résistances multiples aux antibiotiques dans divers environnements.

• Entérobactéries

Toutes les souches isolées ont été testées pour leur sensibilité à 19 antibiotiques.

La figure 40 montre que les résistances les plus fréquemment observées chez les entérobactéries sont à la céfazoline (89.93 %), suivies de celles à l'ampicilline (64.15 %), au furane (41.51 %) à de l'amoxicilline-acide clavulanique (41.51 %), à la céfoxitine (34.59 %) et à la céfotaxime (33.33 %).

Les souches bactériennes de la famille d'Enterobacteriaceae isolées de quatre stations ont montré une prédominance de résistance aux β -lactamines, en particulier au céfazoline et à l'ampicilline, avec respectivement 93,22 % et 64,41 % de souches résistantes (Tableaux A7, A8, A9 et A10, Annexe 7). Une résistance notable a également été observée à l'association amoxicilline + acide clavulanique, avec 41,5 % de souches résistantes. Des taux de résistances modérés ont été constatés pour d'autres classes d'antibiotiques (non- β -lactamines) : furane (41.51 % de souches résistantes), triméthoprim+sulfaméthoxazole (24.52 %), ticarcilline + acide clavulanique (23.27 % de souches résistantes).

Une résistance faible était détectée au ciprofloxacine (10.06 % de souches résistantes), à l'aztréonam (8.8 % de souches résistantes), à la fosfomycine (8.8 % de souches résistantes) et à l'ertapénème (5.03 % de souches résistantes).

Les fréquences de résistance aux antibiotiques ATM, CAZ, AKN et GEN étaient plus faibles pour les souches isolées de stations 1, 2, 3. Aucune résistance n'a été observée au niveau S1 pour : TCC.

Le taux de souches résistantes à AN, NIT et FOS enregistré dans la station S1 est supérieur à celui observé dans les autres stations (S1, S2 et S3).

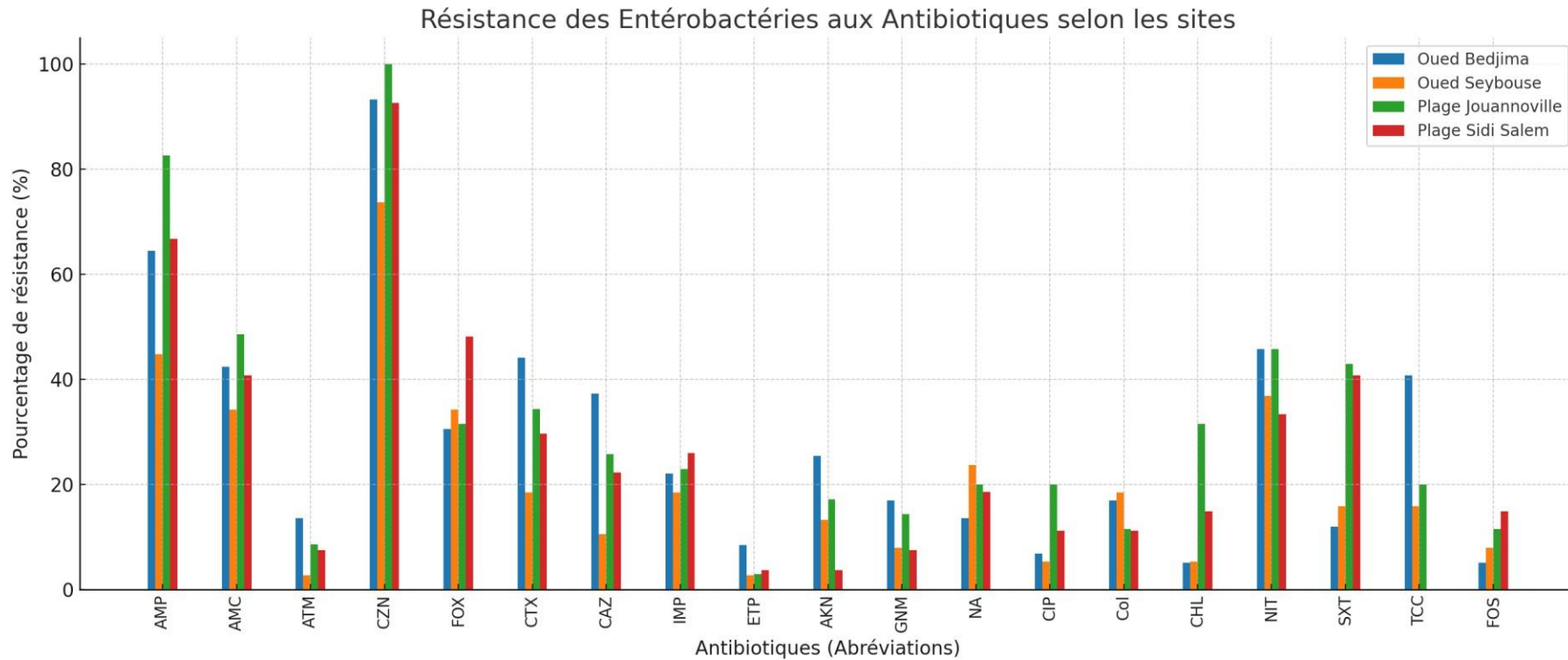


Figure 40: Résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir des eaux des stations d'étude. AMP: ampicilline; AMC : amoxiciline+Acide clavulanique ; ATM : aztréonam ; CZN: céfazoline ;FOX : céfoxitine ; CTX:céfotaxime; CAZ: ceftazidime ; IMP : imipénème; ETP : ertapénème; AKN: amikacine; GNM : gentamicine; NA: acide nalidixique; CIP : ciprofloxacine ;Col: colistine ; CHL : chloramphénicol; NIT: nitrofurane ; SXT : triméthoprime+sulfaméthoxazole; TCC : ticarcilline + acide clavulanique ; FOS: fosfomycine.

➤ Non Entérobactéries

Parmi les 117 souches testées, le plus grand nombre de résistances est observé pour le triméthoprim+ sulfaméthoxazole (40.74% dans la station S3), l'amoxiciline + acide clavulanique (38.09% dans la station S4), le Céfotaxime (30.95% dans la station S4), la ticarcilline + acide clavulanique et la piperacillin (30.77% dans la station S1), l'ampicilline (28.75% dans la station S4). En revanche, aucune résistance n'a été détectée pour les antibiotiques suivants : tobramycine, nétilmicine et fosfomycine (dans les quatre stations) (Figure 41).

D'après les tableaux A11, A12 et A13 (Annexe 7) nous notons, que les souches de la famille Pseudomonadaceae présentent un taux de résistance plus élevé aux antibiotiques par rapport aux autres souches non entérobactériennes, notamment aux : ticarcilline + acide clavulanique (71.43%), ticarcilline (64.28%), aztréonam (57.14%), piperacillin (50%), suivi par les souches d'Aeromonadaceae qui montrent une résistance élevée aux : triméthoprim+ sulfaméthoxazole (53.85%), l'amoxiciline + acide clavulanique et céfépime (48.72%), céfazoline (33.33%), ainsi que par celles de Vibrionaceae avec des fréquences importantes de résistances pour l'ampicilline (70.59%), céfotaxime et triméthoprim+ sulfaméthoxazole (44.12%).

Les tableaux A14, A15 et A16 (Annexe 7), montrent les prévalences de résistances des souches d'Acinetobacteriaceae, Burkholderiaceae et Pasteurellaceae qui ont également présenté un niveau de résistance notable à certains antibiotiques.

Des études similaires à nos résultats de susceptibilité aux antibiotiques des entérobactéries et non entérobactéries ont été menées par **Da Costa et al. (2008)**. Ils ont observé une résistance à l'ampicilline et au triméthoprim-sulfaméthoxazole respectivement chez 56,5 % et 47,5 % des isolats parmi les 549 souches d'*E. coli* prélevées dans les effluents bruts, les effluents traités et les boues issues de stations d'épuration de huit abattoirs de volailles au Portugal. De même, **Marinescu et al. (2015)**, ont mis en évidence une résistance maximale à l'AMP, au SXT et à l'AMC chez les isolats Gram-négatifs provenant d'eaux usées et de rivières réceptrices dans le sud de la Roumanie.

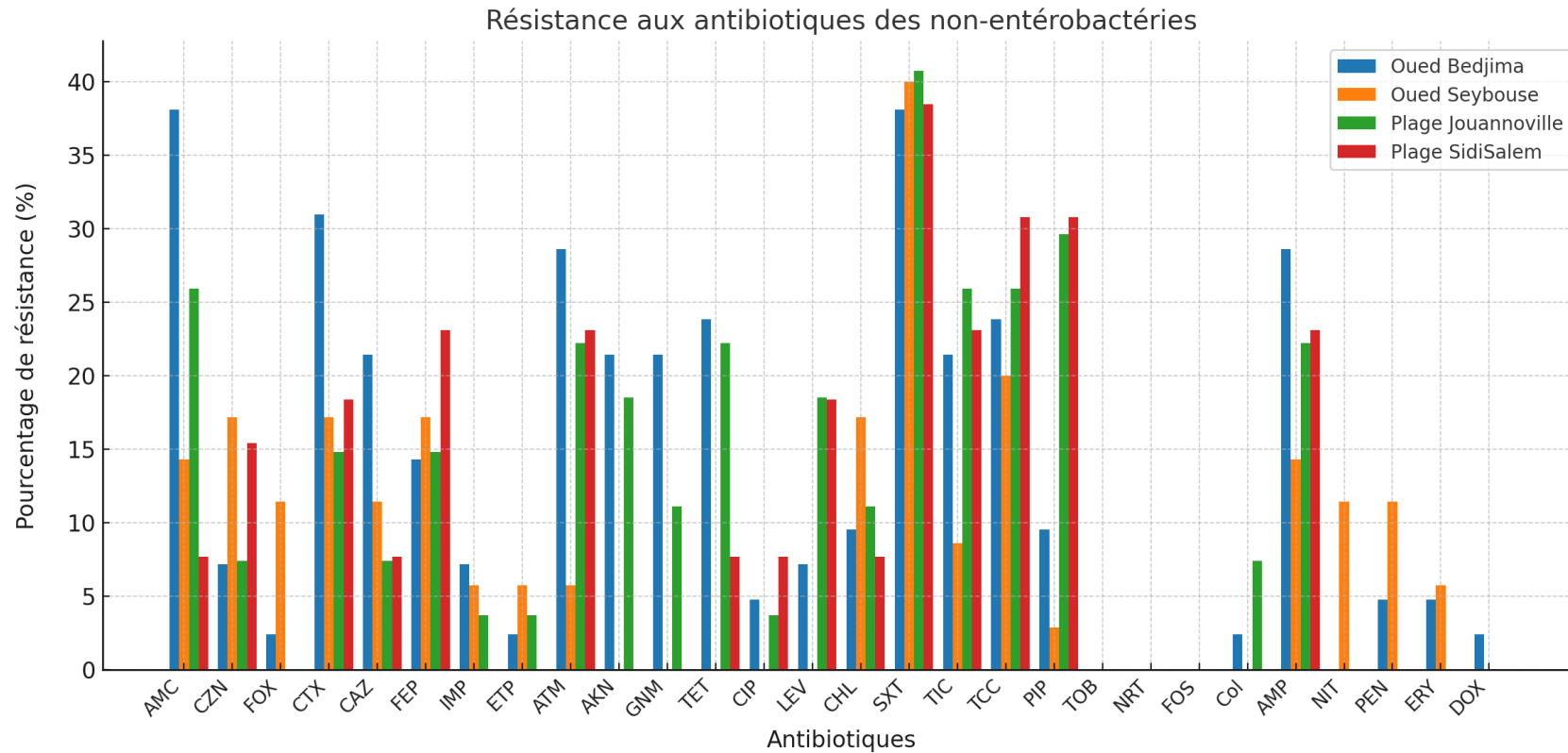


Figure 41: Résistance aux antibiotiques des non entérobactéries isolées à partir des eaux des stations d'étude. AMC : amoxiciline+Acide clavulanique ; CZN: céfazoline ; FOX : céfoxitine ; CTX:céfotaxime; CAZ: ceftazidime ; FEP : céfépime ; IMP : imipénème; ATM : aztréonam ; AKN: amikacine; GNM : gentamicine; TET : tetracycline ; CIP : ciprofloxacine ; LEV : Lévofloxacine ; CHL : chloramphénicol; SXT : triméthoprime+sulfaméthoxazole ; TIC : ticarcilline ; TCC : ticarcilline + acide clavulanique ; PIP : piperacilline ; TOB : tobramycine ; NRT : nétilmicine ; FOS: fosfomycine ; Col: Colistine ; AMP: ampicilline; NIT: nitrofurane ; PEN : pénicilline ; ERY : érythromycine ; DOX : doxycycline.

- **Profils antibiotypiques**

Parmi les 276 isolats bactériens des quatre stations étudiées (Tableau A27, Annexe 9), Soixante-dix-neuf profils de résistance sont observés. Les bactéries isolées de la station S1 présentent 16 profils antibiotypiques, celles de la station S2 en présentent 19, tandis que les bactéries des stations S3 et S4 montrent respectivement 21 et 29 profils.

Parmi ces profils, nous notons que l'antibiotype à cinq résistances AMP/AMC/CTX/TET/SXT est le plus fréquent (15 isolats) suivi par le profil AMP/AMC/CZN/FOX/CTX/CAZ/IMP/ETP/AKN/GEN/AN/CIP/NIT/TCC (12 isolats), AMP/CZN/CTX/CAZ/AN/CIP/Col/NITSXT/TCC/FOS et AMC/CZN/FOX/CTX/CAZ/FEP/ATM/AKN/GEN/TET/CIP/LEV/CHL/SXT (9 isolats).

Le tableau A27 (Annexe 9) montre une forte présence des souches multi-résistantes (85.87 % des 276 souches isolées), dans l'ensemble des stations d'étude. Les stations S3 et S4 se distinguent par des fréquences particulièrement élevées de ces souches résistantes (résistantes au moins à 3 classes d'antibiotique), atteignant respectivement 25.32 % et 36.29 %. Cela pourrait suggérer une pression antibiotique plus importante ou des conditions environnementales favorisant la sélection et la propagation de ces souches résistantes dans ces zones spécifiques.

Les souches de la famille des Enterobacteriaceae présentent une grande diversité de profils antibiotypiques, comparativement à celles des souches non-entérobactériennes, avec un haut niveau de résistance aux β -lactamines, au nitrofurane, à l'amikacine et au chloramphénicol.

Un grand nombre de souches *d'E.coli*, l'espèce la plus abondante parmi les entérobactéries (avec un taux de 24%), montrent une résistance à 14 antibiotiques: AMP/AMC/CZN/FOX/CTX/CAZ/IMP/ETP/AKN/GEN/AN/CIP/NIT/TCC.

Les souches *A. hydrophila* et *A. sobria* présentent également une résistance à 14 antibiotiques, tandis que *Serratia odorifera* et *Citrobacter freundii* résistent à 15 antibiotiques. En revanche, les espèces *Pantoea spp* et *Morganella morganii* montrent des résistances à 16 et 19 antibiotiques, respectivement.

- **Indice de résistance multiple aux antibiotiques (indice RMA)**

Les résultats du calcul de l'indice de résistance multiple aux antibiotiques des isolats d'entérobactéries provenant des eaux des quatre stations d'échantillonnage montrent des valeurs variant entre 0,05 et 1. Environ 69.81% des isolats bactériens présentent un indice RMA

supérieur ou égal à 0,2, avec un pourcentage particulièrement élevé enregistré dans les souches de la station 4.

Les espèces ayant les valeurs les plus élevées de l'indice RMA sont les suivantes:

Morganella morganii (1, station 4), *Serratia marcescens* (0.5, station 3), *Serratia marcescens* (0.45, station 1), *Citrobacter freundii* (0.43, station 3), *Serratia liquefaciens* et *Citrobacter freundii* (0.42, stations 3 et 4, respectivement), *Pantoea spp 2*, *Serratia odorifera* et *Serratia liquefaciens* (0.4, stations 1, 3 et 4, respectivement) (Tableaux A17, A18, A19 et A20, Annexe 8).

D'après les calculs obtenus pour les espèces non entérobactériennes (Tableaux A 21, A22, A23, A24, A25 et A26, Annexe 8), on a observé que toutes les bactéries isolées des familles Pasteurellaceae, Burkholderiaceae, Moraxellaceae (*Acinetobacter*) et Vibrionaceae montrent un indice de résistance multiple aux antibiotiques supérieur à 0,2, à l'exception de *Vibrio hollisae* (indice RMA = 0.19, station1), Par ailleurs, environ 66,66 % des souches de la famille Aeromonadaceae et 57,14 % des souches de la famille Pseudomonadaceae présentent un indice RMA ≥ 0.2

Les valeurs de cet indice varient entre 0.2 et 0.6 pour toutes les familles de non entérobactéries. La valeur la plus élevée (0.6) a été enregistrée chez *Pasteurella spp*, suivie par *Burkholderia cepacia* (0.52), *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio alginolyticus* (0.5), *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas putida* (0.42) et *Aeromonas hydrophila* et *Aeromonas sobria* (0.39). Cela indique une résistance notable de ces espèces aux antibiotiques, en particulier chez certaines d'entre elles, où l'indice RMA atteint des valeurs relativement élevées.

- Certains profils de résistance aux antibiotiques sont présentés dans les figures 42 à 48.

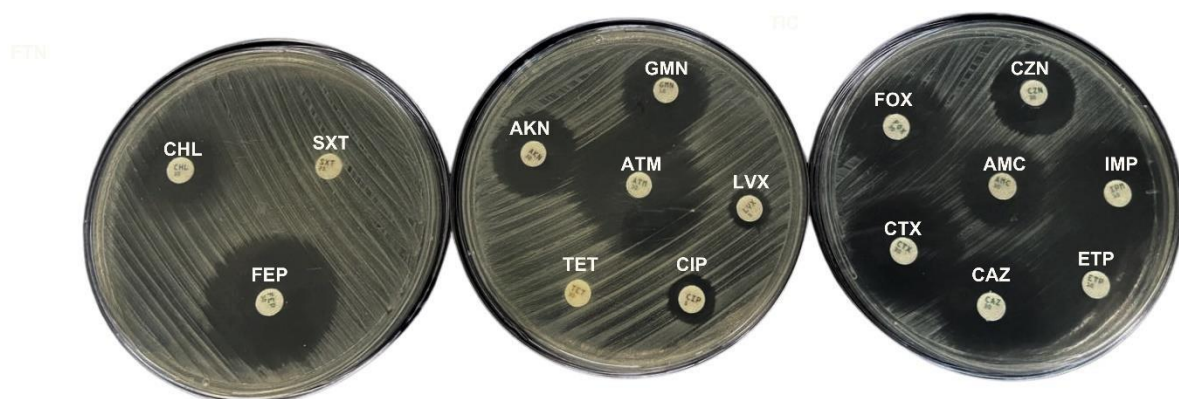


Figure 42: Résistance d'une souche *Aeromonas hydrophila* à 5 antibiotiques (TET/CIP/LEV/CHL/SXT).



Figure 43: Résistance d'une souche d'*Escherichia coli* à 9 antibiotiques (AMC/CZN/CTX/CAZ/IMP/AKN/GNM/FTN/TCC).



Figure 44 : Résistance d'une souche de *Pantoea spp1* à 9 antibiotiques (AMP/AMC/CZN/FOX/CTX/CAZ/IMP/GNM/SXT).

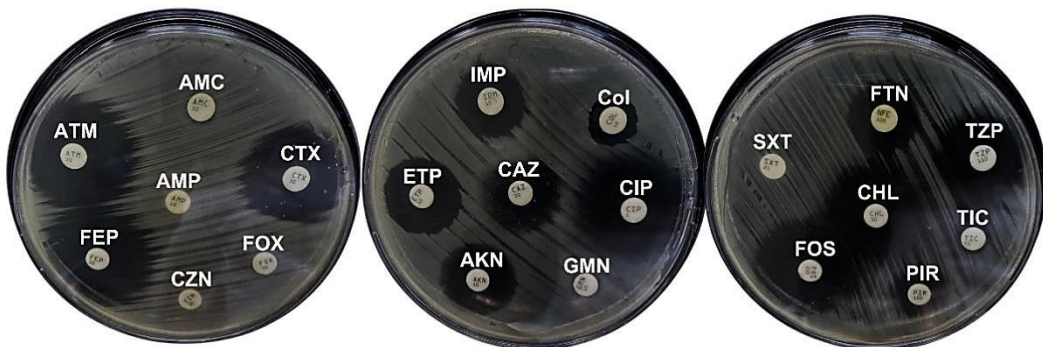


Figure 45 : Résistance d'une souche d'*Enterobacter cloacae* à 10 antibiotiques (AMP/AMC/CZN/FOX/CAZ/CTX/IMP/GNM/AN/SXT).



Figure 46 : Résistance d'une souche de *Serratia odorifera* à 11 antibiotiques (AMP/AMC/ATM/CZN/FOX/CTX/ETP/CHL/FTN/SXT/FOS).

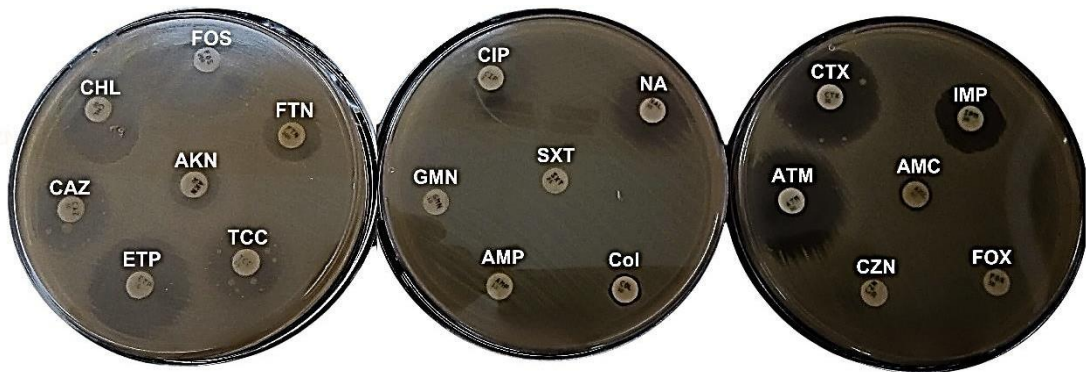


Figure 47 : Résistance d'une souche de *Citrobacter freundii* à 14 antibiotiques (AMP/AMC/CZN/FOX/CTX/CAZ/IMP/AKN/GNM/AN/CIP/FTN/SXT/TCC).

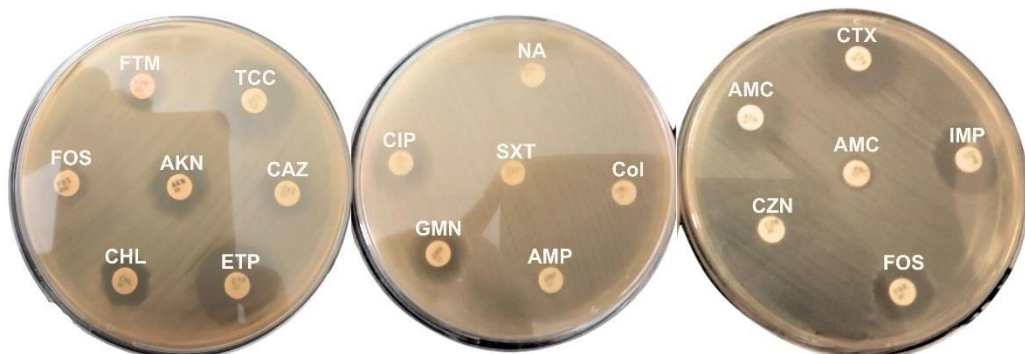


Figure 48 : Résistance d'une souche de *Morganella morganii* à 19 antibiotiques (AMP/AMC/ATM /CZN/FOX/CTX/CAZ/IMP/ETP/AKN/GNM/NA/CIP/Col/CHL/NIT/SX T/TCC/FOS).

La résistance aux antibiotiques constitue un problème majeur de santé publique, représentant un défi crucial pour la médecine moderne. Si des mesures adéquates ne sont pas prises, il est estimé que plus de 10 millions de personnes pourraient décéder d'ici 2050 en raison d'infections provoquées par des bactéries résistantes aux antibiotiques (**Kwon & Powderly, 2021; Hou et al., 2023**).

