

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de microbiologie  
Spécialité de microbiologie fondamentale



Réf : .....

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

**Thème**

Etude de la co-résistance aux métaux lourds  
et aux antibiotiques de bactéries  
isolées de l'environnement

Présenté par :  
**KENNOUCHE Youcef & OUZIB Abdelhafid**

Soutenu le : **02 Juillet 2024**

Devant le jury composé de :

Mme. MOUICI Kahina

MCB

présidente

Mme. TAFOUKT Rima

MCB

Encadrante

Mr. DJOUDI Ferhat

professeur

Examineur

**Année universitaire : 2024/2025**

## Remerciements

Louange à Allah, le Tout-Puissant et Miséricordieux, qui nous a accordé la patience, la force et la santé nécessaires pour mener à bien ce travail. C'est grâce à Sa volonté que nous avons pu franchir cette étape importante de notre parcours académique.

Nous exprimons notre plus profonde gratitude à **Madame TAFOUKT Rima**, notre encadrante, pour son accompagnement tout au long de ce travail. Sa disponibilité, ses conseils avisés, sa rigueur scientifique et sa bienveillance ont été essentiels à la réalisation de ce mémoire.

Nos remerciements vont également aux **membres du jury**, pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer notre travail, ainsi que pour l'intérêt qu'ils lui ont porté.

Nous remercions chaleureusement **Madame RAHMANI D.**, ainsi que toute **l'équipe du laboratoire de microbiologie de l'université** (enseignants, doctorants, ingénieurs et étudiants) pour leur soutien et leur aide précieuse qui ont largement facilité la réalisation de ce travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à **Madame BERRADI**, ainsi qu'à sa doctorante **Djahida**, pour leur aide précieuse au sein du laboratoire de caractérisation

Enfin, nous adressons nos pensées reconnaissantes à toutes les personnes qui, de près ou de loin, nous ont soutenus durant cette aventure scientifique.

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce modeste travail :*

*À mes chers parents, qui ont sacrifié pour assurer ma réussite dans mes études, m'ont toujours soutenu avec amour, patience et courage. Leur confiance et leurs prières m'ont donné la force d'avancer.*

*À ma tante Fadila, pour son soutien et son affection.*

*À mes grandes mères, pour leurs prières et leur tendresse, que Dieu les protège et les garde en bonne santé.*

*À mon cousin Rayane, pour sa présence.*

*À mes chers amis Ishaq, Djamel et Nabil, pour les moments partagés et leur soutien indéfectible.*

***Youcef***

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.*

*À mon père, pour sa force, ses efforts et ses sacrifices qui m'ont permis d'avancer dans mes études.*

*À ma mère, pour son amour, ses prières et son soutien moral dans chaque étape de mon parcours.*

*À mes deux sœurs d'amour, pour leur présence, leur encouragement et les mots simples qui ont toujours su me motiver.*

*À ma future femme pour sa compréhension, sa patience et son appui quotidien pendant cette période exigeante.*

*À mes deux amis proches, Kaci et Kader, pour leur amitié fidèle, leur écoute et leur soutien sans faille*

**Abdelhafid**

## Liste des tableaux

**Tableau I :** Sites de prélèvements.....7

**Tableau II :** Tests biochimiques utilisés pour l'identification des bacilles à Gram négatifs...

**Tableau III :** Liste des ATB testés

**Tableau IV :** Nombre de souches isolées par site de prélèvement

**Tableaux V :** Résistance des souches aux Cu, Cd, Ni, Zn

## Liste des figures :

<b>Figure N°01 :</b> Position des points de prélèvement le long de l'Oued Soummam. (Google earth 07/04/2025) .....	6
<b>Figure N°02 :</b> Spectrométrie d'absorption atomique (SAA).....	8
<b>Figure N°03 :</b> Courbes d'étalonnage pour les métaux analysés par la SAA.....	17
<b>Figure N°04 :</b> Aspect des colonies bactériennes isolées sur milieux sélectifs.....	18
<b>Figure N°05 :</b> Répartition des bacilles à Gram négatif.....	19
<b>Figure N°06 :</b> Répartition des entérobactéries isolées par espèce.....	20
<b>Figure N°07:</b> Taux de résistance des souches isolées aux $\beta$ -lactamines.....	20
<b>Figure n°08 :</b> Photos de souches productrices ou pas de BLSE.....	21
<b>Figure n°09 :</b> Taux de résistance des souches bactériennes aux métaux lourds à 250 $\mu\text{g/mL}$ .....	23
<b>Figure N°10 :</b> Photos qui montrent les résultats des CMI des métaux lourds .....	23

## Liste des abréviations

**AMC** : Amoxicilline-acide clavulanique

**ATM** : Aztréonam

**BGN** : Bacilles à Gram négatif

**BLSE** :  $\beta$ -lactamases à spectre étendu

**CAZ** : Ceftazidime

**Cd** : Cadmium

**CIM** : Carbapenem Inactivation Method

**Cr** : Chrome

**CS** : Citrate Simmons

**CTX** : Céfotaxime

**Cu** : Cuivre

**C2G** : Céphalosporines de 2<sup>e</sup> génération

**C3G** : Céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération

**DD-test** : Double disque

**EMB** : Eosine Methylene Blue

**Fe** : Fer

**FOX** : Céfoxitine

**IMP** : Imipénème

**I** : Intermédiaire

**Mg** : Magnésium

**Ni** : Nickel

**NR** : Nitrate réductase

**Pb** : Plomb

**R** : Résistant

**RM** : Rouge Méthyle

**S** : Sensible

**SAA** : Spectrométrie d'absorption atomique

**T** : Tolérance

**TDA** : Tryptophane Désaminase

**TSI** : Triple Sugar Iron

**VP** : Voges-Proskauer

**Zn** : Zin

# Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction ..... 1

## Matériel et Méthodes

I. Présentation de la zone d'étude ..... 6

II. Echantillonnage et prélèvement .....6

III. Analyse des éléments métalliques par la spectrométrie ..... 8

III.1. Préparation des étalons pour les courbes d'étalonnages.....9

IV. Recherche de bacilles à Gram négatifs..... 10

IV. 1. Enrichissement ..... 10

IV.2.Isolement et purification..... 10

IV.3.Identification des souches .....10

V. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques ..... 12

VI. phénotypes de résistance .....13

VI. 1. Recherche des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) .....13

VI.2. Recherche des carbapénémases .....14

VII. Etude de la tolérance aux métaux lourds.....14

## Résultats

I. Dosage des métaux lourds par la SAA .....16

II. Isolement des souches ..... 18

III. Identification des souches ..... 18

IV. Sensibilité des souches isolées aux antibiotiques ..... 20

V. Phénotypes de résistance probable ..... 21

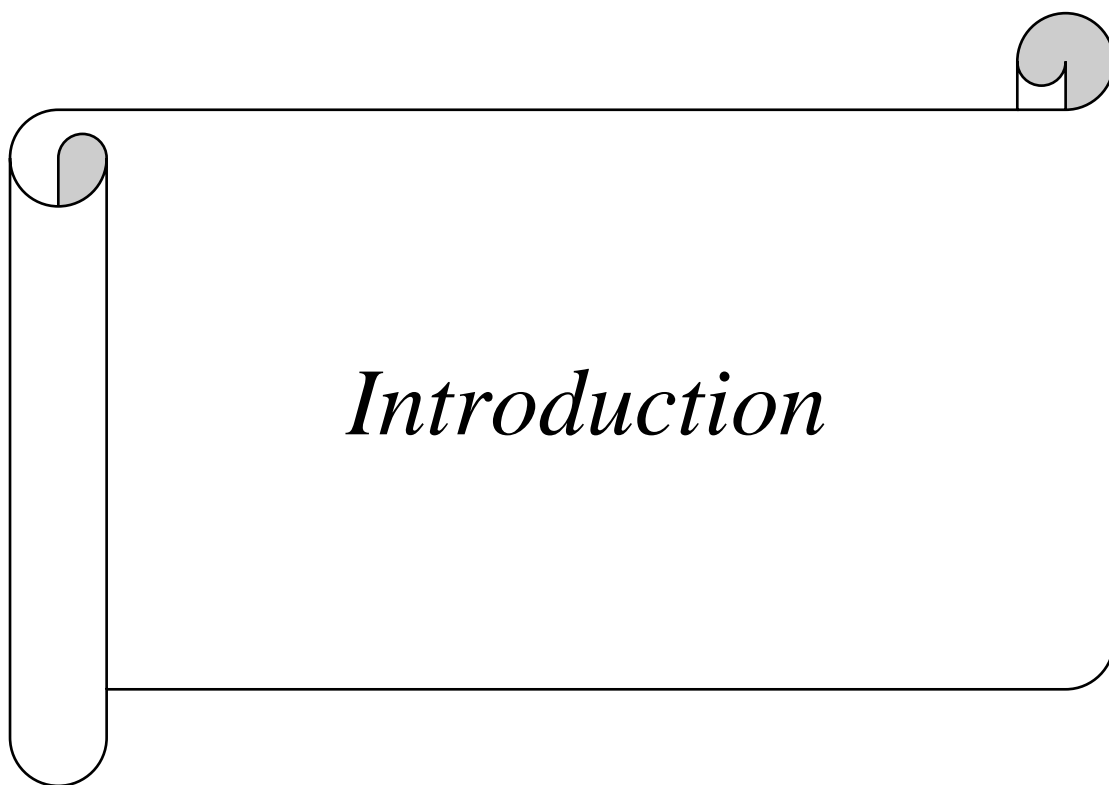
V.1. Recherche de BLSE .....21

V.1. Recherche de cabapénèmases..... 21

VI. Résistance des souches aux métaux lourds.....21



Discussion .....	24
Conclusion.....	28
Références	
Annexes	
Résumé	



# *Introduction*

L'apparition des antibiotiques a révolutionné la médecine moderne, permettant de traiter efficacement des maladies auparavant mortelles telles que la pneumonie, la septicémie, la fièvre typhoïde et la tuberculose. Aujourd'hui, moins de 1% des décès dans les pays à revenu élevé sont causés par des maladies bactériennes (**Christensen 2021**).

Les antibiotiques exercent leurs effets en ciblant spécifiquement les fonctions microbiennes vitales et en causant des altérations majeures au niveau métabolique et physiologique des bactéries (**Abushaheen et al. 2020**). Ils perturbent des fonctions essentielles en s'attaquant à des cibles spécifiques telles que la paroi cellulaire (qui assure l'intégrité de la bactérie), les ribosomes bactériens (pour la synthèse des protéines), les enzymes clés impliquées dans la réplication de l'ADN (comme l'ADN gyrase et la topoisomérase IV), ou encore des voies métaboliques indispensables, notamment la synthèse de l'acide folique (**Kapoor et al. 2017**). Sur la base de leur action sur les cellules bactériennes, les antibiotiques sont divisés en deux types: Les antibiotiques bactéricides et les antibiotiques bactériostatiques (**Upmanyu et Malviya, 2020**).

depuis leur apparition dans les années 1930, les antibiotiques ont eu un impact considérable non seulement sur la médecine humaine, mais aussi sur la production alimentaire en particulier dans le domaine de l'élevage (**Kirchhelle, 2018**). Aux États-Unis, l'utilisation d'antibiotiques chez les animaux destinés à l'alimentation est estimée à environ 80 % de la consommation annuelle d'antimicrobiens de la nation (**Van Boeckel et al., 2015**), toutefois, cette pratique a été progressivement interdite par l'Union européenne, d'abord pour les antibiotiques d'importance critique en médecine humaine, puis étendue à l'ensemble des antibiotiques et médicaments apparentés en 2006 (**Martinez 2009**).

L'utilisation des antibiotiques a également été étendue à l'agriculture végétale pour le traitement des maladies des plantes, en particulier celles causées par des bactéries (**McManus et al. 2002**).

Cependant cette utilisation excessive des antibiotiques dès les années 1940 a rapidement entraîné l'apparition de la résistance bactérienne, avec la découverte, en 1942, de la première souche de *S. aureus* résistante à la pénicilline grâce à la production d'une enzyme appelée pénicillinase (**Grall et al. 2011**).

L'utilisation inconsidérée ou inappropriée des antibiotiques est un facteur clé de la propagation de la résistance bactérienne. Les micro-organismes résistants se trouvent généralement là où l'utilisation d'antibiotiques est plus élevée et les maladies plus fréquentes (**Public Health**

**Agency of Canada et al. 2014)** .

La résistance aux antimicrobiens est apparue chez les humains, les animaux et dans l'environnement comme une grave préoccupation mondiale au 21<sup>e</sup> siècle (**Samreen et al. 2021**), elle affecte la capacité à traiter une gamme d'infections (**World Health Organization 2018**). Par conséquent, les infections par des agents pathogènes microbiens multirésistantes entraînent environ 700 000 décès par an d'ici 2050 (**Samreen et al. 2021**).

