

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر و تهيئة الساحل

Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



Mémoire de Magister

Option : Pollution Marine et Ecotoxicologie

Réalisé par :

KADA Mohamed

Thème :

**Détection de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans
l'environnement marin, influence des apports
anthropiques**

Soutenu le 11/06/2012 devant le Jury :

Mr. F. HEMIDA, Maître de conférences A, ENSSMAL	Président
Mr. R. BAKOUR, Professeur, FSB, USTHB	Rapporteur
Mme. Y. MESSAI, Maître de conférences A, FSB, USTHB	Examinatrice
Mr. A. ZITOUNI, Professeur, ENS, KOUBA	Examineur
Mr. Z. BRANES, Maître de conférences A, Université d'ANNABA	Examineur
Mlle. S. ALOUACHE, Maître assistante A, ENSSMAL	Invitée

RESUME

RESUME

Ce travail a pour objectif l'évaluation de la prévalence de la résistance bactérienne aux antibiotiques et l'influence des apports anthropiques dans cinq plages du littoral Algérois.

Les taux de résistance de la flore totale ont été significatifs pour l'amoxicilline et la ticarcilline, alors qu'ils sont relativement bas pour la ceftazidime, la céfotaxime et l'imipénème. Le niveau de résistance est remarquable dans les plages recevant des apports anthropiques (amoxicilline, 52.2% et 43.1% ; ticarcilline, 47.7% et 19.6% ; céfotaxime, 2.8% et 8.3%) que dans les plages non polluées (amoxicilline, 9.4% et 1.15% ; ticarcilline, 7.6% et 0.8% ; céfotaxime, 0.1% et 0.6%).

Chez les coliformes totaux, des taux élevés de résistance ont été retrouvés, vis-à-vis de l'amoxicilline (20.7%, 8.3%, 16.2% et 43.2%) et de la ticarcilline (10.3%, 10.4%, 13.5% et 40.9%). Une résistance à la céfotaxime et l'imipénème est observée avec 8.3% et 0.4% à Réghaia.

L'identification biochimique des 59 souches résistantes à au moins un des antibiotiques majeurs, imipénème, céfotaxime, céfoxitine et ceftazidime, a permis de les assigner aux espèces : *Pseudomonas aeruginosa* (n=23), *Pseudomonas fluorescens* (n=10), *Stenotrophomonas maltophilia* (n=6), *Burkholderia cepacia* (n=3), *Bordetella spp* (n=3), *Aeromonas hydrophila*, *Chrysiomonas luteola*, *Ochrobactrum anthropii*, *Acinetobacter baumannii*, *Pontoea spp* (n=2), *E.coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* et *Shigella spp*.

L'étude de leur antibiorésistance a montré une résistance marquée aux bêta-lactamines à savoir : les pénicillines (amoxicilline, 86.4% et ticarcilline, 84.7%), la céfoxitine (93.2%) et les céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, 84.7% ; céftriaxone, 84.7% et cefsulodine, 81.3%). La résistance à la ceftazidime, l'aztréonam et céfépime a été moyenne (54.2%, 66% et 39%, respectivement), alors que celle vis-à-vis l'imipénème a été moins importante (25.4%).

Concernant les non bêta-lactamines, une résistance élevée a été observée vis-à-vis de l'acide nalidixique (84.7%) et le triméthoprim (79.6%) suivis du chloramphénicol (54.2%), tétracycline (44%), triméthoprim+sulfamides (28.8%), et sulfamides (22%). Une très faible résistance a été observée vis-à-vis des aminoglycosides (K, GM), la ciprofloxacine et la rifampicine (4%, 10% et 15.2%, respectivement).

La production des céphalosporinases chromosomiques AmpC inductibles a été observée chez 32.2% des souches. La synthèse de bêta-lactamase à spectre élargi, a été retrouvée chez seulement une souche d'*E.coli* sélectionnée sur céfotaxime. La caractérisation génétique de cette enzyme a révélé la présence du gène CTX-M du groupe 1 porté par un plasmide autotransférable d'environ 50Kb.

Mots clés : BLSE - résistance - bêta-lactamines - plage - flore totale - coliformes totaux.

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans les laboratoires de microbiologie de l'ENSSMAL et de Génétique de la faculté des Sciences Biologiques de l'USTHB. Il n'aurait pu être effectué sans le soutien et l'aide de plusieurs personnes.

J'adresse mes remerciements à mon promoteur le professeur R. BAKOUR, responsable du laboratoire de Génétique de la FSB (USTHB), pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et confié ce sujet de thèse. Je le remercie très vivement pour tous ses précieux conseils, sa disponibilité et la confiance qu'il m'a témoignée tout au long de ce travail. Je le remercie particulièrement pour sa compréhension et son soutien moral. Je ne saurais trouver les mots pour lui exprimer mes sincères remerciements et toute ma gratitude.

Ce travail rentre dans le cadre de la thèse de doctorat de M^{elle} S. ALOUACHE maître assistante de classe A à l'ENSSMAL et membre du laboratoire de génétique. Je vous remercie pour votre collaboration pour réussir ce travail, vos conseils, votre gentillesse et simplicité.

Je remercie monsieur le docteur HEMIDA Farid de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de mon mémoire. Je remercie également le professeur ZITOUNI Abdelghani, madame MESSAI Yamina et monsieur BRANES Zidane pour avoir accepté de faire partie du jury et examiner le travail. Je reste reconnaissant pour votre compréhension.

Je remercie toute l'équipe de laboratoire de Génétique en particulier Yamina Messai pour tous ses conseils, sa générosité, son aide précieuse et sa gentillesse. Mes remerciements vont également aux autres membres, pour leurs soutiens et pour l'ambiance agréable dans laquelle nous avons travaillé. Je pense à M^r H. Iabadene, M^{me} F. Boufrouche, M^r F. Cherbal, M^r H. Aouf, M^{me} Idres, ainsi que Radia, Lynda et Assia.

Je remercie aussi M^{me} REFES Ingénieur au laboratoire de microbiologie à l'ENSSMAL pour sa serviabilité et sa gentillesse.

Les plus sincères remerciements s'adressent à tous mes enseignants de la post-graduation en particulier le responsable B. Hamdi. Merci d'avoir été à l'origine de cette PG en Pollution marine et Ecotoxicologie qui m'a permis à moi ainsi qu'aux autres étudiants de nous ouvrir sur d'autres horizons.

Je tiens à adresser un immense merci à mes chers amis. Je vous remercie pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble, pour votre gentillesse, votre soutien et surtout votre amitié qui est précieuse à mes yeux.

Je remercie sincèrement tous les membres de ma famille qui ont toujours été présents pour moi, et qui m'ont sans cesse soutenue même dans les moments difficiles avec leurs encouragements et leurs conseils.

J'adresse un immense merci à mes chers parents pour tout ce qu'ils ont fait pour moi, pour le soutien qu'ils m'ont apporté durant toutes mes études, et à qui je dois vraiment tout. Que dieu vous protège.

Je dédie ce travail à ma mère que je porte dans mon cœur à tout instant, Prompt Rétablissement, meilleurs vœux pour une guérison complète et rapide amène.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. Les antibiotiques	3
I.1. Définition	3
I.2. Familles d'antibiotiques et modes d'action	3
I.3. Les bêta-lactamines.....	5
I.3.1. Définition	5
I.3.2. Classification.....	5
I.3.3. Mécanismes d'action des bêta-lactamines	6
II. Résistances aux antibiotiques	8
II.1. Définitions	8
II.2. Support génétique	8
II.3. Mécanismes de résistance.....	10
II.4. Mécanismes de résistance aux bêta-lactamines.....	10
II.4.1. Mécanismes non enzymatiques	11
II.4.1.1. Imperméabilité membranaire.....	11
II.4.1.2. Système d'efflux.....	11
II.4.1.3. Modification de la cible des bêta-lactamines	12
II.4.2. Mécanismes enzymatiques	12
II.5. Les bêta-lactamases	12
II.5.1. Définition.....	12
II.5.2. Mécanismes d'action des bêta-lactamases	12
II.5.3. Classification	13
II.5.3.1. Classification d'Ambler.....	13
II.5.3.2. Classification de Bush-Jacoby-Medeiros	13
II.5.4. Diversité de bêta-lactamases	14
II.5.4.1. Classe A.....	14
II.5.4.1.1. Les pénicillinases.....	15
II.5.4.1.2. Les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE).....	15
II.5.4.1.3. Les carbapénémases	16

II.5.4.2. Classe B	16
II.5.4.3. Classe C	17
II.5.4.4. Classe D.....	17
III. Résistance aux antibiotiques dans l'environnement.....	18
MATERIEL ET METHODES	22
I. Présentation de la zone d'étude	22
II. Echantillonnage.....	23
III. Matériel	23
III.1. Les antibiotiques en poudre.....	23
III.2. Les antibiotiques en disque	24
IV. Méthodes	25
IV.1. Analyse des paramètres physico-chimiques	25
IV.1.1. Salinité	25
IV.1.2. Oxygène dissous	25
IV.1.3. Potentiel hydrogène.....	25
IV.1.4. La température	25
IV.1.5. Demande biologique en oxygène (DBO ₅)	25
IV.1.6. Matières en suspension (MES).....	26
IV.2. Analyse microbiologique par filtration sur membrane	26
IV.3. Prévalence de la résistance aux antibiotiques	26
IV.4. Isolement et identification bactérienne	27
IV.5. Etude de la sensibilité aux antibiotiques par antibiogramme	27
IV.6. Détection des bêta-lactamases inductibles : test d'antagonisme.....	28
IV.7. Détection des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) : test de synergie.....	28
IV.8. Transfert génétique par conjugaison en milieu solide	28
IV.9. Recherche de gènes de résistance par PCR.....	29
IV.10. Electrophorèse sur gel d'agarose	30
IV.11. Extraction d'ADN plasmidique par lyse alcaline	30
RESULTATS	31
I. Paramètres physico-chimiques et microbiologiques.....	31

II. Prévalence de la résistance aux antibiotiques.....	32
II.1. Prévalence de la résistance aux bêta-lactamines de la flore totale	33
II.2. Prévalence de la résistance aux bêta-lactamines des coliformes totaux	34
III. Résultats d'identification bactérienne	35
IV. Profils d'antibiorésistance.....	36
IV.1. Profils d'antibiorésistance des souches sélectionnées sur imipénème.....	36
IV.2. Profils d'antibiorésistance des souches sélectionnées sur céfotaxime.....	39
IV.3. Profils d'antibiorésistance des souches sélectionnées sur céfoxitine.....	42
IV.4. Profils d'antibiorésistance des souches sélectionnées sur ceftazidime.....	44
IV.5. Caractérisation de la résistance globale aux antibiotiques.....	46
V. Résultats du test d'antagonisme	48
VI. Résultats du test de synergie	49
VII. Résultats du transfert génétique par conjugaison	51
VIII. Résultats de la recherche des gènes BLSE(s) par PCR.....	51
IX. Résultats d'analyse des profils plasmidiques.....	53
DISCUSSION.....	54
CONCLUSION	60
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	62
ANNEXES	

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure du cycle bêta-lactame.....	5
Figure 2 : Classification des bêta-lactamines : dérivés de l'acide pénicillanique, dérivés de l'acide céphalosporanique et monobactames.....	7
Figure 3 : Mécanisme d'intégration des cassettes.....	9
Figure 4 : Les différents mécanismes de résistances aux bêta-lactamines.....	10
Figure 5 : Système d'efflux chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
Figure 6 : Mode d'action des bêta-lactamases à serine.....	13
Figure 7 : Parcours de la transmission des bactéries et des gènes de résistance aux antibiotiques dans l'environnement.....	21
Figure 8 : Situation géographique des sites de prélèvement.....	22
Figure 9 : Schéma de la disposition des bêta-lactamines.....	28
Figure 10 : Prévalence de la résistance de la flore totale aux bêta-lactamines	33
Figure 11 : Prévalence de la résistance des coliformes totaux aux bêta-lactamines.....	34
Figure 12 : Résultats d'identification bactérienne	35
Figure 13 : Provenance des souches isolées.....	36
Figure 14 : Résistance aux bêta-lactamines des souches sélectionnées sur IMP.....	37
Figure 15 : Résistance aux non bêta-lactamines des souches sélectionnées sur IMP.....	37
Figure 16 : Pourcentage de résistance aux bêta-lactamines des souches sélectionnées sur CTX.....	40
Figure 17 : Pourcentage de résistance des souches sélectionnées sur CTX aux non bêta-lactamines.....	40
Figure 18 : Résistance aux bêta-lactamines des souches sélectionnées sur FOX.....	43
Figure 19 : Résistance aux non bêta-lactamines des souches sélectionnées sur FOX.....	43
Figure 20 : Résistance aux bêta-lactamines des souches sélectionnées sur CAZ.....	45
Figure 21 : Résistance aux non bêta-lactamines des souches sélectionnées sur CAZ.....	45
Figure 22 : Résistance aux bêta-lactamines des souches sélectionnées.....	47
Figure 23 : Résistance aux non bêta-lactamines des souches sélectionnées.....	47
Figure 24 : Image d'antagonisme chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CE21)	49
Figure 25 : Image de synergie chez les deux <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (I10) à gauche et (I9) à droite.....	50
Figure 26 : Image de synergie chez <i>Burkholderia cepacia</i> (I12) par rapport aux bêta-lactamines.....	50

Figure 27 : Image de synergie chez <i>E. coli</i> (CE10)	50
Figure 28 : Résultat de l'amplification des gènes <i>bla_{CTX-M}</i> et <i>bla_{TEM}</i>	52
Figure 29 : Détection des gènes <i>bla_{CTX-M}</i> et <i>bla_{CTX-M-1}</i>	52
Figure 30 : Profils plasmidiques chez <i>E. coli</i> (E) et ses transconjugants (Tc1, Tc2, Tc3)	54

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Mécanismes d'action des antibiotiques.....	4
Tableau II : Correspondance entre les classifications moléculaire et fonctionnelle des bêta-lactamases.....	14
Tableau III : Dates et lieux de prélèvement	23
Tableau IV : Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme	24
Tableau V : Les séquences des amorces des gènes recherchés par PCR.....	29
Tableau VI : Paramètres physico-chimiques et microbiologiques des eaux des stations d'étude	31
Tableau VII : Profils d'antibiorésistance des souches sélectionnées sur IMP	38
Tableau VIII : Profils d'antibiorésistance des souches sélectionnées sur CTX.....	41
Tableau IX : Profils d'antibiorésistance des souches étudiées sur FOX	42
Tableau X : Antibiotypes des souches sélectionnées sur CAZ.....	44
Tableau XI : Souches positives au test d'antagonisme	48
Tableau XII : Souches positives au test de synergie	49
Tableau XIII : Les profils de résistance chez <i>E. coli</i> et ses transconjugants.....	51
Tableau XIV : Localisation des souches sélectionnées sur imipénème	Annexe 1
Tableau XV : Localisation des souches sélectionnées sur céfotaxime	Annexe 2
Tableau XVI : Localisation des souches sélectionnées sur céfoxitine	Annexe 3
Tableau XVII : Localisation des souches sélectionnées sur ceftazidime	Annexe 3
Tableau XVIII : Résultats des antibiogrammes des souches isolées sur imipénème.....	Annexe 4
Tableau XIX : Résultats des antibiogrammes des souches isolées sur céfotaxime	Annexe 5
Tableau XX : Résultats des antibiogrammes des souches isolées sur céfoxitine	Annexe 7
Tableau XXI : Résultats des antibiogrammes des souches isolées sur ceftazidime	Annexe 8
Tableau XXII : Résultats des antibiogrammes d' <i>E. coli</i> (CE10) et ses transconjugants ...	Annexe 9

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La pollution marine aussi bien chimique que biologique est un phénomène en perpétuelle évolution avec de plus en plus d'ampleur. Les rivages marins constituent le réceptacle final de toutes sortes de déchets des activités humaines, acheminés via les rejets domestiques et industriels, les effluents d'hôpitaux et les stations d'épuration.

Les antibiotiques utilisés en très grandes quantités en médecine humaine et vétérinaire, l'agriculture et l'aquaculture pour traiter les maladies infectieuses, ainsi que comme facteurs de croissance, ont un impact sur l'environnement marin. En effet, les résidus de molécules actives exercent une pression de sélection sur les bactéries, créant ainsi un déséquilibre de l'écosystème marin et favorisent l'apparition de bactéries résistantes aux antibiotiques, qui pourraient atteindre l'homme par contact direct ou via la chaîne alimentaire.