Il y a quelques années, les germes résistants étaient principalement retrouvés aux établissements hospitaliers. Toutefois, de nos jours, leur détection est de plus en plus courante dans l'environnement, sans lien spécifique avec les structures de santé (**Kumar & Schwezer, 2005**).

Les antibiotiques et les bactéries résistantes peuvent pénétrer dans les milieux aquatiques, tels que les ruisseaux et les rivières, principalement par les effluents des stations d'épuration (**Su et al., 2024**), les rejets des usines chimiques et les activités agricoles, d'élevage et d'aquaculture (**Kümmerer, 2009 ; Singer et al., 2016**).

Cette situation constitue une menace potentielle pour l'équilibre de l'écosystème aquatique ainsi que pour la santé humaine. Nombreuses études, notamment celles de **Holmes et al. (2016)** et de **Vikesland et al. (2019)**, ont confirmé que les activités humaines, telles que l'élevage, le traitement des maladies et la production industrielle, contribuent de manière significative à l'émergence et la propagation des gènes de résistance aux antibiotiques dans l'environnement. En outre, d'autres études ont été signalées la présence des concentrations élevées de résidus d'antibiotiques, de gènes de résistance et d'organismes résistants aux antimicrobiens dans des échantillons environnementaux prélevés dans les eaux usées hospitalières, urbaines et les sols traités avec du fumier animal (**Hocquet et al., 2016 ; McKinney et al., 2018**).

La présence de bactéries résistantes dans l'environnement résulte principalement de l'augmentation du portage de ces bactéries résistantes chez l'homme, ce qui facilite l'échange et la diffusion des gènes de résistance à travers les eaux usées. Ces dernières peuvent contaminer les cours d'eau et les nappes phréatiques, contribuant à la dissémination de la résistance (**Dyar et al., 2012 ; Bertrand, 2013**). Cette situation est aggravée par la pression sélective exercée sur le microbiote intestinal des humains et des animaux soumis à un traitement antibiotique, ce qui favorise l'émergence de souches résistantes. En effet, une étude menée par **Wright (2007)** a démontré que l'apparition de bactéries résistantes est directement liée à l'utilisation des antibiotiques. De plus, des gènes de résistance ont récemment été

retrouvés dans divers environnements, tels que les eaux de surface, les nappes phréatiques et les sédiments, soulignant ainsi l'ampleur de la propagation de cette résistance (**Zhuang et al., 2021 ; Larsson & Flach, 2022**).

À l'échelle mondiale, la consommation d'antibiotiques est évaluée entre 100 000 et 200 000 tonnes par an, dont près de 50 % sont destinés à la médecine vétérinaire (**Wise, 2002**). En 2010, la consommation d'antibiotiques dans les élevages a été estimée à 63151 tonnes, et des projections indiquent une augmentation de plus de 60 % d'ici 2030, avec une hausse pouvant atteindre près de 100 % dans les pays du groupe BRICS (Brésil, Russie, Inde, Chine, Afrique du Sud) (**Van Boeckel et al., 2015**).

Plusieurs recherches montrent que les bactéries résistantes aux antibiotiques isolées dans les eaux proviennent principalement des animaux d'élevage, des animaux domestiques ainsi que des animaux sauvages (**Mesa et al., 2006 ; Guenther et al., 2011 ; Dahmen et al., 2013**). Par ailleurs, certaines études rapportent que des souches résistantes ont été extraites des déjections d'oiseaux marins (**Simões et al., 2010**).

Entre 2000 et 2010, l'usage d'antibiotiques chez les humains a crû de 36 %, et de 46 % entre 2010 et 2018, selon l'étude GRAM (Global Research on Antimicrobial Resistance). Durant cette période, la consommation d'antibiotiques dans les pays en développement a enregistré une hausse moyenne de 76 %, avec des augmentations particulièrement marquées en Afrique du Nord, au Moyen-Orient et en Asie du Sud-Est, où elle a même dépassé les 100 %. Cette augmentation a conduit à une présence accrue d'antibiotiques dans l'environnement (**Van Boeckel et al., 2014 ; Browne et al., 2021**).

En effet, entre 50 et 80 % des antibiotiques ingérés sont excrétés par l'organisme, et les systèmes de traitement des eaux usées ne parviennent pas toujours à les éliminer complètement. Cela entraîne la présence de concentrations significatives d'antibiotiques et de leurs métabolites dans les eaux usées, où l'on retrouve également des bactéries fécales résistantes aux antibiotiques. Ces bactéries, ainsi que les gènes de résistance qu'elles portent, contribuent à l'enrichissement du résistome des communautés microbiennes aquatiques (**Wright, 2007**). Parallèlement, le mélange des bactéries commensales et environnementales et l'interaction entre les bactéries résistantes et sensibles aux antibiotiques favorise les échanges génétiques entre ces différentes populations. Ce phénomène facilite la dissémination des gènes de

résistance, contribuant ainsi à la propagation de l'antibiorésistance. Ces échanges permettent aux bactéries résistantes de transmettre leurs gènes de résistance à d'autres bactéries, pathogènes ou non. Des recherches ont été mené par **Balcazar (2014)** et **Berglund (2015)** montrent que les gènes de résistance peuvent être transférés d'un environnement à l'autre, par exemple, des bactéries environnementales aux bactéries pathogènes.

On peut expliquer donc la présence élevée de bactéries multi résistantes aux antibiotiques dans les eaux des stations analysées dans le golf d'Annaba par deux facteurs principaux : d'une part, la résistance naturelle des bactéries, qui résulte de la présence de gènes dans les génomes pouvant induire un phénotype de résistance (**Davies & Davies, 2010**), et d'autre part, la résistance acquise. Cette dernière serait due à un environnement propice à la survie des micro-organismes résistants et des gènes de résistance aux antibiotiques, tel que les eaux usées, où les échanges génétiques et les événements de recombinaison, se déterminent par les conditions biologiques et environnementales, favorisant l'évolution de l'antibiorésistance (**Baquero et al., 2008 ; WHO, 2019 ; Berglund et al., 2023**).

La gestion de ces gènes est particulièrement complexe, car ils sont persistants et peuvent se propager au sein des communautés microbiennes par transfert horizontal de gènes, qui est le mécanisme clé de résistance chez la plupart des bactéries Gram-négatives, notamment les entérobactéries (**Stecher et al., 2012**).

Durant la dernière décennie, les systèmes de surveillance des résistances dans les établissements de santé ont observé une hausse de l'antibiorésistance parmi les bactéries, surtout celles appartenant à la famille des Enterobacteriaceae (**Ebongue et al., 2015**). Ces entérobactéries développent différents mécanismes de résistance aux antibiotiques, parmi lesquels la production d'enzymes qui hydrolysent les antibiotiques constitue le principal mécanisme (**Kulkarni et al., 2015 ; Li & Nikaido, 2015**).

Les résultats de notre étude révèlent que les isolats présentent une forte résistance au β -lactamines, notamment chez les souches des différentes espèces d'entérobactéries, qui montrent une résistance très élevée à la céfazoline et à l'ampicilline. De plus, un nombre considérable de souches présente également une résistance à l'association amoxicilline + acide clavulanique, ainsi qu'à la céfoxitine et à la céfotaxime.

Elles pourraient également résulter de l'acquisition de niveaux élevés de résistance, souvent dus à l'utilisation courante et abusive de ces antibiotiques en médecine humaine et animale (**Milenkov, 2022**).

Cette prédominance de résistance des bactéries entériques de l'environnement aux β -lactamines a été largement documentée à l'échelle mondiale (**French, 2010**). Nombreuses études, telles que celles de **Machado et al. (2009)**, ont révélé la présence de souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à large spectre dans l'eau de la rivière Sousa et le long de la côte de Porto, au Portugal, à proximité des zones où les eaux usées sont déversées. De même, l'étude de **Tao et al. (2010)** a montré une résistance plus fréquente à l'ampicilline parmi les bactéries Gram-négatives des rivières Pearl en Chine du Sud. En Afrique, les travaux de **Toukam et al. (2010)** et de **Ebongue et al. (2015)** sur les eaux usées hospitalières au Cameroun ont révélé la présence de nombreuses bactéries, y compris des entérobactéries, présentant des profils de résistance multirésistants, particulièrement aux β -lactamines. Plus récemment, **Manouore Njoya (2023)** a rapporté une résistance particulièrement élevée (98,48%) des espèces d'entérobactéries isolées dans les cours d'eaux envers cette famille d'antibiotiques.

Les isolats non entérobactériens de la famille Pseudomonadaceae, Aeromonadaceae et Vibrionaceae présentent également des taux élevés de résistance aux différentes classes de β -lactamines. Les souches de *Pseudomonas* affichant des niveaux de résistance significativement plus élevés que celles des autres familles non entérobactériaceae. Notamment, chez l'espèce type *Pseudomonas aeruginosa* (S4) suivi par *P.putida* (S4) et *P.luteola* (S1) (Tableaux A11, A12 et A13, Annexe 7). Cette observation, suggère que les souches de la famille Pseudomonadaceae ont des mécanismes de résistance plus développés contre des classes d'antibiotiques spécifiques, notamment les pénicillines et les céphalosporines, ce qui est relativement courant dans cette famille, notamment en raison de la production de β -lactamases ou de la modification des cibles antibiotiques.

L'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène opportuniste couramment présente dans les réseaux d'eau, où sa résistance naturelle aux antibiotiques représente un défi majeur (**Hanock & Speert, 2000**). Grâce à sa membrane externe imperméable et à son système de pompes d'efflux, elle échappe facilement à l'action des traitements antimicrobiens (**Aeschlimann, 2003**). **Obritsch et al. (2004)** ont montré que la multirésistance chez *P. aeruginosa* est un problème environnemental omniprésent et croissant,

reconnu comme une menace pour la santé publique. En réponse à ces risques, l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS, 2006**) recommande de surveiller régulièrement la présence de *P. aeruginosa* dans les eaux utilisées à des fins publiques pour limiter les infections et protéger la santé.

Plusieurs études ont clairement démontré la résistance naturelle de *P. aeruginosa*, qui lui permet de résister à plusieurs β -lactamines grâce à la production d'une β -lactamase chromosomique de classe C, induisible (**Philippon et al., 2002 ; Baba Ahmed-Kazi Tani & Arlet, 2014**).

Anuradha et al. (2010) et **Ngoh et al. (2011)** ont signalé que les souches de *P. luteola* isolées en médecine humaine ont montré des résistances contre divers antibiotiques, notamment les céphalosporines, ainsi qu'à d'autres antimicrobiens appartenant de la famille des β -lactamines, des aminoglycosides et des tétracyclines.

Al-Bahry et al. (2009) ont rapporté une forte multirésistance aux antibiotiques chez les isolats prélevés à partir des rejets d'eaux usées côtières d'Oman, la résistance étant particulièrement marquée contre l'ampicilline, suivie de la carbénicilline. Leur étude a également montré que le genre *Aeromonas* présentait la fréquence de résistance la plus élevée parmi les bactéries étudiées.

Drieux-Rouzet & Jarlier (2014) ont montré que les eaux de rivières en Irlande abritaient davantage de souches *Aeromonas* productrices de β -lactamases à spectre élargi et résistantes aux antibiotiques. Un niveau élevé de résistance chez *Aeromonas* a été également démontré par **Yala et al. (2017)**. Cette résistance pourrait être attribuée à divers mécanismes, tels que la production d'enzymes, l'imperméabilité de la membrane externe et l'activité des pompes à efflux, comme l'ont suggéré **Li et al. (2015)**.

En ce qui concerne les vibrions, **Freney et al. (2000)** ont démontré que l'espèce *Vibrio alginolyticus* présente une forte résistance à l'ampicilline, à la carbénicilline et au triméthoprime, Nos résultats confirment cette tendance, avec une résistance significative observée à l'ampicilline et au triméthoprime pour la même espèce (*Vibrio alginolyticus*) (Tableau A13, Annexe 7).

Les profils antibiotypiques des isolats, confirment une forte présence de souches multi-résistantes dans les eaux des stations analysées du golf d'Annaba, avec le nombre le plus élevé

de profils de résistance observé chez les souches isolées dans l'eau de l'oued Bedjima suivi par celles de la plage Jouannoville.

Les différents profils de résistance bactérienne aux antibiotiques peuvent résulter de plusieurs facteurs environnementaux et humains, tels que la pression sélective exercée par les conditions locales (**Jackson *et al.*, 2016**). Dans notre étude, la plus grande diversité de résistances a été trouvée dans l'oued Bedjima (S4), ce qui pourrait être dû à une pression sélective particulièrement élevée dans cette station. Cela peut être lié à des variables physicochimiques de la qualité de l'eau de l'oued, telles que la profondeur, la concentration en nutriments, l'oxygène dissous, la salinité et la température. Ces éléments modifient l'activité biologique et chimique des écosystèmes aquatiques, créant des conditions favorables à la sélection et à la diffusion des résistances. Certaines études ont d'ailleurs montré qu'il existe une forte relation entre la résistance aux antimicrobiens et diverses variables physicochimiques de la qualité de l'eau (**Maal-Bared *et al.*, 2013**). Parallèlement, les rejets d'abattoir, en tant que sources de contamination anthropiques, représentent une source potentielle d'introduction de bactéries résistantes et de gènes de résistance dans l'environnement. Ces rejets, qui contiennent des résidus d'antibiotiques utilisés pour traiter les animaux ainsi que des bactéries résistantes présentes dans le tube digestif, se déversent directement dans des milieux aquatiques (**Da Costa *et al.*, 2008 ; Savin *et al.*, 2021**), tels que l'oued Bedjima. Cette situation exerce une pression sélective supplémentaire sur les populations bactériennes, contribuant ainsi à l'amplification de la diversité des profils de résistance.

Le nombre important de profils de résistance observés dans la plage Jouannoville pourrait être lié aux rejets de l'oued Bedjima, qui se déversent directement dans cette zone, un milieu récepteur. L'échantillon d'eau analysé (station 3) a été prélevé à seulement quelques mètres du point de rejet des effluents de l'oued dans la mer (Figure 12), ce qui permet aux effluents d'influencer directement la diversité, l'abondance et le comportement des micro-organismes présents dans l'environnement côtier vis-à-vis des produits antimicrobiens. Cela pourrait également créer une pression de sélection favorisant le développement de profils de résistance. En effet, les effluents de l'oued pourraient entraîner une concentration plus élevée de substances chimiques, d'agents pathogènes ou de contaminants antimicrobiens dans l'environnement.

Notre observation concernant la grande diversité des profils antibiologiques des Enterobacteriaceae est confirmée par de nombreuses études. Les genres de cette famille, tels que *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia*, retrouvés dans notre étude, sont bien connus pour leur capacité à acquérir des résistances multiples aux antibiotiques. Cette diversité peut être attribuée à des mécanismes génétiques variés, comme l'acquisition de plasmides porteurs de gènes de résistance ou des mutations dans des gènes cibles.

Il convient également de souligner qu'un nombre important de souches isolées des eaux des stations analysées présente des résistances élevées au nitrofurane, à l'amikacine et au chloramphénicol. Cela indique l'abondance de ces produits antibactériens dans les eaux usées évacuées dans ces stations. Des études antérieures ont également révélé des taux élevés de résistance à ces mêmes antibiotiques. Par exemple, **Phuong et al. (2005)** ont observé un pourcentage particulièrement élevé de résistances à la tétracycline, à l'ampicilline, au chloramphénicol, et au nitrofurantoïne parmi les isolats prélevés dans les eaux, les sédiments et les poissons de la rivière Province. **De plus DebMandal et al. (2011)** ont également constaté une résistance élevée aux bêta-lactamines et au chloramphénicol.

La résistance au nitrofurane, bien que moins étudiée que celle d'autres classes d'antibiotiques, suscite une préoccupation croissante, notamment en raison de l'émergence récente de souches d'Enterobacteriaceae résistantes à ce médicament (**Khamari et al., 2022**). Parmi les mécanismes de résistance identifiés, l'inactivation des nitrofurans par des enzymes spécifiques (**Osei Sekyere, 2018**) et l'altération de la perméabilité de la membrane bactérienne se révèlent particulièrement significatifs. En outre, des mutations dans les gènes *nfsA* et/ou *nfsB* chez *Escherichia coli*, pouvant être causées par des insertions ou des substitutions, ont été associées à une résistance au nitrofurane, en raison de la production d'une nitroréductase défectueuse (**Khamari et al., 2022**).

Bien que l'usage du chloramphénicol soit moins fréquent aujourd'hui, un niveau élevé de résistance à cet antibiotique a été observé. Il demeure néanmoins un traitement de deuxième intention pour certaines infections graves. En Europe, son utilisation est interdite chez les animaux destinés à la consommation en raison des effets toxiques graves qu'il peut provoquer chez les individus sensibles, tels que la dépression de la moelle osseuse, qui peut entraîner une anémie aplastique potentiellement mortelle et est également associée à des risques cancérigènes (**Woodward & Watson, 2004 ; Faure, 2009**). Par conséquent, sa présence dans les eaux, notamment marines, représente un risque pour la santé publique.

La résistance à l'amikacine, un aminoglycoside, est principalement due à la production d'enzymes modifiant et inactivant ces antibiotiques, un phénomène de plus en plus observé chez les Enterobacteriaceae résistantes (**Faure, 2009**). Toutefois, nos résultats diffèrent de ceux de **DebMandal et al. (2011)** et **Poonia et al. (2014)**, qui ont observé une résistance moindre à l'amikacine dans des isolats bactériens provenant de divers milieux aquatiques.

Les résultats du calcul de l'indice de résistance multiple aux antibiotiques révèlent que la plupart des souches isolées, qu'il s'agisse d'entérobactéries ou de non-entérobactéries, présentent des valeurs égales ou supérieures à 0.2. Cela indique que ces souches présentent une résistance à plusieurs classes d'antibiotiques, suggérant ainsi une source de contamination significative, d'origine humaine ou animale, où l'utilisation d'antibiotiques est courante. Parmi les antibiotiques les plus utilisés en médecine humaine et dans le domaine de l'élevage, les β -lactamines occupent une place prépondérante, suivies des quinolones, aminosides, sulfamides et tétracyclines (**Schmidt et al., 2000 ; Phuong et al., 2005**). Ces molécules, fréquemment présentes dans les milieux naturels, peuvent favoriser la sélection et la propagation de bactéries résistantes, y compris des souches multi-résistantes.

Les valeurs les plus élevées de l'indice RMA ont été observées, en particulier à la station 4, qui reçoit les effluents de l'abattoir, comme mentionné précédemment. Selon **Gyles (2008)** et **Collignon et al. (2013)**, l'utilisation des antibiotiques dans l'élevage de volaille est courante, notamment par voie alimentaire ou via l'eau, pour des traitements curatifs, préventifs, de métaphylaxie ou encore comme agents favorisant la croissance. Cette pratique constitue l'une des principales causes de l'émergence de nouvelles résistances aux antibiotiques, comme le soulignent **Lepelletier et al. (2015)**. Ces études confirment que les déversements provenant de l'abattoir contribuent de manière significative à la propagation de la résistance aux antibiotiques dans cette station (oued Bedjima). La recherche d'**Igbinosa et al. (2011)** a montré que les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées d'un effluent d'abattoir affichent des niveaux élevés de résistance aux antibiotiques. Les isolats analysés ont démontré une résistance significative à une gamme variée d'agents antimicrobiens d'importance clinique.

Les résultats montrent qu'il est crucial de mettre en place des stratégies pour limiter la diffusion de ces résistances. Cela peut inclure un meilleur traitement des eaux usées, une réglementation plus stricte de l'utilisation des antibiotiques dans l'agriculture, l'élevage et l'hôpital, et des campagnes de sensibilisation pour réduire la prescription excessive d'antibiotiques.

IV. Conclusion et perspectives

Au terme de ce travail, il est important de rappeler que l'objectif principal a été d'évaluer la pollution physico-chimique et bactériologique des eaux littorales et continentales de la baie d'Annaba sur une période d'un an. L'étude a également permis d'examiner la présence de bactéries Gram négatif, potentiellement pathogènes et résistantes aux antibiotiques, qui pourraient constituer un danger pour la santé publique.

Les plages de Sidi Salem et de Jouannville sont des réceptacles pour les rejets de deux oueds principaux, l'oued Seybouse et l'oued Bedjima, respectivement. Ces eaux subissent une pression anthropique considérable, entraînant de graves problèmes de pollution, notamment industrielle, agrochimique, atmosphérique, et surtout microbienne.

Les résultats obtenus montrent la présence de charges bactériennes d'origine fécale particulièrement élevées dans les eaux des sites étudiés. Cette contamination varie en fonction des sites et des périodes d'échantillonnage. L'oued Bedjima apparaît comme le site le plus contaminé, ce qui est probablement dû aux nombreux raccordements d'eaux usées et au manque de traitement préalable de ces eaux. De plus, la proximité des rejets provenant de l'abattoir contribue à aggraver la pollution.

Les bactéries potentiellement pathogènes isolées appartiennent à 20 genres et 45 espèces différentes, parmi lesquelles : *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Pseudomonas* et *Acinetobacter*.

La présence de bactéries potentiellement pathogènes et multirésistantes aux antibiotiques dans les eaux analysées est fortement corrélée à la densité de bactéries fécales de contamination, aux rejets provenant de l'abattoir, ainsi qu'aux fluctuations des facteurs physico-chimiques saisonniers, notamment la température. Cette présence pourrait être à l'origine de l'apparition et la propagation de maladies hydriques.

Un nombre important de souches isolées présente des résistances élevées aux bêta-lactamines, au nitrofurane, à l'amikacine et au chloramphénicol, ce qui indique l'abondance de ces antibiotiques dans les eaux usées évacuées dans ces zones.

D'après nos observations, il apparaît que les eaux du littoral d'Annaba pourraient jouer un rôle essentiel en tant que réservoirs facilitant les échanges génétiques, ce qui pourrait favoriser l'apparition de pathogènes résistants aux antibiotiques.

Perspectives

En raison de l'état alarmant de la contamination des eaux du golfe d'Annaba, il est crucial de mettre en place des mesures de prévention appropriées afin de limiter les effets des activités humaines, notamment les rejets d'eaux usées et la présence de pathogènes résistants aux antibiotiques. À cet égard, il serait pertinent d'envisager les actions suivantes :

- Moderniser et étendre les stations de traitement existantes pour garantir qu'elles traitent efficacement tous les types de contaminants, y compris les pathogènes résistants aux antibiotiques.
- Créer un système de surveillance continue de la qualité de l'eau pour détecter en temps réel la présence de contaminant et intervenir rapidement en cas de dépassement des seuils de sécurité.
- Organiser des campagnes de sensibilisation sur l'importance de la gestion des eaux usées, de l'assainissement et des comportements respectueux de l'environnement. Cela inclut également l'éducation sur l'usage excessif des antibiotiques et les risques associés à leur rejet dans les eaux usées.
- Mettre en place des régulations strictes concernant les rejets industriels dans les zones sensibles, accompagnées d'inspections régulières et de mesures punitives, en cas de non-respect des normes environnementales.
- Encourager des pratiques agricoles respectueuses de l'environnement, notamment en réduisant l'usage des pesticides, des engrais chimiques et des antibiotiques, dont l'utilisation excessive peut contaminer les eaux de ruissellement et nuire à la qualité des eaux côtières.
- Établir des collaborations avec des institutions de recherche et des organisations internationales afin de développer des solutions innovantes et de mener des études sur la résistance aux antibiotiques dans les milieux aquatiques, tout en partageant les meilleures pratiques pour la gestion des eaux côtières.
- Élargir les protocoles de surveillance microbiologique en intégrant des tests réguliers visant à détecter une variété de contaminants, incluant les germes pathogènes, les bactéries d'intérêt

sanitaire, les virus, ainsi que les levures et moisissures.

- Étudier les supports génétiques et caractériser les gènes de résistance des communautés bactérienne résistantes aux antibiotiques dans tout le littoral, afin de comprendre la diversité génétique des souches résistantes et d'identifier les éléments génétiques responsables de la propagation de la résistance.