Malgré les tentatives des autorités nationales et internationales des pays développés et en développement pour réduire la sur-prescription d'antibiotiques aux humains et l'utilisation d'antibiotiques comme promoteurs de croissance du bétail, le flux sélectif de transmission de la résistance aux antibiotiques de l'environnement à la clinique (et vice-versa) est en augmentation. Les antibiotiques cliniques, agricoles et naturels ainsi que les biocides et les métaux lourds sélectionnent les gènes de résistance aux antibiotiques et contaminent les produits végétaux, animaux et piscicoles (**Skandalis et al., 2021**).

L'environnement est de plus en plus reconnu pour le rôle qu'il pourrait jouer dans la propagation de la résistance aux antibiotiques cliniquement pertinents. Les organismes de réglementation environnementale surveillent et contrôlent bon nombre des voies responsables du rejet de produits chimiques entraînant la résistance dans l'environnement (par exemple, antimicrobiens, métaux lourds et biocides) (**Singer et al., 2016**).

En plus des agents antibiotiques, les métaux lourds utilisés dans l'élevage et l'aquaculture pourraient favoriser la propagation de la résistance aux antibiotiques via la co-sélection. Le rejet de métaux lourds ainsi que d'antibiotiques provenant d'écosystèmes liés à l'agriculture et à la production animale dans l'environnement peut provoquer un effet combiné de sélection et de co-sélection envers les bactéries résistantes aux antibiotiques (**Seiler et Berendonk, 2012**).

La toxicité des métaux lourds représente une préoccupation majeure à l'échelle mondiale, en particulier dans les régions où les effluents industriels non traités sont déversés dans l'environnement (**Maria Shafiq et al., 2024**). Les métaux lourds, définis comme des éléments métalliques à densité et masse atomique élevées considérés comme toxiques, sont non-biodégradables et peuvent causer des dommages à long terme aux organismes vivants en s'accumulant dans l'environnement, ces métaux sont extrêmement dangereux et peuvent avoir des effets cancérigènes, génotoxiques et mutagènes (**Nnaji et al., 2024**).

Les métaux lourds exercent un effet toxique important sur les bactéries, même à de faibles concentrations, en raison de leur persistance dans l'environnement et de leur capacité à

provoquer des perturbations physiologiques et structurelles (**Mathivanan et al., 2021**). Plus spécifiquement, les métaux lourds affectent la morphologie, le métabolisme et la croissance des microorganismes. Ils altèrent la structure des acides nucléiques, perturbent les membranes cellulaires et provoquent des dysfonctionnements fonctionnels. Ils inhibent également l'activité enzymatique ainsi que la phosphorylation oxydative, et entraînent la peroxydation lipidique. De plus, ils modifient l'équilibre osmotique et provoquent la dénaturation des protéines (**Ayangbenro et al., 2017**).

Des métaux comme le cadmium (Cd) et le mercure (Hg) sont considérés comme de puissantes toxines cellulaires en raison de leur capacité à former des complexes nocifs. D'autres métaux, bien qu'essentiels en tant qu'oligo-éléments (comme le zinc (Zn), le nickel (Ni), le chrome (Cr), le cuivre (Cu) et le cobalt (Co)), deviennent toxiques lorsque leur concentration dépasse certains seuils (**Seiler et al., 2012**).

Les bactéries, bien que généralement sensibles à la pollution par les métaux, peuvent développer un ensemble de mécanismes de résistance, médiés soit par des mutations chromosomiques, soit par l'acquisition de gènes de résistance sur des éléments génétiques mobiles (**Dickinson et al. 2019**).

La pression co-sélective des métaux lourds est un facteur contribuant à la dissémination et à la persistance des gènes de résistance aux antibiotiques dans les réservoirs environnementaux. (**Gillieatt et Coleman 2024**). La co-sélection de la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds peut se produire par deux mécanismes principaux qui sont : La co-résistance: Cela se produit lorsque les gènes de résistance aux métaux et aux antibiotiques sont génétiquement liés et situés sur le même élément génétique mobile, comme un plasmide, un transposon ou un intégron. Cette liaison physique entraîne la co-sélection d'autres gènes situés sur le même élément. La résistance croisée : Il s'agit d'un changement génétique unique qui confère une résistance à la fois aux métaux et aux antibiotiques ,Ce mécanisme peut se produire lorsque différents agents antimicrobiens attaquent la même cible, initient une voie commune vers la mort cellulaire ou partagent une voie d'accès commune vers leurs cibles respectives (**Dickinson et al. 2019**).

Le milieu aquatique est reconnu comme un habitat bactérien majeur sur Terre, activement impliqué dans la dissémination des microorganismes dans la nature. Il agit comme un important réservoir de résistance aux antimicrobiens. Une part significative des antimicrobiens administrés aux humains et/ou aux animaux (jusqu'à 80%) peut être excrétée sous forme active dans l'urine et les fèces, atteignant ensuite l'environnement aquatique par

diverses voies, notamment le rejet des eaux usées (**Bisaccia et al., 2025**), les effluents des stations d'épuration et le ruissellement agricole (**Kümmerer, 2009**).

Les rivières affectées par la pollution, jouent un rôle crucial comme réservoir et vecteur de la résistance aux antimicrobiens. Les pollutions issues de diverses sources, introduisent directement des bactéries résistantes aux antibiotiques des gènes de résistance aux antibiotiques et des éléments génétiques mobiles dans ces environnements. Ces pollutions apportent également des antimicrobiens et d'autres agents, comme les métaux lourds, qui exercent une pression de sélection favorisant l'évolution de la résistance (**Liguori et al. 2022**).

La présence simultanée d'antibiotiques et de métaux lourds dans ces milieux aquatiques, souvent issus des eaux usées hospitalières et industrielles, représente une menace sérieuse pour les écosystèmes et la santé humaine. En effet, ces polluants augmentent le taux d'échange de gènes de résistance entre les bactéries environnementales et pathogènes, rendant ainsi le traitement de diverses infections bactériennes chez l'homme et l'animal plus difficile (**Martins et al., 2014**). L'étude de la résistance aux antibiotiques et aux métaux chez les bactéries isolées des rivières, qui sont des milieux aquatiques récepteurs directement impactés par ces diverses sources de pollution, est fondamentale pour comprendre la circulation, l'évolution et les risques potentiels pour la santé humaine associés à la résistance aux antimicrobiens dans ces écosystèmes (**Cheung et al. 2025**).

En Algérie peu d'études ont été réalisées sur la présence des bactéries résistantes à la fois aux antibiotiques et aux métaux lourds dans des environnements hydriques (**Habi et al. 2009**) et (**Yamina et al. 2012**) ont rapporté cette co-résistance chez des bactéries isolées d'eaux usées et de cours d'eau pollués, respectivement. (**Djouadi et al. 2017**) ont mis en évidence des bactéries opportunistes multirésistantes dans deux rivières polluées d'Algeroued El-Harrach et Beni-Messous. (**Benhalima et al. 2023**) se sont également intéressés à cette problématique à travers l'étude de *Aeromonas hydrophila*.

Bien que quelques études aient exploré la co-résistance bactérienne dans certaines régions d'Algérie, peu d'informations sont disponibles concernant les rivières du nord-est du pays, en particulier l'Oued Soummam, qui reçoit divers rejets urbains, agricoles et industriels. D'où l'intérêt de cette étude, qui vise à évaluer la co-résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds chez des bacilles Gram-négatifs isolés d'un cours d'eau localement impacté, l'Oued Soummam. Pour se faire, nous avons opté pour la méthodologie suivante:

- Prélèvement des échantillons d'eau;
- Analyse des éléments métalliques par la spectrométrie;

- Isolement et purification des bactéries à Gram négatif;
- Identification des souches par des tests biochimiques classiques;
- Etude de la sensibilité des souches aux  $\beta$ -lactamines;
- Détermination des phénotypes de résistance probables aux  $\beta$ -lactamines;
- Etude de la résistance des bactéries aux métaux lourds.



# *Matériels et Méthodes*



## I. Présentation de la zone d'études

La vallée de l'oued Soummam est située dans le Nord-Est de l'Algérie, à environ 230 km à l'est d'Alger. Elle fait administrativement partie de la wilaya de Béjaïa. L'oued Soummam, qui est le troisième fleuve d'Algérie, prend naissance à la confluence de l'oued Sahel, descendant des montagnes du Djurdjura et du plateau de Bouira, et de l'oued Bou Sellam, issu du plateau Sétifien. L'oued traverse ensuite la vallée sur environ 80 km, s'orientant du Sud-Ouest au Nord-Est, avant de se jeter dans la mer Méditerranée à Béjaïa. Le bassin-versant de l'oued Soummam couvre une superficie d'environ 8 800 km<sup>2</sup> à son embouchure. Il existe un réservoir d'eaux souterraines s'étendant de Tazmalt à Sidi-Aich, puis de Sidi-Aich jusqu'à Béjaïa (Mouni et al. 2009)

## II. Echantillonnage et prélèvement

Au cours de cette étude, six échantillons d'eau ont été prélevés le long de l'Oued Soummam, en partant d'Akbou jusqu'à son déversement dans la mer Méditerranée (Sidi Ali labher) (Figure N°1). Le choix des points de prélèvement est basé sur les sources de pollution identifiées dans l'Oued et l'accessibilité des sites (Tableau I).






Les échantillons d'eau ont été prélevés le **7 avril 2025**. Ils sont récupérés dans des flacons stériles étiquetés, puis transportés au laboratoire de Microbiologie 2 dans une glacière.


Les prélèvements sont effectués d'une manière stérile, en introduisant le flacon à l'intérieur du l'eau. L'ouverture et la fermeture du flacon se fait à l'intérieur pour éviter toute contamination.



**Figure N°01 :** Position des points de prélèvement le long de l'Oued Soummam. (Google earth)

**Tableau I : Sites de prélèvements**

Région	Coordonnées géographiques	Caractéristiques	Vue générale des stations de prélèvement
<b>Akbou</b>	36.481908, 4.591409	-Activité industrielle intense dont des laiteries, des entreprises d'emballage.	
<b>Takerietz</b>	36.575556, 4.647953	-zone urbaine -élevage intensif à proximité du l'oued.	
<b>Sidi aich</b>	36.611857, 4.694893	-Décharge.  -densité urbaine élevé.	
<b>Timzrit</b>	36.635843, 4.858557	-Zone agricole notamment les oranges et les clémentines.	
<b>El kseur</b>	36.665845, 4.858557	-Récepteur de l'effluent industriel issu de l'usine de production de jus toudja. -Village agricole.	

<b>Sidi lebhar</b>	36.729320, 5.075764	-Activité industrielle notamment cevital.	
------------------------	------------------------	--	--

### III. Analyse des éléments métalliques par la spectrométrie

Les éléments traces métalliques ont été analysés par la spectrométrie d'absorption atomique (SAA) en mode flamme. Les éléments étudiés sont le Plomb (Pb), le Chrome (Cr), le Cadmium (Cd), le Zinc (Zn), le Cuivre (Cu), le Nickel (Ni), le Fer (Fe) et le Magnésium (Mg). L'analyse a été réalisée sur des échantillons d'eau prélevés dans l'Oued Soummam. Elle a été effectuée au **laboratoire de caractérisation 103 (bloc 11)**.

La spectrométrie d'absorption atomique est une méthode quantitative d'analyse des métaux, adaptée à la détermination de 70 éléments. Elle repose sur le passage de la lumière, à une longueur d'onde spécifique, émise par une source de rayonnement. Dans cette étude, la technique utilisée est celle de la spectrométrie d'absorption atomique en flamme, comprenant une tête de brûleur à fente de 10 cm de long, une lampe et une flamme air-acétylène (Arjomandi et Shirkhanloo 2019).



**Figure N°02 :** Spectrométrie d'absorption atomique (SAA)

### III.1. Préparation des étalons pour les courbes d'étalonnages

Afin d'assurer la fiabilité des résultats, une courbe d'étalonnage a été établie pour chaque métal, à partir d'une solution mère à 100 mg/L, en préparant une série d'étalons de concentrations connues.

#### A/ Préparation de la solution fille

La solution mère utilisée est une solution standard de zinc de concentration  $C_1 = 100$  mg/L. À partir de cette solution mère, nous avons préparé une **solution fille** en prélevant **5 mL** de la solution mère, que nous avons introduits dans une fiole jaugée de **50 mL**, puis complétée avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. A partir de cette solution nous avons préparés les étalons.