La résistance aux antibiotiques est un phénomène général observé chez de nombreuses familles bactériennes, notamment les bacilles à Gram négatif. Le principal processus responsable de sa dissémination est le transfert horizontal des gènes de résistance entre les bactéries d'espèces différentes. Ce matériel génétique extra-chromosomique peut leur conférer aussi une résistance à d'autres agents toxiques, tels que les métaux lourds.

Les bêta-lactamines constituent une des principales familles d'antibiotiques, par leur faible toxicité, leur diversité et leurs indications thérapeutiques. Les mécanismes de résistance à ces antibiotiques se répartissent en non enzymatiques résultant d'une imperméabilité de la membrane externe, de systèmes d'efflux actif ou de modification de leurs cibles, tandis que la production d'enzymes d'hydrolyse est la voie la plus courante et ayant évolué au cours de ces deux dernières décennies.

Les bêta-lactamases sont subdivisés en plusieurs catégories suivant le type de substrat hydrolysé : pénicillinases, céphalosporinases, et carbapénèmases, ou le spectre de substrats : bêta-lactamases à large spectre (BLLS) et bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE). Ces dernières ont un pouvoir important d'évolution et de diffusion, du fait que les gènes codant pour ces enzymes sont portés sur des éléments génétiques mobiles : plasmides, transposons et intégrons.

En Algérie, peu est connu sur la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées de l'environnement marin, tandis que le milieu clinique a été l'objet de plusieurs études épidémiologiques. Le phénomène de résistance aux antibiotiques s'inscrit dans un contexte écologique dont les conséquences sur la santé publique sont de plus en plus apparentes avec l'évolution de la multirésistance, l'implication des bactéries marines dans les infections et le risque que constitue le milieu marin en tant que réservoir de gènes de résistance.

Dans ce cadre, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de la prévalence de la résistance aux antibiotiques des bactéries dans l'environnement marin côtier représenté par plusieurs plages soumises à différents niveaux d'apport anthropique.

Ce travail a comporté les étapes suivantes :

- L'analyse physico-chimique et microbiologique des sites d'étude,
- La détermination de la prévalence de la résistance aux bêta-lactamines de la flore totale et des coliformes totaux,
- L'identification des souches sélectionnées et l'évaluation de leur sensibilité aux antibiotiques par l'antibiogramme,
- La détection des bêta-lactamases inductibles et à spectre élargi,
- La détermination du support génétique de la résistance par conjugaison bactérienne et analyse des profils plasmidiques,
- L'identification des gènes codant les bêta-lactamases à spectre élargi par PCR.

**REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE**

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Les antibiotiques

I.1. Définition

Les antibiotiques sont des agents antibactériens naturels produits par des microorganismes (bactérie ou champignons) qui, à faible concentration, agissent sur d'autres bactéries sans être toxiques pour l'homme. Ils peuvent être aussi synthétiques et/ou semi-synthétiques. Leur action s'exerce sur des sites spécifiques au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensable à la vie des bactéries, soit par inhibition de leur croissance (bactériostase) soit par leur destruction (bactéricidie). Chaque antibiotique est caractérisé par son spectre d'action qui correspond à l'étendue de son activité antibactérienne (**Bryskier, 1999**).

I.2. Familles d'antibiotiques et modes d'action

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et enfin le spectre d'action. Selon leur structure chimique plus ou moins analogue, les antibiotiques sont subdivisés en plusieurs familles : les bêta-lactamines, les aminosides, les phénicolés, les tétracyclines, les glycopeptides, les macrolides, les lincosamides, les synergistines, les quinolones, les sulfamides, les nitrofuranes, les nitroimidazoles, l'acide fusidique, les rifamycines et les polymyxines (**Colmen et al., 1994 ; Yala et al., 2001**).

Le succès des antibiotiques en tant qu'agents thérapeutiques est dû à la capacité de ces dernières molécules à interférer avec des structures et/ou des fonctions de la cellule bactérienne. Etant donné la plasticité qui caractérisent les bactéries, les mécanismes de résistance aux antibiotiques sont beaucoup plus diverses que les modes par lesquels un antibiotique peut inhiber ou détruire une cellule bactérienne (**Manaia et al., 2011**).

Pour qu'un antibiotique soit efficace contre des bactéries, trois conditions doivent être remplies : existence d'une cible susceptible à cet antibiotique dans la cellule bactérienne, atteindre la cible avec une quantité suffisante, et ne pas être inactivé ou modifié (**Dzidic et al., 2008**).

Les antibiotiques utilisés pour le traitement des infections bactériennes peuvent être classés par catégorie selon leur mécanisme principal d'action (**Tenover, 2006**). Les principaux modes d'actions sont (Tableau I) :

- Interférence avec la synthèse de la paroi bactérienne,
- Inhibition de la synthèse protéique,
- Inhibition de la synthèse des acides nucléiques,
- Interférence avec le métabolisme intermédiaire,
- Action sur la structure de la membrane plasmique.

Les antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne, forment des complexes avec les précurseurs du peptidoglycane, son principal constituant, comme les glycopeptides. Ces derniers interagissent avec la paroi bactérienne en formation en s'attachant avec les résidus terminaux de la chaîne naissante du peptidyl D-alanyl-D-alanine, empêchant de ce fait l'enchaînement finale requis pour la synthèse d'une paroi stable (**Dzidic et al., 2008**).

Les macrolides, tétracyclines et aminoglycosides, à l'intérieur de la cellule bactérienne, se fixent sur les sous-unités ribosomales 50 S et 30 S au niveau des sites accepteurs, provoquant ainsi le blocage des trois phases de synthèse protéique : initiation, élongation et terminaison indispensables à l'assemblage des acides aminés en polypeptides (**Tenover, 2006 ; Dzidic et al., 2008**).

Les fluoroquinolones inhibent certaines enzymes du métabolisme de l'ADN. En effet, après avoir pénétré à l'intérieur des cellules bactériennes par diffusion passive via des canaux protéiques spécifiques, les quinolones hydrophiles inhibent la topoisomérase II (ADN gyrase) et la topoisomérase IV, qui sont respectivement responsables du surenroulement négatif de la molécule d'ADN et de la séparation des brins néoformés au cours de la réplication (**Nordmann et Mammeri, 2007**). Alors que la rifampicine interfère avec l'ARN polymérase (**Dzidic et al., 2008**).

Les sulfamides inhibent les dihydro-synthétase et dihydro-réductase essentielles pour la synthèse folique, enzyme cofacteur impliqué dans la synthèse des nucléotides (**Yala et al., 2001 ; Tenover, 2006**).

Les polymyxines agissent sur la membrane plasmique des bactéries à Gram négatif en augmentant sa perméabilité causant ainsi la fuite du contenu bactérien (**Dzidic et al., 2008**). L'insertion de lipopeptide cyclique au sein de la membrane plasmique bactérienne cause sa dépolarisation donc la mort de la cellule bactérienne (**Tenover, 2006**).

Tableau I : Mécanismes d'action des antibiotiques (Tenover, 2006 ; Dzidic et al., 2008).

Mécanisme d'action	Famille d'antibiotique
<ul style="list-style-type: none"> • Interférence avec la synthèse de la paroi bactérienne 	Béta-lactamines, glycopeptides
<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition de la synthèse protéique : <ul style="list-style-type: none"> - fixent sur les sous-unités 50 S - fixent sur les sous-unités 30 S 	Macrolides Tétracyclines, aminoglycosides
<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition de la synthèse des acides nucléiques : <ul style="list-style-type: none"> - ADN - ARN 	Fluoroquinolones Rifampicine
<ul style="list-style-type: none"> • Interférence avec le métabolisme intermédiaire 	Sulfamides
<ul style="list-style-type: none"> • Action sur la structure de la membrane plasmique 	Polymyxines

I.3. Les bêta-lactamines

I.3.1. Définition

Les bêta-lactamines constituent une grande famille d'antibiotiques, la plus importante par le nombre et la diversité des molécules et par ses indications thérapeutiques (**Bryskier, 1999 ; Handal et Olsen, 2000 ; Livermore et Brown, 2001**). Elles sont caractérisées par la présence d'un cycle bêta-lactame (Fig.1) indispensable à l'activité antibactérienne, associé ou pas à des cycles et des chaînes latérales variables. Ces antibiotiques, bactéricides, ont une faible toxicité associée à un mode d'action fort complexe sur des protéines de la membrane cytoplasmique dénommées protéines liant la pénicilline (PLP) (**Cavallo et al., 2004**).

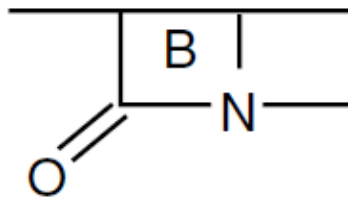


Figure 1 : Structure du cycle bêta-lactame (**Cavallo et al., 2004**).

I.3.2. Classification

La classification des bêta-lactamines, selon leur structure chimique en relation avec l'activité antibactérienne, permet de distinguer 3 grands groupes (Fig.2) :

- **Dérivés de l'acide-6-aminopénicillanique**

Leur noyau de base associe un cycle bêta-lactame à un cycle thiazolidine, spécifique des pénicillines. Il intègre le grand groupe des bêta-lactamines ayant un noyau pénème, caractéristique des pénicillines. On distingue sept sous-groupes, selon la nature du radical fixé sur le carbone en position 6 (R6), dont les amino-pénicillines (amoxicilline), les ureido-pénicillines (pipéracilline) et les carboxy-pénicillines (ticarcilline) (**Bryskier, 1999**).

D'autres bêta-lactamines ont un noyau qui dérive du noyau pénème par substitution du soufre en position 1 par :

- ✦ un oxygène qui est à l'origine du noyau clavème ; l'acide clavulanique est la seule molécule naturelle actuellement commercialisée.
- ✦ un atome de carbone (radical CH₂) qui est à l'origine du noyau pénème ; les carbapénèmes les plus connus sont : l'imipénème, le méropénème et l'ertapénème (**Cavallo et al., 2004**).

Les inhibiteurs des bêta-lactamines sont soit des pénicillines comme le tazobactam ou le sulbactam, soit des clavâmes comme l'acide clavulanique. Ils sont caractérisés par une faible activité antimicrobienne et une grande affinité aux bêta-lactamases. En effet, ils sont souvent associés à une autre bêta-lactamine (amoxicilline, ticarcilline ou pipéracilline) pour restaurer l'activité antibactérienne perdue du fait de son hydrolyse par des bêta-lactamases (**Bryskier, 1999 ; Cavallo et al., 2004**).

- **Dérivés de l'acide-7-amino-céphalosporanique**

Leur noyau de base associe un cycle bêta-lactame à un cycle dihydrothiazine (hexa-cycle insaturé) pour former le noyau céphème, caractéristique des céphalosporines. Suivant l'atome en position 1 et 7 du noyau céphème, on distingue trois groupes : les céphalosporines (soufre et hydrogène), les oxacéphèmes (oxygène et hydrogène) et les céphamycines (soufre et groupement methoxy) (**Cavallo et al., 2004**). Les céphalosporines sont traditionnellement divisées en première, deuxième, troisième et quatrième génération.

- **Monobactames**

Leur structure est monocyclique (cycle bêta-lactame). Les premiers monobactames ont été isolés de substances naturelles produites par certaines bactéries (*Chromobacterium violaceum*), mais les produits récents sont entièrement synthétiques. L'aztréonam est le seul produit utilisé actuellement, il se caractérise par une très bonne stabilité à l'action des bêta-lactamases.

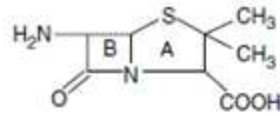
I.3.3. Mécanismes d'action des bêta-lactamines

Les bêta-lactamines sont des antibiotiques bactéricides qui agissent de manière directe sur la paroi bactérienne en phase de croissance. Cette paroi bactérienne est une enveloppe rigide constituée principalement du peptidoglycane (ou la muréine) synthétisée lors d'un processus complexe qui aboutit à la formation d'un polymère de chaînes polysidiques reliées entre elles par des ponts inter-peptidiques (**Charlier et al., 1998**).

Par analogie de structure chimique avec le D-alanyl-D-alanine, les bêta-lactamines se fixent sur le site actif des protéines liant les pénicillines (transpeptidases et carboxypeptidases), indispensables à la formation du peptidoglycane.

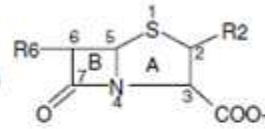
L'inhibition de ces enzymes fait accumuler les précurseurs du peptidoglycane qui activent le système autolytique de la bactérie entraînant ainsi sa lyse (**Cavallo et al., 2004**). Il est à noter que l'effet bactériostatique par inhibition de la synthèse du peptidoglycane précède la bactéricidie qui résulterait de l'activation des enzymes autolytiques de la bactérie (**Bryskier, 1999**).

Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique
Cycle β -lactame (B) + cycle thiazolidine (A)

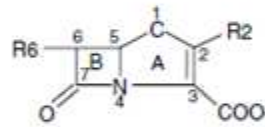


• Pénames (pénicillines)

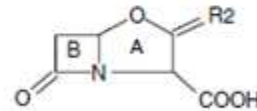
- Pénicillines G et V sensibles aux pénicillinases
- Pénicillines antistaphylococciques résistantes aux pénicillinases : pénicillines M semi-synthétiques
- Pénicillines à large spectre (ampicilline et apparentés) et pénicillines actives sur *Pseudomonas aeruginosa* (carboxypénicillines et uréidopénicillines)
- Amidinopénicillines (pivmécillinam)
- Pénicillines sulfones (sulbactam et tazobactam)



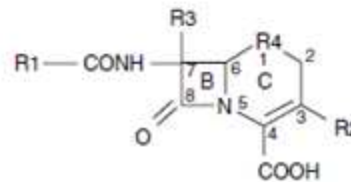
• Carbapénèmes



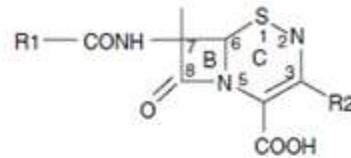
• Clavames ou oxapénames
- Acide clavulanique



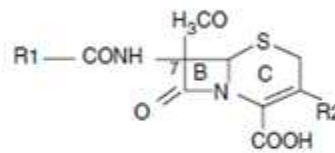
Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique
Cycle β -lactame B + cycle dihydrothiazine C
(noyau céphème)



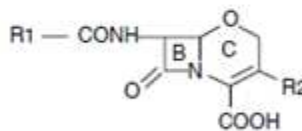
• Céphalosporines



• Céphamycines
Céfoxitine, céfotétan : radical α -méthoxy en C7



• Oxacéphèmes



Monobactames

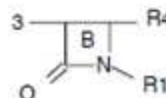


Figure 2 : Classification des bêta-lactamines : dérivés de l'acide pénicillanique, dérivés de l'acide céphalosporanique et monobactames (Cavallo et al., 2004).

Pour développer au mieux leur action antibiotique, les bêta-lactamines doivent :

- ✦ Pénétrer à travers la membrane externe et le peptidoglycane et échapper à l'action des bêta-lactamases pour atteindre leur cible au niveau de la face externe de la membrane plasmidique. Chez les bactéries à Gram négatif, ces molécules sont obligées de traverser la membrane externe qui constitue une barrière hydrophobe. Cette pénétration se fait en fonction de la taille et de la charge de la molécule grâce à des porines hydrophile remplis d'eau (Omp C et Omp F) (Nikaido, 1992 ; Cavallo et al., 2004).
- ✦ Se lier avec une affinité suffisante aux protéines cibles, les PLPs, insérées dans la partie externe de la membrane cytoplasmique bactérienne. Le nombre, la taille et la variété des PLP diffèrent d'une espèce à une autre et elles sont numérotées en fonction de leurs masses moléculaires décroissantes (Cavallo et al., 2004).

II. Résistance aux antibiotiques

II.1. Définitions

La résistance bactérienne aux antibiotiques est définie comme étant une propriété des bactéries qui leur confère la capacité d'inactiver ou exclure des antibiotiques, ou un mécanisme qui bloque les effets inhibiteurs et bactéricides des antibiotiques (Davison et al., 2000). Les bactéries peuvent avoir une résistance naturelle (intrinsèque) et peuvent acquérir la résistance par des mutations ou acquisition de gènes extrinsèques (Davies, 1994).

La résistance intrinsèque est une propriété stable et héréditaire présente chez toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre (Jarlier, 1997 ; Davies, 2010). Le déterminisme génétique de cette résistance est chromosomique, alors on parle de caractère sauvage de la souche (Doublet, 2004).