Références Bibliographiques

A

- Aboukacem, A., Chahlaoui, A., Soulaymani, A., Rhazi-Filali, F., & Benali, D. (2007). Etude comparative de la qualité bactériologique des eaux des oueds Boufekrane et Ouislane à la traversée de la ville de Meknès (Maroc). *Rev. Microbiol. Ind. San. Environ*, 1(1), 10-22.
- Adam, F., & Drouillard, I. (2007). Sulfamides et associations. *Encycl Méd Chir, Maladies*.
- Adjagodo, A., Agassounon, D. T. M., Kelomè, N. C., Vissin, E. W., & Agbossou, E. (2017). Pollution physique et bactériologique de l'eau du fleuve dans la basse vallée de l'Ouémé pendant les périodes de basses et hautes eaux au Bénin. *European Scientific Journal*, 13(33), 167-186.
- Aeschlimann, J. R. (2003). The role of multidrug efflux pumps in the antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and other gram-negative bacteria: insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy: The Journal of human pharmacology and drug therapy*, 23(7), 916-924. <https://doi.org/10.1592/phco.23.7.916.32722>.
- AFSSA. (2008). Réutilisation des eaux usées traitées pour l'arrosage ou l'irrigation. Agence française de sécurité sanitaire des aliments, saisine n°2001-SA-0075.
- Agence de l'Eau Loire-Bretagne. (2013). Réduction des pollutions bactériologiques sur les bassins versants littoraux.
- Agence de la santé publique du Canada. (2011a). Adénovirus (types 1, 2, 3, 4, 5 et 7). In Agence de la santé publique du Canada. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/msds3f-fra.php> (Page consultée le 19 avril 2013).
- Agence de la santé publique du Canada. (2011c). *Cryptosporidium parvum*. In Agence de la santé publique du Canada. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/msds48f-fra.php> (Page consultée le 19 avril 2013).
- Agence de la santé publique du Canada. (2011d). Entérovirus 70. In Agence de la santé publique du Canada. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/enterovirus-70-fra.php> (Page consultée le 19 avril 2013).
- Agence de la santé publique du Canada. (2011e). Rotavirus humain. In Agence de la santé publique du Canada. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/rotavirus-fra.php> (Page consultée le 19 avril 2013).
- Agence de la santé publique du Canada. (2011f). *Salmonella enterica* spp. In Agence de la santé publique du Canada. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/salmonella-ent-fra.php> (Page consultée le 18 janvier 2013).
- Agence de la santé publique du Canada. (2011g). *Shigella* spp. In Agence de la santé publique du Canada. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes.

- <http://www.phacasc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/shigella-fra.php> (Page consultée le 18 janvier 2013).
- Agence de la santé publique du Canada. (2011h). *Virus de l'hépatite A*. In Agence de la santé publique du Canada. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/hepa-fra.php> (Page consultée le 19 avril 2013).
- Agence de la santé publique du Canada. (2011i). *Virus Norwalk*. In Agence de la santé publique du Canada. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. <http://www.phacasc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/msds112f-fra.php> (Page consultée le 19 avril 2013).
- Agence de la santé publique du Canada. (2012a). *Campylobacter coli*. In Agence de la santé publique du Canada. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/campylobacter-coli-fra.php> (Page consultée le 18 janvier 2013).
- Agence de la santé publique du Canada. (2012b). *Campylobacter jejuni*. In Agence de la santé publique du Canada. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/campylobacter-jejuni-fra.php> (Page consultée le 18 janvier 2013).
- Agence de la santé publique du Canada. (2012c). *Escherichia coli*. In Agence de la santé publique du Canada. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. <http://www.phacasc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/escherichia-coli-pa-fra.php> (Page consultée le 18 janvier 2013).
- Agence de la santé publique du Canada. (2012e). *Giardia lamblia*. In Agence de la santé publique du Canada. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. <http://www.phacasc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/giardia-lambliia-fra.php> (Page consultée le 19 avril 2013).
- Ahmad, M., Urban, C., Mariano, N., Bradford, P. A., Calcagni, E., Projan, S. J., ... & Rahal, J. J. (1999). Clinical characteristics and molecular epidemiology associated with imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Clinical infectious diseases*, 29(2), 352-355.
- Al-Bahry, S. N., Mahmoud, I. Y., Al-Belushi, K. I. A., Elshafie, A. E., Al-Harthy, A., & Bakheit, C. K. (2009). Coastal sewage discharge and its impact on fish with reference to antibiotic resistant enteric bacteria and enteric pathogens as bio-indicators of pollution. *Chemosphere*, 77(11), 1534-1539. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.09.052
- Alekshun, M. N., & Levy, S. B. (2007). Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 128(6), 1037-1050.
- Aminot, A., & Kérouel, R. (2004). *Hydrologie des écosystèmes marins: paramètres et analyses*. Editions Quae.
- Amir, S. (2005). *Contribution à la valorisation de boues de stations d'épuration par compostage: devenir des micropolluants métalliques et organiques et bilan humique du compost* (Doctoral dissertation).
- Anggraini, L., Marlida, Y., Wizna, W., Jamsari, J., Mirzah, M., Adzitey, F., & Huda, N. (2018). Molecular identification and phylogenetic analysis of GABA-

- producing lactic acid bacteria isolated from indigenous dadih of West Sumatera, Indonesia. *F1000Research*, 7, 1663.
- Anonyme. (1992). Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada. © Ministère des Approvisionnements et Services Canada.
- Anonyme. (1999). Le milieu marin et littoral méditerranéen : état et pressions. L'agence européenne pour l'environnement. AEE, Copenhague, Danemark.
- Anonyme. (2004). Qualité microbiologique de l'eau potable. Bactéries pathogènes d'origine hydrique : microorganismes préoccupants courants et émergents, Le comité fédéral- provincial- territorial sur l'eau potable.
- Anras, L., & Guesdon, S. (2007). Hydrologie des marais littoraux. In *Mesures physico-chimiques de terrain. Marais mode d'emploi. Forum des Marais Atlantiques*.
- Arnold, B. F., Wade, T. J., Benjamin-Chung, J., Schiff, K. C., Griffith, J. F., Dufour, A. P., ... & Colford Jr, J. M. (2016). Acute gastroenteritis and recreational water: highest burden among young US children. *American journal of public health*, 106(9), 1690-1697.
- Avril, J. L., Dabernat, H., Denis, F., & Monteil, H. (2000). *Bactériologie clinique* (Vol. 3). Ellipses, 6-417.
- Avril, J.L. (1991). Dictionnaire pratique de bactériologie. Ellipses, p 86.
- Ayada, M. (2003). Caractères physico-chimiques et impact des apports terrigènes et anthropiques sur la biomasse phytoplanctonique dans la baie d'Annaba (Magistral dissertation, Université de Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie).
- Azerbaïdjan, B. (2011). Plan d'action stratégique européen sur la résistance aux antibiotiques ' OMS Europe.
- Azucena, E., & Mobashery, S. (2001). Aminoglycoside-modifying enzymes: mechanisms of catalytic processes and inhibition. *Drug Resistance Updates*, 4(2), 106-117.

B

- Babic, M., Hujer, A. M., & Bonomo, R. A. (2006). What's new in antibiotic resistance? Focus on bêta-lactamases. *Drug resistance updates*, 9(3), 142-156.
- Bactériologie. (2003). Service de Bactériologie.DCEM1, 122 p.
- Bahroun, S. O. F. I. A., & Bousnoubra, H. K. (2011). Évaluation de l'indice de pollution organique dans les eaux naturelles cas de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782*, (9).
- Balcazar, J. L. (2014). Bacteriophages as vehicles for antibiotic resistance genes in the environment. *PLoS pathogens*, 10(7), e1004219.
- Baquero, F., Martínez, J. L., & Cantón, R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current opinion in biotechnology*, 19(3), 260-265.
- Basilico, L., Staub, P. F., & Perceval, O. (2014). *La contamination chimique des milieux aquatiques: outils et méthodes pour le diagnostic et l'action: synthèse du séminaire Surveiller, évaluer et réduire les contaminations chimiques des milieux*

- aquatiques des 17 et 18 juin 2013 [à Paris]. Onema.*
- Bathily Diarra, M. (2002). *Sensibilité aux antibiotiques des bactéries à gram négatif isolées d'infections urinaires à l'Hôpital National du Point G* (Doctoral dissertation, These Pharm, Bamako, 46).
- Batissou, I., Crouzet, O., Besse-Hoggan, P., Sancelme, M., Mangot, J. F., Mallet, C., & Bohatier, J. (2009). Isolation and characterization of mesotrione-degrading Bacillus sp. from soil. *Environmental Pollution*, 157(4), 1195-1201.
- Battraud, P. (2017). *La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité?* (Doctoral dissertation, Université de Lille).
- Baudry, C., & Brézellec, H. (2007). *Microbiologie-immunologie*, 2e édition, Groupe Liaisons.
- Bauer, A., Kirby, W., Sherris, W., & Turk, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standard single disk method. *Am. J. Clin. Pathol*, 45, 493-496.
- Baumont, S., Camard, J.P., Lefranc, A., & Franconi, A. (2003). *Réutilisation des eaux usées épurées: risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France*. ORS Ile-de-France.
- Ben Aakame, R. (2015). *Caractérisation hydro-chimique, toxicologique et évaluation des risques sanitaires des eaux souterraines de la région de Sidi-Kacem (Maroc)*. (Doctoral dissertation, Université de Mohammed V-Rabat).
- Benchohra, A.H., Hamel, L., & Benchohra, F.Z. (2009). La pollution organique de la qualité des eaux superficielle dans la ville de Sidi Bel-Abbès. In : *La gestion des ressources naturelles et le développement durable*, Sidi Bel-Abbès, 08-09 décembre.
- Bengherbia, A., Hamaidi, F., Zahraoui, R., Hamaidi, M. S., & Megateli, S. (2014). Impact des rejets des eaux usées sur la qualité physico-chimique et bactériologique de l'Oued Beni Aza (Blida, Algérie). *Lebanese science journal*, 15(2), 39-51.
- Benkaddour, B. (2018). *Contribution à l'étude de la contamination des eaux et des sédiments de l'Oued Chélif (Algérie)* (Doctoral dissertation, Université de Perpignan; Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem (Mostaganem, Algérie)).
- Benmessaoud, F. (2007). *Qualité physico-chimique, métallique et bactériologique des eaux de l'estuaire du Bou Regreg et impact sur la biologie et la démographie de Venerupis decussata (LINNE, 1758) et Cardium edule (LINNE, 1767)*. (Doctoral dissertation, Université de Rabat).
- Bent, E. J., & Goulder, R. (1981). Planktonic bacteria in the Humber Estuary; seasonal variation in population density and heterotrophic activity. *Marine Biology*, 62(1), 35-45.
- Bentaalla, S., & Bounous, A. (2016). *Application de biologie moléculaire dans le diagnostic moléculaire des infections causées par : bordetella pertussis, enterovirus et les herpesviridae par pcr en temps réel* (Masteral dissertation, Université de M'hamed Bougara de Boumerdès).
- Berglund, B. (2015). *Environmental dissemination of antibiotic resistance genes and*

- correlation to anthropogenic contamination with antibiotics. *Infection ecology & epidemiology*, 5(1), 28564.
- Berglund, F., Ebmeyer, S., Kristiansson, E., & Larsson, D. J. (2023). Evidence for wastewaters as environments where mobile antibiotic resistance genes emerge. *Communications Biology*, 6(1), 321.
- Berthe, T., Petit, F., Ratajczak, M., & Touron, A. (2005). Résistance bactérienne aux antibiotiques et aux métaux lourds et présence de bactéries d'origine fécale en estuaire de Seine. Résumé du rapport d'activité 2004. LMDF UPRESA 2123, Groupe Biodiversité et Environnement Université de Rouen, 76821 Mont Saint Aignan Cedex.
- Bertrand, X. (2013). Les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques dans les réseaux d'eaux usées: Évaluation du rôle de la filière «eaux usées» dans l'épidémiologie de *Escherichia coli* producteur de BLSE. Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail.
- Bevilacqua, S. (2011a). École Doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement). (Doctoral dissertation, Université de Henri Poincaré).
- Bevilacqua, S. (2011b). Evaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le coût des antibiotiques au CHU de Nancy : essai d'intervention contrôlé. (Doctoral dissertation, Université de Henri Poincaré-Nancy).
- Beytout, J., Delmont, J., Marchou, B. & Pichard, E. (2002). Manuel des maladies infectieuses pour l'Afrique. Edition John Libbey. Vol (589).
- Bianchi, M., Marthy, D., Bertrand, J.C., Caumette, P., & Gauthier, M. (1989). Les microorganismes du domaine océanique. Masson, France.
- Bliefert, C., & Perraud, R. (2001). *Chimie de l'environnement: air, eau, sols, déchets*. De Boeck. Université.
- Blinda, M. (2007). Pollution tellurique du littoral nord-ouest du Maroc entre Tanger et Tétouan: Caractérisation, Impact sur l'Environnement et Proposition de Solutions.
- Bochner, B. R. (2008). Global phenotypic characterization of bacteria. *FEMS microbiology reviews*, 33(1), 191-205.
- Boeglin, J. C. (2001). *Propriétés des eaux naturelles*. Ed. Techniques Ingénieur.
- Bordalo, A. A., Onrassami, R., & Dechsakulwatana, C. (2002). Survival of faecal indicator bacteria in tropical estuarine waters (Bangpakong River, Thailand). *Journal of Applied Microbiology*, 93(5), 864-871.
- Bordet, J. (2007). L'eau dans son environnement rural. *Assainissement des agglomérations*. Paris: Johanet.
- Bordjiba, O., Bekhouche, F., Hassaine, A., & Djenidi, R. (2009). Impact de la pollution par les hydrocarbures sur la qualité des eaux usées dans la région de Skikda (Nord-Est Algérie). *European Journal of Scientific Research*, 26(1), 87-97.
- Bouadila, S., Berrebbah, H. & Djebar, M.R. (2009). Utilisation des plantes aquatiques « *Phragmites australis* » pour la bio épuration des eaux usées. Cas de Oued

- Meboudja. In : El Goléa, Algérie.
- Boudoukhana, H. (2008). Impacts des margines sur les eaux de oued bouchtata (Wilaya de Skikda).
- Boudraa, W., Merzoug, S. E., Djamaa, F., Benghatti, S. (2011). Contribution à l'étude de la qualité bactériologique et physicochimique de l'eau des plages de la ville d'Annaba (Masteral dissertation, Université de 8 mai 1945, Guelma, Algérie).
- Boudraa, W., Khemis, M. D., Boumaaza, O., Bouzlama, Z., Merzoug, S. E., & Houhamdi, M. (2014). Bacteriological and physicochemical quality of the water of the beaches of Annaba. 1st National Seminar on Health and Bio-monitoring of Aquatic Ecosystems. University of Souk Ahras.
- Boufafa, M., Kadri, S., Redder, P., & Bensouilah, M. (2021). Occurrence and distribution of fecal indicators and pathogenic bacteria in seawater and *Perna perna* mussel in the Gulf of Annaba (Southern Mediterranean). *Environmental Science and Pollution Research*, 28(33), 46035-46052.
- Bougeard, M., Dupont, S., Gnouma, R., Le Saux, J. C., & Pommepeuy, M. (2008). Définition d'une méthodologie de suivi des contaminations fécales du bassin versant à la mer. *Agence de l'eau Loire-Bretagne. Guide kong*, 10.
- Boukef-Ben omrane, I. (2019). Microbiologie aquatique (fondamental). Unité d'Enseignement : BIOLOGIE II. Institut supérieur de pêche et d'aquaculture de Bizert. Université de Carthage-Tunisie.
- Boulahbal, F. (2002). Microbiologie S1 clinique. Office des publications universitaires. Alger.
- Boulahbal, F. (2009). Manuel de Microbiologie à l'usage des étudiants en 3 années de Médecines. Edition : 1.04.5042 Office des Publications Universitaires 10- 2009.
- Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical microbiology reviews*, 14(4), 933-951.
- Brahmia Rima Medareg Narou, S. T. I. (2016). La résistance des bactéries aux Antibiotiques dans l'hôpital de OuedZenati. (Masteral dissertation, Université de 8 Mai 1945 Guelma).
- Browne, A. J., Chipeta, M. G., Haines-Woodhouse, G., Kumaran, E. P., Hamadani, B. H. K., Zarea, S., ... & Dolecek, C. (2021). Global antibiotic consumption and usage in humans, 2000–18: a spatial modelling study. *The Lancet Planetary Health*, 5(12), e893-e904, doi:10.1016/S2542-5196(21)00280-1.
- Brücker, G. (1998). Infections nosocomiales et environnement hospitalier. *Paris: Médecine-Sciences Flammarion*.
- Buffle, J., & Chalmers, R. A. (1988). Complexation reactions in aquatic systems. An analytical approach.
- Burgess, R. M., & Scott, K. J. (1992). The Significance of In-Place Contaminated Marine Sediments on the Water Column: Processes and effects. In *Sediment toxicity assessment* (pp. 129-165). CRC Press.
- Burton Jr, G. A., Gunnison, D., & Lanza, G. R. (1987). Survival of pathogenic bacteria in various freshwater sediments. *Applied and Environmental Microbiology*,

53(4), 633-638.

Byappanahalli, M. N., Nevers, M. B., Korajkic, A., Staley, Z. R., & Harwood, V. J. (2012). Enterococci in the environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(4), 685-706.

C

Carle, S. (2009). La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*, 42(2), 6-21.

Carré, E. (2017). *Qualité biologique des eaux usées traitées en vue de la réutilisation* (Doctoral dissertation, Université de Lyon).

Carrillo, M., Estrada, E., & Hazen, T. C. (1985). Survival and enumeration of the fecal indicators *Bifidobacterium adolescentis* and *Escherichia coli* in a tropical rain forest watershed. *Applied and environmental microbiology*, 50(2), 468-476.

CASFM. (2014). Committee on AntibioGram of the French Society of Microbiology Recommendation. Ed. May.

Cattoir, V. (2004). Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie biologique*, 52(10), 607-616.

Cavallo, J. D., Plesiat, P., Couetdic, G., Leblanc, F., & Fabre, R. (2002). Mechanisms of β -lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: prevalence of OprM-overproducing strains in a French multicentre study (1997). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50(6), 1039-1043.

Chapman, D. V. (1996). *Water quality assessments: a guide to the use of biota, sediments and water in environmental monitoring*. 2nd Edn, F and FN Spon, London.

Cherif, H., SILINI, A., & Ghoul, M. (2001). LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES SALMONELLA DANS LES EAUX DE RIVIERES DE SETIF. *Sciences & Technology. A, exactes sciences*, 55-62.

Cheung, W. H. S., Chang, K. C. K., Hung, R. P. S., & Kleevens, J. W. L. (1990). Health effects of beach water pollution in Hong Kong. *Epidemiology & Infection*, 105(1), 139-162.

Chevalier, J., Mulfinger, C., Garnotel, E., Nicolas, P., Davin-Régli, A., & Pagès, J. M. (2008). Identification and evolution of drug efflux pump in clinical Enterobacter aerogenes strains isolated in 1995 and 2003. *PLoS One*, 3(9), e3203.

Chitanand, M. P., Kadam, T. A., Gyananath, G., Totewad, N. D., & Balhal, D. K. (2008). Multiple antibiotic resistance indexing of coliforms to identify high risk contamination sites in aquatic environment. *Indian Journal of Microbiology*, 50(2), 216-220.

Chouh, F., Chater, A., & Siad, R. (2019). Profil de résistance aux antibiotiques des bacilles Gram négatif isolés à partir des urines au laboratoire de microbiologie au CHU Nedir Mohammed de Tizi-Ouzou durant l'année 2018.

Chouteau, C. (2004). Développement d'un biocapteur conductimétrique bi-enzymatique à cellules algales. *Theses. fr* (Doctoral dissertation, Lyon, INSA).

- CNRS. (2004). Conseil National de la Recherche Scientifique. Les maladies liées à l'eau. Dans : Sagascience. [en ligne]. Page consultée le 25 septembre 2005. <http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doseau/decouv/potable/maladEau.html>.
- Cohen, Y. (1997). Abrégés Pharmacologie. Masson : Paris Milan Barcelone, 4ème édition, 363-402.
- Collignon, P., Aarestrup, F. M., Irwin, R., & McEwen, S. (2013). Human deaths and third-generation cephalosporin use in poultry, Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 19 (8), 1339– 1340.
- Copyright Medical. (2012). Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques, Fiche N° 824 - Mécanisme-R-ATB.
- Cordova-Kreylos, A. L., & Scow, K. M. (2007). Effects of ciprofloxacin on salt marsh sediment microbial communities. *The ISME journal*, 1(7), 585-595.
- Courvalin, P. (2008). La résistance des bactéries aux antibiotiques: Combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, 161(1), 7-12.
- Coyne, S., Courvalin, P., & Périchon, B. (2011). Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(3), 947-953.
- Craun, G. F., Berger, P. S., & Calderon, R. L. (1997). Coliform bacteria and waterborne disease outbreaks. *Journal-American Water Works Association*, 89(3), 96-104.

D

- Da Costa, P. M., Vaz-Pires, P., & Bernardo, F. (2008). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated in wastewater and sludge from poultry slaughterhouse wastewater plants. *Journal of Environmental Health*, 70(7), 40-45.
- Dahmen, S., Haenni, M., Châtre, P., & Madec, J. Y. (2013). Characterization of bla_{CTX-M} IncFII plasmids and clones of *Escherichia coli* from pets in France. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(12), 2797-2801.
- Dakii, M. (2003). Rapport : diagnostic pour l'aménagement des zones humides du nord-est du Maroc : 2.Sebkha Bou Âreg(lagune de Nador). *Institut Scientifique, Rabat*.
- Davies, C. M., Long, J. A., Donald, M., & Ashbolt, N. J. (1995). Survival of fecal microorganisms in marine and freshwater sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(5), 1888-1896.
- Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, 74(3), 417-433.
- Davies, J., Spiegelman, G. B., & Yim, G. (2006). The world of subinhibitory antibiotic concentrations. *Current opinion in microbiology*, 9(5), 445-453.
- De Anuradha, S., Salunke, P. P., Parikh, H. R., & Baveja, S. M. (2010). *Chryseomonas luteola* from bile culture in an adult male with severe jaundice. *Journal of Laboratory Physicians*, 2(01), 040-041.
- Debabza, M. (2015). Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire. (Doctoral dissertation, Université de Badji Mokhtar-Annaba).

- DebMandal, M., Mandal, S., & Pal, N. K. (2011). Antibiotic resistance prevalence and pattern in environmental bacterial isolates. *The Open Antimicrobial Agents Journal*, 3(1), 45-52.
- Decoster, A., & Lahieu, J. C. (2006). Cours de Bactériologie: Les entérobactéries. *Disponible sur: <http://anne.decoster.free.fr/bgn/enterob.html>*.
- Degrement. (2005). *Mémento technique de l'eau*. 2ème édition. Edition Technique et Documentation, 144-173.
- Dellarras, C. (2000). Microbiologie de l'environnement avec législation : travaux pratiques. Gaëtan Moriu éditeur, France, 117-136.
- Dellarras, C. (2003) : *Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux*. Édition Lavoisier.
- Denis, F., Dabernath, M. H., & Avril, J. L. (1998). *Bactériologie clinique Edition marketing, Paris*, 144-145.
- Derolez, V. (2003). Méthode de caractérisation de la fragilité microbiologique des zones conchylicoles. *Rapport ENSP*.
- Diaz, R. J. (2001). Overview of hypoxia around the world. *Journal of environmental quality*, 30(2), 275-281.
- Díaz-Solano, B. H., Esteller, M. V., & Garrido Hoyos, S. E. (2011). Physicist-chemistry and Microbiological Water Quality in Aquatic Parks. *Hidrobiologica*, 21(1), 49-62.
- Diop, R. (2001). Standardisation et optimisation d'une microméthode d'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires. (Doctoral dissertation, Thèse Pharm., Dakar).
- Djabri, L. (1996). *Mécanismes de la pollution et vulnérabilité des eaux de la sybouse origines géologiques industrielles agricoles et urbaines* (Doctoral dissertation, Annaba).
- Djedaoune, A. (2015). Comportement des polluants des eaux pluviales urbaines en réseaux d'assainissement (caractéristiques et origines): cas de la plaine d'Annaba. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 30, 40-47.
- Doublet, B. (2004). *Caractérisation des éléments génétiques mobiles du gène de résistance au florfenicol floR chez Salmonella enterica et Escherichia coli* (Doctoral dissertation, Tours).
- Drechsel, P., Scott, C. A., Raschid-Sally, L., Redwood, M., & Bahri, A. (2011). L'irrigation avec des eaux usées et la santé. *Presses de l'Université du Québec*.
- Drieux, L., Brossier, F., Duquesnoy, O., Aubry, A., Robert, J., Sougakoff, W., ... & Jarlier, V. (2009). Increase in hospital-acquired bloodstream infections caused by extended spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in a large French teaching hospital. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 28, 491-498.
- Drieux-Rouzet, L., & Jarlier, V. (2014). Bactéries multirésistantes dans l'eau: modèles des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2014(460), 75-79.