#### B/Préparation des étalons pour le zinc

Les étalons de zinc ont été préparés selon la relation de dilution :

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Où :

- $C_1 = 100$  mg/L (concentration de la solution mère),
- $C_2$  = concentrations connues de l'étalon (0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mg/L),
- $V_2 = 25$  mL (volume final de chaque étalon),
- $V_1$  = volume à prélever de la solution fille, à calculer

1. Dans chaque fiole jaugée de 25 mL, prélever le volume de solution fille de Zn à l'aide d'une micropipette.
2. Ajouter 0,25 mL d'acide nitrique ( $\text{HNO}_3$ ) comme agent stabilisant afin d'éviter la précipitation des ions  $\text{Zn}^{2+}$ .
3. Compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée, puis homogénéiser doucement.

#### C/ Mesure et construction de la courbe

Ces étalons ont été analysés à l'aide d'un spectromètre d'absorption atomique en flamme, ce qui a permis d'obtenir les valeurs d'absorbance correspondantes. Une droite de régression linéaire a ensuite été tracée selon la loi de Beer–Lambert, servant de référence pour la détermination des concentrations.

Par la suite, les six échantillons d'eau ont été filtrés afin d'éliminer les particules en suspension, puis analysés dans les mêmes conditions. Les absorbances mesurées ont été

interpolées sur la courbe d'étalonnage pour déterminer les concentrations en zinc dans chaque échantillon.

Les mêmes étapes ont été suivies pour la préparation des étalons du Fe, Pb, Ni, Cu, Cd, Cr, Mg.

## IV. Recherche de bacilles à Gram négatifs

### IV. 1. Enrichissement

Un volume de 50mL d'eau de l'échantillon a été transféré dans un flacon stérile contenant 100mL de bouillon nutritif. Les flacons ont été incubés à 37° C pendant 18 à 24h.

### IV. 2. Isolement et purification

À partir des flacons de bouillon nutritif présentant un trouble. Un isolement initial a été réalisé par étalement sur gélose Hektoen afin d'obtenir des colonies distinctes. Après incubation, des repiquages successifs ont été effectués sur le même milieu pour obtenir des colonies pures.

### IV. 3. Identification des souches

Elle repose sur l'observation des caractères cultureux (la couleur, la taille et la forme des colonies) sur les milieux sélectifs (Hektoen, **EMB**, **Chromagar** et **MacConkey**) (**en fonction de leur disponibilité**), la coloration de Gram, ainsi que des tests biochimiques spécifiques (Tableau II).

**Tableau II** : Tests biochimiques utilisés pour l'identification des bacilles à Gram négatifs

tests	principe	Lecture
Fermentation des sucres, production de gaz et H <sub>2</sub> S sur milieu TSI.	Ensemencement du culot par piqûre centrale à l'aide d'une anse droite, suivi de la pente par stries sérieées à partir d'une suspension bactérienne. Incubation à 37°C/24h.	Virage au jaune du fond de tube : Fermentation de glucose (+)  Virage au jaune de la pente : Fermentation de lactose et saccharose (+).  Apparition de bulles d'air : Production de gaz.



		Noircissement de milieu : Production d'H <sub>2</sub> S.
Utilisation de citrate comme seule source de carbone sur milieu citrate de Simmons.	Ensemencement par stries sériées de la pente. Incubation à 37°C/24h à 7 jours.	Un virage au bleu indique un test positif.
Test du mannitol et vérification de la mobilité sur milieu Mannitol Mobilité.	Ensemencement par pique centrale.  Incubation à 37°C/24h.	Virage du culot au jaune : Fermentation de mannitol (+). Diffusion de la culture en dehors de la ligne de pique signifie que la bactérie est mobile.
Test du mannitol et vérification de la mobilité sur milieu Mannitol Mobilité.	Ensemencement par pique centrale.  Incubation à 37°C/24h.	Virage du culot au jaune : Fermentation de mannitol (+). Diffusion de la culture en dehors de la ligne de pique signifie que la bactérie est mobile.
Réduction des nitrates sur bouillon nitraté.	Ensemencement du bouillon à partir de la suspension. Incubation à 37°C/24h.	Après l'ajoute des réactifs NRI et NRII  Coloration rouge: nitrate réductase(+).  Pas de changement de couleur : Nitrate réductase (-), ajouter poudre de zinc Coloration rouge (-), absence de coloration (+).

Production d'indole sur milieu eau peptonée exempte d'indole.	Ensemencement du milieu. Incubation à 37°C et 44°C /24h.	Ajout du réactif de Kovacs, l'apparition d'un anneau rouge indique un résultat positif.
Recherche d'uréase et TDA sur milieu urée indole.	Ensemencement du milieu avec quelques gouttes de la suspension bactérienne. Incubation à 37°/24h.	Changement de couleur au rose indique un test positif [uréase (+)]. Addition du réactif de TDA, Virage au marron: TDA (+)
Etude du type fermentaire sur milieu Clark et Lubs.	Ensemencement du milieu avec de la suspension bactérienne. Incubation à 37°/24h.	On divise le contenu du tube en deux  Ajout des réactifs VPI puis VPII dans le premier tube Virage au rouge : VP(+)  Ajout de rouge de méthyle (RM) Coloration rouge : RM (+).

## V. étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

La détermination de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion en gélose selon la technique standard de l'antibiogramme. Cette méthode repose sur les recommandations établies par le **Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM 2013 et CASFM\_EUCAST \_2024)**.

- **Préparation de l'inoculum**

À partir d'une culture pure de 18 à 24 heures cultivée sur un milieu d'isolement, 3 à 5 colonies bien isolées sont prélevées à l'aide d'une anse stérile. Ces colonies ont été suspendues dans 3 ml d'eau physiologique stérile. La suspension est homogénéisée afin d'obtenir une densité bactérienne équivalente au 0.5 McFarland.

- **Ensemencement**

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage sur la surface d'une gélose Muller Hinton. L'écouvillon est trempé dans la suspension préparée, puis appliqué en stries parallèles sur l'ensemble de la surface du milieu, en procédant à trois rotations successives de la boîte de 60° chacune. Un passage circulaire est également effectué en périphérie pour assurer une répartition uniforme. Après ensemencement, des disques d'antibiotiques sont déposés à l'aide d'une pince stérile (Tableau III). L'incubation est ensuite réalisée à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

**Tableau III** : Liste des ATB testés

Famille	antibiotiques	Abréviation	Charge µg	Diamètres Critiques (mm)	
				S≥	R<
Amino-pénicillines	Amoxicilline+acide clavulanique	AMC	10-20	19	19
C3G	Céftazidime	CAZ	10	22	19
	Céfotaxime	CTX	30	20	17
C2G	Céfoxitine	FOX	30	19	19
monobactames	Aztréonam	ATM	30	26	21
Carbapénèmes	Imipénème	IMP	10	22	19

- **Lecture et interprétation**

Les zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques ont été mesurées. L'interprétation en sensibilité (S), intermédiaire (I) ou résistant (R), est effectuée conformément aux critères du **CASFM/EUCAST**.

## **VI. Phénotypes de résistance**

### **VI. 1. Recherche des $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE)**

La production d'une BLSE est détectée par l'épreuve de synergie qui consiste à placer des disques de céftazidime (CAZ), céfotaxime (CTX) et aztréonam (ATM), à une distance de



20 mm (de centre à centre) d'un disque d'amoxicilline-acide clavulanique (AMC). Les boîtes sont ensuite incubées pendant 18 heures à 37 °C.

L'apparition d'une image de synergie visible entre le disque d'AMC et les disques CAZ, CTX et ATM indique la production d'une BLSE (Jarlier et al 1988).

## VI. 2. Recherche de carbapénémases

La production d'une carbapénémase est recherchée par le Test CIM modifié (Carbapenem Inactivation Method). Il consiste à suspendre une anse de culture bactérienne (*E. coli* ATCC 25922) sensible à tous les antibiotiques utilisée comme témoin négatif, une souche productrice d'une carbapénémase utilisée comme témoin positif et une souche à tester dans des Eppendorfs stériles contenant 500µl d'eau physiologique stérile. Un disque d'imipénème (IMI) est ensuite immergé dans chaque suspension. Les éppendorfs sont incubés à 37°C pendant 2 à 3 heures.

Après incubation, un écouvillon est trempé dans une suspension standardisée d'une souche sensible à l'imipénème (*E. coli* ATCC 25922) et ensemencé en tapis sur une gélose Mueller-Hinton. Les disques d'imipénème préincubés dans les différentes suspensions sont ensuite déposés sur la gélose ensemencée.

Après une incubation de 18h à 37 °C, la lecture s'effectue en observant le diamètre d'inhibition autour du disque d'imipénème. L'absence ou une diminution significative de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème indique une inactivation de l'antibiotique par la souche testée, traduisant la présence d'une activité carbapénémase. À l'inverse, un diamètre d'inhibition important suggère l'absence de production de carbapénémase. Les résultats sont comparés à ceux obtenus avec les souches témoins (Van Der Zwaluw et al. 2015).

## VII. Etude de la tolérance aux métaux lourds

- **Préparation des milieux**

La méthode utilisée est l'étude des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sur milieu solide. Elle repose sur l'ajout de sels métalliques dans le milieu de culture afin d'évaluer la capacité de croissance des souches bactériennes en présence de concentrations croissantes de métaux lourds. Des solutions aqueuses de métaux (Fe, Pb, Zn, Cu, Cr, Ni, Mg, Cd) sous forme de sels hydrosolubles sont préparées séparément dans 100 mL d'eau distillée

stérile. Pour chaque métal, cinq concentrations finales sont testées : 50, 100, 150, 200 et 250 µg/mL. Des volumes appropriés de chaque solution métallique sont ajoutés à des flacons contenant 100 mL de Mueller-Hinton, de manière à atteindre les concentrations souhaitées. Chaque mélange est ensuite autoclavé. Après stérilisation, les milieux sont versés dans des boîtes de Petri (**Edet et al. 2023**).

- **Ensemencement et lecture :**

Une fois les milieux solidifiés, trois spots de 10 µL de suspension bactérienne préparée dans de l'eau physiologique à partir de colonies fraîches sont déposés sur chaque boîte contenant une concentration donnée de métal. Les boîtes sont incubées pendant 18 heures à 37 °C. La lecture consiste à observer la croissance bactérienne sur chaque spot : l'absence de croissance indique une inhibition par le métal à la concentration testée, tandis que la présence de croissance traduit une résistance ou une tolérance phénotypique au métal.



*Résultats*

Notre travail a été réalisé au niveau du **laboratoire de microbiologie 2 (bloc 9)** et du **laboratoire de caractérisation 103 (bloc 11)** de l'Université Abderrahmane Mira de Béjaïa. Il s'est déroulé durant la période allant du **7 avril au 11 juin 2025**.