A l'inverse, la résistance acquise n'est présente que chez certaines souches de la même espèce ou du même genre bactérien. Elle résulte soit d'une mutation dans le génome ou des gènes régulateurs, on parlera alors de transmission verticale à la descendance, soit d'une acquisition d'information génétique étrangère en provenance d'autres bactéries par transfert horizontal des éléments mobiles tels que: les plasmides, les transposons ou les intégrons (Davies, 1994 ; Davison et al., 2000 ; Doublet, 2004).

II.2. Support génétique

Le support génétique des mécanismes de résistance est essentiel car il conditionne sa faculté de propagation et donc la fréquence de la résistance dans une population bactérienne donnée. Les gènes qui codent pour les mécanismes de résistance peuvent faire partie du patrimoine chromosomique de la bactérie ou appartenir à un élément mobile : plasmide, transposon ou intégron (Jarlier et al., 1988).

Les plasmides sont constitués de matériel génétique extra-chromosomique variant de quelques kilobases (2 à 3 kb) à 500 kb, et pouvant conférer un avantage sélectif à la bactérie (Sobecky, 1999). Ce sont des molécules d'ADN doubles brins, circulaires pouvant transporter des gènes

de virulence ou de résistance aux antibiotiques (Ploy *et al.*, 2005 ; Skurnik, 2009). Les plasmides possèdent une origine de réplication *ori* qui leur assure une autonomie de réplication. La transmission des plasmides d'une bactérie à une autre s'effectue le plus souvent par conjugaison (Skurnik, 2009).

Certains plasmides portent également des facteurs de virulence, ou des fonctions métaboliques supplémentaires. Néanmoins, les plasmides ne sont pas nécessaires à la survie de la bactérie dans des conditions physiologiques, ils deviennent utiles dans certaines conditions particulières d'environnement (Doublet, 2004).

Les transposons sont des fragments d'ADN qui peuvent être mobilisés d'un site à un autre sur la même molécule d'ADN, ou sur deux molécules d'ADN différentes. Ce sont habituellement les transposons eux mêmes qui codent leurs protéines de transposition (transposase). On décrit trois principaux types de transposons : (i) les séquences d'insertions (SI), (ii) les transposons non-composites et (iii) les transposons composites (Skurnik, 2009).

En 1989, de nouveaux éléments génétiques plus petits que les transposons et susceptibles d'acquérir ou de perdre des gènes de résistance aux antibiotiques ont été identifiés, il s'agit des intégrons qui sont portés dans des plasmides ou des transposons (Stokes et Hall, 1989). Cet entité génétique immobile est constituée d'un gène *intI* codant une intégrase, du site *attI* qui est un site spécifique de recombinaison et d'un promoteur *Pc* (Fig.3) qui sont nécessaires à la capture et à l'expression d'un ou de plusieurs éléments mobiles appelés gènes cassettes (Recchia et Hall, 1995 ; Ploy *et al.*, 2005).

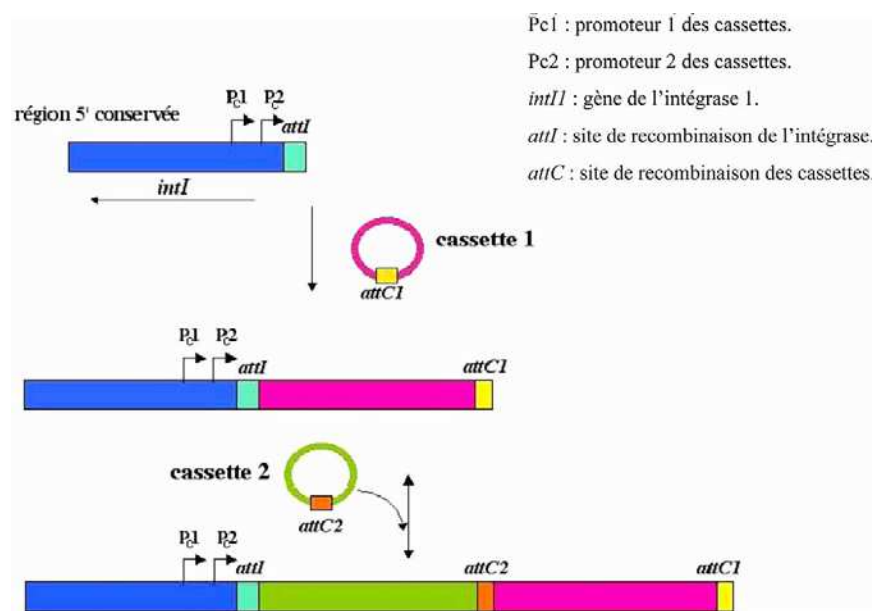


Figure 3 : Mécanisme d'intégration des gènes cassettes dans l'intégron (Ploy *et al.*, 2005).

L'intégration des cassettes 1 et 2 se fait préférentiellement au site de recombinaison *attI* situé dans la région 5'. Différentes cassettes peuvent être intégrées, chacune possédant un site *attC* unique. L'excision de la cassette 2 se fait sous forme circulaire et a lieu par recombinaison entre le site *attI* et le site *attC2*.

II.3. Mécanismes de résistance

Sur le plan biochimique, les bactéries ont développé quatre grands mécanismes d'acquisition de la résistance qui empêchent l'interaction de l'antibiotique avec sa cible (McKeegan et al., 2002 ; Wright, 2005) :

- ✦ La modification de la cible, qui entraîne une perte d'affinité de l'antibiotique pour cette dernière. Celle-ci touche soit la structure de la cible ou le nombre des sites d'action de l'antibiotique,
- ✦ Inactivation ou modification enzymatique de l'antibiotique,
- ✦ L'imperméabilité, notamment par diminution du diamètre des porines (pores au niveau de la membrane externe) chez les bacilles à Gram négatif. Ce mécanisme existe naturellement chez certaines bactéries comme *Pseudomonas aeruginosa*.
- ✦ L'efflux des antibiotiques à l'extérieur de la cellule par des pompes énergie dépendantes qui empêchent son accumulation à l'intérieur de la cellule.

II.4. Mécanismes de résistance aux bêta-lactamines

À chacune des étapes de la traversée des bêta-lactamines, depuis la membrane externe jusqu'aux PLP cibles, la bactérie peut développer un ou plusieurs moyens de défense (Cavallo et al., 2004). Ces mécanismes de résistance aux bêta-lactamines (Fig.4) peuvent être de nature non enzymatique comme l'imperméabilité de la membrane externe (A), la modification des PLP (B) et le système d'efflux actif (C), ou enzymatique comme la production de bêta-lactamases (D).

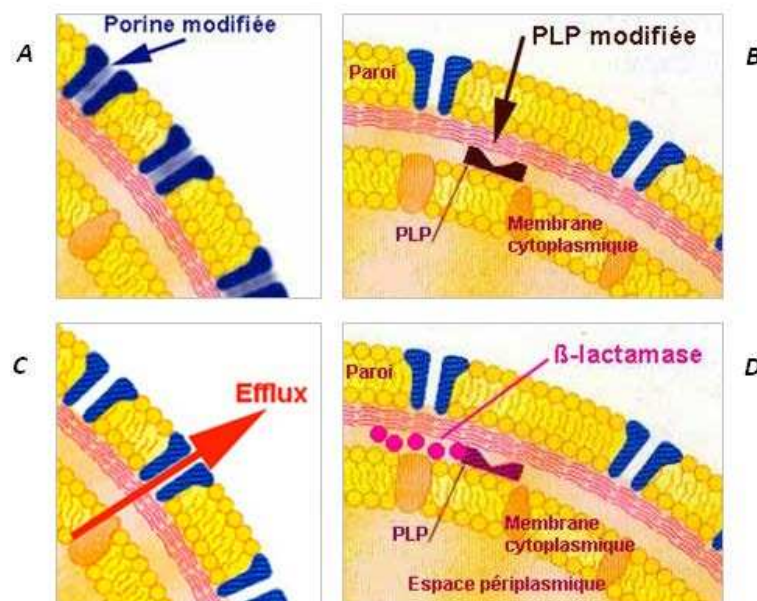


Figure 4 : Les différents mécanismes de résistances aux bêta-lactamines.

II.4.1. Mécanismes non enzymatique

II.4.1.1. Imperméabilité membranaire

L'imperméabilité de la membrane externe empêche la pénétration de l'antibiotique et limite sa concentration dans l'espace périplasmique. Ce défaut de perméabilité résulte de la diminution dans l'expression des porines (Omp ou Opr), de la diminution de leur nombre et/ou de leur dysfonctionnement suite à des altérations de leur structure par des mutations ; à l'exemple de *Pseudomonas* par perte des porines OprD (résistance à l'imipénème) et d'*E. Coli* par modification de la structure des porines majeures OmpC et OmpF (Livermore, 2001 ; Cavallo et al., 2004 ; Poole, 2005). Cette imperméabilité touche plusieurs familles d'antibiotiques (Bryskier, 1999).

II.4.1.2. Système d'efflux

Les systèmes d'efflux sont des mécanismes de transport membranaire qui s'oppose à l'accumulation intracellulaire des antibiotiques par pompage actif hors de la cellule bactérienne ; ceci restreint l'inhibition totale de la cible (Dzidic et al., 2008). Chez les bactéries à Gram positif, le système d'efflux n'est constitué que par les transporteurs alors que chez les bactéries à Gram négatif, il présente une structure tripartite composé d'une pompe qui fournit l'énergie de capture de la molécule à rejeter via le gradient électrochimique de la membrane plasmique, le canal protéique dans la membrane externe et la protéine de fusion périplasmique qui assure la liaison avec les deux autres protéines (Cattoir, 2004 ; Cavallo et al., 2004 ; Schneiders et al., 2008).

Le système d'efflux actif a été décrit chez plusieurs bactéries à savoir *E.coli* (AcrAB-TolC) et *P. aeruginosa* (MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN). L'hyperexpression de la pompe MexA-MexB-oprM (Fig.5), résultant d'une mutation dans la région régulatrice (gène MexR), peut conférer des résistances croisées aux bêta-lactamines, quinolones, chloramphénicol et tétracyclines (Cavallo, 2000 ; Webber et Piddock, 2003 ; Poole, 2005).

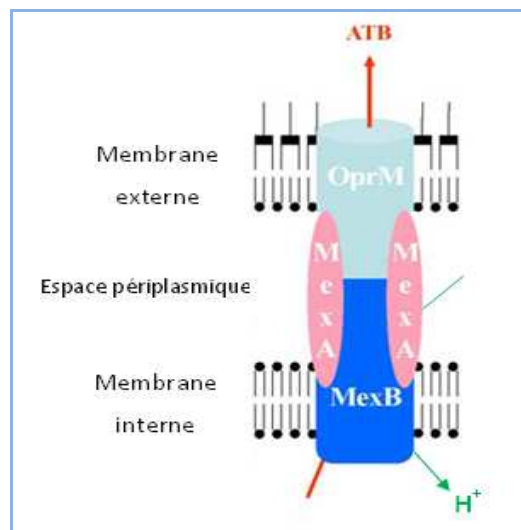


Figure 5 : Système d'efflux chez *Pseudomonas aeruginosa* (Cattoir, 2004).

II.4.1.3. Modification de la cible des bêta-lactamines

Ce mécanisme de résistance acquis est très largement répandu chez les bactéries à Gram positif, comme *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, certains *Streptococcus viridans* ou *Enterococcus faecium* (Cavallo et al., 2004), et que l'on retrouve également chez certaines bactéries à Gram négatif, comme *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae* ou *Haemophilus influenzae* (Lambert, 2005).

Ces résistances font suite à des mutations dans les gènes chromosomiques qui codent pour les PLP normales ou à l'acquisition de gènes étrangers codant pour des PLP ayant peu d'affinité pour les bêta-lactamines. On peut ainsi aboutir à des altérations quantitatives et qualitatives des PLP, avec diminution d'affinité pour les bêta-lactamines, ou à une substitution dans leurs fonctions des PLP cibles par une autre PLP de moindre affinité (Cavallo et al., 2004).

II.4.2. Mécanisme enzymatique

Il constitue le mécanisme de résistance le plus courant chez les bactéries à Gram négatif par production de bêta-lactamases hydrolysant l'antibiotique (Philippon et al., 1988). Les bêta-lactamases sont très nombreuses et variées, il existe plus de 400 enzymes identifiées (Li et al., 2007). Elles ont été à l'origine des premières résistances acquises dès l'apparition des antibiotiques au début des années 1940 (Cavallo et al., 2004).

II.5. Les bêta-lactamases

II.5.1. Définition

Les bêta-lactamases forment un groupe hétérogène d'enzymes d'origine bactérienne capables d'inactiver de manière efficace et irréversible les bêta-lactamines par ouverture du cycle bêta-lactame (Cavallo et al., 2004). Cette dégradation conduit à la production de dérivés inactifs (acide pénicillanique issu des pénicillines et l'acide céphalosporanique issu des céphalosporines). A localisation périplasmique, le support génétique des bêta-lactamases peut être chromosomique ou plasmidique avec une expression inductible ou constitutive (Livermore, 1995; Charlier et al., 1998 ; Matagne et al., 1998).

II.5.2. Mécanismes d'action des bêta-lactamases

L'action des bêta-lactamases s'exerce par hydrolyse du cycle bêta-lactame effectuée par une réaction d'acylation entre le groupement hydroxyl de la sérine du site actif des bêta-lactamases et le groupement carboxyle du bêta-lactame (Fig.6). La réaction conduit à la formation d'un complexe acyl-enzyme transitoire qui est rapidement désacylé libérant ainsi la bêta-lactamine inactive et l'enzyme intacte apte à agir sur d'autres molécules bêta-lactame (Frère, 1995 ; Livermore, 1995).

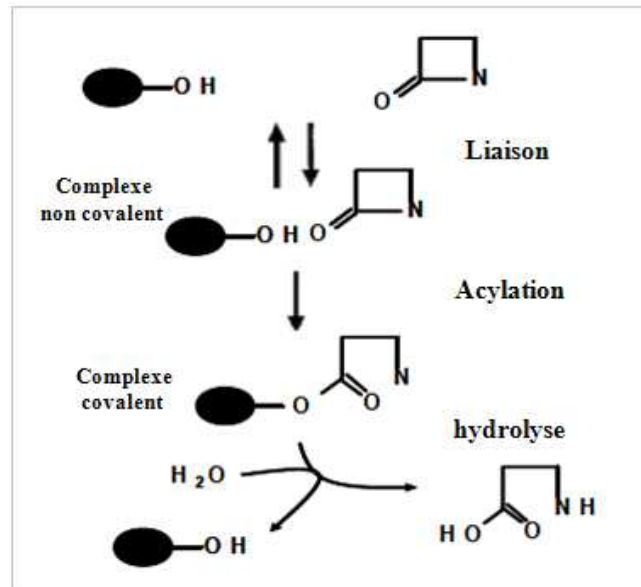


Figure 6 : Mode d'action des bêta-lactamases à serine (Livermore, 1995).

II.5.3. Classification

De nombreuses classifications ont été proposées pour les bêta-lactamases prenant en compte plusieurs caractéristiques comme la nature du site actif, l'origine, la structure tridimensionnelle, point isoélectrique et séquence d'acides aminés. Généralement, les bêta-lactamases sont classés suivant deux schémas : la classification structurale d'après Ambler et la classification fonctionnelle par groupes en fonction des spectres de substrat d'après Bush-Jacoby-Meideros (Ambler, 1980 ; Bush *et al.*, 1995 ; Livermore, 1995).

II.5.3.1. Classification d'Ambler

Cette classification reflète la structure fondamentale de l'enzyme, en tenant compte des analogies de séquence peptidique du site enzymatique ou de la séquence totale du gène codant la bêta-lactamase. Elle propose quatre classes ; A, C et D qui font partie des enzymes à serine active et la classe B des métallobêta-lactamases dont l'activité nécessite des ions métalliques, invariablement le zinc (Zn^{2+}) (Livermore, 1998 ; Cavallo *et al.*, 2004).

II.5.3.2. Classification de Bush-Jacoby-Meideros

C'est une classification plus fonctionnelle, plus complète et plus récente. Elle reflète mieux le spectre d'activité des enzymes, prenant en compte le profil de substrat (pénicilline, oxacilline, carbénicilline, céphaloridine, céphalosporines de troisième génération et l'imipénème) ainsi que le profil d'inhibition (acide clavulanique et EDTA) (Bush *et al.*, 1995). La correspondance entre les classifications moléculaire et fonctionnelle des bêta-lactamases est illustrée dans le tableau (II).

Tableau II : Correspondance entre les classifications moléculaire et fonctionnelle des bêta-lactamases (Bush et al., 2010, modifié).