- Dupray, E. (1999). Rejets agricoles et bactériologie (baie de la Fresnaye). *Rapport final. IFREMER, Bretagne Eau Pure.*
- Duvigneaud, P. (1974). La synthèse écologique. Populations, écosystèmes, biosphère, noosphère. Doin, Paris.
- Dyar, O. J., Hoa, N. Q., Trung, N. V., Phuc, H. D., Larsson, M., Chuc, N. T., & Lundborg, C. S. (2012). High prevalence of antibiotic resistance in commensal *Escherichia coli* among children in rural Vietnam. *BMC infectious diseases*, 12, 1-8.

E

- Ebongue, C. O., Tsiazok, M. D., Mefo'o, J. P. N., Ngaba, G. P., Beyiha, G., & Adiogo, D. (2015). Évolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. *The Pan African Médicale journal*, 20.
- El Addouli, J., Chahlaoui, A., Berrahou, A., Chafi, A., Ennabili, A., & Karrouch, L. (2009). Influence de rejets d'eaux usées sur les qualités physicochimique et bactériologique d'eaux utilisées en irrigation. *Environnement, Ingénierie & Développement.*
- El Bouamri, M. C. (2017). Étude épidémiologique des entérobactéries productrices de P-lactamases à spectre élargi au CHU de Marrakech. (Doctoral dissertation, Université de Mohammed V-Rabat).
- El Morhit, M. (2009). Hydrochimie, éléments traces métalliques et incidences Ecotoxicologiques sur les différentes composantes d'un écosystème estuarien (Bas Loukkos).
- Elberse, K.E., Nunes, S., Sá-Leão, R., Van der Heide, H.G. & Schouls, L.M. (2011). Multiple-locus variable number tandem repeat analysis for *Streptococcus pneumoniae*: comparison with PFGE and MLST. *PloS one*. 6(5).
- Epote Ewane, J. C. (2014). Analyse pharmaceutique de la prescription des antibiotiques à la pharmacie hospitalière du CHU point G.

F

- Fajardo, A., & Martínez, J. L. (2008). Antibiotics as signals that trigger specific bacterial responses. *Current opinion in microbiology*, 11(2), 161-167.
- FAO. (2011). A Food chain crisis management framework. In Preventing E. coli in food. Rome. www.fao.org/fileadmin/user_upload/fcc/news/1_fao_preventing-e.coliinfood_fcc_2011.06.23.
- Faruki, H. A. W. A. Z. I. N., & Sparling, P. F. (1986). Genetics of resistance in a non-beta-lactamase-producing gonococcus with relatively high-level penicillin resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 30(6), 856-860.
- Fauchère, J. L. (1997). *Bactériofiches: Techniques en bactériologie clinique*. Ellipses-Marketing.
- Faure, S. (2009). *Transfert d'un gène de résistance aux beta-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine: influence d'un traitement antibiotique* (Doctoral dissertation, Université Rennes 1).

- Faurie, C., Ferra, C., Médori, P., Dévaux, J., & Hemptinne, J.L. (2002). *Ecologie approche scientifique et pratique*. 5ème ed. Éditions TEC & DOC .Paris.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *evolution*, 39(4), 783-791.
- Ferron, A. (1979). *Bactériologie médicale: à l'usage des étudiants en médecine*. Editions Crouan & Roques. Sablons France. ratique. 5ème éd.Éditions TEC & DOC .Paris.
- Fewtrell, L., & Bartram, J. (Eds.). (2001). *Water quality: guidelines, standards & health*. IWA publishing. London, UK.
- Figueiredo, S. (2011). *Acinetobacter spp. et réservoir de gènes de carbapénèmases* (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).
- Fournier, V. (2003). *La résistance aux antibiotiques*. Université de Laval.
- French, G. L. (2010). The continuing crisis in antibiotic resistance. *International journal of antimicrobial agents*, 36, S3-S7.
- Freney, J., Renaud, B., Hansen, W., & Bollet, C. (2000). *Précis bactériologie clinique*. Edit. ESKA, p1692.

G

- Galvin, S., Boyle, F., Hickey, P., Vellinga, A., Morris, D., & Cormican, M. (2010). Enumeration and characterization of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* bacteria in effluent from municipal, hospital, and secondary treatment facility sources. *Applied and environmental microbiology*, 76(14), 4772-4779.
- Garcia-Armisen, T. (2006). *Etude de la dynamique des Escherichia coli dans les rivières du bassin de la Seine* (Doctoral dissertation, Université Libre de Bruxelles).
- Garnier, J., Servais, P., & Billen, G. (1992). Bacterioplankton in the Seine River (France): impact of the Parisian urban effluent. *Canadian Journal of Microbiology*, 38(1), 56-64.
- Geldreich, E.E., & Kenner, B.A. (1987). Bacterial population and indicator concepts in feces swage, storm water and solid wastes, In: *Indicators of virus in water and food*. Ed. Berg, 51-97.
- George, I., & Servais, P. (2002). *Sources et dynamique des coliformes dans le bassin de la Seine: Rapport de synthèse*. Université Libre de Bruxelles, Belgique.
- Ghizellaoui, S. (1994). *Evaluation de la qualité des ressources en eau alimentant la ville de Constantine, prévision de la demande en eau à l'horizon de l'an 2010* (Magistral dissertation).
- Goldstein, F. (2006). Sulfamides et triméthoprime In : *Antibiogramme courvalain*. P, LECLERCQ.R, BINGEN.E 2ème édition, 341-348.
- Gould, D. J., & Fletcher, M. R. (1978). Gull droppings and their effects on water quality. *Water Research*, 12(9), 665-672.
- Guallini, P. (2008). *La Méditerranée menacée par la pollution*. Article de la Provence presse.

- Guardabassi, L., & Courvalin, P. (2005). Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*, 1-18.
- Guasmi, I., Djabri, L., Hani, A., & Lamouroux, C. (2006). Pollution des Eaux de l'Oued Medjerda par les Nutriments. *LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782*, (5).
- Guemmaz, F., Neffar, S., & Chenchouni, H. (2019). Physicochemical and bacteriological quality of surface water resources receiving common wastewater effluents in drylands of Algeria. *Water Resources in Algeria-Part II: Water Quality, Treatment, Protection and Development*, 117-148.
- Guenther, S., Ewers, C., & Wieler, L. H. (2011). Extended-spectrum beta-lactamases producing *E. coli* in wildlife, yet another form of environmental pollution?. *Frontiers in microbiology*, 2, 246.
- Guide d'Alger. (2003). Guide pratique d'Alger et de la région centre. 2ème édition. Collectif on "PRI NTEMPS". Nounou Edition & Communication.
- Guiraud, J. P. (1998). Microbiologie Alimentaire. Dunod. Paris. France.
- Gyles, C. L. (2008). Antimicrobial resistance in selected bacteria from poultry. *Animal health research reviews*, 9(2), 149-158.

H

- Hacioglu, N., & Dulger, B. (2009). Monthly variation of some physico-chemical and microbiological parameters in Biga Stream (Biga, Canakkale, Turkey). *African Journal of Biotechnology*, 8(9).
- Haldorsen, B. C., Simonsen, G. S., Sundsfjord, A., & Samuelsen, O. (2014). Norwegian Study Group on Aminoglycoside Resistance. Increased prevalence of aminoglycoside resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *Norway is associated with the acquisition of AAC (3)-II and AAC (6')-Ib*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 78(1), 66-9.
- Hancock, R. E., & Speert, D. P. (2000). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and impact on treatment. *Drug resistance updates*, 3(4), 247-255.
- Harder, K. J., Nikaido, H., & Matsushashi, M. (1981). Mutants of *Escherichia coli* that are resistant to certain beta-lactam compounds lack the ompF porin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 20(4), 549-552.
- Harris S., Morris C., Morris D., Cormican M. & Cummins E. (2014). Antimicrobial resistant *Escherichia coli* in the municipal wastewater system: Effect of hospital effluent and environmental fate. *Science of the Total Environment*, 469(0): 1078-1085.
- Harwood, V. J., Levine, A. D., Scott, T. M., Chivukula, V., Lukasik, J., Farrah, S. R., & Rose, J. B. (2005). Validity of the indicator organism paradigm for pathogen reduction in reclaimed water and public health protection. *Applied and environmental microbiology*, 71(6), 3163-3170.
- Haslay, C., & Leclerc, H. (1993). Microbiologie des eaux d'alimentation. Technique & Documentation, Lavoisier.

- Hassoune, E., El Kettani, S., Koulali, Y., & Bouzidi, A. (2010). Contamination bactériologique des eaux souterraines par les eaux usées de la ville de Settat, Maroc. *Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire Et Environnementale*, 4(1), 1-21.
- Hayzoun, H. (2014). *Caractérisation et quantification de la charge polluante anthropique et industrielle dans le bassin du Sebou* (Doctoral dissertation, Université de Toulon; Université Sidi Mohamed ben Abdellah (Fès, Maroc). Faculté des Sciences et Techniques).
- Hazourli, S., Boudiba, L., & Ziati, M. (2007). Caractérisation de la pollution des eaux résiduaires de la zone industrielle d'El-Hadjar, Annaba. *LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782*, (6).
- Hebbar, C. (2005). *Surveillance de la qualité bactériologique des eaux de baignade-Cas des plages d'Ain-Franin et de Kristel* (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).
- Hernando-Amado, S., Blanco, P., Alcalde-Rico, M., Corona, F., Reales-Calderón, J. A., Sánchez, M. B., & Martínez, J. L. (2016). Multidrug efflux pumps as main players in intrinsic and acquired resistance to antimicrobials. *Drug Resistance Updates*, 28, 13-27.
- Hocquet, D., Muller, A., & Bertrand, X. (2016). What happens in hospitals does not stay in hospitals: antibiotic-resistant bacteria in hospital wastewater systems. *Journal of Hospital Infection*, 93(4), 395-402, doi:10.1016/j.jhin.2016.01.010
- Holmes, A. H., Moore, L. S., Sundsfjord, A., Steinbakk, M., Regmi, S., Karkey, A., ... & Piddock, L. J. (2016). Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *The Lancet*, 387(10014), 176-187.
- Hong, H., Qiu, J., & Liang, Y. (2010). Environmental factors influencing the distribution of total and fecal coliform bacteria in six water storage reservoirs in the Pearl River Delta Region, China. *Journal of Environmental Sciences*, 22(5), 663-668.
- Hooda, P.S., Adwards, A.C., Anderson, H.A., & Miller, A. A. (2000). A review of water quality concerns in livestock farming aeras. *Sci. Tot. Environ.*, 250, 143-167.
- Hooper, D. C. (2001). Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerging infectious diseases*, 7(2), 337.
- Hou, J., Long, X., Wang, X., Li, L., Mao, D., Luo, Y., & Ren, H. (2023). Global trend of antimicrobial resistance in common bacterial pathogens in response to antibiotic consumption. *Journal of Hazardous Materials*, 442, 130042.
- Hull, V., Parrella, L., & Falcucci, M. (2008). Modelling dissolved oxygen dynamics in coastal lagoons. *Ecological Modelling*, 211(3-4), 468-480.
- Hunter, C., Perkins, J., Tranter, J., & Gunn, J. (1999). Agricultural land-use effects on the indicator bacterial quality of an upland stream in the Derbyshire Peak District in the UK. *Water Research*, 33(17), 3577-3586.
- Huovinen, P., Sundström, L., Swedberg, G., & Sköld, O. J. A. A. (1995). Trimethoprim and sulfonamide resistance. *Antimicrobial agents and*

chemotherapy, 39(2), 279-289.

Huss, H. H. (1995). Assurance de la qualité des produits de la mer. FAO Document technique sur les pêches. No. 334, Rome.

I

Igbinosa, E. O., Odjadjare, E. E., Igbinosa, I. H., Orhue, P. O., Omoigberale, M. N., & Amhanre, N. I. (2011). Antibiotic Synergy Interaction against Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from an Abattoir Effluent Environment. *The Scientific World Journal*, 2012(1), 308034. *The Scientific World Journal*, 2012(1), 308034. doi:10.1100/2012/308034.

Ihaka, R., & Gentleman, R. (1996). R: a language for data analysis and graphics. *Journal of computational and graphical statistics*, 5(3), 299-314.

Institut national de santé publique du Québec (INSPQ). (2010). Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine. In INSPQ. Publications. http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/198-CartableEau/198_FichesSynthesesEauPotable.pdf (Page consultée le 7 février 2013).

Islam, M. M., Hofstra, N., & Islam, M. A. (2017). The impact of environmental variables on faecal indicator bacteria in the Betna river basin, Bangladesh. *Environmental Processes*, 4, 319-332.

Islam, M. S., & Tanaka, M. (2004). Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. *Marine pollution bulletin*, 48(7-8), 624-649.

ISO. (1999). Qualité de l'eau - recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux de surface et résiduaires - Partie 1 : méthode miniaturisée (nombre le plus probable) par ensemencement en milieu liquide. ISO 7899:1, Genève (SUI): International Standards Organization.

Iwamoto, M., Ayers, T., Mahon, B. E., & Swerdlow, D. L. (2010). Epidemiology of seafood-associated infections in the United States. *Clinical microbiology reviews*, 23(2), 399-411.

J

Jackson, M. C., Loewen, C. J., Vinebrooke, R. D., & Chimimba, C. T. (2016). Net effects of multiple stressors in freshwater ecosystems: a meta-analysis. *Global change biology*, 22(1), 180-189. <https://doi.org/10.1111/gcb.13028>.

Jacquier, H. (2011). Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. In *Conférence internat. Paris Luxembourg*.

Jalliffier-Verne, I. (2015). *Débordements d'égouts unitaires et protection des sources d'eau potable: intégration des changements globaux* (Doctoral dissertation, École Polytechnique de Montréal).

Jana, S., & Deb, J. K. (2006). Molecular understanding of aminoglycoside action and resistance. *Applied microbiology and biotechnology*, 70(2), 140-150.

Jehl, F., Monique, C., Michele, W., & Gerard, A. (2003). De l'antibiogramme à la prescription. Edition Biomerieux. Paris, France.

Jones, R. N. (2001). Resistance patterns among nosocomial pathogens: trends over the past few years. *Chest*, 119(2), 397S-404S.

- JORA. (1992) : Journal Officielle de la République Algérienne, Décret exécutif n° 92-434 du 30 novembre 1992 gestion et distribution de l'eau potable.
- JORA. (1993). Journal officiel de la république algérienne, 46.
- JORA. (2003). Journal officiel de la république algérienne. Loi n° 03-10 du 19 juillet 2003 relative à la protection de l'environnement dans le cadre du développement durable.
- JORA. (2011). Journal Officiel de la République Algérienne N° 18. Décret exécutif n° 11- 125 du 23 mars 2011.
- JORA. (2014). Journal Officiel de la République Algérienne. N°13. Décret exécutif n°14-96 du 04 mars 2014, modifiant et complétant le décret exécutif N° 11-125 du 22 mars 2011, fixant les objectifs de qualité des eaux superficielles et souterraines destinées à l'alimentation en eau des populations.
- Justé, A., Thomma, B. P. H. J., & Lievens, B. (2008). Recent advances in molecular techniques to study microbial communities in food-associated matrices and processes. *Food microbiology*, 25(6), 745-761.

K

- Kadi, A. (1997). La gestion de l'eau en Algérie. *Hydrological sciences journal*, 42(2), 191-197.
- Kadri, S. (2015b). Qualité bactériologique des eaux du littoral Nord Est Algerian (Doctoral dissertation, Université de Badji Mokhtar, Annaba, Algérie).
- Kadri, S., Dahel, A., Djebbari, N., Barour, C., & Bensouilah, M. (2015a). Environmental parameters influence on the bacteriological water quality of the Algerian North East coast. *Adv Environ Biol* 9, 180– 189.
- Karelle, P. M. N. (1999). *Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des germes les plus fréquemment isolés au laboratoire de bactériologie du CNHU de Cotonou (à propos de 896 souches bactériennes isolées du 1er mars au 30 juin 1999)* (Doctoral dissertation, Thèse de Méd. 1999).
- Kerambrun, É. (2011, November). Évaluation des effets biologiques des contaminants chimiques sur les juvéniles de poissons marins: approche multibiomarqueur en conditions expérimentales et in situ. Université du Littoral Côte d'Opale.
- Kerdoussi, A. (2010). *La moule perna perna peuplant le gofle d'annaba-croissance, reproduction et qualité bactériologique: synécologie fonctionnelle des communautés et parasitisme en milieu aquatique* (Doctoral dissertation, Université de Annaba-Badji Mokhtar).
- Khamari, B., Adak, S., Chanakya, P. P., Lama, M., Peketi, A. S. K., Gurung, S. A., ... & Bulagonda, E. P. (2022). Prediction of nitrofurantoin resistance among Enterobacteriaceae and mutational landscape of in vitro selected resistant Escherichia coli. *Research in Microbiology*, 173(1-2), 103889.
- Khamari, B., Adak, S., Chanakya, P. P., Lama, M., Peketi, A. S. K., Gurung, S. A., ... & Bulagonda, E. P. (2022). Prediction of nitrofurantoin resistance among Enterobacteriaceae and mutational landscape of in vitro selected resistant Escherichia coli. *Research in Microbiology*, 173(1-2), 103889.
- Khammar, H. (2007). *Caractères chimiques des effluents urbains introduits au littoral*

d'annaba (Doctoral dissertation, Université de Annaba-Badji Mokhtar).

- Khammar, H., Ounissi, M., Saker, I., Ziouch, O.M., & Haridi, A. (2009). *Caractères chimiques des effluents urbains introduits au littoral d'Annaba (Nord Est Algérie)*. Actes du séminaire national sur l'eau et l'environnement. Université Hassiba Benbouali, Chlef (Algérie).
- Khiati, M. (1998). Guide des maladies infectieuses et parasitaires. *Opu, Alger*.
- Kischel, M. (2018). Les contaminations bactériologiques des eaux littorales du Morbihan. Rapport d'étude.
- Kneese, A. V., & Levy-Lambert, H. (1967). *Économie et gestion de la qualité des eaux*. Dunod, Paris.
- Koller, E. (2004). *Traitement des pollutions industrielles: eau, air, déchets, sols, boues*. Paris, France: Dunod.
- Konaré, S. (2016). Sensibilité aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries isolées en 2016 au Laboratoire de Biologie Médicale et Hygiène Hospitalière du CHU du Point G. *Bamako.: Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako*.
- Krishnan, R. R., Dharmaraj, K., & Kumari, B. R. (2007). A comparative study on the physicochemical and bacterial analysis of drinking, borewell and sewage water in the three different places of Sivakasi. *Journal of Environmental biology*, 28(1), 105-108.
- Krumperman, P. H. (1983). Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and environmental microbiology*, 46(1), 165-170.
- Kulkarni, H. M., Nagaraj, R., & Jagannadham, M. V. (2015). Protective role of E. coli outer membrane vesicles against antibiotics. *Microbiological research*, 181, 1-7.
- Kumar, A., & Schweizer, H. P. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Advanced drug delivery reviews*, 57(10), 1486-1513.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), 1870-1874.
- Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment—a review—part I. *Chemosphere*, 75(4), 417-434.
- Kwon, J. H., & Powderly, W. G. (2021). The post-antibiotic era is here. *Science*, 373(6554), 471-471.

L

- Lacaze, J. C. (1993). *La dégradation de l'environnement côtier: conséquences écologiques*. Masson. Paris.
- Lagha, N. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. *Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, Département de Biologie, Thèse*, 79.

- Lambert, T. (1997). Etat actuel de la sensibilité des bactéries aux aminosides. *Réanimation Urgences*, 6(4), 9s-16s.
- Lamoril, J., Bogard, M., Ameziane, N., Deybach, J. C., & Bouizegarène, P. (2007). Molecular biology in clinical microbiology in 2007-Part 1. *Immuno-Anal Biol Spec*, 22(1), 5-18.
- Lamrani, H., Chahlaoui, A. B. D. E. L. K. A. D. E. R., El Addouli, J., & Ennabili, A. (2013). Study of physico-chemical and bacteriological quality water of the oued Boufekrane, area of Meknes. *LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782*, (15).
- Larpent, J. (1997). Microbiologie des eaux d'alimentaire: Technique de labo. *Edition Tec et Doc. P*, 294-300.
- Larsson, D. G., & Flach, C. F. (2022). Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*, 20(5), 257-269.
- Lavigne, J. P. (2007). Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance. *Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes*.
- Lechat, P. (2015). Pharmacologie. Paris. Université Pierre et Marie Curie [Mise à jour : 18 octobre 2006 ; consulté : 12 octobre 2015].
- Leclerc, H., & Festy, B. (1982). Connaissances actuelles de la pathologie hydrique. *Revue d'épidémiologie et de santé publique Paris*, 30(3), 363-385.
- Leclerc, H., Gaillard, J. L., & Simonet, M. (1995). *Microbiologie générale: la bactérie et le monde bactérien*. Doin. Paris.
- Lepelletier, D., Batard, E., Berthelot, P., Zahar, J. R., Lucet, J. C., Fournier, S., ... & Grandbastien, B. (2015). Carbapenemase-producing enterobacteria: epidemiology, strategies to control their spread and issues. *La Revue de Médecine Interne*, 36(7), 474-479.
- Levine, M. (1918). Differentiation of *B. coli* and *B. aerogenes* on a simplified eosin-methylene blue agar. *The Journal of Infectious Diseases*, 43-47.
- Leyral, G., Ronnefoy, C., & Guillet, F. (2002). Microbiologie et qualité des industries agroalimentaire. *Paris*, 245p.
- Li, X. Z., Plésiat, P., & Nikaido, H. (2015). The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clinical microbiology reviews*, 28(2), 337-418. doi:10.1128/CMR.00117-14.
- Livermore, D. M. (1988). Permeation of β -lactam antibiotics into *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and other Gram-negative bacteria. *Clinical Infectious Diseases*, 10(4), 691-698.
- Livermore, D. M. (1995). Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical microbiology reviews*, 8(4), 557-584.
- Lozniewski, A., & Rabaud, C. (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux-Infections associées aux soins, CCLIN, Sud-Est, Nancy*, 4.