## **I. Dosage des métaux lourds par la SAA**

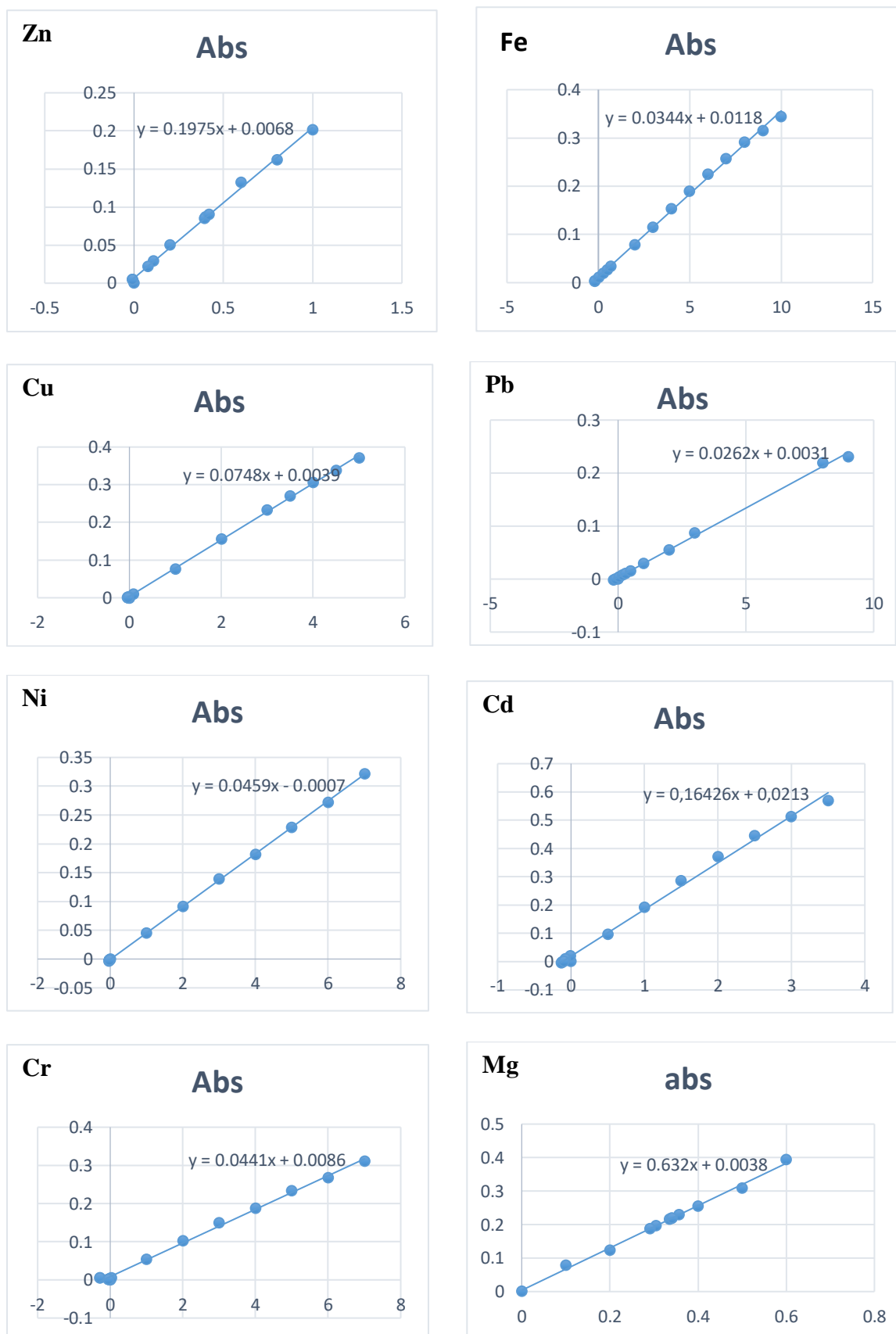
L'analyse par spectrométrie d'absorption atomique (SAA) a permis de quantifier les concentrations de 8 métaux lourds dans six échantillons d'eau prélevés de l'oued Soummam. Les éléments analysés sont : **Zinc (Zn), Fer (Fe), Cuivre (Cu), Plomb (Pb), Nickel (Ni), Cadmium (Cd), Chrome (Cr) et Magnésium (Mg)**.

L'analyse des concentrations en métaux lourds dans les différents échantillons d'eau, révèle des variations significatives selon les zones étudiées et les éléments analysés, les résultats détaillés sont présentés en annexe II.

Le Zn a été retrouvé à des concentrations élevées notamment à Akbou et Sidi Ali Lebhar, tandis qu'il est à l'échelle de trace voire absent dans d'autres stations comme Sidi Aich et El Kseur. Le Fe, quant à lui, est principalement détecté en concentrations positives dans les sites de Sidi Ali Lebhar, El Kseur et Timzrit, alors qu'il est à l'échelle de trace à Akbou et Takerietz. Le Cu est majoritairement absent ou présent à des niveaux très faibles, à l'exception de Takerietz où une légère accumulation est observée. Le Pb montre une contamination notable dans les zones de Sidi Ali Lebhar, El Kseur et Timzrit, en contraste avec Akbou et Takerietz où il reste à l'échelle de trace.

Les métaux Ni, Cd et Cr sont globalement présents à des concentrations négligeables ou à l'échelle de trace dans tous les sites, indiquant une absence de pollution significative par ces éléments. Enfin, le Mg est détecté de manière constante et positive dans toutes les stations.

Ces résultats suggèrent que la pollution métallique dans l'oued Soummam est localisée dans certaines zones spécifiques notamment Sidi Ali Lebhar, El Kseur et Timzrit, avec des métaux comme le Zn, Fe et Pb. (Figure N°3)



**Figure N°03 :** Courbes d'étalonnage pour les métaux analysés par la SAA.

## II. Isolement des souches

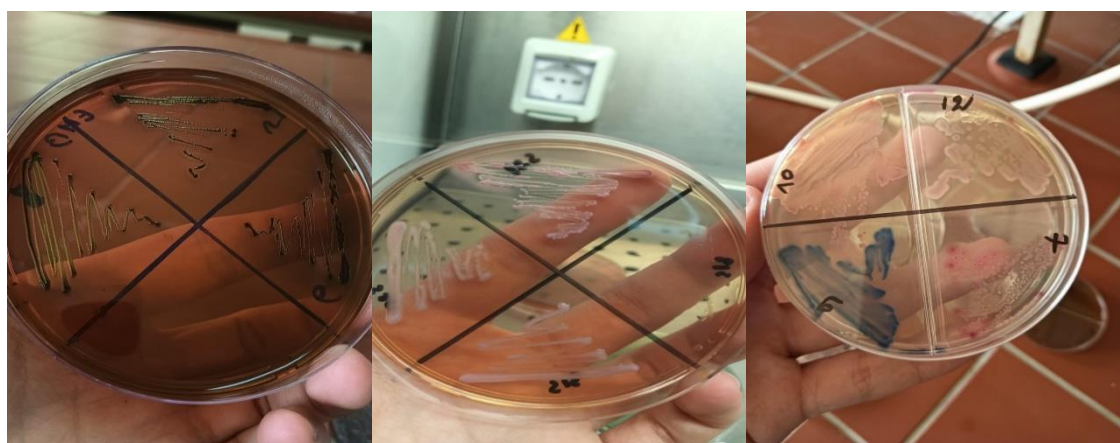
La recherche de bactérie Gram négatif (BGN) résistants aux antibiotiques et aux métaux lourds, a permis d'isoler 28 souches, la répartition des souches par site de prélèvement est donnée dans le tableau III suivant :

**Tableau IV** : Nombre de souches isolées par site de prélèvement

Lieu de Prélèvement	Nombre de souches
Akbou	5
Takerietz	4
Sidi aich	7
Timzrit	4
El Kseur	4
Sidi ali Lebhar	4

## III. Identification des souches

L'identification est basée sur les caractères cultureux des souches sur MacConkey, EMB et CHROMagar Coliforme (Figure N°4), ce qui a permis de distinguer les bactéries selon leur capacité à fermenter le lactose et leur profil chromogénique. Ces observations ont servi de base pour orienter l'identification biochimique des souches isolées.



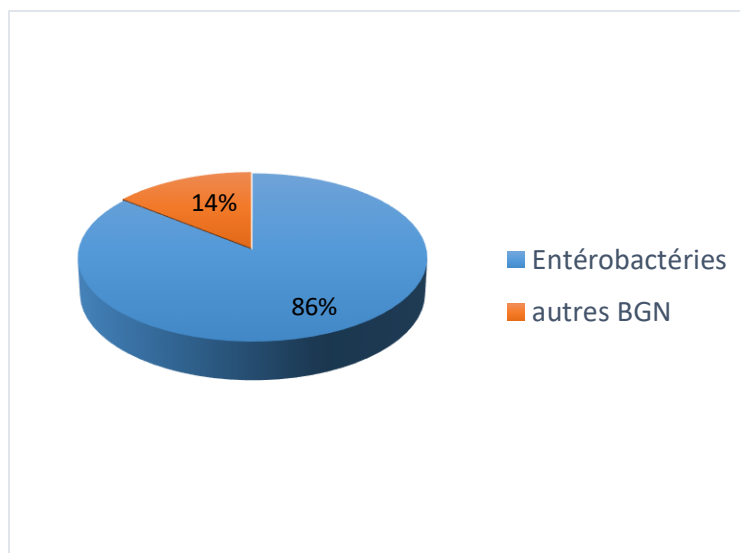
**Gélose EMB**

**gélose MacConkey**

**CHROMagar Coliforme**

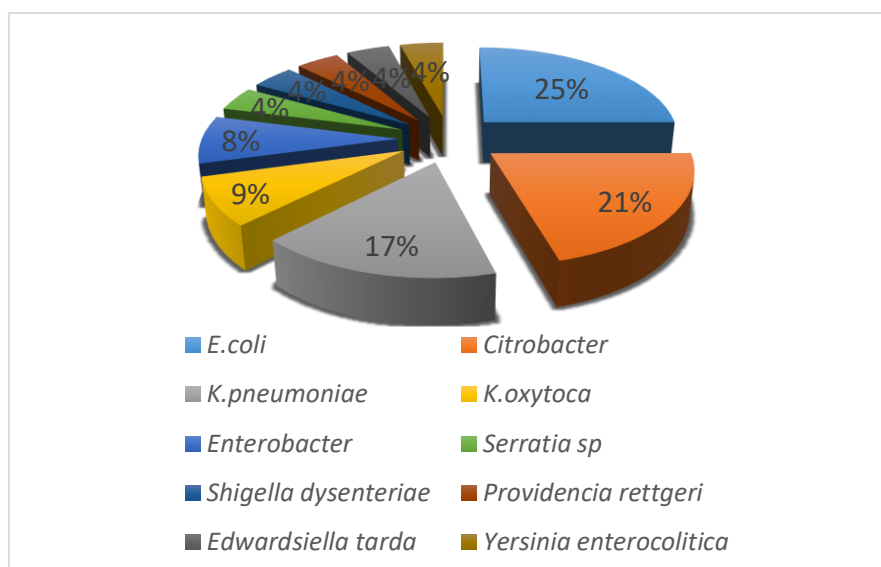
**Figure N°04** : Aspect des colonies bactériennes isolées sur milieux sélectifs

28 souches de bacilles à Gram négatif ont été isolées à partir des échantillons analysés. Parmi elles, 24 souches, soit 85,7 %, sont des Entérobactéries, tandis que 4 souches (14,3 %) appartiennent à d'autres familles de bacilles à Gram négatif. (Figure N°5)



**Figure N°05 :** Répartition des bacilles à Gram négatif.

Parmi les entérobactéries isolées, **Escherichia coli** est l'espèce la plus représentée avec 6 souches, soit 25 % du total. Elle est suivie de **Citrobacter sp** avec 5 souches (20,8 %), puis de **Klebsiella pneumoniae** (4 souches, 16,7 %). **Klebsiella oxytoca** et **Enterobacter sp** comptent chacune 2 souches, représentant 8,3 %. Les espèces **Serratia sp**, **Edwardsiella tarda**, **Providencia rettgeri**, **Shigella dysenteriae** et **Yersinia enterocolitica** sont, quant à elles, représentées chacune par une seule souche, soit 4,2 %. (Figure N°6). En ce qui concerne les autres bacilles à Gram négatif, une seule souche a été isolée pour chacune des espèces suivantes : **Acinetobacter sp**, **Shewanella sp**, **Pseudomonas sp** et **Stenotrophomonas maltophilia**, représentant chacune 3,6 % de l'ensemble des isolats

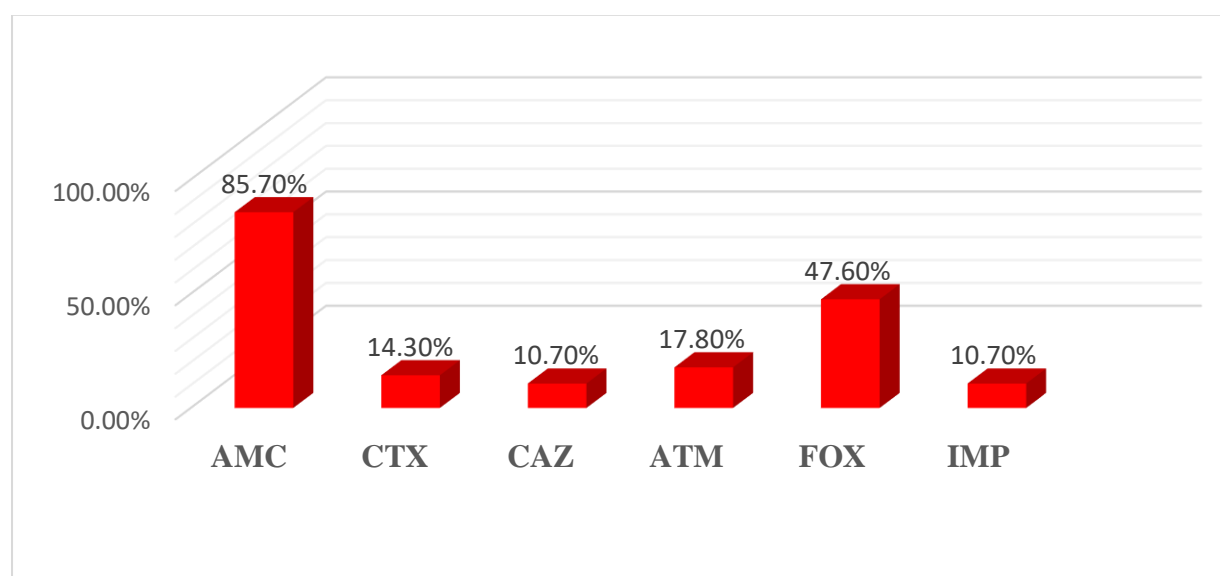


**Figure N°06 : Répartition des entérobactéries isolées par espèce**

## VI. Sensibilité des souches isolées aux antibiotiques

Les 28 souches bactériennes à Gram négatif isolées ont été testées vis-à-vis de 6 antibiotiques  $\beta$ -lactamines : amoxicilline-acide clavulanique (AMC), céfotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), aztréonam (ATM), céfoxitine (FOX) et imipénème (IMP). Les résultats de la sensibilité des souches à ces antibiotiques sont présentés dans l'annexe V.