Bush et al (2009)	Bush et al (1995)	Ambler	Substrats préférentiels	Inhibées par		Enzymes (exemples)
				AC ou TZB	EDTA	
1	1	C	Céphalosporines	-	-	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	NI	C	Céphalosporines	-	-	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Pénicillines	+	-	PC1
2b	2b	A	Pénicillines, première céphalosporines	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Céphalosporines, monobactames	+	-	TEM-3, SHV-2, CTX-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Pénicillines	-	-	TEM-30, SHV-10
2ber	NI	A	Céphalosporines, monobactames	-	-	TEM-50
2c	2c	A	Carboxypénicillines	+	-	PSE-1, CARB-3,
2ce	NI	A	Carboxypénicillines, céfépime	+	-	RTG-4
2d	2d	D	Cloxacilline	+/-	-	OXA-1, OXA-10
2de	NI	D	Céphalosporines	+/-	-	OXA-11, OXA-15
2df	NI	D	Carbapénèmes	+/-	-	OXA-23, OXA-48
2e	2e	A	Céphalosporines	+	-	CepA
2f	2f	A	Carbapénèmes	+/-	-	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	3	B (B1)	Carbapénèmes	-	+	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
		B (B3)				L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3b	3	B (B2)	Carbapénèmes	-	+	CphA, Sfh-1

AC, acide clavulanique ; TZP, tazobactam

NI : non inclus.

II.5.4. Diversité de bêta-lactamases

II.5.4.1. Classe A

Elle regroupe les bêta-lactamases à serine de type pénicillinases et céphalosporinases (Amp A), inhibées par l'acide clavulanique. Les enzymes formant la base de cette classe hydrolysent l'ampicilline, la ticarcilline et de manière moindre la céfalotine. Ils sont sans action sur les C3G, l'aztréonam, la céfoxitine et les carbapénèmes. En fonction des supports génétiques, ils peuvent être d'origine chromosomique (SHV-1) ou plasmidique (TEM-1). Ces enzymes ont une tendance importante à évoluer en élargissant leur spectre d'inhibition pour donner des bêta-lactamases à large spectre (BLS) et des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) qui hydrolysent les céphalosporines à large spectre.

Il existe également d'autres enzymes appartenant à la classe A mais dont la parenté génétique est plus éloignée des précédentes (**Mainardi et al., 1996 ; Livermore, 1995 ; Livermore et al., 2001**). Les bêta-lactamases à spectre élargi qui est un groupe d'enzyme hétérogène comprend ceux qui dérivent de TEM ou SHV et les BLSE dites non TEM non SHV (**Arlet et Philippon, 2003**).

II.5.4.1.1. Les pénicillinases

Ces bêta-lactamases hydrolysent les pénicillines. En cas de leur production à haut niveau, la pipéracilline et la céfalotine sont hydrolysées. Elles sont souvent d'origine plasmidique ; les principales pénicillinases sont TEM-1, TEM-2, SHV-1 (**Mainardi et al., 1996**). Ces enzymes sont fréquentes chez les entérobactéries comme *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Citrobacter koseri*.

II.5.4.1.2. Les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)

Les BLSE constituent un groupe d'enzymes capables d'hydrolyser les pénicillines, céphalosporines de première, deuxième, troisième et quatrième génération (C1G, C2G, C3G et C4G) et l'aztréonam, mais non les céphamycines. Elles n'hydrolysent pas les carbapénèmes et sont inhibées in vitro par les inhibiteurs des bêta-lactamases (acide clavulanique, tazobactam et sulbactam). Une co-résistance avec les aminosides, les tétracyclines et les fluoroquinolones est fréquente (**Bush et al., 1995 ; Livermore, 1995 ; Arlet et Philippon, 2003**).

- **Les BLSE dérivées de TEM et SHV**

Les BLSE de cette famille sont dérivées des pénicillinases TEM ou SHV par la présence d'une à sept mutations ponctuelles qui se traduisent par des substitutions d'acides aminés dans les séquences polypeptidiques. Ceci a pour résultat l'altération de la configuration du site actif permettant à la bêta-lactamase de se fixer et de catalyser l'hydrolyse de l'antibiotique (**Jacoby et Medeiros, 1991 ; Bush et al., 1995**). Les dérivés TEM sont capables d'hydrolyser les C3G, mais sont plus vulnérable à l'action des inhibiteurs (acide clavulanique). Cependant, d'autres types de TEM peuvent conférer la résistance aux inhibiteurs, ces variantes sont appelées TRI (TEM résistantes aux inhibiteurs). Ces enzymes sont retrouvées chez *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus spp*, *Providencia spp* et autres genres d'entérobactéries (**Bradford, 2001**). Les gènes codant pour ces mutants sont présents dans des éléments génétiques mobiles, facilitant ainsi leur propagation dans les pathogènes nosocomiaux (**Cavallo et al., 2004**).

- **Les autres BLSE**

Aujourd'hui on assiste à une émergence des BLSE non TEM et non SHV incluant les ceftazidimases comprenant les types PER, VEB, GES et les céfotaximases comprenant SFO, BES et CTX-M. Ces bêta-lactamases ont une capacité de diffusion et d'évolution importante.

Parmi ces enzymes, les CTX-M sont les plus répandues dans le monde (Poirel et al., 1999). Les ceftazidimases PER chez *P. aeruginosa*, GES et VEB chez *Klebsiella pneumoniae* ont un haut niveau de résistance à la ceftazidime et parfois à l'aztréonam (Bradford, 2001).

Les CTX-M, principales enzymes des céfotaximases, sont capables d'hydrolyser le céfotaxime et l'aztréonam avec une sensibilité relativement conservée à la ceftazidime. Elles sont inhibées par le tazobactam et l'acide clavulanique. Certaines variantes de ces enzymes (CTX-M-15, 16, 17 ainsi que CTX-M-9) possédant une substitution Gly240Asp et Pro167Ser respectivement, ont évolué vers un plus haut niveau de résistance à la ceftazidime en compliquant ainsi leur identification phénotypique (Bonnet, 2004).

Les CTX-M regroupant plus d'une centaine d'enzymes sont classées, selon leur séquence en acides aminés, en cinq groupes, CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 et CTX-M-25 (Bonnet, 2004). Ces gènes plasmidiques ont comme origine des enzymes naturelles chromosomiques issus de bactéries de l'environnement progéniteurs : *Kluyvera ascorbata*, *Kluyvera georgiana* et *Kluyvera cryocresens* (Bonnet, 2004). Elles ont été décrites chez plusieurs souches d'entérobactéries comme *E. coli*, *Salmonella enterica* Serovar typhimurium (Bradford, 2001, Poirel et al., 2002). Les plasmides, de 7kb à 160kb de taille, codant pour les CTX-M sont souvent conjuguatifs ou mobilisables (Bonnet, 2004).

II.5.4.1.3. Les carbapénèmases

Les principales carbapénèmases sont SME-1 et SME-2, NMC-A, IMI-1 et KPC-1. Leur support peut être chromosomique comme celles retrouvées chez *Serratia marcescens* et *Enterobacter cloacae* (SME-1, NMC-A, et IMI-1) (Naas et al., 1994), ou plasmidique comme c'est le cas des carbapénèmases KPC-1 (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemases) identifiées pour la première fois aux Etats-Unis chez une souche clinique. Ces enzymes ont été retrouvées par la suite chez d'autres souches d'entérobactéries comme *Salmonella* et *Klebsiella oxytoca* (Babic et al., 2006). Elles hydrolysent en général les céphalosporines de première et deuxième génération, l'aztréonam et les carbapénèmes et sont inhibées de façon variables par l'acide clavulanique, mais pas par l'EDTA (Nordmann et Poirel, 2002 ; Queenan et Bush., 2007).

II.5.4.2. Classe B

Contrairement aux sérine-béta-lactamases, les enzymes de cette classe (IMP, VIM, SPM et GIM) nécessitent la présence d'un ou deux ions de zinc (Zn^{2+}) pour être actives et sont regroupées sous l'appellation de métallo-béta-lactamases (Cavallo et al., 2004).

Cette classe compte plus d'une vingtaine d'enzymes. Les métallo-béta-lactamases possèdent un large profil de substrat incluant les pénicillines, les céphalosporines, mais également les carbapénèmes, qui sont le plus souvent résistants aux sérine-béta-lactamases. Seul l'aztréonam demeure actif sur ces enzymes. Elles sont insensibles aux inhibiteurs classiques (acide clavulanique, sulbactame, tazobactam), mais inhibées in vitro en présence de chélateur comme l'EDTA (Cavallo et al., 2004).

Elles sont essentiellement d'origine chromosomique et sont observées chez certaines bactéries de l'environnement dont les phénotypes de résistance sont fort complexes (**Zhiyong et al., 2003 in Philippon et Arlet, 2005**). Si la bêta-lactamase de *Stenotrophomonas maltophilia* (L1) a été identifiée la première, d'autres gènes de métallobêta-lactamases ont été découverts chez *Burkholderia cepacia* (*blaB*), *Aeromonas hydrophila* (CphA), *Klebsiella* et *Escherichia coli* (IMP-2) (**Bush et al., 1995, Philippon et Arlet, 2005**). Cependant des études récentes ont rapporté une localisation plasmidique de ces enzymes, d'abord chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, puis ensuite chez les entérobactéries et d'autres bacilles à Gram négatif tel que *Pseudomonas putida*.

II.5.4.3. Classe C

Dans la classe C, on retrouve les céphalosporinases qui hydrolysent préférentiellement les céphalosporines dont les céphamycines, mais aussi les pénicillines et qui résistent à l'action de l'acide clavulanique et du sulbactam ; toutefois certaines sont faiblement inhibées par le tazobactam (**Doi et al., 2004**). Ce sont des enzymes retrouvées chez les bactéries à Gram négatif (**Berche et al., 1988 ; Philippon et al., 2002**).

Les céphalosporinases, codées par le gène chromosomique *AmpC*, sont généralement inductibles et peuvent devenir constitutive. Le caractère inductible est décrit chez de nombreuses espèces d'entérobactéries (*Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Providencia*, *Haffnia alvei*, *Pseudomonas aeruginosa*) ; il est défini par le fait que la synthèse des bêta-lactamases est augmentée temporairement en présence d'une bêta-lactamine inductrice (Céfoxitine ou Imipénème) et disparaît avec l'arrêt de l'exposition (**Mainardi et al., 1996 ; Cavallo et al., 2004**). Par contre, les céphalosporinases constitutives sont exprimé à très bas niveau chez *E. coli* ou *Shigella* spp. De ce fait, elles ne contribuent pas de façon significative à la résistance aux bêta-lactamines chez ces espèces ; les souches restent sensibles aux aminopénicillines et aux céphalosporines de première, deuxième et troisième génération, l'aztréonam et l'imipénème (**Vedel, 1997 ; Cavallo et al., 2004**).

Depuis une vingtaine d'années, on a décrit la production de céphalosporinases plasmidiques chez *Klebsiella pneumoniae* (CMY-1 en Corée et MIR-1 en Amérique) et d'autres entérobactéries. On note actuellement 43 allèle de CMY, 7 variétés de FOX, 4 variétés de ACC, LAT et MIR, 3 variétés de ACT et MOX et 2 variétés de DHA (**Jacoby, 2009**).

II.5.4.4. Classe D

Cette classe regroupe les oxacillinases (OXA ; Oxacillin Hydrolysing Abilities) identifiées principalement chez les entérobactéries et *P. aeruginosa* (**Bush et al., 1995 ; Naas et Nordmann, 1999**). Elles ont été fonctionnellement décrites comme des pénicillinases capables d'hydrolyser l'oxacilline et la cloxacilline (**Bush, 1988**). Ces enzymes sont plus ou moins résistantes à l'action de l'acide clavulanique et l'EDTA (**Bush et Sykes, 1987**), mais sont bien inhibées par le tazobactam (**Livermore, 1995**). Certaines oxacillinases peuvent être inhibées *in vitro* par les ions Cl⁻ (**Naas et Nordmann, 1999**).

C'est la classe possédant le moins d'enzymes (40 enzymes) et certainement la plus éloignée phylogéniquement des 3 autres classes (**Cavallo et al., 2004**).

III. Résistance aux antibiotiques dans l'environnement

Les antibiotiques sont employés couramment en médecine humaine et vétérinaire, agriculture, aquaculture et dans l'alimentation animale comme additif pour promouvoir la croissance des animaux (**Kümmerer, 2003 ; Bryan et al., 2004 ; Kümmerer, 2004**). La consommation mondiale des antibiotiques est estimée à environ 100.000 à 200.000 tonnes par an (**Wise, 2002**), le domaine vétérinaire représente une part non négligeable de cette consommation totale en antibiotiques (**Faye, 2005**).

La majorité de ces antibiotiques sont excrétés dans l'environnement en tant que substances actives (**Zhang et al, 2009**). Selon le type d'antibiotique, elles représentent entre 30% et 90% de la dose administrée (**Costanzo et al., 2005**). Ainsi, le souci concernant l'impact potentiel des résidus antibiotiques dans l'environnement aquatique s'élève ces dernières années (**Sarmah et al., 2006 ; Wright 2007 ; Kemper 2008**).

Dans l'environnement, les antibiotiques subissent l'effet d'adsorption, de photolyse et de biodégradation, donc leurs concentrations sont basses (**Halling-Sorensen et al., 1998**), ils posent peu de risques toxiques, mais le risque de leur présence étant leur potentiel de sélectionner des bactéries résistantes (**Castiglioni et al., 2008**). En effet, à des concentrations sub-inhibitrices les antibiotiques peuvent avoir un impact sur les fonctions des cellules bactériennes, induire et favoriser la résistance bactérienne et changer l'expression génétique des facteurs de virulence (**Ohlsen et al., 1998 ; Kümmerer, 2003 ; Cabello, 2006**). Des études récentes démontrent clairement que l'utilisation des antibiotiques en agriculture en particulier animale est censée jouer un rôle principal dans la diffusion des gènes de résistance aux antibiotiques parmi les bactéries de l'environnement (**Chee-Sanford, 2001 ; McManus et al., 2002**).

L'utilisation excessive et imprudente des antibiotiques est généralement considérée pour être la force d'entraînement principale derrière la prédominance croissante de la résistance aux antibiotiques dans les bactéries cliniques et environnementales (**McIntosh et al., 2008**). Ce phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques est en perpétuelle croissance dans l'environnement et concerne de façon directe la santé publique (**Kim et al., 2008 ; Martinez, 2009**). Cependant, il est à noter que des agents non antibiotiques, dont les antiseptiques et les métaux lourds, ont été impliqués dans la cosélection de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement (**Alonso et al., 2001 ; Schwarz et al., 2004 ; Baker-Austin et al., 2006**).

En plus de l'action des agents antimicrobiens, les bactéries résistantes elles-mêmes, qui sont des bactéries commensales ou pathogènes de l'homme ou de l'animal, sont émises dans les différents compartiments environnementaux, eaux ou sol, via les effluents d'élevages, les eaux usées provenant d'activités humaines et les rejets domestiques (**McPhearson et al., 1991 ; Witte, 1998 ; Kümmerer, 2004**).

Les différents rejets aboutissant en mer permettent aux bactéries résistantes d'atteindre l'écosystème marin (Miranda et Zemelman, 2001). En outre, par lessivage, les eaux de ruissellement déplacent plusieurs bactéries terrestres résistantes aux antibiotiques vers les eaux marines (Chandrasekaran et al., 1998).

Les bactéries hétérotrophes jouent un rôle principal dans la dégradation de la matière organique dans le milieu marin (Deming et Baross, 1993 in Chelossi et al., 2002). La structure des assemblages microbiens est très sensible aux changements des conditions environnementales et des niveaux de la chaîne trophique (Danovaro et al., 2000). Cette influence apparaît spécialement lorsque les microorganismes de l'environnement sont sujets à des apports anthropiques (Jensen et al., 1990 ; Hansen et Blackburn, 1992 in Chelossi et al., 2002).

Dans l'environnement, de nombreuses études réalisées partout dans le monde ont montré que les bactéries résistantes aux antibiotiques comme les entérobactéries (*E.coli*, *Enterobacter*, *Salmonella* et *Klebsiella*), *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas* et *Acinetobacter* sont largement retrouvées dans divers compartiments environnementaux, y compris le sol (Kaszab et al., 2010), les eaux usées (Goni-Urriza et al., 2000 ; Watkinson et al., 2007), les stations d'épuration (Zhang et al., 2009), les lacs (Lobova et al., 2008 ; Pontes et al., 2009), les rivières (Ozgumus et al., 2009 ; Servais et al., 2009), les eaux marines (Bouhaddioui et al., 2002 ; Zhang et al., 2006 ; Harakeh et al., 2006), le sédiment marin (Matyar et al., 2008) et les sites aquacoles d'eau douce (Miranda et Zemelman, 2002) et d'eau marine (Sarter et al., 2007 ; Dang et al., 2009).