M

- Maal-Bared, R., Bartlett, K. H., Bowie, W. R., & Hall, E. R. (2013). Phenotypic

- antibiotic resistance of *Escherichia coli* and *E. coli* O157 isolated from water, sediment and biofilms in an agricultural watershed in British Columbia. *Science of the Total Environment*, 443, 315-323.
- Machado, E., Coque, T. M., Cantón, R., Sousa, J. C., Silva, D., Ramos, M., ... & Peixe, L. (2009). Leakage into Portuguese aquatic environments of extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 63(3), 616-618.
- Maiga, H. (2019). *Sensibilité aux antibiotiques usuels des souches de Streptococcus pneumoniae isolées dans les expectorations au laboratoire de bactériologie de l'INRSP à Bamako* (Doctoral dissertation).
- Maipa, V., Alamanos, Y., & Bezirtzoglou, E. (2001). Seasonal fluctuation of bacterial indicators in coastal waters. *Microbial ecology in health and disease*, 13(3), 143-146.
- Makhoukh, M., Sbaa, M., Berrahou, A., & Van Clooster, M. (2011). Contribution à l'étude physico-chimique des eaux superficielles de l'Oued Moulouya (Maroc oriental). *LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782*, (9).
- Mandell, G.L., Bennett, J.E., & Dolin, R. (2009). *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. Sixième édition, Elsevier, Churchill Livingstone éditeurs, USA. Édition en ligne. <http://www.ppidonline.com> (site visité le 1er avril 2009).
- Manouore Njoya, A. (2023). *Résistance à quelques antimicrobiens des entérobactéries isolées des eaux superficielles et souterraines à Yaoundé, et importance de certains facteurs abiotiques*. (Doctoral dissertation, Université de Yaounde I, Cameroun).
- Marco-Miralles, F., & Brach-Papa, C. (2017). *Evaluation de la qualité des zones de production conchylicole Région PACA (Provence-Alpes-Côte d'Azur)*, Edition 2017.
- Marinescu, F., Marutescu, L., Savin, I., & Lazar, V. (2015). Antibiotic resistance markers among Gram-negative isolates from wastewater and receiving rivers in South Romania. *Rom Biotechnol Lett*, 20(1), 10055-10069.
- Matagne, A., Lamotte-Brasseur, J., & Frère, J. M. (1998). Catalytic properties of class A β -lactamases: efficiency and diversity. *Biochemical Journal*, 330(2), 581-598.
- MATE. (2002). *Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. Le littoral : pour une préservation et une mise en valeur durable du littoral*.
- Maxwell, A. (1997). DNA gyrase as a drug target. *Trends in microbiology*, 5(3), 102-109.
- Mayo, A. W. (1995). Modeling coliform mortality in waste stabilization ponds. *Journal of Environmental Engineering*, 121(2), 140-152.
- McKinney, C. W., Dungan, R. S., Moore, A., & Leytem, A. B. (2018). Occurrence and abundance of antibiotic resistance genes in agricultural soil receiving dairy manure. *FEMS Microbiology Ecology*, 94(3), fiy010, doi:10.1093/femsec/fiy010

- Medeiros, A.A. (1984). β -lactamases. *Bnt. Med. Buli.* 40: 18-27.
- MeHSIP. (2008). Elaboration of a Mediterranean Hot Spot Investment Programme. Final report for contact reg/2006/02 fwc beneficiaries Europe aid/11860/c/multi lot n°2: transport and infrastructures, horizon.
- Mekaoussi, N. (2014). *Comportement Des Elements Chimiques Dans Les Eaux De Surface De Hammam Debagh (Est Algerien)* (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
- Mesa, R. J., Blanc, V., Blanch, A. R., Cortes, P., Gonzalez, J. J., Lavilla, S., ... & Navarro, F. (2006). Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in different environments (humans, food, animal farms and sewage). *Journal of Antimicrobial chemotherapy*, 58(1), 211-215.
- Meyer, A., Deiana, J., & Bernard, A. (2004). *Cours de microbiologie générale: avec problèmes et exercices corrigés*. Wolters Kluwer France.
- Meziani, M. (2012). Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et *Pseudomonas* (Magistral dissertation, Université de Mentori-Constantine).
- Milenkov, M. (2022). *Prévalence, caractérisation et liens génétiques entre les Escherichia coli producteurs de BLSE isolés chez l'Homme, les animaux d'élevage et l'environnement à Madagascar* (Doctoral dissertation, Université Paris Cité).
- Millet, B. (1989). Fonctionnement hydrodynamique du bassin de Thau. Validation écologique d'un modèle numérique de circulation (programme Ecothau). *Oceanologica Acta*, 12(1), 37-46.
- Mishra, A., Mukherjee, A., & Tripathi, B. D. (2009). Seasonal and temporal variations in physico-chemical and bacteriological characteristics of River Ganga in Varanasi. *Int J Environ Res* 3 (3), 395–402.
- Mohammedi, D. (2010). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Pages* (3-10).
- Mohania, D., Nagpal, R., Kumar, M., Bhardwaj, A., Yadav, M., Jain, S., ... & Yadav, H. (2008). Molecular approaches for identification and characterization of lactic acid bacteria. *Journal of digestive Diseases*, 9(4), 190-198.
- Moroh, J. L. A. (2013). *Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de Morinda morindoides* (Doctoral dissertation, Université de Bretagne occidentale-Brest).
- Mouaz Nasreddine, B. K. (2017). Caractérisation physico-chimiques et bactériologiques de l'eau de l'oued de Cheliff (Magistral dissertation, Université de Khemis-Miliana).
- Moudallal, S. (1997). Les ressources hydrauliques au Liban. 1re éd. *Dar el Fekr el Arabi (Éditeur), Beyrouth, Liban*.
- Müller, G., Grimmer, G., & Böhnke, H. (1977). Sedimentary record of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in Lake Constance. *Naturwissenschaften*, 64, 427-431.
- Mullis, K. B. (1990, January). Target amplification for DNA analysis by the

polymerase chain reaction. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 48, No. 8, pp. 579-582).

- Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Pfaller, M. A., & Tenover, R. C. (2003). *Manual of clinical microbiology: Volumes 1 and 2*. Washington, D.C.
- Mussi, M. A., Limansky, A. S., & Viale, A. M. (2005). Acquisition of resistance to carbapenems in multidrug-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of β -barrel outer membrane proteins. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(4), 1432-1440.
- Mutlu, E., & Uncumusaoğlu, A. A. (2016). Physicochemical analysis of water quality of Brook Kuruçay. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 4(11), 991-998.
- Muylaert, A., & Mainil, J. (2013). Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur "contagiosité". In *Annales de Médecine vétérinaire* (Vol. 156). ULg-Université de Liège, Liège, Belgium.

N

- Nauciel, C. (2000). *Bactériologie médicale*. Edition Masson. Paris. 288p.
- Nauciel, C., & Vildé, J.L. (2005). *Bactériologie médicale*. 2ème édition. Masson Paris.
- Neal, C., Neal, M., Wickham, H., & Harrow, M. (2000). The water quality of a tributary of the Thames, the Pang, southern England. *Science of the total environment*, 251, 459-475.
- Nehme, N. (2014). Évaluation de la qualité de l'eau du bassin inférieur de la rivière du Litani, Liban: approche environnementale. *France: Université de Lorraine*, 359.
- Neuwirth, C., Siébor, E., Duez, J. M., Péchinot, A., & Kazmierczak, A. (1995). Imipenem resistance in clinical isolates of *Proteus mirabilis* associated with alterations in penicillin-binding proteins. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 36(2), 335-342.
- Ngoh, E., Zohoun, A., Ghazouani, M., El Hamzaoui, S., & El Ouennass, M. (2011). A fatal case of *Pseudomonas luteola* infection. *Médecine et maladies infectieuses*, 41(7), 399-400.
- Niandou, M. T. (2005). Sensibilité et évolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques [thèse]. *Bamako: Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako*.
- Nicolau, R., Lucas, Y., Merdy, P., & Raynaud, M. (2012). Base flow and stormwater net fluxes of carbon and trace metals to the Mediterranean Sea by an urbanized small river. *Water Research*, 46(20), 6625-6637.
- Nikaido, H. (1994). Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science*, 264(5157), 382-388.
- Nikaido, H. (2009). Multidrug resistance in bacteria. *Annual review of biochemistry*, 78(1), 119-146.
- Njiné, T., Monkiédjé, A., Nola, M., & Foko, V. S. (2001). Evaluation de la charge

polluante et de la charge bactérienne des rejets des stations d'épuration à boues activées à Yaoundé (Cameroun). *Cahiers d'études et de recherches francophones/Santé*, 11(2), 79-84.

Noha, M. O. R. S. S. E. (2015). La biologie moléculaire et le diagnostic des maladies cutanées. (Doctoral dissertation, Université de Mohammed V- Rabat).

Normark, B. H., & Normark, S. (2002). Evolution and spread of antibiotic resistance. *Journal of internal medicine*, 252(2), 91-106.

North, R. L., Khan, N. H., Ahsan, M., Prestie, C., Korber, D. R., Lawrence, J. R., & Hudson, J. J. (2014). Relationship between water quality parameters and bacterial indicators in a large prairie reservoir: Lake Diefenbaker, Saskatchewan, Canada. *Canadian journal of microbiology*, 60(4), 243-249.

Nounsi, N. (2019). Pénurie en antibiotiques: Quelles alternatives ?. (Doctoral dissertation, Université de mohammed V-Rabat).

NRC. (2004). Indicators for waterborne pathogens. US National Research Council.

O

Obritsch, M. D., Fish, D. N., MacLaren, R., & Jung, R. (2004). National surveillance of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from intensive care unit patients from 1993 to 2002. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(12), 4606-4610, <https://doi.org/10.1128/AAC.48.12.4606-4610.2004>.

Ollivier, P., Hamelin, B., & Radakovitch, O. (2010). Seasonal variations of physical and chemical erosion: A three-year survey of the Rhone River (France). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74(3), 907-927.

OMS. (2000). Directive de qualité pour l'eau de boisson : Vol2 : critères d'hygiène et documentation à l'appui. Genève : OMS. 1050p.

OMS. (2004) : Directive de qualité pour l'eau de boisson : Vol2 : critères d'hygiène et documentation à l'appui. Genève.

OMS. (2006). Organisation Mondiale de la Santé. Guidelines for safe recreational water environments. Volume 2 : swimming pools and similar environments.

ONU. (1992). Protection des ressources en eau douce et de leur qualité: application d'approches intégrées de la mise en valeur, de la gestion et de l'utilisation des ressources en eau. Chapitre 18, programme Action 21, Rapport de la Conférence des Nations Unies sur l'environnement et le développement.

Osei Sekyere, J. (2018). Genomic insights into nitrofurantoin resistance mechanisms and epidemiology in clinical Enterobacteriaceae. *Future science OA*, 4(5), FSO293. doi:10.4155/fsoa-2017-0156.

Ouali, N., Belabed, B. E., & Chenchouni, H. (2018). Modelling environment contamination with heavy metals in flathead grey mullet *Mugil cephalus* and upper sediments from north African coasts of the Mediterranean Sea. *Science of the Total Environment*, 639, 156-174.

Ouali, N., Derradji, F., Bouhedja, Y., & Kasdarli, C. (2008). Pollution du ediment superficiel par neuf metaux traces: cas de la baie d'Annaba (aAgerie-mediterranee sud-occidentale). *Physical & chemical news*, (42), 139-143.

Ouhmidou, M., Chahlaoui, A., Kharroubi, A., & Chahboune, M. (2015). Study of the physico-chemical and bacteriological quality of the barrage Hassan Addakhil of Errachidia (Morocco). *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (6) 1663-1671.

P

Partridge, S. R. (2015). Resistance mechanisms in Enterobacteriaceae. *Pathology*, 47(3), 276-284.

Patwardhan, A., Ray, S., & Roy, A. (2014). Molecular markers in phylogenetic studies-a review. *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology*, 2(2), 131.

Pelczar, Jr. M. J., Chan, E.C., Krieg, N. R. (1993). Microbiology: concepts and applications, In *Microbiology: concepts and applications*, 896-896,

Peleg, A. Y., & Hooper, D. C. (2010). Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria. *New England Journal of Medicine*, 362(19), 1804-1813.

Perry, J., Staley, J., & Lory, S. (2002). Microbiologie. Édition par Sinauer Associates. États-Unis.

Petit, F. (2010). Eau et antibiotique : rôle dans l'antibiorésistance ? 15^{ème} Colloque. Contrôle Epidémiologique des Maladies Infectieuses 17-18 mai 2010. Rouen – Caen.

Petit, F. (2018). L'antibiorésistance dans les environnements aquatiques: une problématique d'écologie microbienne et de santé publique. *Environnement, Risques Sante*, 17(Hors-serie), 40-46.

Philippon, A. (2007). Effet des antibiotiques et mécanisme de résistance.

Philippon, A., & Arlet, G. (2006, January). Beta-lactamases of Gram negative bacteria: never-ending clockwork!. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 64, No. 1, pp. 37-51).

Philippon, A., Arlet, G., & Jacoby, G. A. (2002). Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(1), 1-11.

Phuong, N. T., Oanh, D. T. H., Dung, T. T., & Sinh, L. X. (2005). Bacterial resistance to antimicrobials use in shrimps and fish farms in the Mekong Delta, Vietnam. In *Proceedings of the international workshop on antibiotic resistance in Asian aquaculture environments. Chiang Mai, Thailand*. Piffaretti, J.C. (2001-2002). Microbiologie Médicale. Cours de l'Université de Genève, Faculté de Médecine. Département de Génétique et de Microbiologie.

Pitout, J. D., Hanson, N. D., Church, D. L., & Laupland, K. B. (2004). Population-based laboratory surveillance for Escherichia coli-producing extended-spectrum β -lactamases: importance of community isolates with bla CTX-M genes. *Clinical Infectious Diseases*, 38(12), 1736-1741.

Pommepuy, M., Hervio-Heath, D., Caprais, M. P., Gourmelon, M., Saux, J. L., & Guyader, F. L. (2005). Fecal contamination in coastal areas: an engineering approach. *Oceans and Health: Pathogens in the marine environment*, 331-359.

Poole, K. (2005). Efflux-mediated antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(1), 20-51.

Poonia, S., Singh, T. S., & Tsering, D. C. (2014). Antibiotic susceptibility profile of bacteria isolated from natural sources of water from rural areas of East

Sikkim. *Indian Journal of Community Medicine*, 39(3), 156-160.

Prescott, W., Harley, S., & Klein, W. (2010). *Microbiologie*. 3eme édition. Deboeck. Bruxelles, 843-845.

Prescott, W., Harley, S., & Klein, W. (1999). *Microbiologie*. De Boeck. Université.

Q

Quinlivan, E. P., McPartlin, J., Weir, D. G., & Scott, J. (2000). Mechanism of the antimicrobial drug trimethoprim revisited. *The FASEB Journal*, 14(15), 2519-2524.

R

Radakovitch, O., Roussiez, V., Ollivier, P., Ludwig, W., Grenz, C., & Probst, J. L. (2008). Input of particulate heavy metals from rivers and associated sedimentary deposits on the Gulf of Lion continental shelf. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 77(2), 285-295.

Radoux, M., Cadelli, D., Nemcova, M., Kemp, D., & Klaessen, D. (1991) : Qualité et traitement des eaux, Belgique.

Rahal, K. (2013). *Les antibiotiques*. Office des publications universitaires. Alger.

Ramade, F., & Papigny, A. G. (2000). *Dictionnaire encyclopédique des pollutions: les polluants, de l'environnement à l'homme*. Paris: Ed science internationale, Paris.

Ramdani, H. (2017). Gram-negative bacteria. Microbiology module / 3rd-year medicine, Medical School. University 3 of Constantine.

Regnault, L. (2015). *Comparaison de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries anaérobies isolées d'hémocultures au CHU de Nancy en 2010 et en 2014* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

Reinthal, F. F., Posch, J., Feierl, G., Wüst, G., Haas, D., Ruckebauer, G., ... & Marth, E. (2003). Antibiotic resistance of E. coli in sewage and sludge. *Water research*, 37(8), 1685-1690.

Rejsek, F. (2002). *Analyse des eaux: Aspects réglementaires et techniques*. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine.

Rice, K. C., & Herman, J. S. (2012). Acidification of Earth: An assessment across mechanisms and scales. *Applied Geochemistry*, 27(1), 1-14.

Rincé, A., Balière, C., Hervio-Heath, D., Cozien, J., Lozach, S., Parnaudeau, S., ... & Gourmelon, M. (2018). Occurrence of bacterial pathogens and human noroviruses in shellfish-harvesting areas and their catchments in France. *Frontiers in microbiology*, 9, 2443.

Robicsek, A., Strahilevitz, J., Jacoby, G. A., Macielag, M., Abbanat, D., Hye Park, C., ... & Hooper, D. C. (2006). Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nature medicine*, 12(1), 83-88.

Rodier, J., Bazin, C., Brontin, J. P., Chambon, P., Champsaur, H., & Rodier, L. (1996). *L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer*. Dunod, 8eme édition, Paris.

- Rodier, J., Bazin, C., Broutin, J. P., Champsaur, H., & Rodi, L. (2005). *L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer*. 8ème Ed. DUNOD. Paris.
- Rodier, J., Bazin, C., Legube, B., Merlet, N., Brunet, R. (2009). *L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer : Technique et ingénierie*. Dunod, 9ème Edition, Paris.
- Rogers, P. (1992). *Comprehensive water resources management: a concept paper* (Vol. 879). World Bank Publications. Washington.
- Rolston, K. V., & Bodey, G. P. (1992). Pseudomonas aeruginosa infection in cancer patients: Infectious complications of cancer. *Cancer investigation*, 10(1), 43-59.
- Rompere, A., Servais, P., Baudart, J., De-Roubin, M. R., & Laurent, P. (2002). Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. *Journal of microbiological methods*, 49(1), 31-54.
- Rozen, Y., & Belkin, S. (2001). Survival of enteric bacteria in seawater. *FEMS microbiology reviews*, 25(5), 513-529.
- Ruiz, E., Sáenz, Y., Zarazaga, M., Rocha-Gracia, R., Martínez-Martínez, L., Arlet, G., & Torres, C. (2012). qnr, aac (6')-Ib-cr and qepA genes in Escherichia coli and Klebsiella spp.: genetic environments and plasmid and chromosomal location. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(4), 886-897.

S

- Saab, H. B., Nassif, N., El Samrani, A. G., Daoud, R., Medawar, S., & Ouaini, N. (2007). Suivi de la qualité bactériologique des eaux de surface (rivière Nahr Ibrahim, Liban). *Revue des Sciences de l'Eau*, 20(4), 341-352.
- Saadali, B., Derradji, E. F., Saboua, T., Remita, R., & Zahi, F. (2015). Impact de l'activité anthropique sur la dégradation de l'environnement et sur la qualité des eaux: cas du parc national d'El Kala (nord-est Algérien). *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 30, 66-75.
- Saadaoui, M. (2008). La fréquence des bactéries multirésistantes à l'hôpital Hassan II de Settat. (Doctoral dissertation, Université de Mohamed V-Rabat).
- Sack, R. B. (1975). Human diarrheal disease caused by enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Annual review of microbiology*, 29(1), 333-354.
- Samantha, P., (2017). Méthode d'identification bactérienne par PCR quantitative appliquée à un modèle de biofilm oral pluri-espèces dynamique.
- Sanger, F. (1981). Determination of nucleotide sequences in DNA. *Science*, 214(4526), 1205-1210.
- Sarter, S., Nguyen, H. N. K., Lazard, J., & Montet, D. (2007). Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. *Food control*, 18(11), 1391-1396.
- Savary, P. (2003). Guides des Analyses de la Qualité de L'eau; Techni. Cités: Paris, France.
- Savin, M., Alexander, J., Bierbaum, G., Hammerl, J. A., Hembach, N., Schwartz, T., ... & Kreyenschmidt, J. (2021). Antibiotic-resistant bacteria, antibiotic resistance

- genes, and antibiotic residues in wastewater from a poultry slaughterhouse after conventional and advanced treatments. *Scientific reports*, 11(1), 16622.
- Scavizzi, M., Labia, R., Petitjean, O., & Elbhar, A. (2000). L'antibiogramme: De l'analyse des populations bactériennes à la thérapeutique. *Antibiotiques (Paris)*, 2(2), 122-134.
- Schlumberger, O. (2002). Mémento de pisciculture d'étang: 4ème édition.
- Schmidt, A. S., Bruun, M. S., Dalsgaard, I., Pedersen, K., & Larsen, J. L. (2000). Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms. *Applied and environmental microbiology*, 66(11), 4908-4915.
- Schumacher, A., Steinke, P., Bohnert, J. A., Akova, M., Jonas, D., & Kern, W. V. (2006). Effect of 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine, a novel putative efflux pump inhibitor, on antimicrobial drug susceptibility in clinical isolates of Enterobacteriaceae other than Escherichia coli. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57(2), 344-348.
- Sedrati A. (2014). Etude de l'antibiorésistance des souches bactériennes à l'origine des infections infantiles à l'EPH d'Ouargla. (Masteral dissertation, Université de kasdi merbah-ouargla).
- Seidl, M., Servais, P., & Mouchel, J. M. (1998). Organic matter transport and degradation in the river Seine (France) after a combined sewer overflow. *Water Research*, 32(12), 3569-3580.
- Servais, P. (1986). Study of the degradation of organic matter by heterotrophic bacteria in the river. Development of a methodological approach and application to the Belgian Meuse (Doctoral dissertation, University of Brussels).
- Shaw, K. J., Rather, P. N., Hare, R. S., & Miller, G. H. (1993). Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiological reviews*, 57(1), 138-163.
- Sifi, K., Chouahda, S., & Soltani, N. (2007). Biosurveillance de l'environnement par la mesure de biomarqueurs chez *Donax trunculus* dans le golfe d'Annaba (Algérie). *Mésogée*, 63, 11-18.
- Sigg, L., Behra, P., & Stumm, W. (2006). *Chimie des Milieux Aquatiques. Chimie des Eaux Naturelles et des Interfaces dans l'Environnement*. 4ème éd Dunod : Paris.
- Silva, I. L., Gutierrez, C. G., Galeana, M. L., & Lopez, M. A. (2007). El impacto de la actividad turística en la calidad bacteriológica del agua de mar. *Gaceta ecologica* 82, 69–76. Instituto Nacional de Ecología de México.
- Simões, R. R., Poirel, L., Da Costa, P. M., & Nordmann, P. (2010). Seagulls and beaches as reservoirs for multidrug-resistant *Escherichia coli*. *Emerging infectious diseases*, 16(1), 110.
- Singer, A. C., Shaw, H., Rhodes, V., & Hart, A. (2016). Review of antimicrobial resistance in the environment and its relevance to environmental regulators. *Frontiers in microbiology*, 7, 1728. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01728>
- Smith, V. H., Tilman, G. D., & Nekola, J. C. (1999). Eutrophication: impacts of excess

nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environmental pollution*, 100(1-3), 179-196.

SOMIPEV. (2007). Guide pratiques des bactéries pathogènes.

Spratt, B. G., Zhang, Q. Y., Jones, D. M., Hutchison, A., Brannigan, J. A., & Dowson, C. G. (1989). Recruitment of a penicillin-binding protein gene from *Neisseria flavescens* during the emergence of penicillin resistance in *Neisseria meningitidis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(22), 8988-8992.

Stecher, B., Denzler, R., Maier, L., Bernet, F., Sanders, M. J., Pickard, D. J., & Hardt, W. D. (2012). Gut inflammation can boost horizontal gene transfer between pathogenic and commensal Enterobacteriaceae. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(4), 1269-1274, doi:10.1073/pnas.1113246109.

Strahilevitz, J., Jacoby, G. A., Hooper, D. C., & Robicsek, A. (2009). Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clinical microbiology reviews*, 22(4), 664-689.

Straub, T. M., & Chandler, D. P. (2003). Towards a unified system for detecting waterborne pathogens. *Journal of Microbiological Methods*, 53(2), 185-197.

Stumm, W., & Morgan, J. J. (1996). *Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters*. John Wiley & Sons. New York.

Su, Z., Chen, L., & Wen, D. (2024). Impact of wastewater treatment plant effluent discharge on the antibiotic resistome in downstream aquatic environments: a mini review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 18(3), 36.

Sy, I., Traoré, D., Diène, A. N., Koné, B., Lô, B., Faye, O., ... & Tanner, M. (2017). Agua potable, saneamiento y riesgo de enfermedades diarreicas en la Comunidad Urbana de Nouakchott (Mauritania). *Santé Publique*, 29(5), 741-750.

T

Tamura, K., Nei, M., & Kumar, S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(30), 11030-11035.

Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution*, 28(10), 2731-2739.

Tani, Z. B. A. K., & Arlet, G. (2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Pathologie Biologie*, 62(3), 169178.doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.patbio.2014.01.005.

Tao, R., Ying, G. G., Su, H. C., Zhou, H. W., & Sidhu, J. P. (2010). Detection of antibiotic resistance and tetracycline resistance genes in Enterobacteriaceae isolated from the Pearl rivers in South China. *Environmental Pollution*, 158(6), 2101-2109.