La figure N°07 montre des taux de résistance des souches isolées vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines testées. La résistance au l'AMC est observée avec un taux important allant jusqu'à 85,7% , suivi de la résistance au FOX, ATM ,CTX, CAZ, et IMP avec des taux de 47,6% , 17,8%,14,3%,10,7% et 10,7% respectivement.



**Figure N°07: Taux de résistance des souches isolées aux  $\beta$ -lactamines**



## V. Phénotypes de résistance probables

### V.1- Recherche de BLSE

Le DD-test montre la présence d'une image de synergie pour 2 souches (*Klebsiella oxytoca*, et *Edwardseilla tarda*) ; elles sont donc probablement productrices d'une BLSE



Souche BLSE+

souche BLSE-

**Figure n°08 :** Photos de souches productrices ou pas de BLSE

### V. 2- Recherche de carbapénémases

Les 3 souches (*Klebsiella oxytoca*, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Edwardseilla tarda*) résistantes à l'imipénème présentent un test CIM positif, elles sont donc probablement productrices de carbapénémases.

## IV. Résistance des souches aux métaux lourds

Parmi les 28 souches testées, la sensibilité aux 8 métaux lourds a été évaluée à différentes concentrations (Figure N°10). Les résultats sont exprimés en pourcentages. Un taux de résistance de 100 % a été observé pour le fer (Fe), le plomb (Pb), le chrome (Cr) et le magnésium (Mg), indiquant que toutes les souches sont résistantes à la concentration maximale testée (250 µg/mL).

Pour cette même concentration (250 µg/mL), les taux de résistance pour les souches sont de 39,3 % pour le zinc (Zn), 25 % pour le cadmium (Cd) et 21,4 % pour le cuivre (Cu). Le nickel (Ni) avec un taux de résistance nul (0 %). (Figure N°9)

Les tableaux V suivant donne le pourcentage de souches résistantes aux Cu, Cd, Ni, Zn à différentes concentrations.

**Tableaux V** : Résistance des souches aux Cu, Cd, Ni, Zn

- **Résistance au cuivre (Cu)**

<b>concentration (µg/mL)</b>	<b>Nombre de souches</b>	<b>Pourcentage (%)</b>
250	6	21,4%
200	16	57,1%
150	26	92,9%
100	28	100%
50	28	100%

- **Résistance au Cadmium (Cd)**

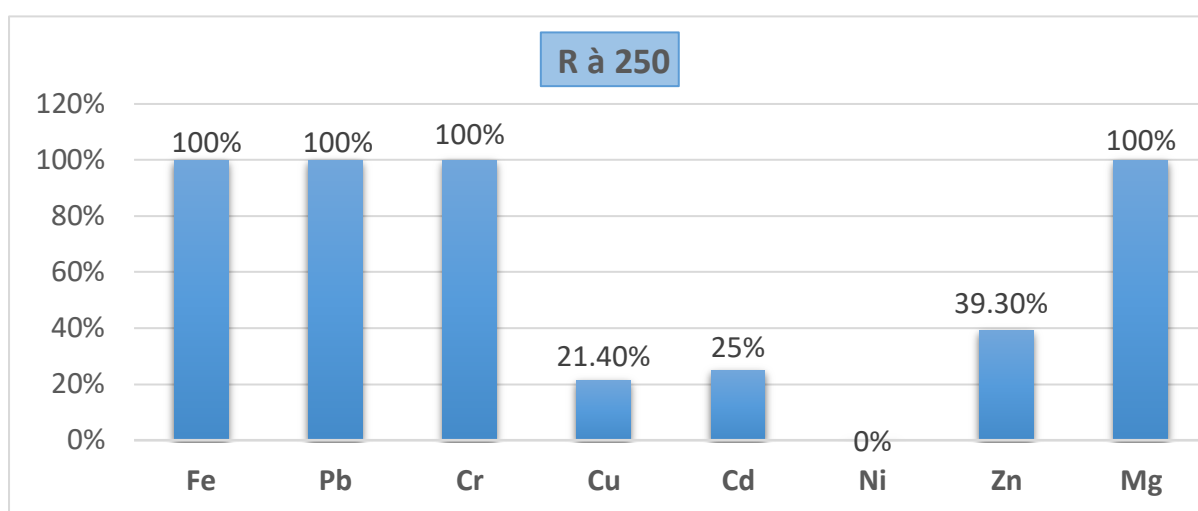
<b>concentration (µg/mL)</b>	<b>Nombre de souches</b>	<b>Pourcentage (%)</b>
<b>250</b>	<b>7</b>	<b>25%</b>
<b>200</b>	<b>12</b>	<b>42,9%</b>
<b>150</b>	<b>13</b>	<b>46,4%</b>
<b>100</b>	<b>18</b>	<b>64,3%</b>
<b>50</b>	<b>25</b>	<b>89,3%</b>
<b>Sensibles</b>	<b>3</b>	<b>10,7%</b>

- **Résistance au nickel (Ni)**

<b>concentration (µg/mL)</b>	<b>Nombre de souches</b>	<b>Pourcentage (%)</b>
250	<b>0</b>	<b>0%</b>
200	0	0%
150	1	3,6%
100	28	100%
50	28	100%

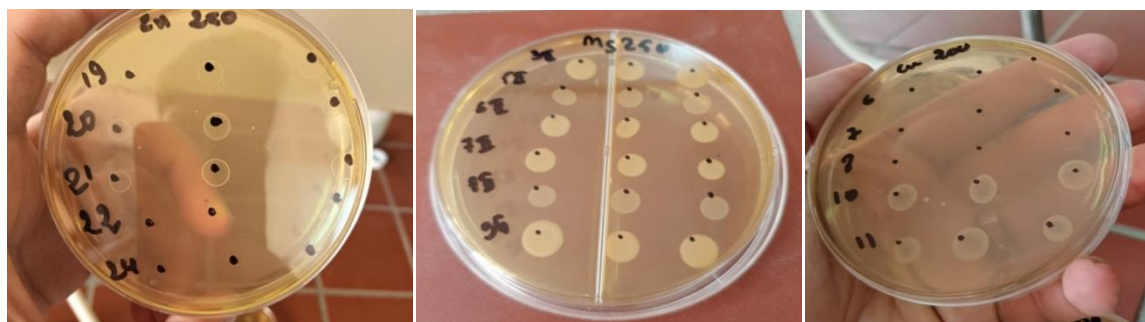
- **Résistance au Zinc (Zn)**

concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	Nombre de souches	Pourcentage (%)
250	11	39,3%
200	15	53,6%
150	25	89,3%
100	27	96,4%
50	27	96,4%
Sensible	1	3,6%



**Figure n°09 :** Taux de résistance des souches bactériennes aux métaux lourds à 250  $\mu\text{g/mL}$ .

R : Résistance



**Figure N°10 :** Photos qui montrent les résultats des CMI des métaux lourds



# *Discussion*

L'analyse par spectrométrie d'absorption atomique des métaux lourds dans l'oued Soummam a révélé la présence du Zn, du Fe et du Pb. Le Zn a été retrouvé à des concentrations particulièrement élevées à Akbou et Sidi Ali Lebhar, tandis que le Fe et le Pb ont été majoritairement détectés à Sidi Ali Lebhar, El Kseur et Timzrit, Confirmant une pollution métallique localisée, probablement liée aux activités anthropiques (urbaine, agriculture, industries) près des sites de Sidi Ali Lebhar, El Kseur et timzrit. Les concentrations du Cu n'étaient pas très importantes dans l'ensemble des stations, à l'exception de Takerietz où une concentration légèrement supérieure a été enregistrée, suggérant une source locale ponctuelle. Le Mg, quant à lui, a été détecté dans toutes les stations, témoignant d'une présence diffuse mais constante dans les eaux de l'oued. En revanche, le Ni, le Cd et le Cr n'ont été retrouvés qu'à l'état de traces, indiquant une faible contamination par ces éléments.

Ces résultats sont très différents de ceux rapportés par **Louhi et ses collaborateurs** dans les sédiments de la rivière Seybouse, située dans la **zone industrielle de la plaine d'Annaba en Algérie**, où les sédiments contenaient des niveaux très élevés de Fe, Zn, Pb et Cu, largement au-dessus des seuils de contamination acceptables. Cette différence s'explique probablement par la nature des échantillons analysés (eaux de surface dans notre étude contre sédiments dans la leur) ainsi que par l'intensité des activités humaines propres à chaque région (**Louhi et al. 2012**).

28 souches de bacilles à Gram négatif ont été isolées à partir d'échantillons d'eau de surface collectés dans différentes stations le long de l'oued Soummam. **86 % des souches isolées appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae**, tandis que les **14 % restants sont d'autres bacilles à Gram négatif non fermentaires**. Ce taux élevé d'*Enterobacteriaceae* est supérieur à celui rapporté par **Jofré Bartholin et ses collaborateurs** au Chili, où seulement **13,3 %** appartenaient à cette famille, tandis que 86,7 % étaient constituées de bacilles non fermentaires (*Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Stenotrophomonas*) (**Jofré Bartholin et al. 2023**).

Dans une autre étude, réalisée par **Matyar et ses collaborateurs** sur la **résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds** chez les bacilles à Gram négatif isolés du lac et de la rivière Seyhan (Turquie), un total de **268 souches de bacilles à Gram négatif** a été isolé à partir de cinq sites différents. Parmi ces isolats, **8,9 % étaient des *Citrobacter freundii*** et **7,5 % des *Escherichia coli***, deux espèces appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, soit un

**taux cumulé d'environ 16,4 % (Matyar et al. 2014), nettement inférieur à celui obtenu dans notre étude (86 %).** En revanche, les espèces les plus représentées étaient *Aeromonas hydrophila* (17,5 %) et *Aeromonas caviae* (8,9 %), des bacilles non fermentaires, ce qui témoigne d'une **dominance d'espèces aquatiques opportunistes** dans leur environnement. **Dans notre étude *Acinetobacter* sp, *Shewanella* sp, *Pseudomonas* sp et *Stenotrophomonas maltophilia*, ont été isolées représentant chacune 3,6 % de l'ensemble des isolats. *Shewanella* sp, a été retrouvé également par Tafoukt et ses collaborateurs, en 2018 (Tafoukt et al. 2018).**

Durant cette étude, parmi les 86% des entérobactéries, 25 % des souches étaient identifiées comme étant des *E. coli*. Cette bactérie sert à évaluer la qualité de l'eau, elle est utilisée comme indice de pollution par les eaux usées, de l'eau potable (Holcomb et Stewart 2020). **Nous avons également isolé d'autres entérobactéries: *Citrobacter* sp (20,8 %), *K.pneumoniae* (16,7 %), *K.oxytoca* et *Enterobacter* sp (8,3 % chacun), ainsi que *Serratia* sp, *Shigella dysenteriae*, *Providencia rettgeri*, *Edwardseilla tarda* et *Yersinia enterocolitica* (4,2 % chacun). Ces résultats soulignent la diversité des entérobactéries dans l'Oued Soummam, témoignant non seulement d'une pollution fécale par *E. coli*, mais aussi d'une contamination par d'autres genres opportunistes, même résultat rapporté par Tafoukt et ses collaborateurs en 2017 (Tafoukt et al, 2017).**

Diverses études montrent que ces genres peuvent accumuler des gènes de résistance, notamment BLSE ou carbapénèmases, contribuant ainsi à la dissémination de la résistance aux antibiotiques dans les environnements aquatiques (Lu et al. 2010; Hammer-Dedet et al. 2020)

L'analyse des profils de résistance des 28 souches à Gram négatif met en évidence une prévalence élevée de la résistance à l'amoxicilline-acide clavulanique (85,7 %), suggérant une forte pression de sélection dans l'environnement étudié, probablement liée aux rejets domestiques ou hospitaliers. La céfoxitine présente également un taux de résistance important (47,6 %), ce qui pourrait indiquer la présence de souches productrices de céphalosporinases de type AmpC. En revanche, les taux de résistance au céfotaxime (14,3 %), à la **ceftazidime** (10,7 %) et à l'**aztréonam** (17,8 %) restent modérés, tout comme celui observé pour l'**imipénème** (10,7 %), molécule souvent réservée aux infections graves. Les résultats de **Djouadi et ses collaborateurs**, ont montré une **absence totale de résistance à l'imipénème, (Djouadi et al. 2017).** Tandis que celle de (Tafoukt et al, 2017), ont rapporté des taux de résistance plus élevés, ce qui peut être expliqué leur méthode d'isolement qui sélectionne les souches résistantes.