Elles présentent généralement des taux élevés de résistance aux antibiotiques. Olaniran et al (2009) ont rapporté que 97.1% et 71.15% de souches d'*E. coli* isolées, respectivement, des rivières Palmiet et Umgeni en Afrique de sud sont multirésistantes. Plus de 90% des bactéries marines sont résistantes à plus d'un antibiotique et 20% sont résistantes à au moins cinq antibiotiques (Martinez, 2003). Un nombre élevé de bactéries résistantes, particulièrement de nature clinique, a été signalé près des lieux des rejets hospitaliers et urbains. Une corrélation entre les bactéries résistantes dans les rivières et les rejets urbains a été signalée par Goni-Urriza et al. (2000).

Cette évolution préoccupante de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement est le résultat d'un transfert horizontal des gènes de résistance (Wang et al., 2006 ; Ozgumus et al., 2009). Les vecteurs de résistance aux antibiotiques sont le plus souvent des éléments génétiques mobiles comme notamment les plasmides, les transposons ainsi que les intégrons (Sørum et L'Abeé-Lund, 2002 ; Kemper, 2008). Le passage de ces fragments d'ADN entre les cellules bactériennes est effectuée par l'intermédiaire de la conjugaison, de la transduction et de la transformation (Lorenz et Wackernagel, 1994 ; Davison, 1999 ; Thomas et Nielsen, 2005).

Les premiers gènes de résistance proviennent de bactéries d'origine environnementale, lesquels se sont mobilisées et pénétrées dans des populations bactériennes taxonomiquement et écologiquement éloignées (**Aminov et Mackie, 2007**). Le passage des vecteurs de résistance à l'homme est la résultante d'un contact direct ou indirect avec l'environnement (**Kim et al. 2005**). Les bactéries résistantes des animaux peuvent infecter la population humaine non seulement par le contact direct mais également par l'intermédiaire de la chaîne alimentaire qui constitue un vaste réseau de transfert de la résistance aux antibiotiques (**Witte, 2000 ; Teuber, 2001 ; Lateef, 2005 ; Fabrega et al., 2008**).

Le transfert des gènes de résistance est optimal en présence d'éléments nutritifs ainsi qu'une densité bactérienne importante ; ces conditions existent généralement dans les stations de traitement des eaux usées et les biofilms se trouvant au sein des conduites d'eau potable, sol et sédiment (**Castiglioni, 2008 ; Kümmerer, 2009**).

Le biofilm, est un mode de vie normal des bactéries, prédominant dans les écosystèmes aquatiques (**Schwartz et al., 2003 ; Klinger et al., 2005**). Sa formation implique dans un premier temps l'adsorption des bactéries et leur adhésion à une surface biotique ou abiotique, puis la multiplication et la production d'exopolysaccharides appelée glycocalyx (**Head et Yu, 2004 ; Guerrero et al., 2009**). La formation de ce biofilm modifie, en effet, le comportement individuel des cellules bactériennes, en les rendant souvent beaucoup plus résistantes aux différents stress environnementaux, dont les antibiotiques (**Consterton et al., 2005 ; Kvist et al., 2008 ; Mérens et al., 2011**), ceci est possible via de nombreux mécanismes à savoir la difficulté de pénétration des antibiotiques, croissance ralentie d'une partie du biofilm et hétérogénéité des populations présentes et diversités génétiques (**Stewart et Consterton, 2001**).

Plusieurs bactéries pathogènes opportunistes ont la capacité de former des biofilms comme *Pseudomonas aeruginosa* (**Mérens et al., 2011**). En hébergeant les traits de résistance aux antibiotiques, ces biofilms participent à la réintroduction de cette résistance dans les eaux de surface après sa disparition au bout d'un certain temps (**Knapp et al., 2010**).

La dissémination de la résistance via le transfert horizontal est extrêmement efficace et contribue de manière significative à l'évolution des bactéries ainsi qu'à leur adaptation dans des écosystèmes hostiles (**McArthur et Tuckfield, 2000 ; Dennis, 2005 ; Hawkey et Jones, 2009**). Le changement génétique au sein des bactéries de l'environnement peut provoquer des changements de leur fonction, donc de leur rôle écologique ce qui influence directement la stabilité de l'écosystème (**Castiglioni et al., 2008**).

L'environnement aquatique peut servir donc de réservoir de résistance aux antibiotiques (**Biyela et al., 2004 ; Seyfried et al., 2010**), (Fig.7), et les bactéries résistantes marines représentent une contamination biotique sérieuse et des moyens pour la diffusion et l'évolution des gènes de résistance et de leurs vecteurs (**Young, 1993**). Ces bactéries résistantes peuvent être sélectionnées et transmises à l'homme et l'animal.

**MATERIEL
ET METHODES**

MATERIEL ET METHODES

I. Présentation de la zone d'étude

Lors de cette étude, cinq stations ont été choisies (Fig.8), et ce, en fonction de leur niveau d'anthropisation. Deux stations sont situées dans des zones qui reçoivent des apports anthropiques (la plage de la Fayette et l'embouchure du lac de Réghaia) et trois stations dans des zones considérées comme non polluées (plage d'ex-Surcouf, Ain Tagourait et Anse de Kouâli).

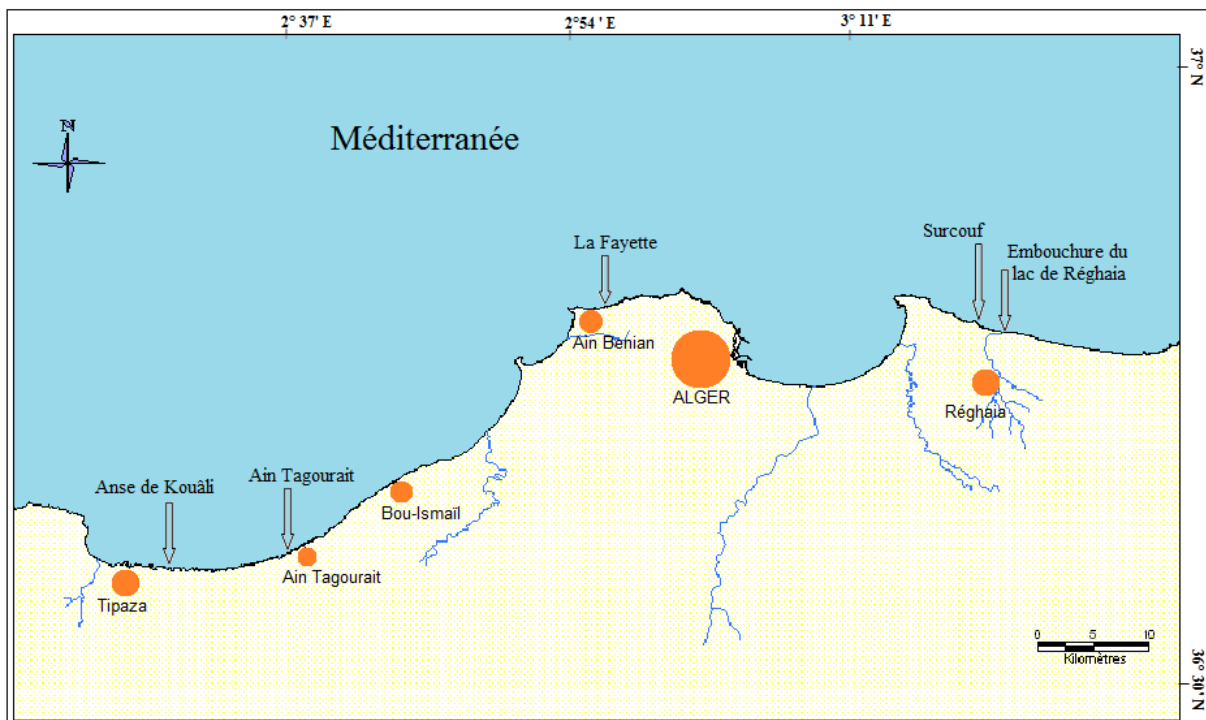


Figure 8 : Situation géographique des sites de prélèvement.

La plage de la Fayette est localisée au niveau de la commune de Hamammet dans la région de Bainem. C'est une plage interdite à la baignade et déclarée polluée (**Agence de Promotion et de Protection du Littoral, 2008**). Cette plage reçoit principalement les effluents de l'hôpital de Bainem. Une petite station de traitement existe au niveau de cet hôpital, elle assurait l'incinération des déchets solides et la chloration des eaux résiduaires de l'hôpital, actuellement elle n'est pas fonctionnelle selon nos dernières informations.

Le deuxième site est l'embouchure du lac de Réghaia ; réserve naturelle qui a bénéficié du statut site **RAMSAR** en 2002. Ce site correspond à l'estuaire de l'oued de Réghaia. Il est alimenté par diverses sources : les eaux de ruissellement, les eaux souterraines des nappes et une grande quantité d'effluents issus de la station d'épuration voisine qui reçoit les eaux usées de la zone industrielle de Rouiba-Réghaia (**Rouibah et al., 2005**).

Le troisième site est la plage d'ex-Surcouf (Ain Chrob), située au niveau de la commune d'Ain Taya wilaya d'Alger. C'est une plage autorisée à la baignade, ouverte et soumise à des renouvellements d'eau (Chebab, 1996). Il est à signaler l'existence d'une agglomération abritant une société conchylicole off-shore.

L'Anse de Kouâli se situe au niveau de la baie de Bou-Ismaïl à Tipaza, à environ 70 km à l'ouest d'Alger. Il est classé réserve naturelle et considéré comme étant l'une des plus importantes criques de la région. Il n'est soumis qu'à des rejets sporadiques, essentiellement en période estivale (Boumaza, 2002).

Le site d'Ain Tagourait (ex-Bérard) est représenté par la plage Mehieddine Abdelkader (dite plage suisse) située dans la baie de Bou-Ismaïl à environ 2 km de la ville de Bouharoun et 50 km à l'ouest d'Alger. C'est une zone caractérisée par une activité agricole traditionnelle sans engrais chimiques (agriculteurs de la région, communication personnelle) et une activité conchylicole. Des rejets urbains issue des quelques maisons du douar Mehieddine se déversent directement en mer (PAC, 2005). Ces deux dernières stations (Ain Tagourait et Anse de Kouâli) sont considérées des stations de référence (Boumaza, 2002).

II. Echantillonnage

Les différents échantillons d'eau, 3 litres à chaque point de prélèvement, ont été collectés dans des flacons stériles à 20 cm de profondeur et à une distance d'environ 1m du bord, lors de plusieurs sorties sur terrain effectuées entre le 7 et le 12 mars 2009. Des mesures physicochimiques ont été réalisées *in situ* à l'aide d'appareillages de terrain à savoir : la salinité, le pH, l'oxygène dissous et la température. Les prélèvements ont été transportés au laboratoire dans une glacière (10°C) et les analyses ont été effectuées dans les 24h qui ont suivi le prélèvement. Le tableau III résume les dates et lieux des prélèvements ponctuels effectués.

Tableau III : Dates et lieux des prélèvements.

Dates	Lieux
• 07. 03. 2009	Plage de la Fayette
• 10. 03. 2009	Embouchure du lac de Réghaia, plage d'ex-Surcouf
• 12. 03. 2009	Anse de Kouâli, Ain Tagourait

III. Matériel

III.1. Les antibiotiques en poudre

Ils ont été utilisés soit pour l'évaluation de la résistance aux antibiotiques : amoxicilline, ticarcilline, céfoxitine, céfotaxime, ceftazidime et imipénème, soit pour la sélection des transconjugants lors du transfert génétique par conjugaison bactérienne : acide nalidixique et rifampicine. Les solutions mères des antibiotiques sont à une concentration de 10^4 µg/ml.

III.2. Les antibiotiques en disques

Les disques imprégnés d'antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme sont représentés dans le tableau IV.

Tableau IV : Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.

Famille	Antibiotiques	Abréviation	Charge
Aminopénicillines	Amoxicilline	AMX	25 µg
Carboxypénicillines	Ticarcilline	TIC	75 µg
Urédopénicillines	Mezlocilline	MZ	75 µg
	Pipéracilline	PIP	75 µg
Amidinopénicillines	Mécillinam	MEC	10 µg
Monobactames	Aztréonam	ATM	30 µg
Céphalosporines de 1 ^{ère} génération	Céfalotine	CF	30 µg
Céphalosporines de 2 ^{ème} génération	Céfoxitine	FOX	30 µg
Céphalosporines de 3 ^{ème} génération	Céfotaxime	CTX	30 µg
	Ceftazidime	CAZ	30 µg
	Céftriaxone	CRO	30 µg
	Cefsulodine	CFS	30 µg
Céphalosporines de 4 ^{ème} génération	Céfépime	FEP	30 µg
Carbapénèmes	Imipénème	IMP	10 µg
Inhibiteur de β-Lactamases	Amoxicilline + A. clavulanique	AMC	20/10 µg
	Ticarcilline + A. clavulanique	TCC	75/10 µg
	Pipéracilline+Tazobactam	PTZ	75/10 µg
Aminosides	Kanamycine	K	30 UI
	Gentamicine	GM	10 UI
Tétracyclines	Tétracycline	TE	30 UI
Phénicoles	Chloramphénicol	C	30 µg
Sulfamides	Sulfamide	SSS	200 µg
	Triméthoprime	TMP	5 µg
	Triméthoprime + Sulfaméthoxazole	SXT	1,25/23,75 µg
Quinolones	Acide nalidixique	NA	30 µg
	Ciprofloxacine	CIP	5 µg
Rifamycines	Rifampicine	RA	30 µg

IV. Méthodes

IV.1. Détermination des paramètres physico-chimiques

IV.1.1. Salinité

La salinité représente la proportion des sels minéraux dissous dans l'eau de mer, elle n'est pas accessible par une méthode de mesure directe, mais elle est déduite de la chlorinité ou de la conductimétrie (**Aminot et Chausspied, 1983**). L'appareil utilisé est un conductimètre de marque Wissenschaftlich Technische Werkstätten « WTW pH315i », qui est réglé pour donner la conductivité correspondant à la chlorinité de l'eau de mer normale. Les résultats sont exprimés en psu.

IV.1.2. Oxygène dissous

L'oxygène dissous est mesuré *in situ* également par la méthode électrochimique en raison de sa simplicité et sa rapidité, à l'aide d'un oxymètre portable de marque WTW type Oxi 330 i/Set. La sonde électrolytique est plongée immédiatement dans l'eau prélevée dans un flacon.

IV.1.3. Potentiel hydrogène

Le pH est mesuré par la méthode électrochimique avec électrode en verre, en utilisant un pH-mètre portable de marque WTW pH315i/SET doté d'une deuxième électrode pour la mesure de la température. L'électrode en verre est immédiatement plongée dans le flacon d'échantillon. A chaque utilisation, elle est rincée à l'eau distillée et délicatement essuyée.

IV.1.4. La température

La température, un des descripteurs de base pour la connaissance du milieu marin, a été mesurée en parallèle avec les trois appareillages précédents. Elle est calculée à partir des trois valeurs obtenues.

IV.1.5. Demande biologique en oxygène (DBO₅)

La demande biologique en oxygène est représentée par la quantité d'oxygène nécessaire aux microorganismes pour dégrader la matière organique dans l'eau (**Aminot et Chausspied, 1983**). La DBO₅ a été mesurée à l'aide d'un DBO-mètre de marque Wissenschaftlich Technische Werkstätten « WTW ». C'est une méthode manométrique avec un manomètre de marque Oxi Top à affichage numérique qui se fixe directement sur le flacon de la DBO.

Technique

Un volume de 250 ml d'échantillon est introduit dans un flacon brun en verre contenant un aimant d'agitation magnétique. Une capsule contenant deux pastilles de soude (NaOH) est ajoutée à la bouteille qui va être fermée à moitié pendant 15mn, puis fermée complètement.

La bouteille est mise dans un dispositif adéquat avec un thermostat réglé à 20°C et une agitation automatique. La consommation d'oxygène induit une production de CO₂ absorbé par un piège à soude créant ainsi une dépression enregistrée par le manomètre. Cette dépression

est liée par corrélation à la DBO en fonction du volume de l'échantillon. La lecture est faite après cinq jours d'incubation (Rodier et al., 2009).

IV.1.6. Matières en suspension (MES)

La méthode consiste à faire passer de l'eau à travers un filtre afin de retenir toutes les particules de taille supérieure à 0,45 µm. Le filtre est séché et pesé avant et après filtration sous faible pression. La différence de poids entre les deux pesées permet de connaître la masse sèche totale de MES dans le volume d'eau correspondant (Aminot et Chaussepied, 1983).