Telailia, S. (2014). *Etude des oiseaux marins et côtiers du Nord Est Algérien: écologie et biologie de la reproduction et impact de l'environnement sur les espèces*

- nicheuses* (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat, Univ. Chadli Ben Jedid, El-Tarf, Algérie).
- Tenstdt, D. (2010). Quiz:" Dermato-allergologie et toxiderme. *Progrès en Dermato-Allergologie*, 16, 133-162.
- Terkja, D.N. (2013). Étude de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans le service de neurochirurgie du C.H.U. de Tlemcen. (Masteral dissertation, Université de Abou Bekr Belkaid de Tlemcen).
- Ternes, T. A. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water research*, 32(11), 3245-3260.
- Tessier, L. (2003). *Transport et caractérisation des matières en suspension dans le bassin versant de la Seine: identification de signatures naturelles et anthropiques* (Doctoral dissertation, Ecole des Ponts ParisTech).
- Teunis, P. F., Kasuga, F., Fazil, A., Ogden I. D., Rotariu, O., and & Strachan, N. J. (2010). Dose-response modeling of Salmonella using outbreak data. *International journal of food microbiology*, 144(2), 243-249.
- Thornton, I., & Jeffrey, A. (1999). Assessment and control of nonpoint source pollution of aquatic ecosystems: a practical approach. (Man and the biosphere; v. 23).
- Touati, M. (2013). Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentants isolés au niveau des services de réanimation - CHU Annaba. (Doctoral dissertation, Université de Badji Mokhtar-Annaba).
- Touati, M., Benhamza, M., & Bouhafis, F. (2018). Impact de la pollution agricole sur la qualité des eaux souterraines dans le périmètre irrigué Guelma-Boucheougouf (Nord Est Algérien). *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 37, 103-112.
- Toukam, M., Lyonga, E. E., Assoumou, M. C. O., Fokunang, C. N., Atashili, J., Kechia, A. F., ... & Ndumbe, P. (2010). Quinolone and fluoroquinolone resistance in Enterobacteriaceae isolated from hospitalised and community patients in Cameroon. *Journal of Medicine and Medical Sciences*, 1(10), 490-494.
- Troussellier, M., Bonnefont, J. L., Courties, C., Derrien, A., Dupray, E., Gauthier, M., ... & Pommepuy, M. (1998). Responses of enteric bacteria to environmental stresses in seawater. *Oceanologica Acta*, 21(6), 965-981.

U

- Uyttendaele, M., Jaykus, L. A., Amoah, P., Chiodini, A., Cunliffe, D., Jacxsens, L., Holvoet, K., Korsten, L., Lau, M., McClure, P., Medema, G., Sampers, I & Rao Jasti, P. (2015). Microbial hazards in irrigation water: standards, norms, and testing to manage use of water in fresh produce primary production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(4), 336-356.
- Uzoigwe, J. C., O'Brien, E. H., & Brown, E. J. (2007). Using nutrient utilization patterns to determine the source of Escherichia coli found in surface water. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 1(1), 7-13.

V

- Van Boeckel, T. P., Gandra, S., Ashok, A., Caudron, Q., Grenfell, B. T., Levin, S. A., & Laxminarayan, R. (2014). Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. *The Lancet infectious diseases*, *14*(8), 742-750. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70780-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70780-7).
- Van Boeckel, T.P., Brower, C., ... & Gilbert, M. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc Natl Acad Sci*, *112*(18), 5649–5654, doi:10.1073/pnas.1503141112.
- Van der Steen, P., Brenner, A., Shabtai, Y., & Oron, G. (2000). Improved fecal coliform decay in integrated duckweed and algal ponds. *Water science and technology*, *42*(10-11), 363-370.
- Van Hoorde, K., Vandamme, P., & Huys, G. (2008). Molecular identification and typing of lactic acid bacteria associated with the production of two artisanal raw milk cheeses. *Dairy Science and Technology*, *88*(4-5), 445-455.
- Vandermeersch, S. (2006). Étude comparative de l'efficacité des traitements d'épuration des eaux usées pour l'élimination des micro-organismes pathogènes. *Université libre de Bruxelles*.
- Vaubourdolle, M. (2007). Infectiologie 3ème édition. Wolters Kluwer SA.P 347-348.
- Vaz-Moreira, I., Nunes, O. C., & Manaia, C. M. (2012). Diversity and antibiotic resistance in *Pseudomonas* spp. from drinking water. *Science of the Total Environment*, *426*, 366-374.
- Vikesland, P., Garner, E., Gupta, S., Kang, S., Maile-Moskowitz, A., & Zhu, N. (2019). Differential drivers of antimicrobial resistance across the world. *Accounts of chemical research*, *52*(4), 916-924.
- Visseaux, C., & Calcagno, F. (2013). Médicaments. VG. 2013. (Pharma-Memo).
- Vouvé, F., Cotrim da Cunha, L., Serve, L., Vigo, J., & Salmon, J. M. (2009). Spatio-temporal variations of fluorescence properties of dissolved organic matter along the River Têt (Pyrénées-Orientales, France). *Chemistry and Ecology*, *25*(6), 435-452.

W

- Walid., Bougattoucha, Y., Boudelaa . (2010).L'examen cyto bactériologique des urines .Ecole de formation paramédicale de Skikda Algérie - Laborantin diplômé d'état.
- Walsh, C. 2003. Antibiotics: actions, origins, resistance. American Society for Microbiology press. Washington (pp. x+-335).
- Wang, M., Tran, J. H., Jacoby, G. A., Zhang, Y., Wang, F., & Hooper, D. C. (2003). Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *47*(7), 2242-2248.
- Warren, N., Allan, I. J., Carter, J. E., House, W. A., & Parker, A. (2003). Pesticides and other micro-organic contaminants in freshwater sedimentary environments—a review. *Applied geochemistry*, *18*(2), 159-194.
- Wawire, S. A., Miruka, D. O., Nelson, N., & Ofulla, A. (2013). Antimicrobial

- susceptibility patterns of Enterobacteriaceae isolated from domesticated animals and the environment in Lake Victoria, Kenya. *Ecohydrology & Hydrobiology*, 13(4), 246-252.
- Webber, M. A., & Piddock, L. J. (2003). The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 51(1), 9-11.
- Wheal, C. (1991). Freshwater pollution. Nairobi. United Nations Environment Programme. UNEP/GEMS Environment Library No 6, Montréal, Canada.
- WHO. (1987). Global pollution and health results of related environmental monitoring. Global Environment Monitoring system, WHO, UNEP.
- WHO. World Health Organization. Antimicrobial resistance: An Emerging Water, Sanitation and Hygiene Issue. Briefing Note. Available online: https://www.who.int/water_sanitation_health/emerging/AMR_briefing_note.pdf (accessed on 22 June 2019).
- Wilby, R. L., Johnson, M. F., & Toone, J. A. (2014). Nocturnal river water temperatures: Spatial and temporal variations. *Science of the Total Environment*, 482, 157-173.
- Wise, R. (2002). Antimicrobial resistance: priorities for action. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(4), 585-586. <https://doi.org/10.1093/jac/49.4.585>.
- Woodward, K.N., & Watson, D.H. (Ed.). (2004). *Pesticide, veterinary and other residues in food*. Woodhead publishing, Cambridge.
- Woolhouse, M., Ward, M., Van Bunnik, B., & Farrar, J. (2015). Antimicrobial resistance in humans, livestock and the wider environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1670), 20140083, doi:10.1098/rstb.2014.0083
- Wright, G. D. (1999). Aminoglycoside-modifying enzymes. *Current opinion in microbiology*, 2(5), 499-503.
- Wright, G. D. (2007). The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nature reviews microbiology*, 5(3), 175-186.

Y

- Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., & Ouar Korich, M. N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91(1), 5-12.
- Yala, J. F., Mabika, R. M., Boucka, D. B., Lepengue, A. N., & Souza, A. (2017). Étude phénotypique de la résistance des bactéries isolées des eaux des lacs et rivières de la ville de Franceville aux céphalosporines de troisième génération. *Journal of Applied Biosciences*, 119.
- Yamashita, S. K., Louie, M., Simor, A. E., & Rachlis, A. (2000). Microbiologic Surveillance and Parenteral Antibiotic Use in a Critical Care Unit. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 11(2), 107-111.
- Yoder, J., Roberts, V., Craun, G. F., Hill, V., Hicks, L., Alexander, N. T., Radke, V., Calderon, R., Hlavsa, M., Beach, M., & Roy, S. L. (2008). Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with drinking water and water not intended for drinking-United States, 2005-2006. *MMWR: Morbidity & Mortality*

Weekly Report, 57.

Youbi, A., Houilia, A., Soumati, B., Berrebbah, H., Djebbar, M. R., & Souiki, L. (2018). Assessment of the physico-chemical and bacteriological quality of the surface waters of wadis " Boukhmira, Meboudja and Seybouse" used in irrigation in the north-east of Algeria. *Studia Universitatis Vasile Goldis Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)*, 28 (2).

Z

Zahar, J.R., & Moumile, K. (2013). *Escherichia coli*, définition, épidémiologie des résistances. Service de microbiologie hygiène, CHU Necker Enfants malades.

Zhuang, M., Achmon, Y., Cao, Y., Liang, X., Chen, L., Wang, H., ... & Leung, K. Y. (2021). Distribution of antibiotic resistance genes in the environment. *Environmental pollution*, 285, 117402.

Ziai, S. (2014). La résistance bactérienne aux antibiotiques : Applications et stratégies de lutte. (Doctoral dissertation, Université de Limoges).

Ziani, D. (2017). *QUANTIFICATION DE LA POLLUTION ANTHROPIQUE DES EAUX SOUTERRAINES DE L'AQUIFÈRE DE AIN DJASSER. EST ALGÉRIEN* (Doctoral dissertation, Université Mustapha Ben Boulaid Batna 2, Département d'Hydraulique).

Zomahoun, C. I. N. P. (2005). *Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires au Laboratoire de bactériologie du Centre National Hospitalier Universitaire-Hubert Koutoukou Maga (CNHH-HKM) de Cotonou. A propos de 231 souches bactériennes isolées du 1er avril au 31 juillet 2004* (Doctoral dissertation, Université de Bamako).

Sites Internet

1. <http://www.blast.ncbi.nlm.nih.gov/>
2. <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>
3. <https://2cm.es/Tw01>
4. <https://2cm.es/Twh3>
5. <https://2cm.es/Twh3>
6. <https://2cm.es/WeKi>
7. <https://2cm.es/Wemd>
8. <https://shortlink.uk/TO21>
9. <https://shortlink.uk/TOxx>
10. <https://www.megasoftware.net>

* **Les principaux textes législatifs et réglementaires relatifs à la protection de l'environnement :**

1) Les décrets :

Décret exécutif n° 93 - 164 du 10. 07. 1993 définissant la qualité requise des eaux de baignade.



Annexes

ANNEXE 1

Tableau A 1: Informations pertinentes au sujet des pathogènes entériques (Références : Agence de la santé publique du Canada 2011a, c, d, e, f, g, h, i et 2012a, b, c, d, e; INSPQ, 2010 et Santé Canada, 2012b).

| Pathogènes | Bactéries | | | | Virus | Parasites |
|--|---|--|--|---|--|--|
| | <i>Escherichia coli</i> | <i>Shigella</i> | <i>Campylobacter</i> | <i>Salmonella</i> | <i>Adénovirus, astrovirus, entérovirus, norovirus, rotavirus et virus de l'hépatite A</i> | <i>Cryptosporidium parvum</i> et <i>Giardia lamblia</i> |
| Maladie à déclaration obligatoire | Oui | Oui | Oui | Oui | Virus de l'hépatite A seulement | Oui |
| Dose infectieuse | 5 à 100 cellules | 100 cellules | 500 à 1 000 cellules | 1 000 cellules | Souvent inconnue | 30 à 100 oocystes et 10 à 100 kystes |
| Temps d'incubation | 1 à 8 jours | 1 à 3 jours | 1 à 8 jours | 1 à 2 jours | Variable | 1 à 12 jours et 3 à 25 jours |
| Sources d'infection possibles | Aliments et eau potable contaminés, contact avec des humains ou des animaux infectés et baignade en eau récréative contaminée | Aliments et eau potable contaminés, contact avec des humains infectés et baignade en eau récréative contaminée | Aliments et eau potable contaminés, contact avec des excréments d'animaux infectés ou des animaux infectés | Aliments et eau potable contaminés et contact avec des excréments contaminés, des humains ou des animaux infectés | Aliments et eau potable contaminés, contact avec un humain infecté et baignade en eau récréative | Aliments et eau contaminés, contact avec des humains ou des animaux infectés et baignade en eau récréative |

Tableau A 2: Liste de quelques pathogènes des eaux usées et leurs symptômes (Vandermeersch, 2006).

| Bactéries | Symptômes |
|--------------------------------|--|
| <i>Enterococcus faecalis</i> | la résistance à presque tous les antibiotiques Gastro-entérites, autres infections |
| <i>Salmonella</i> | Typhoïde, gastro-entérites et septicémie |
| <i>Shigella</i> | Diarrhées |
| <i>Enterobacter</i> | Cystites, pleurésies, méningites |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | Diarrhée |
| <i>Legionella</i> | Pneumonie, autres maladies respiratoires |
| <i>Escherichia coli</i> | Diarrhée (certaines souches) |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | Gastro-entérites, diarrhées (l'infection entérique bactérienne la plus répandue en Amérique du Nord) |
| <i>Staphylococcus</i> | Affections cutanées et sous cutanées |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Infections ORL, septicémies |
| Entérovirus | |
| Virus | Symptômes |
| <i>Coxsackievirus A et B</i> | Méningite, conjonctivite, péricardite, myocardite, diarrhée, encéphalite |
| <i>Echovirus</i> | Méningite, conjonctivite, péricardite, myocardite, diarrhée, encéphalite |
| Poliovirus | Paralyse, méningite, fièvres violente |
| <i>Virus de Norwalk</i> | Gastro-entérite qui dure de 24 à 48 heures |
| <i>Virus de l'hépatite A</i> | Hépatite A |
| <i>Virus de l'hépatite E</i> | Hépatite E |
| <i>Rotavirus</i> | Gastro-entérites |
| <i>Reovirus</i> | Maladie respiratoire, entérite Caicivirus Diarrhée |
| <i>Coronavirus</i> | Gastro-entérites |
| <i>Adénovirus</i> | Infections respiratoires, infections conjonctivales |
| Protozoaires | Symptômes |
| <i>Giardia lamblia</i> | Douleurs abdominales, diarrhée (la giardiase est maintenant l'infection humaine entérique non bactérienne ayant la plus forte incidence) |
| <i>Cryptosporidium parvum</i> | Diarrhées accompagnées de douleurs abdominales, de vomissement et de fièvre |
| <i>Toxoplasma</i> | Toxoplasmose Microsporidium Diarrhée Helminthes Taenia Diarrhée, douleur musculaire Ascaris Troubles digestifs |

ANNEXE 2

Table de NPP/ extraite de la norme NF T 90-413 (Pour 3×1 ml, 3×0.1 ml, 3×0.01 ml)

Tableau A 3 : Table de NPP pour 100 ml d'échantillon et limites de confiance à 95% avec trois prises d'essai de trois dilutions successives (Rejsek, 2002).

| Nombre de résultats positifs | | | NPP | Limites de confiance | |
|------------------------------|----------|----------|-------|----------------------|-------------|
| | | | | inférieur | supérieur |
| 0 | 0 | 0 | <0.30 | 0.00 | 0.94 |
| 0 | 0 | 1 | 0.30 | 0.01 | 0.95 |
| 0 | 1 | 0 | 0.30 | 0.01 | 1.00 |
| 0 | 1 | 1 | 0.61 | 0.12 | 1.70 |
| 0 | 2 | 0 | 0.62 | 0.12 | 1.70 |
| 0 | 3 | 0 | 0.94 | 0.35 | 3.50 |
| 1 | 0 | 0 | 0.36 | 0.02 | 1.70 |
| 1 | 0 | 1 | 0.72 | 0.12 | 1.70 |
| 1 | 0 | 2 | 1.1 | 0.4 | 3.5 |
| 1 | 1 | 0 | 0.74 | 0.13 | 2.00 |
| 1 | 1 | 1 | 1.1 | 0.4 | 3.5 |
| 1 | 2 | 0 | 1.1 | 0.4 | 3.5 |
| 1 | 2 | 1 | 1.5 | 0.5 | 3.8 |
| 1 | 3 | 0 | 1.6 | 0.5 | 3.8 |
| 2 | 0 | 0 | 0.92 | 0.15 | 3.50 |
| 2 | 0 | 1 | 1.4 | 0.4 | 3.5 |
| 2 | 0 | 2 | 2.0 | 0.5 | 3.8 |
| 2 | 1 | 0 | 1.5 | 0.4 | 3.8 |
| 2 | 1 | 1 | 2.0 | 0.5 | 3.8 |
| 2 | 1 | 2 | 2.7 | 0.9 | 9.4 |
| 2 | 2 | 0 | 2.1 | 0.5 | 4.0 |
| 2 | 2 | 1 | 2.8 | 0.9 | 9.4 |
| 2 | 2 | 2 | 3.5 | 0.9 | 9.4 |
| 2 | 3 | 0 | 2.9 | 0.9 | 9.4 |
| 2 | 3 | 1 | 3.6 | 0.9 | 9.4 |
| 3 | 0 | 0 | 2.3 | 0.5 | 9.4 |
| 3 | 0 | 1 | 3.8 | 0.9 | 10.4 |
| 3 | 0 | 2 | 6.4 | 1.6 | 18.1 |
| 3 | 1 | 0 | 4.3 | 0.9 | 18.1 |
| 3 | 1 | 1 | 7.5 | 1.7 | 19.9 |
| 3 | 1 | 2 | 12 | 3 | 36 |
| 3 | 1 | 3 | 16 | 3 | 38 |
| 3 | 2 | 0 | 9.3 | 1.8 | 36.0 |
| 3 | 2 | 1 | 15 | 3 | 38 |
| 3 | 2 | 2 | 21 | 3 | 40 |
| 3 | 2 | 3 | 29 | 9 | 99 |
| 3 | 3 | 0 | 24 | 4 | 99 |
| 3 | 3 | 1 | 46 | 9 | 198 |
| 3 | 3 | 2 | 110 | 20 | 400 |
| 3 | 3 | 3 | >110 | | |

ANNEXE 3

Composition des milieux de culture (Rodier *et al.*, 2005)**1. BCPL (gélose lactosé pourpre au bromocrésol) D/C (g/ litre d'eau distillée)**

| | |
|------------------------|------|
| Tryptone | 10 |
| Extrait de viande | 6 |
| Lactose | 10 |
| Pourpre de bromocrésol | 0.05 |

pH = 6 / autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

2. BCPL (gélose lactosé pourpre au bromocrésol) S/C (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|------------------------|-----|
| Tryptone | 5 |
| Extrait de viande | 3 |
| Lactose | 5 |
| Pourpre de bromocrésol | 0.0 |
| | 25 |

pH = 6 / autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

3. BLBVB (bouillon bilié lactosé au vert brillant) (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|---------------|------|
| Bile de bœuf | 20 |
| Peptone | 10 |
| Lactose | 10 |
| Vert brillant | 0.01 |
| | 33 |

pH = 6 / autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

4. Eau péptonée exempte d'indole (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|--------------------------|----|
| Peptone exempte d'indole | 10 |
| Chlorure de sodium | 5 |

pH = 7.2.

5. Milieu de Rothe D/C (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|---------------------------|-----|
| Tryptone | 30 |
| Glucose | 15 |
| Chlorure de sodium | 15 |
| Azoture de sodium | 0.4 |
| Extrait de viande de bœuf | 9 |

pH = 6.8 / autoclavage à 120°C pendant 15 minutes.

6. Milieu de Rothe S/C (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|--|-----|
| Tryptone | 15 |
| Glucose | 7.5 |
| Chlorure de sodium | 7.5 |
| Azoture de sodium | 0.2 |
| Extrait de viande de bœuf | 4.5 |
| pH = 6.8 / autoclavage à 120°C pendant 15 minutes. | |

7. Milieu de Litsky (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|--|-----|
| Peptone | 20 |
| Glucose | 5 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Azoture de sodium | 0.3 |
| Dihydrogénophosphate de potassium | 2.7 |
| Monohydrogénophosphate de potassium | 2.7 |
| Solution de violet d'éthyle | 5 |
| pH = 7 / autoclavage à 120°C pendant 10 minutes. | |

8. Eau peptonée tamponnée (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|--|-----|
| Peptone | 10 |
| Chlorure de sodium | 5.0 |
| Hydrogénophosphate disodique | 3.5 |
| Hydrogénophosphate de potassium | 1.5 |
| pH = 7.2 / autoclavage à 115°C pendant 15 min. | |

9. Bouillon Sélénite-cystéine (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|---------------------|------|
| Peptone de caséine | 5 |
| Lactose | 4 |
| Phosphate disodique | 10 |
| Sélénite de sodium | 4 |
| Cystine | 0.01 |

10. Gélose Mac Conkey (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|----------------------------------|------|
| Peptone pancréatique de gélatine | 17.0 |
| Tryptone | 1.5 |
| Peptone pepsique de viande | 1.5 |
| Lactose | 10.0 |
| Sels biliaires | 1.5 |
| Chlorure de sodium | 5.0 |
| Rouge neutre | 30.0 |
| Cristal violet | 1.0 |
| Agar agar | 13.5 |
| pH= 7.0 | |

11. Gélose Hektoen (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|---------------------------------|------|
| Protease peptone | 12 |
| Extrait de levure | 3 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Thiosulfate de sodium | 5 |
| Sels biliaires | 9 |
| Citrate de ferrique ammoniacale | 1.5 |
| Salicine | 2 |
| Saccharose | 12 |
| Lactose | 2 |
| Fuchsine acide | 0.04 |
| Bleu de brothyrol | 0.06 |
| Agar agar | 1.4 |
| pH= 7.5 | |

12. Gélose SS, *Salmonella-Shigella* (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|--|----------|
| Peptone | 5 |
| Extrait de viande | 5 |
| Lactose | 10 |
| Citrate de sodium | 10 |
| Citrate de fer (III) | 1 |
| Désoxycholate | 8.5 |
| Vert brillant | 0.3 mg/l |
| Rouge neutre | 25 |
| Na ₂ S ₂ O ₃ | 8.5 |
| Agar | 15 |
| pH = 7.2 / autoclavage à 120°C pendant 15 minutes. | |

13. Eau peptonée alcaline (E.P.A) (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|--------------------------------------|----|
| Peptone | 30 |
| Chlorure de sodium | 30 |
| pH = 8.6/ autoclavage 20 min à 121°C | |

14. Gélose au cétrimide (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|--|-------|
| Peptone | 20 |
| Chlorure de sodium | 3 |
| Sulfate de potassium | 10 |
| Monohydrogénophosphate de potassium | 0.3 |
| Cétrimide (bromure de tétradonium) | 0.2 |
| Acide nalidixique | 0.015 |
| Agar | 12 |
| pH = 7.1 / autoclavage 20 min à 121°C. | |

15. Le milieu King A (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|---|-----|
| Peptone trypsique de gélatine (peptone A) | 20 |
| Glycérol | 10 |
| Sulfate de potassium anhydre | 10 |
| Chlorure de magnésium anhydre | 1.4 |
| Agar | 15 |
| pH = 7.2 /autoclavage 20 min à 121°C. | |

16. Le milieu King B (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|--|-----|
| Polypeptone (peptone B) | 20 |
| Glycérol | 10 |
| Phosphate bipotassique anhydre | 1.5 |
| Sulfate de magnésium | 1.5 |
| Agar | 15 |
| pH = 7.2 / autoclavage 20 min à 121°C. | |

17. Gélose Mueller-Hinton (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|--------------------------------------|------|
| Hydrolysât acide de caséine | 17.5 |
| Infusion de viande | 2.0 |
| Amidon soluble | 1.5 |
| Agar agar | 17.0 |
| pH= 6.7/ autoclavage 15 min à 121°C. | |

18. Gélose TCBS (g/ litre d'eau distillée)

| | |
|-------------------------|------|
| Extrait de levure | 5 |
| Peptone bactériologique | 10 |
| Thiosulfate de sodium | 10 |
| Citrate de sodium | 10 |
| Bile de bœuf | 8 |
| Saccharose | 20 |
| Chlorure de sodium | 10 |
| Citrate ferrique | 1 |
| Bleu de bromothymol | 0.04 |
| Bleu de thymol | 0.04 |
| Agar | 14 |
| pH final | 8 |

Composition des réactifs et des colorants

1. Réactif de Kovacs

| | |
|-------------------------------|-------|
| Diméthyl-amino-4 benzaldéhyde | 50 g |
| Pentanol 1 (alcool amylique) | 750ml |
| HCl pur | 250ml |

2. Violet de Gentiane

| | |
|--------------------|-------|
| Violet de gentiane | 1g |
| Ethanol à 90% | 1ml |
| Phénol | 2g |
| Eau distillée | 100ml |

3. Le Lugol

| | |
|---------------------|-------|
| Iode | 1g |
| Iodure de potassium | 2g |
| Eau distillée | 100ml |

4. La Fuchshine

| | |
|------------------|-------|
| Fuchsine basique | 1g |
| Alcool éthylique | 100ml |
| Phéno | 15g |
| Eau distillée | 100ml |

5. Réactif TDA (pour la recherche de tryptophane désaminase)

| | |
|--------------------|-------|
| Perchlorure de fer | 3.4g |
| Eau distillée | 100ml |

6. Réactif IND (pour la recherche de l'indole)

| | |
|-------------------------------|---------|
| Paradiméthylaminobenzaldéhyde | 5.0 g |
| Alcool isoamylique | 75.0 ml |
| HCL 37% | ml |

7. Réactif VPI (pour la recherche de l'acétoïne)

| | |
|------------------------|-------|
| Hydroxyde de potassium | 40g |
| Eau distillée | 100ml |

8. Réactif VPII (pour la recherche de l'acétoïne)

| | |
|----------------|-------|
| Alpha naphthol | 6g |
| Ethanol | 100ml |

9. Réactif NIT I (pour la recherche du nitrate réductase)

| | |
|--------------------|--------|
| Acide sulfamilique | 0.8 g |
| Acide acétique 5N | 100 ml |

10. Réactif NIT II (pour la recherche du nitrate réductase)

| | |
|-------------------|--------|
| Naphtylamine | 0.5 g |
| Acide acétique 5N | 100 ml |

11. Réactif du rouge de méthyle

| | |
|------------------|-------|
| Rouge de méthyle | 0.5 g |
| Alcool à 80° | 100ml |

ANNEXE 4

Tableau A 4 : Les primeurs ARN 16S couples d'amorces utilisées lors des PCR.