Par ailleurs, une comparaison avec l'étude menée par **Amadore et ses collaborateurs** en 2015 confirme également une forte résistance à la céfoxitine (53,5 %) et des niveaux modérés pour la céfotaxime, la ceftazidime, l'aztréonam et l'imipénème. Toutefois, leurs taux de résistance à l'amoxicilline-acide clavulanique restent nettement inférieurs à ceux observés dans notre étude. Ces différences pourraient être liées à la nature des effluents, à la pression de sélection locale ou aux contextes géographiques distincts des deux études (**Amador et al. 2015**).

Au cours de notre étude, les résultats de la résistance des souches isolées vis-à-vis des métaux lourds rejoignent partiellement ceux rapportés par **Yamina et ses collaborateurs en 2012**, qui ont également mis en évidence une forte résistance des souches bactériennes aux métaux lourds, notamment au zinc, au plomb, au chrome et au cadmium.

Nos résultats ont montré une résistance (100 %) maximale pour le fer, le plomb, le chrome et le magnésium, mais aussi des niveaux élevés de résistance ont été enregistrés pour le cuivre (21,4 % des souches résistantes à 250 µg/mL) et le zinc (39,3 % à la même concentration). En revanche, la tolérance au nickel et au cadmium reste plus modérée, **particulièrement pour le nickel, pour lequel une seule souche a pu croître à 150 µg/mL**, et aucune à des concentrations supérieures. Ces écarts peuvent être attribués à la nature des souches isolées, à la composition des effluents ou à la pression sélective spécifique à chaque environnement.

**Yamina et ses collaborateurs** ont évalué la résistance aux métaux lourds sur gélose nutritive, avec des concentrations allant de 100 à 1 500 µg/mL, augmentées par paliers de 50 µg/mL. Leurs résultats ont montré que certaines souches, comme *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter sp.*, tolèrent des concentrations très élevées de chrome et de plomb, bien au-delà des seuils testés dans notre étude. Pour le cadmium, les CMI rapportées (150 µg/mL) sont proches de celles observées dans notre série. Mais il est à noter que **25 % de nos souches tolèrent une concentration plus élevée, à 250 µg/mL**. En revanche, la résistance au zinc semble plus marquée dans leur étude, certaines souches atteignant 500 µg/mL, alors que nos isolats ont montrés des CMI à 150 µg/mL. Ces écarts peuvent être liés à la diversité bactérienne, aux niveaux de pollution ou aux conditions expérimentales (**Yamina et al. 2012**).

Nos résultats peuvent également être comparés à ceux rapportés **par Edet et ses collaborateurs**, qui ont évalué la résistance de souches multirésistantes aux antibiotiques face à des concentrations croissantes de chrome, de cadmium et de plomb (50 à 250 µg/mL). Les

CMI observées dans notre étude sont plus élevées, notamment pour le chrome et le plomb. Alors que leurs isolats deviennent totalement sensibles au chrome à 250 µg/mL. Pour le cadmium, les deux études montrent des niveaux de résistance comparables, bien que 25 % de nos souches aient poussé à une concentration de 250 µg/mL contre 10 % chez Edet. Enfin, la résistance au plomb reste nettement plus marquée dans notre étude (100 %) comparée à celle de Edet (20 %), ce qui pourrait refléter une exposition environnementale plus soutenue dans notre site d'étude (**Edet et al. 2023**).





# *Conclusion*

Dans les milieux aquatiques, la pollution par les rejets domestiques, agricoles et industriels représente une menace croissante. Cette pollution peut modifier l'équilibre microbien des cours d'eau et favoriser l'émergence de bactéries résistantes.

Dans cette étude la présence de métaux lourds à des concentrations élevées (zinc, fer et plomb) dans l'eau de l'oued Soummam a été confirmée par la SAA., notamment dans les stations de Sidi Ali Lebhar, timzrit et El Kseur.

Au cours de ce travail, nous avons étudié la co-résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds chez des 28 BGN isolés. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a révélé une forte résistance aux  $\beta$ -lactamines, notamment à l'AMC. Le test de synergie (DD-test) a permis de suspecter la production de BLSE chez 2 souches, tandis que trois souches ont montré un profil de production possible de carbapénémases (CIM positif). Parallèlement, l'analyse de la résistance aux métaux lourds (Fe, Pb, Cr, Mg, Cu, Cd, Ni, Zn) a montré que toutes les souches étudiées résistent aux métaux Fe, Pb, Cr et Mg.

Ainsi, les résultats obtenus au cours de ce travail confirment que l'oued Soummam, héberge une flore bactérienne résistante, capable de survivre dans des conditions environnementales hostiles, marquées par la présence simultanée de polluants chimiques et d'antibiotiques. La co-résistance observée entre métaux lourds et antibiotiques chez plusieurs souches témoigne de la pression sélective exercée par ces contaminants, et souligne l'importance de surveiller ces interactions dans une optique de gestion intégrée des risques environnementaux et sanitaires.

Enfin, cette étude met en lumière la nécessité d'actions concertées pour limiter les rejets polluants dans les écosystèmes aquatiques. Une meilleure régulation des effluents domestiques, industriels et hospitaliers, ainsi qu'un suivi microbiologique et chimique régulier, sont indispensables pour préserver la qualité des eaux et freiner la propagation des résistances bactériennes. Ce travail étant préliminaire, il serait utile de le compléter par :

- Isolement d'un plus grand nombre de souches en incluant les bactéries Gram positif ;
- Recherche la présence de résidus d'antibiotiques dans l'oued Soummam ;
- Utilisation de la biologie moléculaire (PCR) pour confirmer les gènes de résistance aux antibiotiques et identifier les gènes de résistance aux métaux lourds ;
- Etude de la co-sélection entre antibiotiques et métaux lourds au niveau génétique.



# *Références*

## A

- Abushaheen, Manar Ali, Muzahheed, Amal Jamil Fatani, Mohammed Alosaimi, Wael Mansy, Merin George, Sadananda Acharya, et al. 2020. « Antimicrobial Resistance, Mechanisms and Its Clinical Significance ». *Disease-a-Month* 66 (6): 100971.  
<https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2020.100971>.
- Amador, Paula P., Ruben M. Fernandes, Maria C. Prudêncio, Mário P. Barreto, et Isabel M. Duarte. 2015. « Antibiotic Resistance in Wastewater: Occurrence and Fate of *Enterobacteriaceae* Producers of Class A and Class C  $\beta$ -Lactamases ». *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 50 (1): 26-39. <https://doi.org/10.1080/10934529.2015.964602>.
- Arjomandi, Mojtaba, et Hamid Shirkhanloo. 2019. « A Review: Analytical Methods for Heavy Metals Determination in Environment and Human Samples ». *Analytical Methods in Environmental Chemistry Journal* 2 (3): 97-126. <https://doi.org/10.24200/amecj.v2.i03.73>.
- Ayangbenro, Ayansina, et Olubukola Babalola. 2017. « A New Strategy for Heavy Metal Polluted Environments: A Review of Microbial Biosorbents ». *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14 (1): 94. <https://doi.org/10.3390/ijerph14010094>.

## B

- Bisaccia, Melissa, Francesca Berini, Flavia Marinelli, et Elisa Binda. 2025. « Emerging Trends in Antimicrobial Resistance in Polar Aquatic Ecosystems ». *Antibiotics* 14 (4): 394.  
<https://doi.org/10.3390/antibiotics14040394>.

## C

- Cheung, Calum, Patrick J. Naughton, James S. G. Dooley, Nicolae Corcionivoschi, et Cathy Brooks. 2025. « The Spread of Antimicrobial Resistance in the Aquatic Environment from Faecal Pollution: A Scoping Review of a Multifaceted Issue ». *Environmental Monitoring and Assessment* 197 (4): 467. <https://doi.org/10.1007/s10661-025-13860-7>.
- Christensen, Søren Brøgger. 2021. « Drugs That Changed Society: History and Current Status of the Early Antibiotics: Salvarsan, Sulfonamides, and  $\beta$ -Lactams ». *Molecules* 26 (19): 6057.  
<https://doi.org/10.3390/molecules26196057>.

## D

- Dickinson, A.W., A. Power, M.G. Hansen, K.K. Brandt, G. Piliposian, P. Appleby, P.A. O'Neill, et al. 2019a. « Heavy Metal Pollution and Co-Selection for Antibiotic Resistance: A Microbial Palaeontology Approach ». *Environment International* 132 (novembre):105117.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105117>.

———. 2019b. « Heavy Metal Pollution and Co-Selection for Antibiotic Resistance: A Microbial Palaeontology Approach ». *Environment International* 132 (novembre):105117.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105117>.

Djouadi, Lydia Neïla, Okba Selama, Ahmed Abderrahmani, Amel Bouanane-Darenfed, Lamia Abdellaziz, Meriam Amziane, Marie-Laure Fardeau, et Farida Nateche. 2017. « Multiresistant Opportunistic Pathogenic Bacteria Isolated from Polluted Rivers and First Detection of Nontuberculous Mycobacteria in the Algerian Aquatic Environment ». *Journal of Water and Health* 15 (4): 566-79. <https://doi.org/10.2166/wh.2017.309>.

## E

Edet, Uwem Okon, Ini Ubi Bassey, et Akaninyene Paul Joseph. 2023. « Heavy Metal Co-Resistance with Antibiotics amongst Bacteria Isolates from an Open Dumpsite Soil ». *Heliyon* 9 (2): e13457. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13457>.

## G

Gillieatt, Brodie F, et Nicholas V Coleman. 2024. « Unravelling the Mechanisms of Antibiotic and Heavy Metal Resistance Co-Selection in Environmental Bacteria ». *FEMS Microbiology Reviews* 48 (4): fuae017. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuae017>.

Grall, N., A. Andremont, et L. Armand-Lefèvre. 2011. « Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ? » *Journal des Anti-infectieux* 13 (2): 87-102.  
<https://doi.org/10.1016/j.antinf.2011.03.005>.

## H

Hammer-Dedet, Florence, Estelle Jumas-Bilak, et Patricia Licznar-Fajardo. 2020. « The Hydric Environment: A Hub for Clinically Relevant Carbapenemase Encoding Genes ». *Antibiotics* 9 (10): 699. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100699>.

Holcomb, David A., et Jill R. Stewart. 2020. « Microbial Indicators of Fecal Pollution: Recent Progress and Challenges in Assessing Water Quality ». *Current Environmental Health Reports* 7 (3): 311-24. <https://doi.org/10.1007/s40572-020-00278-1>.

## J

Jofré Bartholin, Matías, Boris Barrera Vega, et Liliana Berrocal Silva. 2023. « Antibiotic-Resistant Bacteria in Environmental Water Sources from Southern Chile: A Potential Threat to Human Health ». *Microbiology Research* 14 (4): 1764-73.  
<https://doi.org/10.3390/microbiolres14040121>.

## K

- Kapoor, Garima, Saurabh Saigal, et Ashok Elongavan. 2017. « Action and Resistance Mechanisms of Antibiotics: A Guide for Clinicians ». *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology* 33 (3): 300. [https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP\\_349\\_15](https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15).
- Kirchhelle, Claas. 2018. « Pharming Animals: A Global History of Antibiotics in Food Production (1935–2017) ». *Palgrave Communications* 4 (1): 96. <https://doi.org/10.1057/s41599-018-0152-2>.
- Kümmerer, Klaus. 2009. « Antibiotics in the Aquatic Environment – A Review – Part I ». *Chemosphere* 75 (4): 417-34. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>.