Le dispositif de filtration est composé d'un erlenmeyer, d'un support filtre, d'un entonnoir gradué et d'une pompe à vide. Pour chaque station, on a filtré un volume de 100 ml d'eau de mer à travers un filtre Wattman de porosité 0,45µm. Le poids des matières retenues est déterminé par la pesée différentielle du filtre avant et après passage à l'étuve à 105°C pendant 2 heures (Rodier et al., 2009).

IV.2. Analyse microbiologique par filtration sur membrane

La qualité microbiologique de l'eau a été évaluée par l'estimation de la flore totale, des coliformes totaux et des coliformes thermotolérants. Cette méthode consiste à la filtration de 100 ml de l'échantillon ou de ses dilutions sur une membrane en ester de cellulose, de porosité 0,45 µm, placée dans une rampe de filtration en inox de six postes dans des conditions stériles (Rodier et al., 2009). La membrane est déposée à la surface d'un milieu de culture choisi selon la recherche.

Technique

Dans des conditions stériles, la membrane est déposée sur la plaque poreuse. Un volume de 100 ml d'échantillon agité soigneusement est filtré. Après filtration, la membrane est déposée à la surface d'une gélose de Mueller Hinton pour la recherche de la flore totale et à la surface d'une gélose au Tergitol pour la recherche des coliformes totaux et thermotolérants. L'incubation du milieu est effectuée à 35±2°C pendant 24-48h pour la flore totale et les coliformes totaux, alors pour les coliformes thermotolérants, elle est effectuée à 44°C.

IV.3. Prévalence de la résistance aux antibiotiques

L'évaluation de la résistance à six molécules de bêta-lactamines a été réalisée pour la flore totale et les coliformes totaux. Après filtration de 100 ml d'échantillon ou de ses dilutions, les membranes ont été déposées sur gélose Mueller Hinton (flore totale) ou au Tergitol (coliformes) additionné de l'un des antibiotiques suivants : amoxicilline (AMX), ticarcilline (TIC), céfoxitine (FOX), céfotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ) et imipénème (IMP) à des concentrations de 32, 64, 64, 64, 64 et 16µg/ml, respectivement.

La prévalence de la résistance aux antibiotiques vis-à-vis de ces six bêta-lactamines a été déterminée par le rapport du nombre de bactéries résistantes obtenues sur gélose au Tergitol et

Mueller Hinton sur le nombre de bactéries de coliformes totaux et de la flore totale, respectivement (**Guardabassi et al., 2002**).

IV.4. Isolement et identification bactérienne

Les souches ayant présentées une résistance aux antibiotiques IMP, CTX, FOX et CAZ ont fait l'objet d'un réisolement sur Mueller Hinton supplémenté de l'antibiotique approprié, afin de confirmer leur résistance. Les bactéries isolées et conservées ont été identifiées par galeries API 20E (Bio Mérieux).

Ce système d'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif comporte 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés. Les milieux déshydratés sont reconstitués avec une suspension bactérienne préparée dans 5 ml d'eau physiologique (0.9% NaCl) contenant 1 à 3 colonies pures de culture jeune (18h). Les réactions produites pendant la durée d'incubation (24-48 h à $35\pm 2^\circ\text{C}$) se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La codification des réactions en un profil numérique permet, en se référant à un catalogue analytique fourni par le fabricant, de déterminer l'identité des souches bactériennes.

Le test d'oxydase est réalisé à part en déposant quelques colonies de la bactérie à identifier sur un disque contenant l'oxalate de diméthyl-paraphénylène-diamine qui est incolore. L'apparition de coloration violette indique la présence d'oxydase.

IV.5. Etude de la sensibilité aux antibiotiques par antibiogramme

La sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques a été réalisée *in vitro* par la méthode de diffusion en milieu gélosé (**Courvalin et al., 1985 ; CA-SFM, 2008**). Cette technique est basée sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration d'antibiotiques obtenu par diffusion à partir des disques d'antibiotiques dans un milieu gélosé (Muller-Hinton). Ce gradient est inversement proportionnel à la distance par rapport aux disques. La croissance s'arrête lorsque les bactéries sont en contact avec leur concentration minimale d'inhibition dessinant ainsi des halos d'inhibition autour du disque d'antibiotique.

Technique

A partir d'une culture de 18-24 h sur milieu gélosé non sélectif (Mueller Hinton), une suspension bactérienne équivalente à 10^8 cellule/ml ($\text{DO}=0.08-0.10$ à 625nm) a été préparée dans de l'eau physiologique stérile. La suspension inoculum est diluée au 1/10 puis utilisée pour l'ensemencement par écouvillonnage de la surface d'une gélose Mueller-Hinton préalablement séchée. Les disques d'antibiotiques à tester sont déposés à l'aide d'un distributeur stérile suivant la disposition de **Vedel (1997)** pour les bêta-lactamines (Fig.9). Après incubation pendant 18-24 h à $35\pm 2^\circ\text{C}$, la lecture des boîtes de culture est faite en mesurant avec précision les diamètres d'inhibition à l'aide d'une règle.

Les résultats sont interprétés selon les diamètres d'inhibitions indiquées dans le communiqué de Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (2008).

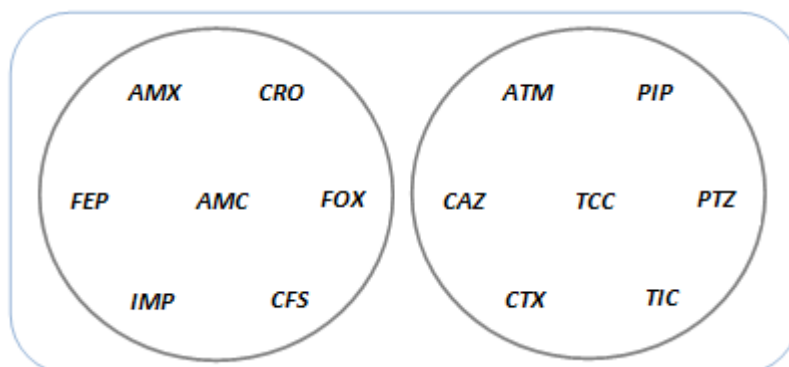


Figure 9 : Schéma de la disposition des bêta-lactamines (Vedel, 1997).

IV.6. Détection des bêta-lactamases inductibles : test d'antagonisme

La disposition de **Vedel (1997)** a permis d'avoir à la fois la résistance aux antibiotiques ainsi que de détecter la production de certaines enzymes tels que les céphalosporinases inductibles. Elles sont mises en évidence par l'apparition d'une image d'antagonisme entre un antibiotique inducteur (Céfoxitine ou Imipénème) et un antibiotique actif (Céfépime, Cefsulodine), qui se traduit par la diminution de l'activité de la bêta-lactamine initialement active (**Vedel, 2005**).

IV.7. Détection des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) : test de synergie

Le phénotype BLSE est mis en évidence par le test de synergie (Double Disk Synergy Test, DDST) (**Jarlier et al., 1988**) réalisé de manière systématique lors de l'antibiogramme. L'apparition d'une image de synergie entre au moins une céphalosporine de 3^{ème} génération (C3G) et/ou l'Aztréonam et un inhibiteur de bêta-lactamines tel que l'acide clavulanique, déposés à 3 cm de distance centre à centre, indique la production de bêta-lactamase à spectre élargi. La synergie se traduit par une apparition ou une augmentation de sensibilité vis-à-vis d'une céphalosporine de 3^{ème} génération et/ou l'aztréonam du côté de l'inhibiteur, l'acide clavulanique (**Jarlier et al., 1988 ; Vedel, 2005**).

IV.8. Transfert génétique par conjugaison en milieu solide

A partir de cultures de 18 heures sur BHIB, les souches donatrices (un volume) et réceptrices (deux volumes) sont mises en contact sur une gélose Mueller-Hinton après centrifugation du mélange à 12000 rpm pendant 2mn et remise en suspension du culot dans de l'eau physiologique stérile. Les souches réceptrices utilisées sont *E. coli* J-53 résistante à la rifampicine (RA^R) ou *E. coli* K12 résistante à l'acide nalidixique (NA^R). Elles sont dépourvues de plasmides et possédant dans ce cas un caractère de résistance chromosomique à la Rifampicine ou à l'Acide Nalidixique auxquels la donatrice est sensible. Après une nuit de contact entre les souches parentales, la culture mixte est mise en suspension dans de l'eau

physiologique stérile et ensemencée sur boîte de sélection, ce qui permet de sélectionner les souches réceptrices ayant acquis le (s) caractère (s) transférable (s) de résistance aux antibiotiques (Bakour et al., 1983 ; Courvalin et al., 1985). Ces dernières sont testées par antibiogramme pour déterminer leur profil d'antibiorésistance.

Les boîtes de sélection sont préparées par l'ajout à la gélose Mueller-Hinton (en surfusion à 55°C) du Céfotaxime avec une concentration finale de 4µg/ml et de la Rifampicine (250µg/ml) ou de l'Acide Nalidixique (50µg/ml).

IV.9. Recherche de gènes de résistance par PCR

La PCR est une technique basée sur l'amplification itérative d'un fragment d'ADN défini par l'hybridation spécifique d'amorces. Les réactions PCR sont réalisées dans un volume de 12,5 µl ; les concentrations finales utilisées sont : PCR master Mix 2X (Tampon PCR 2X, MgCl₂, dNTPs) : 6.25 µl, Amorce sens et reverse : 0.25 µl chacune, ADN : 2.5 µl et eau : 3.25 µl.

L'ADN utilisé pour les réactions PCR a été extrait par chauffage à 100°C pendant 10 min. 3 à 4 colonies bactériennes sur gélose Mueller-Hinton supplémentée de 4µg/ml de céfotaxime sont mises en suspension dans 50 µl d'eau distillée stérile. Après chauffage, l'inoculum bactérien a subi une centrifugation à 12000 rpm pendant 2 min dans le but d'éliminer les débris cellulaires.

Les gènes de bêta-lactamases *bla_{TEM}* et *bla_{CTX-M}* ont été recherchés dans ces conditions : 1 cycle de dénaturation de 5 min à 94°C, 30 cycles de 94°C/40sec, 55°C/30sec, et 72°C/40sec et une élongation finale de 10 min à 72°C (Kim et al, 2004). Les séquences des amorces utilisées est donnée dans le tableau V.

Tableau V : Les séquences des amorces des gènes recherchés par PCR.

Gènes	Amorces (5' - 3')	Taille du fragment	Température d'hybridation	Références
<i>bla_{TEM}</i>	Up : ATGAGTATTCAACATTTCCG Low : CCAATGCTTAATCAGTGAGG	858pb	55°C	Yates et al., 2003
<i>bla_{CTX-M}</i>	Up : GGTAAAAAATCACTGCGTC Low : TTGGTGACGATTTTAGCCGC	550pb	55°C	Kim et al., 2004
<i>bla_{CTX-M-1}</i>	Up : GGTAAAAAATCACTGCGTC Low : TTGGTGACGATTTTAGCCGC	863pb	55°C	Kim et al., 2004

IV.10. Electrophorèse sur gel d'agarose

C'est une méthode standardisée qui assure la séparation, l'identification et la purification des fragments d'ADN chargé négativement. La migration de l'ADN dans le gel d'agarose, soumis à un champ électrique, dépend des paramètres suivants : le poids moléculaire, la concentration d'agarose dans le gel, la conformation de l'ADN, le voltage appliqué et la composition du tampon d'électrophorèse (**Sambrook et al., 1989**).

Dans le cas des produits d'amplification des PCR, un gel d'agarose à 1% a été préparé dans un tampon TBE 1X additionné de bromure d'éthidium (0.5µg/ml). Les amplifiats additionnés de la solution de dépôt à raison de 1µl pour 5µl d'ADN ont été mis à migrer dans un champ électrique à un voltage de 5V/cm. Un marqueur de poids moléculaire 100pb DNA ladder (Promega) a été utilisé pour déterminer la taille des d'amplifiats.

Solutions employées

- ✦ **Tampon TBE 10X** (pH=8.3, autoclavé) : 890 mM de Tris Base, 890 mM d'acide borique, et 19 mM d'EDTA.
- ✦ **Solution de dépôt** (aliquotée et conservée à 4°C) : Glycérol 50%, EDTA-NA₂ 100mM, pH=8, et Bleu de bromophénol 0.2% ; SDS 3%.

IV.11. Extraction d'ADN plasmidique par lyse alcaline

L'ADN plasmidique des souches sauvages et des transconjugants a été extrait des cultures en phase exponentielle par la méthode de **Kado et Liu (1981)**. L'extraction de L'ADN plasmidique est réalisée sur 3 ml de culture bactérienne dans du bouillon BHIB.

Le culot bactérien obtenu dans un microtube Eppendorf à 12000 rpm pendant 2 min est repris dans 100 µl de Tampon TE (Tris 50 mM, EDTA 10mM) ; celui-ci permet de fragiliser la paroi bactérienne et d'empêcher la dégradation de l'ADN par les nucléases via la présence de chélateur d'ions. Cette suspension est mise en contact avec 200 µl de solution de lyse alcaline (3% SDS dans du Tris 50 mM, pH : 12,6). Le mélange obtenu par inversion du microtube est mis à chauffer à 60°C pendant 25 min. Un volume de 600 µl de phénol est ajouté à la suspension bactérienne afin d'éliminer les contaminants majeurs de l'ADN plasmidique (protéines, ADN chromosomique et ARN de haut poids moléculaire). Le surnageant aqueux contenant l'ADN plasmidique prêt à être analysé est récupéré après 15 min de centrifugation à 12000 rpm.

Après électrophorèse sur gel d'agarose à 0.7%, le gel est mis dans une solution de bromure d'éthidium à 0.5µg/ml pendant 40 min et l'ADN plasmidique est visualisé sous UV (**Sambrook et al., 1989**). La taille des plasmides est estimée par comparaison avec des plasmides standards pRK2013 (54 kb), pIP113 (48 kb) et pBR322 (4.36 kb) et de la souche d'*E. coli* V517 (54, 35, 5.6, 5.1, 3.9, 3, 2.7 et 2.1 kb).

RESULTAT

RESULTATS

I. Paramètres physico-chimiques et microbiologiques

Afin de déterminer la qualité de l'eau de mer dans les stations retenues, une étude des paramètres physico-chimiques et microbiologiques a été effectuée. Le récapitulatif de cette étude est donné dans le tableau VI. Il faut signaler que les dénominations plage de la Fayette, embouchure du lac de Réghaia et plage d'ex-Surcouf sont ramenées à la Fayette, Réghaia et Surcouf, respectivement.

Tableau VI : Paramètres physico-chimiques et microbiologiques des eaux des stations d'étude.

<i>Paramètres</i>	<i>Stations</i>				
	<i>La Fayette</i>	<i>Réghaia</i>	<i>Surcouf</i>	<i>Ain Tagourait</i>	<i>Anse de Kouâli</i>
S (psu)	35.1	32.2	36.8	36.8	36.7
pH	8.2	8.1	8.3	8.3	8.5
T (°C)	13.3	13.6	14.3	14.5	14.3
OD (mg l⁻¹)	7.4	7.1 (76%)	7.2 (76%)	8.3 (81%)	10.6 (104%)
MES (mg l⁻¹)	327.4	157.9	216.1	174.4	153.6
DBO₅ (mg l⁻¹)	15	5	5	0	0
FT (100 ml⁻¹)	ND	18000	2040	860	3510
CT (100 ml⁻¹)	ND	8700	240	37	44
CF (100 ml⁻¹)	ND	400	1	25	19

S, salinité ; pH, potentiel d'hydrogène ; T, température ; OD, oxygène dissous ; MES, matière en suspension ; DBO₅, demande biochimique en oxygène ; FT, flore totale ; CT, coliformes totaux ; CF, coliformes fécaux ; ND, non déterminée.

Les résultats montrent que :

- ✦ Le taux de salinité varie de 36.7 à 36.8 psu pour les stations de Surcouf, Ain Tagourait et Anse de Kouâli. Des valeurs plus faibles ont été enregistrées pour Réghaia et la Fayette avec 32.2 et 35.1 psu, respectivement, traduisant un mélange de l'eau de mer avec de l'eau douce.
- ✦ Le pH mesuré dans l'ensemble des stations varie de 8.1 à Réghaia à 8.5 à l'Anse de Kouâli, sachant que la valeur moyenne dans les eaux méditerranéennes est de 8.2. Il est admis que le pH d'eau de mer est en général peu variable en raison de l'effet tampon des sels dissous.