PCR 27F Manque 26, 1495 R Manque 8, Longueur 1500

| Oligo | Long | Echelle | Purification | Documentation | Modifications | Taille attendue |
|--|------|---------|--------------|---------------|---------------|-----------------|
| 27F | 20 | 0.01 | HPSF | Standard | | |
| 5'- AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3' | | | | | | 1500 pb |
| 1492R | 19 | 0.01 | HPSF | Standard | | |
| 5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3' | | | | | | 1500 pb |

ANNEXE 5

Tableau A 5 : Matrice de corrélation (p-value) des variables physicochimiques et bactériologiques des eaux du golf d'Annaba. OD : oxygène dissous ; pH : potentiel d'hydrogène ; Sal : salinité ; Cd : conductivité; T : température de l'eau ; MES : matières en suspension. Couleur gris: corrélation significatif.

| | T | pH | OD | Sal | Cd | MES | |
|------------------|-----|----|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Station 1 | T | 0 | 3.076033e-04 | 9.020431e-08 | 1.371888e-05 | 2.645341e-05 | 3.199679e-06 |
| | pH | | 0 | 2.413326e-04 | 1.637822e-04 | 2.973857e-05 | 4.339702e-04 |
| | OD | | | 0 | 3.733619e-06 | 2.400991e-05 | 5.767994e-06 |
| | Sal | | | | 0 | 5.110858e-05 | 3.284554e-05 |
| | Cd | | | | | 0 | 7.534456e-05 |
| | MES | | | | | | 0 |
| Station 2 | T | 0 | 0.0017783876 | 5.220622e-05 | 0.1830320 | 0.0007939325 | 3.074349e-05 |
| | pH | | 0 | 4.997183e-03 | 0.4215254 | 0.0005564845 | 3.484422e-03 |
| | OD | | | 0 | 0.1303681 | 0.0029450010 | 2.698455e-04 |
| | Sal | | | | 0 | 0.3285240326 | 1.664688e-01 |
| | Cd | | | | | 0 | 9.462735e-04 |
| | MES | | | | | | 0 |
| Station 3 | T | 0 | 0.0005590551 | 3.931549e-06 | 1.868646e-05 | 1.351313e-05 | 2.295615e-06 |
| | pH | | 0 | 4.092197e-04 | 1.459773e-04 | 9.660734e-04 | 3.025186e-04 |
| | OD | | | 0 | 2.874265e-06 | 2.729494e-06 | 1.591063e-05 |
| | Sal | | | | 0 | 4.353298e-05 | 1.101258e-05 |
| | Cd | | | | | 0 | 7.615714e-05 |
| | MES | | | | | | 0 |
| Station 4 | T | 0 | 3.530695e-05 | 2.641735e-06 | 0.0022182242 | 1.244616e-04 | 3.802328e-06 |
| | pH | | 0 | 4.330641e-05 | 0.0051065864 | 6.179503e-04 | 1.479962e-04 |
| | OD | | | 0 | 0.0014833827 | 6.783216e-05 | 6.148256e-06 |
| | Sal | | | | 0 | 2.498299e-04 | 1.060472e-03 |
| | Cd | | | | | 0 | 1.691740e-05 |
| | MES | | | | | | 0 |

ANNEXE 6

Tableau A 6 : Résultats de l'identification de bactéries potentiellement pathogènes et de leur abondance relative dans l'eau des stations étudiées.

| Code des souches | Espèces bactériens | S1 | S2 | S3 | S4 | Total | Abondance relative |
|------------------|--|----|----|----|----|-------|--------------------|
| A | <i>Escherichia coli</i> | 6 | 9 | 8 | 12 | 35 | 12.68 |
| B | <i>Escherichia vulneris</i> | | | | 4 | 4 | 1.44 |
| C | <i>Pantoea spp</i> | | 6 | | 6 | 12 | 4.34 |
| D | <i>Pantoea spp2</i> | 3 | | | | 3 | 1.08 |
| E | <i>Pantoea spp1</i> | | | 3 | | 3 | 1.08 |
| F | <i>Pantoea spp4</i> | 2 | | | | 2 | 0.72 |
| G | <i>Pantoea spp3</i> | | | 3 | | 3 | 1.08 |
| H | <i>Proteus mirabilis</i> | | 3 | 2 | 4 | 9 | 3.26 |
| I | <i>Serratia marcescens</i> | 2 | 3 | 2 | 3 | 10 | 3.62 |
| J | <i>Serratia ficaria</i> | 2 | 4 | | | 6 | 2.17 |
| K | <i>Serratia liquefaciens</i> | | | 1 | 3 | 4 | 1.44 |
| L | <i>Serratia odorifera</i> | | | 3 | 3 | 6 | 2.17 |
| M | <i>Serratia plymuthica</i> | | | | 1 | 1 | 0.36 |
| N | <i>Klebsiella pneumoniae spp pneumoniae</i> | | | 2 | 3 | 5 | 1.81 |
| O | <i>Klebsiella oxytoca</i> | 3 | | 3 | 2 | 8 | 2.89 |
| P | <i>Klebsiella pneumoniae spp ozaenae</i> | | | | 1 | 1 | 0.36 |
| Q | <i>Citrobacter freundii</i> | 3 | 3 | 3 | 5 | 14 | 5.07 |
| R | <i>Citrobacter koseri</i> | | 2 | 1 | 2 | 5 | 1.81 |
| S | <i>Citrobacter farmeri</i> | | 3 | | | 3 | 1.08 |
| T | <i>Enterobacter vulneris</i> | | | 3 | 3 | 6 | 2.17 |
| U | <i>Enterobacter cloacae</i> | 2 | 3 | | 3 | 8 | 2.89 |
| W | <i>Shigella spp</i> | | | 1 | 1 | 2 | 0.72 |
| X | <i>Morganella morganii</i> | | | | 1 | 1 | 0.36 |
| Y | <i>Hafnia alvei</i> | | | | 2 | 2 | 0.72 |
| Z | <i>Salmonella spp</i> | 2 | 2 | | | 4 | 1.44 |
| AB | <i>Plesiomonas shigelloides</i> | 2 | | | | 2 | 0.72 |
| BC | <i>Burkholderia cepacia</i> | | 5 | | | 5 | 1.81 |
| DE | <i>Aeromonas hydrophila</i> | 4 | 6 | 5 | 9 | 24 | 8.69 |
| FG | <i>Aeromonas sobria</i> | | 4 | 3 | 5 | 12 | 4.34 |
| HI | <i>Aeromonas salmonicida spp salmonicida</i> | | | | 1 | 1 | 0.36 |
| JK | <i>Aeromonas salmonicida spp masoucida</i> | | | | 2 | 2 | 0.72 |
| LM | <i>Vibrio vulnificus</i> | 2 | 4 | 3 | 6 | 15 | 5.43 |
| NO | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | | 3 | 4 | 3 | 10 | 3.62 |
| PQ | <i>Vibrio hollisae</i> | 2 | 5 | | | 7 | 2.53 |
| RS | <i>Vibrio alginolyticus</i> | | | | 2 | 2 | 0.72 |
| TU | <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 2 | | | 3 | 5 | 1.81 |
| VW | <i>Pseudomonas luteola</i> | 2 | 4 | 2 | 2 | 10 | 3.62 |
| XY | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | | | 2 | 2 | 0.72 |
| ZA | <i>Pseudomonas putida</i> | | | 2 | 2 | 4 | 1.44 |
| AC | <i>Pseudomonas mendocina</i> | | | | 2 | 2 | 0.72 |
| BE | <i>Brevundimonas vesicularis</i> | | | | 1 | 1 | 0.36 |
| KM | <i>Pasteurella spp</i> | | | 4 | 2 | 6 | 2.17 |
| OR | <i>Pasteurella pneumotropica</i> | | 2 | | | 2 | 0.72 |
| SV | <i>Mannheimia haemolytica</i> | | 2 | | | 2 | 0.72 |
| WC | <i>Acinetobacter baumannii</i> | 1 | | 4 | | 5 | 1.81 |
| | Total | | | | | 276 | |

ANNEXE 7

Tables de profils de résistance aux antibiotiques des isolats bactériens dans l'ensemble des stations d'étude.

Tableau A 7: Profils de résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir des eaux de plage Sidi Salem. n : nombre total des isolats bactériens.

| Antibiotiques testés (n= 19) | Plage Sidi Salem (n=27) | | | | | | | | | |
|---------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|------------------------------|---------------------------------------|
| | <i>E. coli</i> (n= 6) | <i>Pantoeae spp 2</i> (n=3) | <i>Pantoeae spp 4</i> (n=2) | <i>Citrobacter freundii</i> (n= 3) | <i>Serratia marcescens</i> (n=2) | <i>Serratia ficaria</i> (n= 2) | <i>Enterobacter cloacae</i> (n= 2) | <i>Klebsiella oxytoca</i> (n= 3) | <i>Salmonella spp</i> (n= 2) | <i>Plesiomonas shigelloides</i> (n=2) |
| | Pourcentage de résistance (%) | | | | | | | | | |
| Ampicilline | 33,33 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 50 | 33,33 | 0 | 100 |
| Amoxiciline+ Acide clavulanique | 0 | 66,66 | 0 | 100 | 100 | 50 | 100 | 0 | 0 | 50 |
| Aztréonam | 16,66 | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Céfazoline | 83,33 | 66,66 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Céfoxitine | 0 | 100 | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 | 0 | 0 | 50 |
| Céfotaxime | 33,33 | 33,33 | 50 | 0 | 50 | 0 | 50 | 0 | 0 | 100 |
| Ceftazidime | 16,66 | 33,33 | 50 | 0 | 0 | 0 | 50 | 0 | 0 | 100 |
| Imipénème | 0 | 66,66 | 100 | 33,33 | 50 | 0 | 50 | 0 | 0 | 0 |
| Ertapénème | 0 | 33,33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Amikacine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33,33 | 0 | 0 |
| Gentamicine | 0 | 33,33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 | 0 | 0 | 0 |
| Acide nalidixique | 0 | 33,33 | 0 | 33,33 | 50 | 50 | 50 | 0 | 0 | 0 |

| | | | | | | | | | | |
|--------------------------------------|--------------|--------------|------------|--------------|------------|-----------|-----------|----------|------------|------------|
| Ciprofloxacine | 33,33 | 33,33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Colistine | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| Chloramphénicol | 0 | 0 | 0 | 33,33 | 50 | 50 | 0 | 0 | 0 | 50 |
| Furanes | 0 | 66,66 | 50 | 33,33 | 100 | 50 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| Triméthoprime+ sulfaméthoxazole | 33,33 | 100 | 100 | 0 | 50 | 50 | 50 | 0 | 50 | 0 |
| Ticarcilline + acide clavulanique | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Fosfomycine | 0 | 0 | 0 | 33,33 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 |

Tableau A 8: Profils de résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir des eaux d'oued Seybouse. n : nombre total des isolats bactériens

| Antibiotiques testés (n= 19) | Oued Seybouse (n= 38) | | | | | | | | | |
|------------------------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| | <i>E.coli</i> (n=9) | <i>Pantoea spp</i> (n=6) | <i>Proteus mirabilis</i> (n= 3) | <i>Citrobacter koseri</i> (n=2) | <i>Citrobacter farmeri</i> (n= 3) | <i>Citrobacter freundii</i> (n= 3) | <i>Serratia ficaria</i> (n= 4) | <i>Serratia marcescens</i> (n=3) | <i>Enterobacter cloacae</i> (n=3) | <i>Salmonella spp</i> (n=2) |
| | Pourcentage de résistance (%) | | | | | | | | | |
| Ampicilline | 22,22 | 0 | 33,33 | 100 | 100 | 100 | 75 | 33,33 | 0 | 100 |
| Amoxiciline+ Acide clavulanique | 0 | 33,33 | 0 | 0 | 66,66 | 100 | 75 | 0 | 66,66 | 50 |
| Aztréonam | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 |
| Céfazoline | 55,55 | 66,66 | 100 | 100 | 33,33 | 100 | 100 | 66,66 | 66,66 | 100 |
| Céfoxitine | 0 | 16,66 | 0 | 0 | 66,66 | 100 | 50 | 0 | 100 | 100 |
| Céfotaxime | 22,22 | 0 | 33,33 | 0 | 33,33 | 0 | 50 | 0 | 0 | 50 |
| Ceftazidime | 22,22 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Imipénème | 0 | 50 | 66,66 | 0 | 0 | 33,33 | 25 | 0 | 0 | 0 |
| Ertapénème | 0 | 0 | 0 | 0 | 33,33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Amikacine | 0 | 0 | 66,66 | 100 | 0 | 33,33 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Gentamicine | 0 | 33,33 | 33,33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Acide nalidixique | 44,44 | 16,66 | 33,33 | 0 | 66,66 | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 |
| Ciprofloxacine | 22,22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Colistine | 22,22 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 66,66 | 0 | 0 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|------|-------|-------|-----|-----|-------|-----|-----|-------|-------|-------|-----|-----|
| Colistine | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Chloramphénicol | 12,5 | 0 | 33,33 | 0 | 0 | 66,66 | 100 | 100 | 100 | 0 | 33,33 | 0 | 0 |
| Furanes | 50 | 0 | 66,66 | 100 | 100 | 66,66 | 100 | 0 | 33,33 | 33,33 | 0 | 0 | 100 |
| Triméthoprim+ sulfaméthoxazole | 75 | 66,66 | 100 | 0 | 0 | 33,33 | 50 | 0 | 66,66 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ticarcilline + acide clavulanique | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33,33 | 0 | 100 | 33,33 | 33,33 | 0 | 100 | 100 |
| Fosfomycine | 12,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 | 100 | 33,33 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tableau A 10: Profils de résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir des eaux d'oued Bedjima. n : nombre total des isolats bactériens.

| Antibiotiques testés (n= 19) | Oued Bedjima (n=59) | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---|----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|----------------------------|
| | <i>E. coli</i> (n=12) | <i>E. vulneris</i> (n= 4) | <i>Pantoea spp</i> (n= 6) | <i>Proteus mirabilis</i> (n=4) | <i>Citrobacter koseri</i> (n=2) | <i>Citrobacter freundii</i> (n= 5) | <i>Serratia marcescens</i> (n=3) | <i>Serratia liquefaciens</i> (n=3) | <i>Serratia odorifera</i> (n= 3) | <i>Serratia plymuthica</i> (n=1) | <i>Klebsiella pneumoniae spp pneumoniae</i> (n=3) | <i>Klebsiella oxytoca</i> (n= 2) | <i>Enterobacter cloacae</i> (n= 3) | <i>Enterobacter vulneris</i> (n= 3) | <i>Shigella spp</i> (n= 1) | <i>Morganella morganii</i> (n=1) | <i>Hafnia alvei</i> (n=2) |
| | Pourcentage de résistance (%) | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ampicilline | 33,33 | 75 | 66,66 | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 | 33,33 | 100 | 100 | 0 | 100 | 100 | 0 | 100 | 100 |
| Amoxiciline+ Acide clavulanique | 25 | 0 | 66,66 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 | 33,33 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 100 | 100 |
| Aztréonam | 0 | 25 | 16,66 | 25 | 0 | 0 | 66,66 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33,33 | 0 | 100 | 50 |
| Céfazoline | 91,66 | 50 | 83,33 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Céfoxitine | 8,33 | 0 | 16,66 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 | 0 | 0 | 33,33 | 0 | 33,33 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| Céfotaxime | 58,33 | 50 | 66,66 | 25 | 0 | 40 | 66,66 | 0 | 100 | 0 | 33,33 | 0 | 33,33 | 66,66 | 0 | 100 | 0 |
| Ceftazidime | 41,66 | 25 | 66,66 | 0 | 0 | 40 | 33,33 | 33,33 | 100 | 0 | 0 | 0 | 33,33 | 66,66 | 100 | 100 | 0 |
| Imipénème | 25 | 0 | 33,33 | 25 | 0 | 60 | 0 | 33,33 | 33,33 | 0 | 0 | 0 | 33,33 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| Ertapénème | 8,33 | 25 | 16,66 | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| Amikacine | 25 | 25 | 16,66 | 0 | 0 | 40 | 0 | 100 | 33,33 | 0 | 0 | 0 | 66,66 | 33,33 | 0 | 100 | 0 |
| Gentamicine | 16,66 | 0 | 33,33 | 0 | 50 | 20 | 0 | 0 | 33,33 | 0 | 33,33 | 0 | 0 | 33,33 | 0 | 100 | 0 |

Annexes

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-------|--------|-----------|---------|----|----|-----------|-----------|-------|-----|-----|---|-----------|-----------|-----|-----|-----|
| Acide nalidixique | 8,33 | 0 | 66,6 6 | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33,3 3 | 0 | 100 | 0 |
| Ciprofloxacine | 8,33 | 0 | 16,6 6 | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| Colistine | 0 | 0 | 0 | 10 0 | 0 | 0 | 66,6 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| Chloramphénicol | 0 | 0 | 16,6 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33,3 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| Furanes | 50 | 2 5 | 0 | 10 0 | 50 | 60 | 100 | 66,6 6 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 66,6 6 | 100 | 100 | 0 |
| Triméthoprim+ sulfaméthoxazole | 0 | 0 | 16,6 6 | 0 | 0 | 20 | 0 | 33,3 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33,3 3 | 0 | 0 | 100 | 100 |
| Ticarcilline + acide clavulanique | 41,66 | 2 5 | 66,6 6 | 0 | 0 | 60 | 0 | 33,3 3 | 33,33 | 100 | 100 | 0 | 33,3 3 | 66,6 6 | 100 | 100 | 0 |
| Fosfomycine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33,3 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33,3 3 | 0 | 100 | 0 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|-------|---|---|----|---|---|---|---|---|----|---|---|---|
| Tobramycin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Nétilmicin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ciprofloxacine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Fosfomycine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Colistine | 10,71 | 0 | 0 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 | 0 | 0 | 0 |

Tableau A 12: Profils de résistance aux antibiotiques des *Aeromonas* isolées à partir des eaux de l'ensemble de stations d'étude. n : nombre total des isolats bactériens.

| Antibiotiques testés (n=16) | Total (n=39) | Oued Bedjima (n=17) | | | | Oued Seybouse (n= 10) | | Plage Jouannoville (n= 8) | | Plage Sidi Salem (n= 4) |
|--------------------------------|--------------|-----------------------------------|--------------------------------|--|---|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| | | <i>Aeromonas hydrophila</i> (n=9) | <i>Aeromonas sobria</i> (n= 5) | <i>Aeromonas salmonicida</i> spp <i>salmonicida</i> (n= 1) | <i>Aeromonas salmonicida</i> spp <i>masoucida</i> (n=2) | <i>Aeromonas hydrophila</i> (n=6) | <i>Aeromonas sobria</i> (n= 4) | <i>Aeromonas hydrophila</i> (n=5) | <i>Aeromonas sobria</i> (n= 3) | <i>Aeromonas hydrophila</i> (n=4) |
| Pourcentage de résistance (%) | | | | | | | | | | |
| Amoxiciline+Acide clavulanique | 48,72 | 55,55 | 100 | 0 | 0 | 33,33 | 50 | 60 | 66,66 | 0 |
| Céfazoline | 33,33 | 33,33 | 0 | 0 | 0 | 50 | 75 | 40 | 0 | 50 |
| Céfoxitine | 12,82 | 11,11 | 0 | 0 | 0 | 33,33 | 50 | 0 | 0 | 0 |
| Céfotaxime | 23,08 | 33,33 | 40 | 0 | 0 | 0 | 75 | 20 | 0 | 0 |
| Ceftazidime | 20,51 | 22,22 | 40 | 0 | 100 | 0 | 50 | 0 | 0 | 0 |
| Céfépime | 48,72 | 33,33 | 40 | 100 | 0 | 83,33 | 25 | 80 | 0 | 75 |
| Imipénème | 5,13 | 0 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33,33 | 0 |
| Ertapénème | 10,26 | 0 | 20 | 0 | 0 | 0 | 50 | 0 | 33,33 | 0 |
| Aztréonam | 17,95 | 33,33 | 40 | 0 | 0 | 0 | 50 | 0 | 0 | 0 |
| Amikacine | 20,51 | 33,33 | 60 | 100 | 0 | 0 | 0 | 20 | 0 | 0 |
| Gentamicine | 23,08 | 22,22 | 80 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 66,66 | 0 |
| Tetracycline | 28,2 | 33,33 | 60 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60 | 33,33 | 25 |
| Ciprofloxacine | 10,26 | 11,11 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 | 0 | 25 |
| Lévofloxacine | 15,38 | 22,22 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 40 | 0 | 25 |
| Chloramphénicol | 20,51 | 11,11 | 20 | 0 | 0 | 0 | 50 | 60 | 0 | 25 |
| Triméthoprime+sulfaméthoxazole | 53,85 | 44,44 | 60 | 0 | 0 | 33,33 | 75 | 60 | 100 | 75 |

Tableau A 13: Profils de résistance aux antibiotiques des *Vibrio* isolées à partir des eaux de l'ensemble de stations d'étude. n : nombre total des isolats bactériens.

| Antibiotiques testés (n=8) | Total (n=34) | Oued Bedjima (n=11) | | | Oued Seybouse (n= 12) | | | Plage Jouannville (n= 7) | | Plage Sidi Salem (n= 4) | |
|---------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| | | <i>Vibrio vulnificus</i> (n= 6) | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (n= 3) | <i>Vibrio alginolyticus</i> (n= 2) | <i>Vibrio vulnificus</i> (n= 4) | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (n= 3) | <i>Vibrio cholerae</i> (n= 5) | <i>Vibrio vulnificus</i> (n= 3) | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (n= 4) | <i>Vibrio vulnificus</i> (n= 2) | <i>Vibrio cholerae</i> (n= 2) |
| Pourcentage de résistance (%) | | | | | | | | | | | |
| Ampicilline | 70,59 | 83,33 | 100 | 100 | 75 | 0 | 40 | 100 | 75 | 100 | 50 |
| Amoxicilline+Acide clavulanique | 26,47 | 50 | 33,33 | 50 | 25 | 0 | 0 | 33,33 | 25 | 50 | 0 |
| Céfotaxime | 44,12 | 33,33 | 100 | 100 | 0 | 0 | 60 | 33,33 | 50 | 0 | 100 |
| Tétracycline | 17,65 | 16,66 | 66,66 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 | 0 | 0 |
| Chloramphénicol | 5,88 | 0 | 0 | 0 | 0 | 66,66 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Triméthoprime+sulfaméthoxazole | 44,12 | 33,33 | 100 | 100 | 75 | 0 | 40 | 33,33 | 25 | 50 | 0 |
| Colistine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Furanes | 11,76 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tableau A 14: Profils de résistance aux antibiotiques des *Pasteurella* isolées à partir des eaux de l'ensemble de stations d'étude. n : nombre total des isolats bactériens.

| Antibiotiques testés (n= 11) | Total (n=6) | Oued Bedjima (n=2) | Oued Seybouse (n=4) | |
|---------------------------------|-------------|-------------------------------|---|-------------------------------------|
| | | <i>Pasteurella spp</i> (n= 2) | <i>Pasteurella pneumotropica</i> (n= 2) | <i>Mannheimia haemolytica</i> (n=2) |
| Pourcentage de résistance (%) | | | | |
| Pénicilline | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Ampicilline | 33.33 | 100 | 0 | 0 |
| Amoxiciline+ Acide clavulanique | 16.66 | 50 | 0 | 0 |
| Céfotaxime | 16.66 | 50 | 0 | 0 |
| Erythromycin | 66.66 | 100 | 50 | 50 |
| Aztréonam | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Lévofloxacine | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Tétracycline | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Doxycycline | 16.66 | 50 | 0 | 0 |
| Chloramphénicol | 33.33 | 100 | 0 | 0 |
| Triméthoprim +sulfaméthoxazole | 33.33 | 100 | 0 | 0 |

Tableau A 15: Profils de résistance aux antibiotiques de *Burkholderia* isolées à partir des eaux de l'ensemble de stations d'étude. n : nombre total des isolats bactériens.

| Antibiotiques testés (n= 5) | Oued Seybouse (n= 5) |
|--|-------------------------------|
| | <i>Burkholderia cepacia</i> |
| | Pourcentage de résistance (%) |
| Ceftazidime | 40 |
| Chloramphénicol | 40 |
| Triméthoprim+sulfaméthoxazole | 80 |
| Ticarcilline + acide clavulanique | 80 |
| Piperacillin | 20 |

Tableau A 16 : Profils de résistance aux antibiotiques des *Acinetobacter* isolées à partir des eaux de l'ensemble de stations d'étude. n : nombre total des isolats bactériens.

| Antibiotiques testés (n= 14) | Total (n= 5) | Plage Jouannville (n= 4) | Plage Sidi Salem (n=1) |
|-----------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | | <i>Acinetobacter baumannii</i> | <i>Acinetobacter baumannii</i> |
| | Pourcentage de résistance (%) | | |
| Ticarcilline | 80 | 75 | 100 |
| Ticarcilline + acide clavulanique | 80 | 75 | 100 |
| Piperacillin | 40 | 25 | 100 |
| Ceftazidime | 0 | 0 | 0 |
| Imipénème | 0 | 0 | 0 |
| Amikacine | 40 | 50 | 0 |
| Gentamicine | 20 | 25 | 0 |
| Tobramycin | 0 | 0 | 0 |
| Nétilmicin | 0 | 0 | 0 |
| Ciprofloxacine | 0 | 0 | 0 |
| Lévofloxacine | 80 | 75 | 100 |
| Doxycycline | 0 | 0 | 0 |
| Triméthoprim+sulfaméthoxazole | 80 | 75 | 100 |
| Colistine | 0 | 0 | 0 |

ANNEXE 8

Tables des résultats de l'indice de résistance multiple aux antibiotiques dans l'ensemble des stations d'étude.