## L

- Liguori, Krista, Ishi Keenum, Benjamin C. Davis, Jeanette Calarco, Erin Milligan, Valerie J. Harwood, et Amy Pruden. 2022. « Antimicrobial Resistance Monitoring of Water Environments: A Framework for Standardized Methods and Quality Control ». *Environmental Science & Technology* 56 (13): 9149-60. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c08918>.
- Louhi, Achour, Atika Hammadi, et Mabrouka Achouri. 2012. « Determination of Some Heavy Metal Pollutants in Sediments of the Seybouse River in Annaba, Algeria ». *Air, Soil and Water Research* 5 (janvier):ASWR.S10081. <https://doi.org/10.4137/ASWR.S10081>.
- Lu, Su-Ying, Ya-Li Zhang, Sui-Na Geng, Tian-Yu Li, Zhuo-Ming Ye, Dong-Sheng Zhang, Fei Zou, et Hong-Wei Zhou. 2010. « High Diversity of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Bacteria in an Urban River Sediment Habitat ». *Applied and Environmental Microbiology* 76 (17): 5972-76. <https://doi.org/10.1128/AEM.00711-10>.

## M

- Maria Shafiq, et Yasir Rehman. 2024. « Mechanisms of Toxicity of Heavy Metals and the Microbial Strategies for Their Mitigation: A Review ». *THE JOURNAL OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR GENETICS* 5 (1): 45-63. <https://doi.org/10.52700/jmmg.v5i1.155>.
- Martinez, Jose Luis. 2009. « Environmental Pollution by Antibiotics and by Antibiotic Resistance Determinants ». *Environmental Pollution* 157 (11): 2893-2902. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.05.051>.
- Martins, Vinicius Vicente, Maria Olívia Barboza Zanetti, André Pitondo-Silva, et Eliana Guedes Stehling. 2014. « Aquatic Environments Polluted with Antibiotics and Heavy Metals: A Human Health Hazard ». *Environmental Science and Pollution Research* 21 (9): 5873-78. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2509-4>.
- Mathivanan, Krishnamurthy, Jayaraman Uthaya Chandirika, Annadurai Vinothkanna, Huaqun Yin, Xueduan Liu, et Delong Meng. 2021. « Bacterial Adaptive Strategies to Cope with Metal

- Toxicity in the Contaminated Environment – A Review ». *Ecotoxicology and Environmental Safety* 226 (décembre):112863. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112863>.
- Matyar, Fatih, Osman Gülnaz, Gulcihan Guzeldag, H. Aysun Mercimek, Sayim Akturk, Afet Arkut, et Melis Sumengen. 2014. « Antibiotic and Heavy Metal Resistance in Gram-Negative Bacteria Isolated from the Seyhan Dam Lake and Seyhan River in Turkey ». *Annals of Microbiology* 64 (3): 1033-40. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0740-8>.
- McManus, Patricia S., Virginia O. Stockwell, George W. Sundin, et Alan L. Jones. 2002. « ANTIBIOTIC USE IN PLANT AGRICULTURE ». *Annual Review of Phytopathology* 40 (1): 443-65. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.120301.093927>.
- Mouni, Lotfi, Djoudi Merabet, Hamid Arkoub, et Karim Moussaceb. 2009. « Étude et caractérisation physico-chimique des eaux de l’oued Soummam (Algérie) ». *Sécheresse* 20 (4): 360-66. <https://doi.org/10.1684/sec.2009.0209>.

## N

- Nnaji, Nnabueze Darlington, Chukwudi U Anyanwu, Taghi Miri, et Helen Onyeaka. 2024. « Mechanisms of Heavy Metal Tolerance in Bacteria: A Review ». *Sustainability* 16 (24): 11124. <https://doi.org/10.3390/su162411124>.

## P

- « Plasmid Incidence, Antibiotic and Metal Resistance among Enterobacteriaceae Isolated from Algerian Streams ». s. d. Consulté le 21 juin 2025. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2009.1474.1482>.
- Public Health Agency of Canada, Canadian Food Inspection Agency, Canadian Institutes of Health Research, Health Canada, et Agriculture and Agri-Food Canada. 2014. « Antimicrobial Resistance and Use in Canada: A Federal Framework for Action ». *Canada Communicable Disease Report* 40 (S2): 2-5. <https://doi.org/10.14745/ccdr.v40is2a01>.

## S

- Samreen, Iqbal Ahmad, Hesham A. Malak, et Hussein H. Abulreesh. 2021. « Environmental Antimicrobial Resistance and Its Drivers: A Potential Threat to Public Health ». *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 27 (décembre):101-11. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.08.001>.
- Seiler, Claudia, et Thomas U. Berendonk. 2012a. « Heavy Metal Driven Co-Selection of Antibiotic Resistance in Soil and Water Bodies Impacted by Agriculture and Aquaculture ». *Frontiers in Microbiology* 3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00399>.

- . 2012b. « Heavy Metal Driven Co-Selection of Antibiotic Resistance in Soil and Water Bodies Impacted by Agriculture and Aquaculture ». *Frontiers in Microbiology* 3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00399>.
- Singer, Andrew C., Helen Shaw, Vicki Rhodes, et Alwyn Hart. 2016. « Review of Antimicrobial Resistance in the Environment and Its Relevance to Environmental Regulators ». *Frontiers in Microbiology* 7 (novembre). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01728>.
- Skandalis, Nicholas, Marlène Maeusli, Dimitris Papafotis, Sarah Miller, Bosul Lee, Ioannis Theologidis, et Brian Luna. 2021. « Environmental Spread of Antibiotic Resistance ». *Antibiotics* 10 (6): 640. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060640>.

## T

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

## U

- Upmanyu, Neha, et Viveka Nand Malviya. 2020. « Antibiotics: Mechanisms of Action and Modern Challenges ». In *Microorganisms for Sustainable Environment and Health*, 367-82. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819001-2.00018-8>.

## V

- Van Boeckel, Thomas P., Charles Brower, Marius Gilbert, Bryan T. Grenfell, Simon A. Levin, Timothy P. Robinson, Aude Teillant, et Ramanan Laxminarayan. 2015. « Global Trends in Antimicrobial Use in Food Animals ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (18): 5649-54. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>.
- Van Der Zwaluw, Kim, Angela De Haan, Gerlinde N. Pluister, Hester J. Bootsma, Albert J. De Neeling, et Leo M. Schouls. 2015. « The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a Simple and Low-Cost Alternative for the Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram-Negative Rods ». Édité par Holger Rohde. *PLOS ONE* 10 (3): e0123690. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123690>.

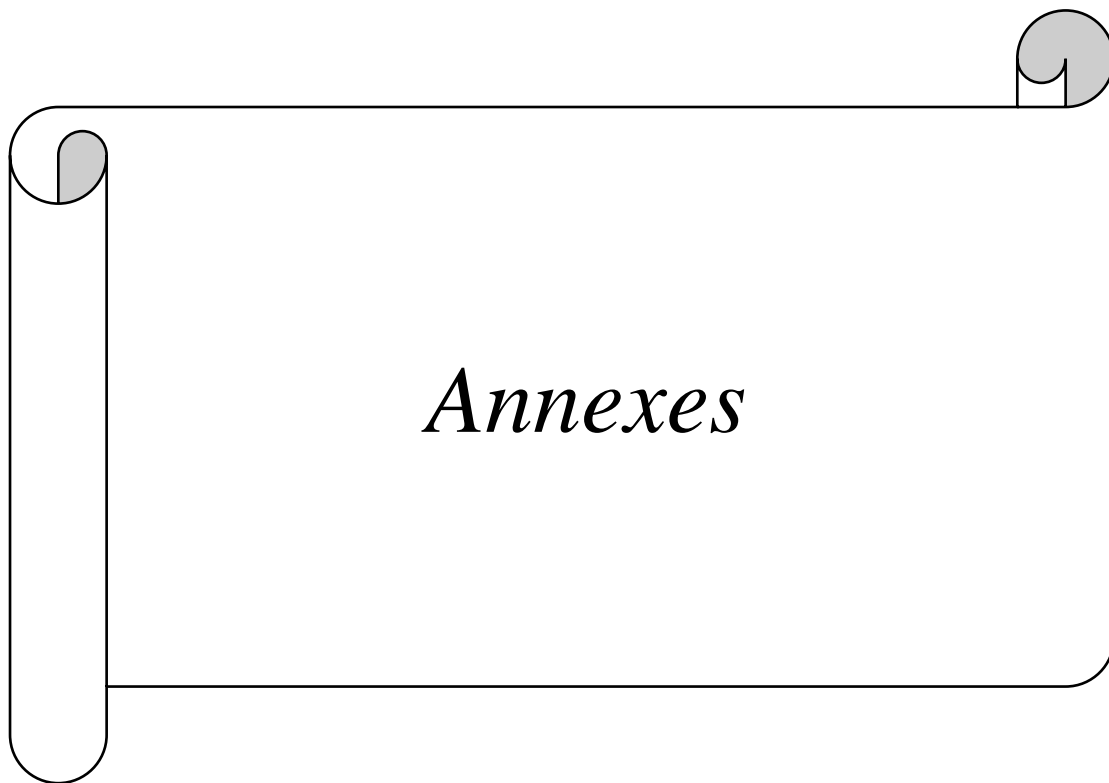
## W

- World Health Organization. 2018. *WHO Report on Surveillance of Antibiotic Consumption: 2016-2018 Early Implementation*. Geneva: World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/277359>.



**Y**

- Yamina, Benmalek, Benayad Tahar, et Fardeau Marie Laure. 2012. « Isolation and Screening of Heavy Metal Resistant Bacteria from Wastewater: A Study of Heavy Metal Co-Resistance and Antibiotics Resistance ». *Water Science and Technology* 66 (10): [2041-48](#).  
<https://doi.org/10.2166/wst.2012.355>.



## Annexe I

Concentrations des étalons et volumes prélevés des solutions filles pour les métaux analysés en spectrométrie.

Solution fille des solutions métalliques	Concentrations des étalons (mg/l)	Volumes prélevé (ml)
Zn	C1=0,2/ C2=0,4/ C3=0,6/ C4=0,8/ C5=1	V1=0,05 / V2=0,1 / V3=0,15 / V4=0,2 / V5=0,25
Fe	C1=1/ C2=2/ C3=3 / C4=4 / C5=5/ C6=6/ C7=7 / C8=8/ C9=9 / C10=10	V1=0,25 / V2=0,5/ V3=0,75 / V4=1 / V5=1,25/ V6=1,5 / V7=1,75/ V8=2/ V9=2,25 / V10=2,5
Cu	C1=1/ C2=2/ C3=3 / C4=3,5/ C5=4/ C6=4,5/ C7=5	V1=0,25 / V2=0,5 / V3=0,75 / V4=0,875 / V5=1 / V6=1,125/ V7=1,25
Pb	C1=1/ C2=2/ C3=3 / C4=4 / C5=5/ C6=6/ C7=7 / C8=8/ C9=9	V1=0,25 / V2=0,5/ V3=0,75 / V4=1 / V5=1,25/ V6=1,5/ V7=1,75 / V8=2/ V9=2,25
Cd	C1=0,5 / C2=1 / C3=1,5 / C4=2 / C5=2,5 / C6=3 / C7=3,5	V1=0,125 / V2=0,25 / V3=0,375 / V4=0,5 / V5=0,625/ V6=0,75 / V7=0,875
Ni	C1=1/ C2=2/ C3=3 / C4=4 / C5=5/ C6=6/ C7=7	V1=0,25 / V2=0,5 / V3=0,75 / V4=1 / V5=1,25 / V6=1,5/ V7=1,75
Cr	C1=1/ C2=2/ C3=3 / C4=4 / C5=5/ C6=6/ C7=7	V1=0,25 / V2=0,5 / V3=0,75/ V4=1/ V5=1,25/ V6=1,5 / V7=1,75
Mg	C1=0,1/ C2=0,2/ C3=0,3 / C4=0,4 / C5=0,5/ C6=0,6	V1=0,025 / V2=0,05 / V3=0,075 / V4=0,1 / V5=0,125 / V6=0,15

**Annexe II**

Résultats d'Analyse SAA des concentrations des métaux lourds mesurées dans les différentes stations.