- ✦ L'oxygène dissous varie de 7.1 à 10.6 mg/l. Les teneurs minimales enregistrées, allant de 7.1 à 7.4 mg/l, ont été enregistrées au niveau des stations de Réghaia, Surcouf et la Fayette. Alors que les fortes teneurs ont été retrouvées au niveau des deux stations de référence (Ain Tagourait et Anse de Kouâli) avec 8.3 et 10.6 mg/l, respectivement. Ceci s'expliquerait par un brassage des eaux, l'augmentation de la solubilité d'oxygène avec la diminution de la température et la production primaire importante de la région.
- ✦ Les valeurs moyennes de la température sont comprises entre 13.3°C et 14.5°C ; les fluctuations entre les stations sont mineures. D'une façon générale, les températures enregistrées reflètent les conditions météorologiques des périodes saisonnières printanières.
- ✦ Pour les paramètres MES et DBO₅, le site de la Fayette a présenté les valeurs les plus élevées avec 327.4 mg/l et 15 mg/l, respectivement. Tandis que dans les sites d'Ain Tagourait et Anse de Kouâli, les eaux sont plutôt claires et aucune demande biologique en oxygène n'a été enregistrée. Une faible activité biologique est observée au niveau des sites de Réghaia et de Surcouf (5mg/l).
- ✦ La flore totale a été très importante au niveau de Réghaia avec 18000 UFC/100ml. Tandis que les valeurs enregistrées au niveau des autres stations ont été variables, 2040 UFC/100ml à Surcouf, 860 UFC/100ml à Ain Tagourait et 3510 UFC/100ml à l'Anse de Kouâli.
- ✦ Les valeurs des coliformes totaux et fécaux obtenues dans les plages de Surcouf, Ain Tagourait et Anse de Kouâli ont été inférieures aux valeurs guides (500 CT/ 100ml et 100 CF/ 100ml). Par contre, à Réghaia, les valeurs ont été supérieures aux valeurs guides avec 8700 CT et 400 CF, mais elles restent toujours loin des valeurs limites (10000CT/ 100ml et 2000 CF/ 100ml).

Le dénombrement de la flore totale et des coliformes totaux et fécaux n'ont pas pu être réalisé à la station de la Fayette en raison d'une surcharge microbienne qui a entraîné une confluence sur les milieux de culture, même après dilution.

II. Prévalence de la résistance aux antibiotiques

Nos prélèvements collectés durant le mois de mars 2009 des quatre stations, Réghaia, Surcouf, Ain Tagourait et Anse de Kouâli, ont fait l'objet d'une étude de la prévalence de la résistance aux antibiotiques sur la flore totale et les coliformes totaux vis-à-vis de six antibiotiques : amoxicilline (AMX), ticarcilline (TIC), céfotaxime (CTX), céfoxitine (FOX), ceftazidime (CAZ), et imipénème (IMP).

II.1. Prévalence de la résistance aux bêta-lactamines de la flore totale

Les taux de résistance les plus élevés de la flore totale ont été vis-à-vis l'AMX au niveau des quatre stations avec 52.2%, 43.1%, 9.4% et 1.5%, pour Réghaia, Surcouf, Ain Tagourait et Anse de Kouâli, respectivement (Fig.10).

Une résistance marquée a été aussi observée vis-à-vis de TIC (47.7%, 19.6% et 7.6%), FOX (50%, 10.3% et 3.6%) et CAZ (7.2%, 11.3% et 4.5%) à Réghaia, Surcouf et Ain Tagourait. On a noté aussi des taux de résistance élevés pour CTX (2,8% et 8,3%) et IMP (2,2% et 5,4%) à Réghaia et Surcouf, respectivement.

Les stations Ain Tagourait et Anse de Kouâli ont présenté des taux de résistance presque nuls (0,1% et 0,6%) pour CTX, alors que le taux de résistance à l'IMP a été de 0,3% pour Ain Tagourait et nul pour Anse de Kouâli.

Cette dernière station est marquée aussi par une faible résistance pour CAZ (1%) et une résistance presque nulle pour TIC et FOX avec 0.8% et 0.1%, respectivement.

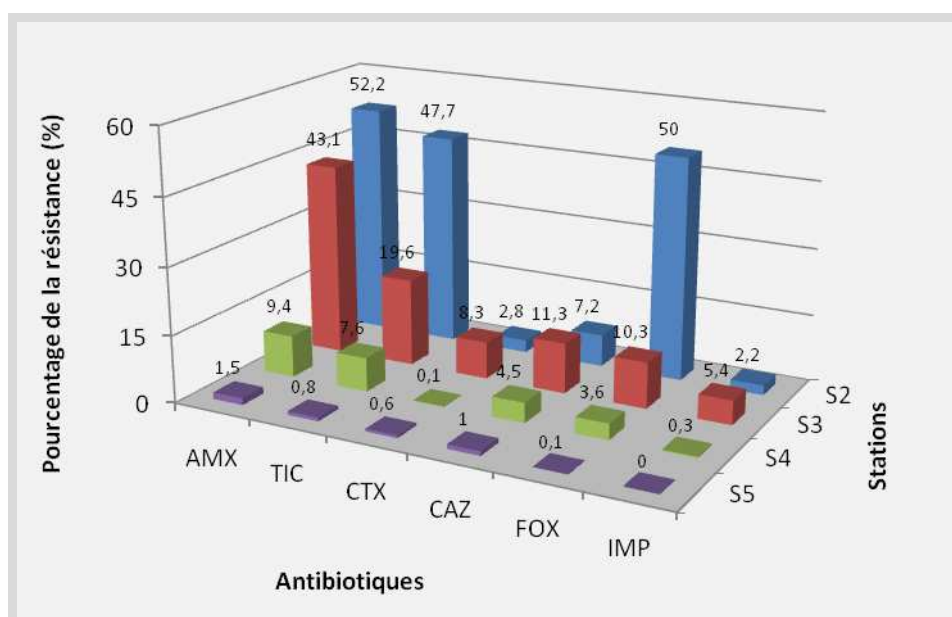


Figure 10 : Prévalence de la résistance de la flore totale aux bêta-lactamines.

S2, Surcouf ; S3, Réghaia ; S4, Ain Tagourait ; S5, Anse de Kouâli ; AMX, amoxicilline ; TIC, ticarcilline ; CTX, céfotaxime ; CAZ, ceftazidime ; FOX, céfoxitine ; IMP, imipénème.

II.2. Prévalence de la résistance aux bêta-lactamines des coliformes totaux

Sur les six antibiotiques testés, les coliformes totaux ont montré les taux les plus élevés de résistance vis-à-vis l'amoxicilline avec 20.7%, 8.3%, 16.2%, 43.2% et la ticarcilline avec 10.3%, 10.4%, 13.5%, 40.9% pour Réghaia, Surcouf, Ain Tagourait et Anse de Kouâli, respectivement (Fig.11).

Les taux de résistance à la céfoxitine (antibiotique à usage hospitalier) sont faibles et varient de 2.3 % à 5.7% en allant de l'Anse de Kouâli à Réghaia. Pour la ceftazidime, l'Anse de Kouâli a présenté un taux de résistance élevé avec 43.2%, par contre un taux faible est enregistré à Réghaia (4.6%). Tandis qu'on n'a enregistré aucune résistance au niveau des plages de Surcouf et Ain Tagourait.

En ce qui concerne la résistance au céfotaxime qui est très utilisé en clinique, de faibles taux ont été observés au niveau de Surcouf (8.3%) et Anse de Kouâli (6.8%); alors que la résistance est nulle pour les deux autres stations.

Pour l'imipénème, antibiotique très actif et efficace utilisé comme dernière ligne en clinique, aucune résistance n'a été observé dans les stations, à l'exception de Surcouf qui a montré un très faible taux (0.4%).

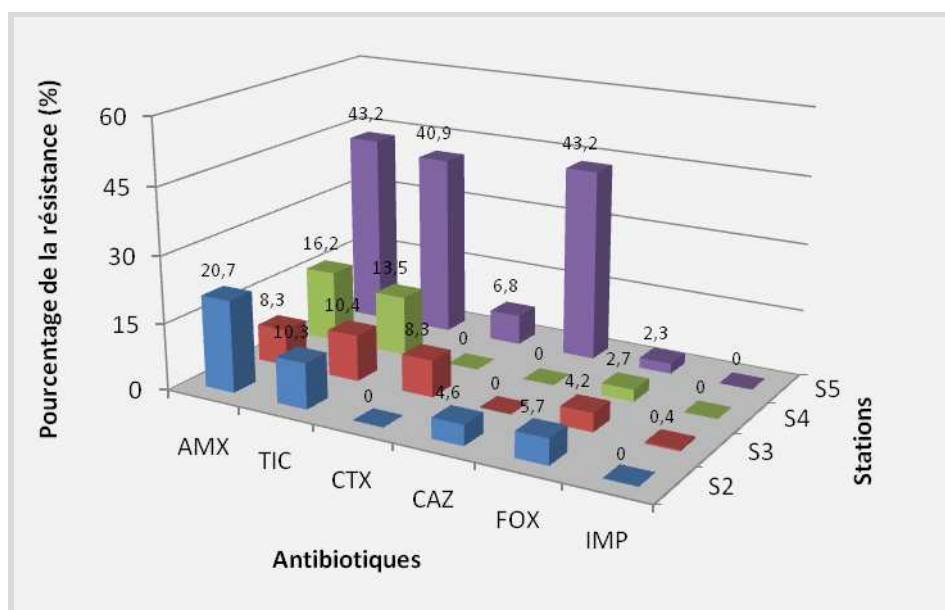


Figure 11 : Prévalence de la résistance des coliformes totaux aux bêta-lactamines.

S2, Surcouf ; S3, Réghaia ; S4, Ain Tagourait ; S5, Anse de Kouâli ; AMX, amoxicilline ; TIC, ticarcilline ; CTX, céfotaxime ; CAZ, ceftazidime ; FOX, céfoxitine ; IMP, imipénème.

III. Résultats d'identification bactérienne

L'identification biochimique par galerie API 20E a concerné 59 souches résistantes à au moins un antibiotique isolées des stations : La Fayette, Réghaia, Surcouf, Ain Tagourait et Anse de Kouâli. Les résultats d'identification selon l'antibiotique de sélection sont illustrés dans la figure 12.

Il en est ressorti une prédominance des espèces de l'environnement à savoir *Pseudomonas aeruginosa* (n=23) et *Pseudomonas fluorescens* (n=10) suivi de *Stenotrophomonas maltophilia* (n=6), *Burkholderia cepacia* (n=3), *Bordetella spp* (n=3) et *Pontoea spp* (n=2). Les espèces *Aeromonas hydrophila*, *Chrysiomonas luteola*, *Ochrobactrum anthropii* et *Acinetobacter baumannii* sont représentées chacune par une seule souche. L'identification a aussi révélée la présence de 4 entérobactéries : *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* et *Shigella spp*. Ces souches résistantes proviennent, en grande partie, des plages de La Fayette et Surcouf et de l'embouchure du lac de Réghaia (Fig.13).

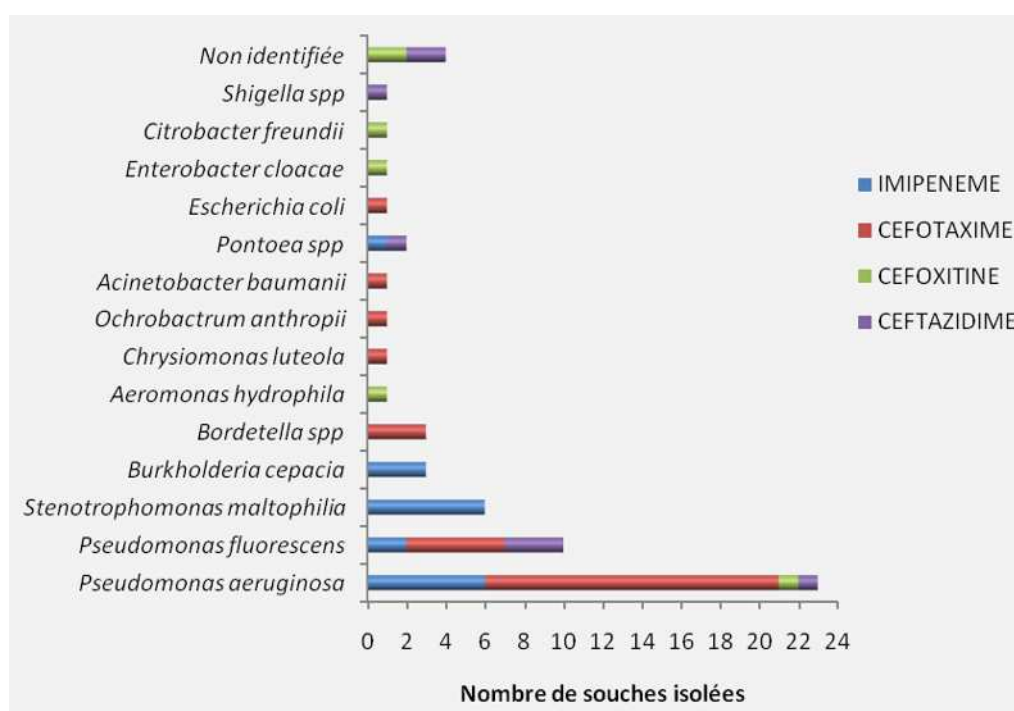


Figure 12 : Résultats de l'identification bactérienne.

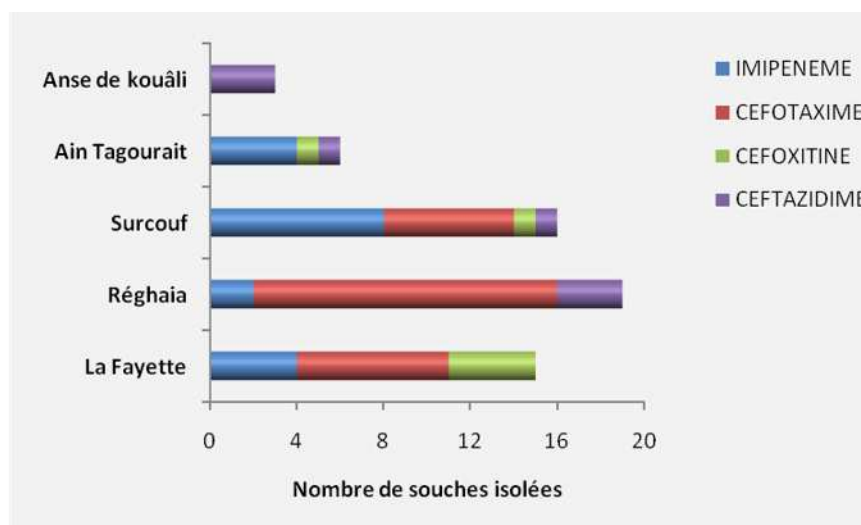


Figure 13 : Provenance des souches isolées.

IV. Profils d'antibiorésistance

IV.1. Profils d'antibiorésistance des souches sélectionnées sur imipénème

L'évaluation de la sensibilité de 18 souches sélectionnées sur imipénème vis-à-vis de 24 antibiotiques comprenant 14 bêta-lactamines a été effectuée par antibiogramme. Les résultats sont représentés dans les figures 14 et 15.

Il en est ressorti une résistance marquée aux pénicillines, aux céphalosporines de 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} génération, à l'aztréonam et à l'imipénème. L'association du tazobactam à la pipéracilline a été sans effet sur l'activité de cette dernière. Tandis que l'acide clavulanique a restauré l'activité de l'amoxicilline chez une *Burkholderia cepacia* (I3) et celle de la ticarcilline chez quatre souches comprenant 2 *Stenotrophomonas maltophilia* (I9 et I13), 1 *Pseudomonas aeruginosa* (I2) et 1 *Burkholderia cepacia* (I12).

Concernant les molécules non bêta-lactames, on a observé une sensibilité des souches aux aminosides (GM et K), un faible taux de résistance vis-à-vis des fluoroquinolones (n=2), sulfamides et l'association sulfamides/triméthoprime (n=1 et 2, respectivement) et une résistance marquée à l'acide nalidixique (n=16) suivi du triméthoprime (n=15), chloramphénicol (n=13), tétracycline (n=12), et rifampicine (n=6).

Les souches étudiées sont caractérisées par une multirésistance vis-à-vis de 4 à 14 bêta-lactamines et de 1 à 7 molécules non bêta-lactames, 15 profils d'antibiorésistance ont été définis par rapport aux antibiotiques testés (Tableau VII).