Tableau A 17: Indice de résistance multiple aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir des eaux de plage Sidi Salem. n : nombre total des isolats bactériens.

| Plage Sidi Salem (n= 27) | Isolats bactériens | Nombre | Indice RMA |
|--------------------------|---------------------------------|--------|------------|
| | <i>E.coli</i> | 6 | 0,13 |
| | <i>Pantoae spp 2</i> | 3 | 0,4 |
| | <i>Pantoae spp 4</i> | 2 | 0,29 |
| | <i>Citrobacterfreundii</i> | 3 | 0,3 |
| | <i>Serratia marcescens</i> | 2 | 0,45 |
| | <i>Serratia ficaria</i> | 2 | 0,31 |
| | <i>Enterobacter cloacae</i> | 2 | 0,34 |
| | <i>Klebsiella oxytoca</i> | 3 | 0,09 |
| | <i>Salmonnella spp</i> | 2 | 0,18 |
| | <i>Plesiomonas shigelloides</i> | 2 | 0,34 |

Tableau A 18 : Indice de résistance multiple aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir des eaux d'oued Seybouse. n : nombre total des isolats bactériens.

| Oued Seybouse (n= 38) | Isolats bactériens | Nombre | Indice RMA |
|-----------------------|-----------------------------|--------|------------|
| | <i>E.coli</i> | 9 | 0,17 |
| | <i>Pantoae spp</i> | 6 | 0,14 |
| | <i>Proteus mirabilis</i> | 3 | 0,31 |
| | <i>Citrobacter koseri</i> | 2 | 0,26 |
| | <i>Citrobacter farmeri</i> | 3 | 0,3 |
| | <i>Citrobacter freundii</i> | 3 | 0,28 |
| | <i>Serratia ficaria</i> | 4 | 0,2 |
| | <i>Serratia marcescens</i> | 3 | 0,1 |
| | <i>Enterobacter cloacae</i> | 3 | 0,12 |
| | <i>Salmonnella spp</i> | 2 | 0,37 |

Tableau A 19: Indice de résistance multiple aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir des eaux de plage Jouannoville. n : nombre total des isolats bactériens.

| Plage Jouannoville (n= 35) | Isolats bactériens | Nombre | Indice RMA |
|----------------------------|---|--------|------------|
| | <i>E.coli</i> | 8 | 0,37 |
| | <i>Pantoae spp 1</i> | 3 | 0,3 |
| | <i>Pantoae spp 3</i> | 3 | 0,26 |
| | <i>Proteus mirabilis</i> | 2 | 0,21 |
| | <i>Citrobacter koseri</i> | 1 | 0,21 |
| | <i>Citrobacter freundii</i> | 3 | 0,43 |
| | <i>Serratia marcescens</i> | 2 | 0,5 |
| | <i>Serratia liquefaciens</i> | 1 | 0,42 |
| | <i>Serratia odorifera</i> | 3 | 0,4 |
| | <i>Enterobacter vulneris</i> | 3 | 0,23 |
| | <i>Klebsiella oxytoca</i> | 3 | 0,12 |
| | <i>Klebsiella pneumoniae spp pneumoniae</i> | 2 | 0,18 |
| | <i>Shigella spp</i> | 1 | 0,16 |

Tableau A 20: Indice de résistance multiple aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir des eaux d'oued Bedjima. n : nombre total des isolats bactériens.

| Oued Bedjima (n= 59) | Isolats bactériens | Nombre | Indice RMA |
|----------------------|---|--------|------------|
| | <i>E.coli</i> | 12 | 0,23 |
| | <i>E.vulneris</i> | 4 | 0,17 |
| | <i>Pantoae spp</i> | 6 | 0,35 |
| | <i>Proteus mirabilis</i> | 4 | 0,2 |
| | <i>Citrobacter koseri</i> | 2 | 0,16 |
| | <i>Citrobacter freundii</i> | 5 | 0,42 |
| | <i>Serratia marcescens</i> | 3 | 0,38 |
| | <i>Serratia liquefaciens</i> | 3 | 0,4 |
| | <i>Serratia odorifera</i> | 3 | 0,31 |
| | <i>Serratia plymuthica</i> | 1 | 0,16 |
| | <i>Klebsiella pneumoniae spp pneumoniae</i> | 3 | 0,21 |
| | <i>Klebsiella pneumoniae spp ozaenae</i> | 1 | 0,1 |
| | <i>Klebsiella oxytoca</i> | 2 | 0,05 |
| | <i>Enterobacter cloacae</i> | 3 | 0,3 |
| | <i>Enterobacter vulneris</i> | 3 | 0,33 |
| | <i>Shigella spp</i> | 1 | 0,26 |
| | <i>Morganella morganii</i> | 1 | 1 |
| | <i>Hafnia alvei</i> | 2 | 0,29 |

Tableau A 21: Indice de résistance multiple aux antibiotiques des *Pseudomonas* isolées à partir des eaux du Golfe d'Annaba. n : nombre total des isolats bactériens.

| Pseudomonas | Stations | Isolats bactériens | Nombre | Indice RMA |
|------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------|------------|
| | Oued Bedjima (n=12) | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 2 | 0,42 |
| | | <i>Pseudomonas luteola</i> | 2 | 0,42 |
| | | <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 3 | 0,18 |
| | | <i>Pseudomonas putida</i> | 2 | 0,11 |
| | | <i>Pseudomonas mendocina</i> | 2 | 0,23 |
| | Oued Seybouse (n=4) | <i>Pseudomonas luteola</i> | 4 | 0,15 |
| | Plage Jouannville (n=8) | <i>Pseudomonas luteola</i> | 2 | 0,27 |
| | | <i>Pseudomonas spp</i> | 4 | 0,25 |
| | | <i>Pseudomonas putida</i> | 2 | 0,27 |
| Plage Sidi Salem (n=4) | <i>Pseudomonas luteola</i> | 2 | 0,35 | |
| | <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 2 | 0,11 | |

Tableau A 22: Indice de résistance multiple aux antibiotiques des *Aeromonas* isolées à partir des eaux du Golfe d'Annaba. n : nombre total des isolats bactériens.

| | Stations | Isolats bactériens | Nombre | Indice RMA |
|--|------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------|
| | <i>Aeromonas</i> | Oued Bedjima (n=17) | <i>Aeromonas hydrophila</i> | 9 |
| <i>Aeromonas sobria</i> | | | 5 | 0,39 |
| <i>Aeromonas salmonicida spp salmonicida</i> | | | 1 | 0,19 |
| <i>Aeromonas salmonicida spp masoucida</i> | | | 2 | 0,06 |
| Oued Seybouse (n= 10) | | <i>Aeromonas hydrophila</i> | 6 | 0,14 |
| | | <i>Aeromonas sobria</i> | 4 | 0,34 |
| Plage Jouannoville (n= 8) | | <i>Aeromonas hydrophila</i> | 5 | 0,29 |
| | | <i>Aeromonas sobria</i> | 3 | 0,21 |
| Plage Sidi Salem (n= 4) | | <i>Aeromonas hydrophila</i> | 4 | 0,19 |

Tableau A 23: Indice de résistance multiple aux antibiotiques des *Vibrio* isolées à partir des eaux du Golfe d'Annaba. n : nombre total des isolats bactériens.

| | Stations | Isolats bactériens | Nombre | Indice RMA |
|--------------------------------|---------------|--------------------------------|--------------------------|------------|
| | <i>Vibrio</i> | Oued Bedjima (n=11) | <i>Vibrio vulnificus</i> | 6 |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | | | 3 | 0,5 |
| <i>Vibrio alginolyticus</i> | | | 2 | 0,5 |
| Oued Seybouse (n= 12) | | <i>Vibrio vulnificus</i> | 4 | 0,22 |
| | | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | 3 | 0,21 |
| | | <i>Vibrio hollisae</i> | 5 | 0,2 |
| Plage Jouannoville (n= 7) | | <i>Vibrio vulnificus</i> | 3 | 0,25 |
| | | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | 4 | 0,28 |
| Plage Sidi Salem (n= 4) | | <i>Vibrio vulnificus</i> | 2 | 0,25 |
| | | <i>Vibrio hollisae</i> | 2 | 0,19 |

Tableau A 24: Indice de résistance multiple aux antibiotiques des *Pasteurella* isolées à partir des eaux du Golfe d'Annaba. n : nombre total des isolats bactériens.

| | Stations | Isolats bactériens | Nombre | Indice RMA |
|--------------------|-----------------------|----------------------------------|--------|------------|
| <i>Pasteurella</i> | Oued Bedjima (n=2) | <i>Pasteurella spp</i> | 2 | 0,6 |
| | Oued Seybouse (n=4) | <i>Pasteurella pneumotropica</i> | 2 | 0,14 |
| | | <i>Mannheimia haemolytica</i> | 2 | 0,14 |

Tableau A 25: Indice de résistance multiple aux antibiotiques de *Burkholderia* isolées à partir des eaux du Golfe d'Annaba. n : nombre total des isolats bactériens.

| | Stations | Isolats bactériens | Nombre | Indice RMA |
|---------------------|----------------------|-----------------------------|--------|------------|
| <i>Burkholderia</i> | Oued Seybouse (n= 5) | <i>Burkholderia cepacia</i> | 5 | 0,52 |

Tableau A 26: Indice de résistance multiple aux antibiotiques des *Acinetobacter* isolées à partir des eaux du Golfe d'Annaba. n : nombre total des isolats bactériens.

| | Stations | Isolats bactériens | Nombre | Indice RMA |
|----------------------|------------------------------|--------------------------------|--------|------------|
| <i>Acinetobacter</i> | Plage Jouannoville (n= 4) | <i>Acinetobacter baumannii</i> | 4 | 0,28 |
| | Plage Sidi Salem (n=1) | <i>Acinetobacter baumannii</i> | 1 | 0,36 |

ANNEXE 9

Table des Profils antibiotypiques des isolats bactériens de l'ensemble des stations d'étude.

Tableau A 27: Profils antibiotypiques des isolats bactériens de l'ensemble des stations étudiées.

| Profils de résistance | Nombre d'isolats présentant un certain profil de résistance sur chaque site | | | | Nombre des isolats | Nombre d'antibiotiques | Bactéries résistantes |
|-----------------------|---|----|----|----|--------------------|------------------------|--|
| | S1 | S2 | S3 | S4 | | | |
| CZN | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | <i>Klebsiella oxytoca</i> |
| CAZ | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | <i>Aeromonas salmonicida</i> spp <i>masoucida</i> |
| CZN/ FOX | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>ozaenae</i> |
| TIC/ TCC | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 2 | <i>Pseudomonas mendocina</i> , <i>Brevundimonas vesicularis</i> |
| CHL/ NIT | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 2 | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> |
| AMP/ CTX | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | <i>Vibrio hollisae</i> |
| PEN/ ERY | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 2 | <i>Mannheimia haemolytica</i> |
| AMC/ CZN/ AKN | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | <i>Klebsiella oxytoca</i> |
| AMP/ CZN/ TCC | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 | <i>Serratia plymuthica</i> |
| TCC/ PIP/ ATM | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | <i>Pseudomonas fluorescens</i> |
| AMP/AMC/SXT | 2 | 4 | 0 | 0 | 6 | 3 | <i>Vibrio vulnificus</i> |
| AMC/ CZN/ FOX | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 3 | <i>Enterobacter cloacae</i> |
| TIC/ TCC/ IMP | 0 | 4 | 0 | 2 | 6 | 3 | <i>Pseudomonas luteola</i> |
| TIC/ TCC/ ATM | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 | <i>Pseudomonas fluorescens</i> |
| CZN/ NIT/ TCC | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 3 | <i>Shigella</i> spp |

| | | | | | | | |
|-------------------------------------|---|---|---|----|----|---|---|
| FEP/AKN/GEN | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 | <i>Aeromonas salmonicida</i> spp <i>salmonicida</i> |
| FOX/ Col/ NIT/ SXT | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 | <i>Salmonella</i> spp |
| AMP/ CZN/ Col/ NIT | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 4 | <i>Serratia marcescens</i> |
| AMP/ CTX/ SXT/NIT | 0 | 5 | 0 | 0 | 5 | 4 | <i>Vibrio hollisae</i> |
| PEN/ AMP/ ERY/ SXT | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 4 | <i>Pasteurella pneumotropica</i> |
| AMP/ CZN/ AKN/CHL | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 4 | <i>Klebsiella oxytoca</i> |
| AMP/ CZN/ FOX/ TCC | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 4 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i> |
| TCC/ PIP/ ATM/ AKN | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 4 | <i>Pseudomonas putida</i> |
| AMP/ AMC/ CTX/ SXT | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 4 | <i>Vibrio vulnificus</i> |
| AMP/ CZN/ GEN/ NIT | 0 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | <i>Citrobacter koseri</i> |
| TIC/ TCC/ PIP/ LEV/ SXT | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 5 | <i>Acinetobacter baumannii</i> |
| TIC/ TCC/ PIP/ CAZ/ ATM | 2 | 0 | 2 | 0 | 4 | 5 | <i>Pseudomonas luteola</i> |
| AMC/ CZN/ FOX/ FEP/ SXT | 0 | 6 | 0 | 0 | 6 | 5 | <i>Aeromonas hydrophila</i> |
| TCC/ PIP/ CAZ/SXT/ CHL | 0 | 5 | 0 | 0 | 5 | 5 | <i>Burkholderia cepacia</i> |
| ATM/ CZN/ IMP/ Col/ NIT | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 5 | <i>Proteus mirabilis</i> |
| AMP/ AMC/ CTX/ TET/SXT | 0 | 0 | 4 | 11 | 15 | 5 | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Vibrio vulnificus</i> , <i>Vibrio alginolyticus</i> |
| CZN/ CAZ/ Col/ NIT/ TCC | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 5 | <i>Shigella</i> spp |
| AMP/ AMC/ CZN/ Col/ SXT | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 5 | <i>Hafnia alvei</i> |
| AMP/ CZN/ CAZ/ AKN/ NIT/ TCC | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 6 | <i>Citrobacter koseri</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ CTX/ IMP | 0 | 4 | 0 | 0 | 4 | 6 | <i>Serratia ficaria</i> |
| AMC/ IMP/ ETP/ GEN/ TET/SXT | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 6 | <i>Aeromonas sobria</i> |

| | | | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|---|---|
| TIC/ TCC/ PIP/ CAZ/ ATM/ Col | 0 | 0 | 4 | 0 | 4 | 6 | <i>Pseudomonas spp</i> |
| ATM/ CZN/ CTX/ IMP/ Col/ NIT | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 6 | <i>Proteus mirabilis</i> |
| AMP/ CZN/ FOX/ CTX/ GEN/ TCC | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 6 | <i>Klebsiella pneumoniae spp pneumoniae</i> |
| TIC/ TCC/ PIP/ CAZ/ ATM/ GEN | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 6 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| AMP/ ATM/ CZN/ CTX/ CAZ/ CIP/ SXT | 6 | 0 | 0 | 0 | 6 | 7 | <i>Escherichia coli</i> |
| AMP/ CZN/ CTX/ CAZ/ IMP/ NIT/ SXT | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 7 | <i>Pantoea spp 4</i> |
| CZN/ FEP/ TET/ CIP/ LEV/ CHL/ SXT | 4 | 0 | 0 | 0 | 4 | 7 | <i>Aeromonas hydrophila</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/ CIP/ CHL/ NIT/ SXT | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 7 | <i>Pantoea spp 3</i> |
| TIC/ TCC/ PIP/ AKN/ GEN/ LEV/ SXT | 0 | 0 | 4 | 0 | 4 | 7 | <i>Acinetobacter baumannii</i> |
| TCC/ PIP/ CAZ/ ATM/ AKN/ GEN/ Col | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 7 | <i>Pseudomonas putida</i> |
| AMC/ CZN/ FOX/ IMP/ GEN/ AN/ NIT/ SXT | 0 | 6 | 0 | 0 | 6 | 8 | <i>Pantoea spp</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ IMP/ AKN/ NIT/ TCC | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 8 | <i>Citrobacter freundii</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ AKN/ CHL/ TCC/ FOS | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 8 | <i>Serratia liquefaciens</i> |
| AMP/ CZN/ CTX/ CAZ/ AKN/ AN/ NIT/ TCC | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 8 | <i>Enterobacter vulneris</i> |
| AMP/ AMC/ PEN/ CTX/ ERY/ CHL/ DOX/ SXT | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 8 | <i>Pasteurella spp</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ IMP/ AN/ CHL/ NIT/ FOS | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 9 | <i>Citrobacter freundii</i> |
| AMP/ AMC/ ATM/ CZN/ FOX/ AN/ CHL/ NIT/ SXT | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 9 | <i>Serratia ficaria</i> |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|----|---------------------------------|
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ CIP/ CHL/ FOS | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 9 | <i>Plesiomonas shigelloides</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ IMP/ GEN/ SXT | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 9 | <i>Pantoea spp1</i> |
| AMP/ ATM/ CZN/ CTX/ CAZ/ ETP/ AKN/ NIT/TCC | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 9 | <i>Escherichia vulneris</i> |
| AMP/ AMC/ ATM/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ Col/ NIT | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 9 | <i>Serratia marcescens</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/FOX/ CTX/CAZ/ IMP/ GEN/ AN/ SXT | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 10 | <i>Enterobacter cloacae</i> |
| AMP/ CZN/ CTX/ IMP/ AKN/ GEN/ AN/ Col/ NIT/ TCC | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 10 | <i>Proteus mirabilis</i> |
| AMP/ AMC/ ATM/ CZN/ FOX/ CTX/ AN/ CHL/ NIT/ FOS | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 10 | <i>Salmonella spp</i> |
| AMC/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ FEP/ ETP/ ATM/ CHL/ SXT | 0 | 4 | 0 | 0 | 4 | 10 | <i>Aeromonas sobria</i> |
| AMC/ CZN/ CTX/ FEP/ AKN/ TET/ CIP/ LEV/ CHL/ SXT | 0 | 0 | 5 | 0 | 5 | 10 | <i>Aeromonas hydrophila</i> |

Suite tableau A 27: Profils antibiotypiques des isolats bactériens de l'ensemble des stations étudiées.

| | | | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|----|------------------------------|
| AMP/ AMC/ CZN/ CTX/ CAZ/ IMP/ AKN/ GEN/ NIT/ TCC | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 10 | <i>Serratia odorifera</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ IMP/ AKN/ SXT/ TCC | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 10 | <i>Enterobacter cloacae</i> |
| AMP/ CZN/ CTX/ CAZ/ AN/ CIP/ Col/ NIT SXT/ TCC/ FOS | 0 | 9 | 0 | 0 | 9 | 11 | <i>Escherichia coli</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ CTX/ ETP/ AN/ CHL/ NIT/ SXT/ TCC | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 11 | <i>Citrobacter farmeri</i> |
| AMP/ ATM/ CZN/ CTX/ CAZ/ AKN/ GEN/ AN/ NIT/ TCC/ FOS | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 11 | <i>Enterobacter vulneris</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ CTX/ IMP/ AN/ Col/ CHL/ NIT/ SXT/ FOS | 2 | 0 | 2 | 0 | 4 | 12 | <i>Serratia marcescens</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ CAZ/ IMP/ | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 12 | <i>Serratia liquefaciens</i> |

| | | | | | | | |
|---|----|----|----|----|-----|----|-----------------------------|
| AKN/ CHL/ NIT/ SXT/ TCC/ FOS | | | | | | | |
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ IMP/ ETP/ GEN/ AN/ CIP/ NIT/ SXT | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 13 | <i>Pantoea spp 2</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ IMP/ AKN/ GEN/ AN/ CHL/ NIT/ SXT/ TCC | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 14 | <i>Citrobacter freundii</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ IMP/ ETP/ AKN/ GEN/ AN/ CIP/ NIT/ TCC | 0 | 0 | 0 | 12 | 12 | 14 | <i>Escherichia coli</i> |
| AMC/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ FEP/ ATM/ AKN/ GEN/ TET/ CIP/ LEV/ CHL/ SXT | 0 | 0 | 0 | 9 | 9 | 14 | <i>Aeromonas hydrophila</i> |
| AMC/ CTX/ CAZ/ FEP/ IMP/ ETP/ ATM/ AKN/ GEN/ TET/ CIP/ LEV/ CHL/ SXT | 0 | 0 | 0 | 5 | 5 | 14 | <i>Aeromonas sobria</i> |
| AMP/ AMC/ ATM/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ IMP/ GEN/ AN/ CIP/ CHL/ NIT/ SXT/ FOS | 0 | 0 | 8 | 0 | 8 | 15 | <i>Escherichia coli</i> |
| AMP/ AMC/ ATM/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ ETP/ AKN/ GEN/ CHL/ NIT/SXT/ TCC/ FOS | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 15 | <i>Serratia odorifera</i> |
| AMP/ AMC/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ IMP/ ETP/ AKN/ GEN/ AN/ CIP/ NIT/ SXT/ TCC | 0 | 0 | 0 | 5 | 5 | 15 | <i>Citrobacter freundii</i> |
| AMP/ AMC/ ATM/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ IMP/ ETP/ AKN/ GEN/ AN/ CIP/ CHL/ SXT/ TCC | 0 | 0 | 0 | 6 | 6 | 16 | <i>Pantoea spp</i> |
| AMP/ AMC/ ATM/ CZN/ FOX/ CTX/ CAZ/ IMP/ ETP/ AKN/ GEN/ NA/ CIP/ Col/ CHL/ NIT/ SXT/ TCC/ FOS | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 19 | <i>Morganella morganii</i> |
| Nombre de profils de résistance | 16 | 19 | 21 | 29 | 276 | | |