	Zn	Fe	Cu	Pb	Ni	Cd	Cr	Mg
Akbou	0,3955	-0,1798	-0,0344	-0,1796	-0,0245	-0,0092	-0,2897	0,3572
takerietz	0,1092	-0,1974	0,0824	-0,1023	-0,0454	-0,0735	-0,2882	0,3396
Sidi aich	-0,0091	0,0394	-0,0415	0,0343	-0,0307	-0,1233	0,0286	0,3047
Timzrit	0,0764	0,2740	-0,0314	0,1809	-0,0258	-0,1181	-0,0488	0,3351
El Kseur	-0,0082	0,4914	-0,0275	0,2933	-0,0173	-0,1345	-0,0535	0,3404
Sidi ali Lebhar	0,4197	0,6790	-0,0353	0,4807	-0,0279	-0,1005	-0,0587	0,2908

### Annexe III

Tableau d'identification des souches par des tests biochimiques.

	glucose	lactose	gaz	Indole à 37C°	Indole à 44C°	C.s	H <sub>2</sub> S	Uréase	VP	RM	mannitol	mobilité	NR	TDA
<b>E.coli</b>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-
<b>K.pneumonia</b>	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-
<b>K.oxytoca</b>	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-
<b>Citrobacter sp</b>	+	+	-	-	-	+	+	d	-	+	+	+	+	-
<b>Enterobacter SP</b>	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-
<b>Serratia sp</b>	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-
<b>Shigella dysentiria</b>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
<b>Providencia rettgeri</b>	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+
<b>Edwardseilla tarda</b>	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-
<b>Acinetobacter sp</b>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Pseudomonas sp</b>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
<b>Yersinia enterocolitica</b>	+	-	-	+	-	d	-	+	-	+	+	-	+	-
<b>Stenotrophomonas maltophilia</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
<b>Shewanella</b>	-	-	-	-	-	d	+	-	-	-	-	-	+	-

d : variable

### Annexe IV

Résultat de la sensibilité des souches à Gram négatifs aux  $\beta$ -lactamines.

Code des souches	AMC		CTX		CAZ		ATM		FOX		IMP		Sy	CIM
1	10	R	32	S	26	S	28	S	24	S	30	S	-	-
2	24	S	38	S	24	S	26	S	12	R	28	S	-	-
3	24	S	38	S	24	S	26	S	10	R	30	S	-	-
5	14	R	28	S	24	S	28	S	22	S	32	S	-	-
6	16	R	26	S	24	S	26	S	24	S	32	S	-	-
7	20	S	32	S	30	S	40	S	6	R	24	S	-	-
8	10	R	28	S	22	R	26	S	24	S	30	S	-	-
9	12	R	24	S	22	R	26	S	10	R	30	S	-	-
11	14	R	25	S	22	R	26	S	18	R	32	S	-	-
12	14	R	32	S	24	S	32	S	26	S	30	S	-	-
13	10	R	28	S	26	S	28	S	6	R	26	S	-	-
14	12	R	28	S	24	S	26	S	22	S	28	S	-	-
15	12	R	34	S	26	S	30	S	24	S	32	S	-	-
16	14	R	30	S	26	S	30	S	16	R	30	S	-	-
17	18	R	30	S	24	S	26	S	24	S	32	S	-	-
18	22	S	30	S	26	S	30	S	10	R	30	S	-	-
19	10	R	30	S	26	S	32	S	24	S	30	S	-	-
20	14	R	28	S	24	S	28	S	22	S	32	S	-	-
21	16	R	30	S	26	S	30	S	24	S	32	S	-	-
22	14	R	28	S	26	S	30	S	14	R	34	S	-	-
24	12	R	30	S	30	S	26	S	12	R	26	S	-	-
3II	6	R	22	S	26	S	24	I	NT		6	R	+	+
5II	10	R	14	R	30	S	8	R	NT		30	S	-	-
6II	8	R	14	R	26	S	6	R	NT		6	R	-	+
7II	10	R	18	I	28	S	8	R	NT		6	R	+	+
8II	8	R	16	R	28	S	10	R	NT		30	S	-	-
9II	14	R	28	S	26	S	30	S	NT		30	S	-	-
10	10	R	30	S	26	S	32	S	NT		30	S	-	-

Sy : image de synergie.

NT : non testé.

## Annexe V

Calcul des masses nécessaires pour la préparation des solutions mères de sels métalliques à 10 g/L.

### **FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O :**

Fe : 55,85g/mol, S : 32,07g/mol, O : 4×16=64g/mol

FeSO<sub>4</sub> = 151,92g/mol

7H<sub>2</sub>O = 7 × (2 × 1,01 + 16) = 7 × 18,016 = 126,112g/mol

Mm de FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O = 151,92 + 126,112 = 278,032g/mol

La fraction massique de Fe = 55,85/278,032 = 0,2008

Masse de FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O pour 10g/L :

m = 10/0,2008 = 49,82

Dans 100 ml : 49,82 × 0,1 = 4,98g

### **CuSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O:**

Cu : 63,55g/mol, S : 32,07g/mol, O : 4×16=64g/mol

CuSO<sub>4</sub> = 159,62g/mol

7H<sub>2</sub>O = 7 × (2 × 1,01 + 16) = 7 × 18,016 = 126,112g/mol

Mm de CuSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O = 159,62 + 126,112 = 285,73

La fraction massique de Cu = 63,55/285,73 = 0,2224

Masse de CuSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O pour 10g/L :

m = 10/0,2224 = 44,96g

Dans 100ml = 4,5g

### **3CdSO<sub>4</sub>·8H<sub>2</sub>O :**

Cd = 112,41 g/mol, S = 32,07 g/mol, O = 4×16 = 64 g/mol

CdSO<sub>4</sub> = 208,48 g/mol × 3 = 625,44 g/mol

8H<sub>2</sub>O = 8 × (2×1,01 + 16) = 8 × 18,016 = 144,13 g/mol

Mm = 625,44 + 144,128 = 769,568 g/mol

Fraction massique de Cd = 337,23 / 769,568 = 0,4382

m = 10 / 0,4382 = 22,82 g/L

Dans 100 mL : 22,82 × 0,1 = 2,28 g

### **Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> :**

Pb = 207,2 g/mol, N = 14,01 g/mol, O = 3×16 = 48 g/mol

NO<sub>3</sub> = 14,01 + 48 = 62,01 g/mol

(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> = 2 × 62,01 = 124,02 g/mol

Mm = 207,2 + 124,02 = 331,22 g/mol

Fraction massique de Pb = 207,2 / 331,22 = 0,6254

m = 10 / 0,6254 = 15,99 g/L

Dans 100 mL : 15,99 × 0,1 = 1,6 g

### **K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> :**

K = 39,10 g/mol, Cr = 51,996 g/mol, O = 16,00 g/mol

2 K = 78,20 g/mol

2 Cr = 103,99 g/mol

7 O = 112,00 g/mol

$Mm = 78,20 + 103,99 + 112,00 = 294,19 \text{ g/mol}$   
Fraction massique de Cr =  $103,99 / 294,19 = 0,3535$   
 $m = 10 / 0,3535 = 28,29 \text{ g/L}$   
Dans 100 mL :  $28,29 \times 0,1 = 2,83 \text{ g}$

**ZnCl<sub>2</sub> :**

Zn = 65,38 g/mol, Cl = 35,45 g/mol  
2 Cl = 70,90 g/mol  
 $Mm = 65,38 + 70,90 = 136,28 \text{ g/mol}$   
Fraction massique de Zn =  $65,38 / 136,28 = 0,4798$   
 $m = 10 / 0,4798 = 20,84 \text{ g/L}$   
Dans 100 mL :  $20,84 \times 0,1 = 2,08 \text{ g}$

**NiSO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O :**

Ni = 58,69 g/mol, S = 32,07 g/mol, O<sub>4</sub> =  $4 \times 16 = 64 \text{ g/mol}$   
 $NiSO_4 = 58,69 + 32,07 + 64 = 154,76 \text{ g/mol}$   
 $6 \text{ H}_2\text{O} = 6 \times (2 \times 1,01 + 16) = 6 \times 18,016 = 108,096 \text{ g/mol}$   
 $Mm = 154,76 + 108,096 = 262,86 \text{ g/mol}$   
Fraction massique de Ni =  $58,69 / 262,86 = 0,2234$   
 $m = 10 / 0,2234 = 44,77 \text{ g/L}$   
Dans 100 mL :  $44,77 \times 0,1 = 4,48 \text{ g}$

**MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O :**

Mg = 24,31 g/mol, S = 32,07 g/mol, O<sub>4</sub> =  $4 \times 16 = 64 \text{ g/mol}$   
 $MgSO_4 = 24,31 + 32,07 + 64 = 120,38 \text{ g/mol}$   
 $7 \text{ H}_2\text{O} = 7 \times (2 \times 1,01 + 16) = 7 \times 18,016 = 126,112 \text{ g/mol}$   
 $Mm = 120,38 + 126,112 = 246,49 \text{ g/mol}$   
Fraction massique de Mg =  $24,31 / 246,49 = 0,098$   
 $m = 10 / 0,098 = 102,04 \text{ g/L}$   
Dans 100 mL :  $102,04 \times 0,1 = 10,20 \text{ g}$



## Annexe VI

Résultats de la Résistance des souches à Gram négatifs aux métaux lourds

	Fe	Pb	Cr	Mg	Cu (mg/L)	Cd (mg/L)	Ni (mg/L)	Zn (mg/L)
1	R	R	R	R	200	250	100	150
2	R	R	R	R	200	200	100	150
3	R	R	R	R	200	250	150	250
5	R	R	R	R	150	200	100	150
6	R	R	R	R	150	100	100	150
7	R	R	R	R	150	50	100	150
8	R	R	R	R	150	200	100	150
9	R	R	R	R	150	200	100	250
10	R	R	R	R	200	50	100	250
11	R	R	R	R	200	50	100	200
12	R	R	R	R	200	150	100	250
13	R	R	R	R	200	50	100	250
14	R	R	R	R	250	100	100	150
15	R	R	R	R	250	250	100	250
16	R	R	R	R	250	250	100	250
17	R	R	R	R	150	100	100	200
18	R	R	R	R	100	100	100	250
19	R	R	R	R	250	50	100	250
20	R	R	R	R	250	50	100	250
21	R	R	R	R	200	250	100	250
22	R	R	R	R	250	50	100	100
24	R	R	R	R	100	200	100	150
3II	R	R	R	R	200	100	100	150
5II	R	R	R	R	150	250	100	150
6II	R	R	R	R	150	S	100	200
7II	R	R	R	R	150	S	100	100
8II	R	R	R	R	150	250	100	150
9II	R	R	R	R	200	S	100	S

## **Résumé :**

Cette étude avait pour objectif d'évaluer la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds chez des bactéries isolées dans l'eau de l'oued Soummam, afin de mieux comprendre les risques liés à la pollution. Le dosage des métaux lourds par spectrométrie d'absorption atomique (SAA) a confirmé la présence des concentrations élevées de zinc, fer et plomb, notamment dans les stations de Sidi Ali Lebhar, Timzrit et El Kseur.

28 souches de bacilles à Gram négatif ont été isolées, majoritairement des entérobactéries avec un taux de 86%. L'étude de la résistance aux antibiotiques a révélé une forte résistance aux  $\beta$ -lactamines, notamment à l'amoxicilline-acide clavulanique(AMC), avec 2 souches suspectées de produire des BLSE et 3 d'éventuelles carbapénémases. L'analyse de la tolérance aux métaux lourds a montré que toutes les souches résistent au fer, plomb, chrome et magnésium. Ces résultats indiquent que l'oued Soummam constitue un réservoir de bactéries multirésistantes, exposées à une pression sélective conjointe par les polluants chimiques et antibiotiques. Cette situation menace la qualité de l'eau et la santé publique, soulignant la nécessité d'une surveillance régulière et de mesures strictes pour limiter les rejets polluants.

## **Mots clés :**

Bactéries multirésistantes, antibiotiques, métaux lourds, résistance, entérobactéries

## **Abstract :**

This study aimed to assess antibiotic and heavy metal resistance in bacteria isolated from the waters of the Soummam River, in order to better understand the risks associated with pollution. Heavy metal concentrations were measured using atomic absorption spectrometry (AAS), confirming high levels of zinc, iron, and lead, particularly at the sampling stations of Sidi Ali Lebhar, Timzrit, and El Kseur.

A total of 28 Gram-negative bacilli strains were isolated, the majority (86%) belonging to the Enterobacteriaceae family. Antibiotic resistance testing revealed high resistance to  $\beta$ -lactams, especially amoxicillin-clavulanic acid (AMC), with 2 strains suspected of producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) and 3 potentially producing carbapenemases. Analysis of heavy metal tolerance showed that all strains were resistant to iron, lead, chromium, and magnesium. These findings indicate that the Soummam River serves as a reservoir of multidrug-resistant bacteria, subjected to combined selective pressure from chemical pollutants and antibiotics. This situation poses a threat to water quality and public health, emphasizing the need for regular monitoring and strict measures to limit pollutant discharges.

## **Keywords :**

Multidrug-resistant bacteria, Antibiotics, Heavy metals, resistance, Enterobacteria