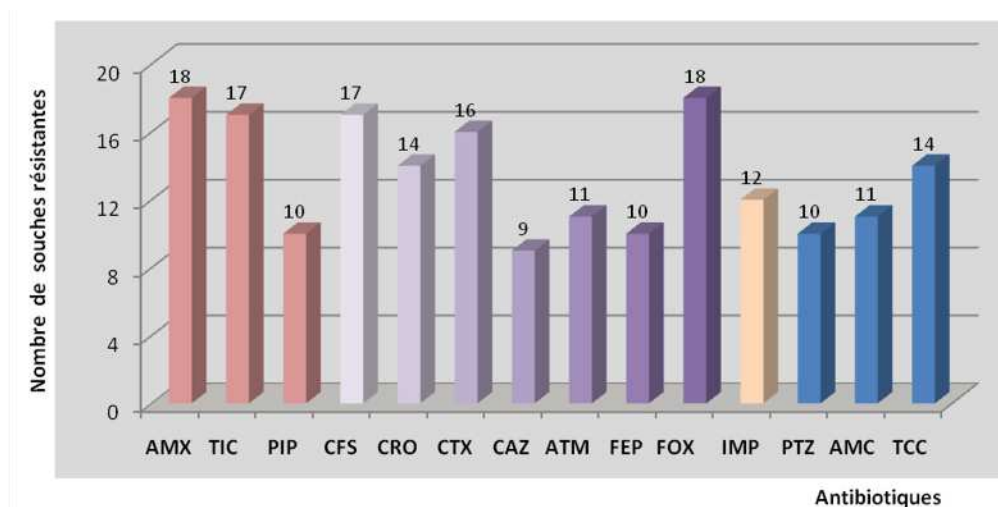


Figure14 : Résistance aux bêta-lactamines des souches sélectionnées sur IMP.

AMX, amoxicilline; TIC, ticarcilline; PIP, pipéracilline; CFS, cefsulodine; CRO, céftriaxone; CTX, céfotaxime; CAZ, ceftazidime; ATM, aztréonam ; FEP, céfépime ; Fox, céfoxitine ; IMP, imipénème ; PTZ, pipéracilline/tazobactam ; AMC, amoxicilline/clavulanate ; TCC, ticarcilline/clavulanate.

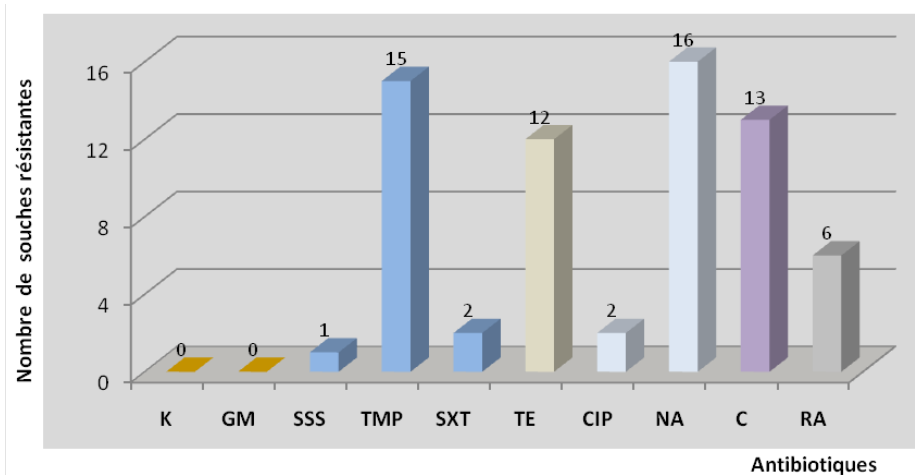


Figure15 : Résistance aux non bêta-lactamines des souches sélectionnées sur IMP.

K, kanamycine ; GM, gentamicine ; SSS, sulfamides ; TMP, triméthoprimine ; SXT, Triméthoprimine/Sulfaméthoxazole ; TE, tétracycline ; CIP, ciprofloxacine ; NA, acide nalidixique ; C, chloramphénicol ; RA, rifampicine.

Tableau VII : Profils d'antibiorésistance des souches sélectionnées sur IMP.

<i>Souches</i>	<i>Identification</i>	<i>Profils d'antibiorésistance</i>	<i>Nbre de R</i>
I1	<i>P. fluorescens</i>	AMX-TIC-CFS-FOX-IMP-TCC-TMP-NA-RA	9
I2	<i>P. fluorescens</i>	AMX-CTX-FOX-AMC-TMP-SXT-TE-CIP-NA-C	10
I3	<i>B. cepacia</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-ATM-FOX-TCC-TMP-C	10
I4	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CFS-FOX IMP-TCC-TMP-TE-NA-C-RA	11
I5	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CFS-CTX-FOX-TCC-TMP-TE-NA-C-RA	11
I6	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX –FOX-AMC-TCC-TMP-SXT-NA-C	12
I7 I8	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-FOX-TCC-TMP-TE-NA-C-RA	12
I9	<i>S. maltophilia</i>	AMX-TIC-PIP-TZP-CFS-CRO-CTX-FEP-ATM-FOX-IMP-AMC-NA	13
I10	<i>S. maltophilia</i>	AMX-TIC-PIP-TZP-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-FOX-IMP-AMC-TCC-TMP	15
I11	<i>S. maltophilia</i>	AMX-TIC-PIP-TZP-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-FOX IMP-AMC-TCC-TE-NA	16
I12	<i>B. cepacia</i>	AMX-TIC-PIP- TZP-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-FOX-IMP AMC-TMP-TE-NA	16
I13	<i>S. maltophilia</i>	AMX-TIC-PIP- TZP-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-FOX-IMP AMC-TCC-NA-C	16
I14	<i>S. maltophilia</i>	AMX-TIC-PIP-TZP-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-FOX IMP-AMC-TMP-TE-NA-C	17
I15 I16 I17	<i>S. maltophilia</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>B. cepacia</i>	AMX-TIC-PIP-TZP-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-FOX IMP-AMC-TCC-TMP-TE-NA-C	18
I18	<i>Pantoea spp</i>	AMX-TIC-PIP-TZP-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-FOX IMP-TCC-SSS-TMP-TE-CIP-NA-C-RA	20

Nbre de R : nombre de résistances.

IV.2. Profils d'antibiorésistance des souches sélectionnées sur céfotaxime

Les souches sélectionnées sur CTX au nombre de 27 ont présenté une résistance marquée aux aminopénicillines (AMX, AMC), aux carboxypénicillines (TIC, TCC), aux C2G (FOX) et à certaines C3G (CTX, CRO et CFS), avec des taux variant de 74% à 96,3%. Une résistance relativement moindre a été observée pour la ceftazidime (48.1%) et la céfépime (25.9%) (Fig.16).

L'addition de l'acide clavulanique à l'amoxicilline a été sans effet sur son activité, tandis qu'un effet a été constatée sur 4 (16%) souches résistantes à la ticarcilline incluant *E.coli* (CE10), *Acinetobacter baumannii* (CE27) et *Pseudomonas aeruginosa* (CE18 et CE23). La résistance aux uréidopénicillines a été faible avec seulement 7.4% de souches et l'activité de cette pénicilline a été restaurée chez la moitié de ces souches par le tazobactam. Pour l'imipénème, il y a eu seulement 7.4% de souches qui ont été résistantes.

Concernant les antibiotiques non bêta-lactames, les souches ont présenté une résistance élevée pour le triméthoprim et l'acide nalidixique (85,2%). Plus de la moitié des souches ont été résistantes au chloramphénicol (51.8%), tandis que 22.2% et 37% l'ont été aux sulfamides (SSS et SXT) et tétracycline. La kanamycine et la gentamicine ont eu une activité presque absolue sur nos souches ; en effet, il n'y a que 7.4% qui résistent à la gentamicine et 3.7% à la kanamycine (Fig.17).

Ces souches sélectionnées sur CTX ont été multirésistantes. En effet, 24 profils d'antibiorésistance ont été définis, illustrant une résistance diversifiée allant de 0 à 13 bêta-lactamines et de 1 à 7 antibiotiques non bêta-lactames. Les différents profils de résistance sont rapportés dans le tableau VIII.

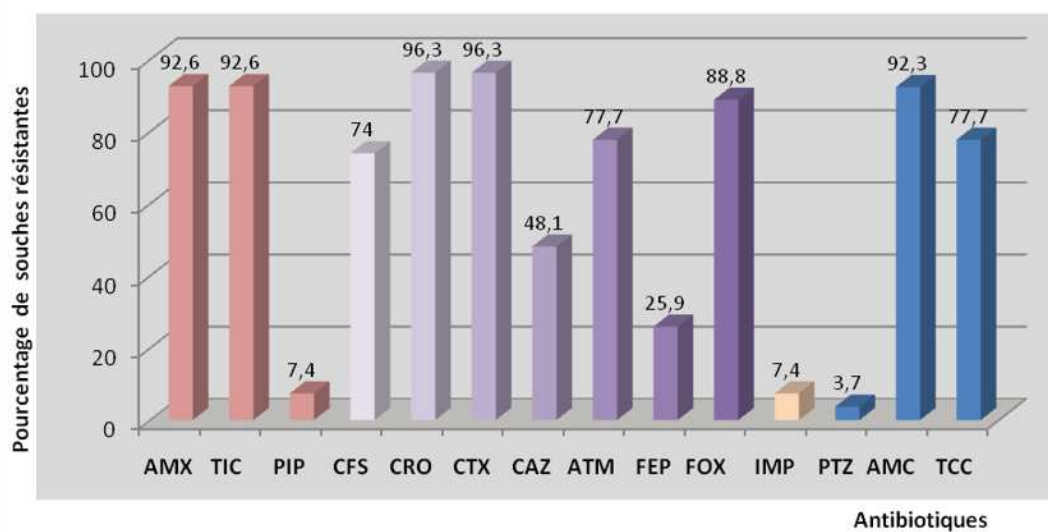


Figure 16 : Résistance aux bêta-lactamines des souches sélectionnées sur CTX.

AMX, amoxicilline; TIC, ticarcilline; PIP, pipéracilline; CFS, cefsulodine; CRO, céftriaxone; CTX, céfotaxime; CAZ, ceftazidime; ATM, aztréonam ; FEP, céfépime ; Fox, céfoxitine ; IMP, imipénème ; PTZ, pipéracilline/tazobactam ; AMC, amoxicilline/clavulanate ; TCC, ticarcilline/clavulanate.

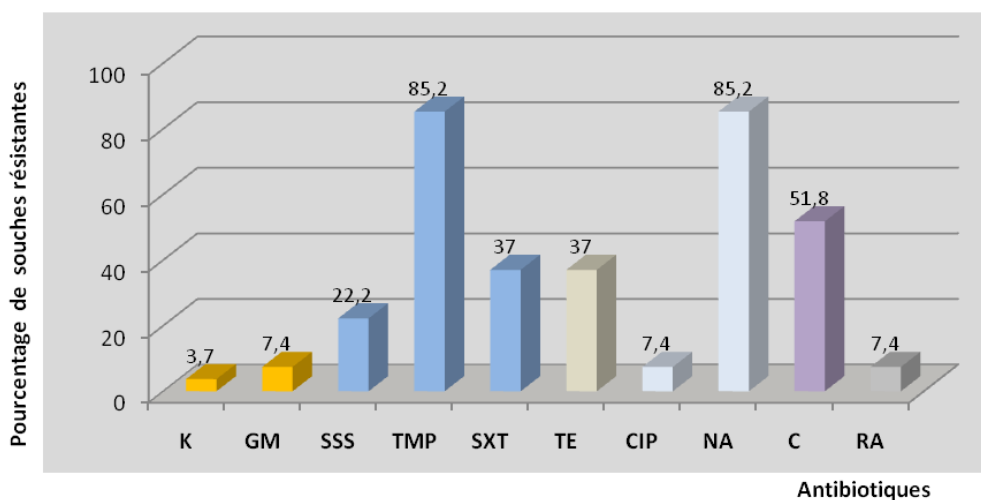


Figure 17 : Résistance aux non bêta-lactamines des souches sélectionnées sur CTX.

K, kanamycine ; GM, gentamicine ; SSS, sulfamides ; TMP, triméthoprime ; SXT, Triméthoprime/Sulfaméthoxazole ; TE, tétracycline ; CIP, ciprofloxacine ; NA, acide nalidixique ; C, chloramphénicol ; RA, rifampicine.

Tableau VIII : Profils d'antibiorésistance des souches sélectionnées sur CTX.

<i>Souches</i>	<i>Identification</i>	<i>Profils d'antibiorésistance</i>	<i>Nbre de R</i>
CE1	<i>P. aeruginosa</i>	TMP-SXT-TE-C-RA	5
CE2	<i>P. fluorescens</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-ATM-FOX-AMC-TCC-NA	10
CE3	<i>Bordetella. Sp</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-ATM-FOX-AMC-TCC-TMP-NA	11
CE4	<i>P. fluorescens</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FOX-AMC-TCC-NA	11
CE5	<i>P. fluorescens</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FOX-AMC-TCC-C	11
CE6	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CRO-CTX-ATM-FOX-AMC-TCC-TMP-NA-C	11
CE7	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-ATM-FEP-FOX-AMC-TCC-NA	11
CE8 CE9	<i>C. luteola</i> <i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-ATM-FOX-AMC-TCC-TMP-NA	11
CE10	<i>E. coli</i>	AMX-TIC-CRO-CTX-AMC-MZ-MEC-CF-SSS-TMP-SXT-C	12
CE11	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FOX-AMC-TCC-TMP-NA	12
CE12	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-ATM-FOX-IMP-AMC-TCC-TMP-NA	12
CE13 CE14	<i>P. aeruginosa</i> <i>P. fluorescens</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-ATM-FOX-AMC-TCC-TMP-NA-C	12
CE15	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-CAZ-FEP-FOX-AMC-TCC-TMP-NA	12
CE16	<i>Bordetella. Sp</i>	CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-SSS-TMP-SXT-TE-NA-C	12
CE17	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FOX-AMC-TCC-TMP-NA-C	13
CE18	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CRO-CTX-FOX-AMC-GM-SSS-TMP-SXT-TE-CIP-NA	13
CE19 CE20	<i>P. aeruginosa</i> <i>P. fluorescens</i>	AMX TIC-CFS-CRO-CTX-ATM-FOX-AMC-TCC-TMP-TE-NA-C	13
CE21	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-PIP-CRO-CTX-CAZ-ATM-FOX-AMC-TCC-TMP-SXT-TE-NA	14
CE22	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CRO-CTX-CAZ-ATM-FOX-AMC-TCC-TMP-SXT-TE-NA-RA	14
CE23	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CRO-CTX-CAZ-FOX-AMC-GM-SSS-TMP-SXT-TE-CIP-NA	14
CE24	<i>O. anthropi</i>	AMX-TIC-PIP-TZP-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-FOX-AMC-TCC-TMP-C	15
CE25	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-FOX-AMC-TCC-TMP-SXT-TE-NA-C	16
CE26	<i>Bordetella. Sp</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-CAZ-FEP-FOX-IMP-AMC-TCC-SSS-TMP-SXT-NA-C	16
CE27	<i>A. baumannii</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-FOX-AMC-K-SSS-TMP-SXT-TE-NA-C	17

Nbre de R : nombre de résistances.

IV.3. Profils d'antibiorésistance des souches sélectionnées sur céfoxitine

Outre la résistance à la céfoxitine, quatre souches sur les six l'ont été vis à vis de l'amoxicilline. La résistance à CFS a été observée chez 3 souches et la résistance à CRO, CAZ, ATM et FEP n'a concerné que 2 souches. Les bêta-lactamines PIP, TZP, CTX et l'IMP ont montré une activité totale sur ces souches (Fig.18).

Les molécules non bêta-lactames ont eu une efficacité variable avec deux souches résistantes à CIP et C, trois souches résistantes à TMP et SXT et quatre souches résistantes à SSS, TE, NA et RA (Fig.19). Les antibiogrammes sont donnés dans le tableau IX, ils comprennent un nombre de résistances allant de 3 à 6 pour les bêta-lactamines et de 1 à 7 pour les non bêta-lactames.

Tableau IX : Profils d'antibiorésistance des souches étudiées sur FOX.

<i>Souche</i>	<i>Identification</i>	<i>Profils d'antibiorésistance</i>	<i>Nbre de R</i>
F1	<i>E. cloacae</i>	AMX-FOX-AMC-RA	4
F2	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-FOX-AMC-TMP-SXT-TE-NA	7
F3	NI	CFS-CRO-CAZ-ATM-FEP-FOX-SSS-NA	8
F4	<i>C. freundii</i>	AMX-TIC-CFS-FOX-AMC-SSS-TMP-SXT-TE	9
F5	<i>A. hydrophila</i>	AMX-FOX-TCC-SSS-TMP-SXT-TE-CIP-NA-C	10
F6	NI	CFS-CAZ-ATM-FEP-FOX-K-SSS-TE-CIP-NA-C	11

NI: non identifiée,

Nbre de R : nombre de résistances.

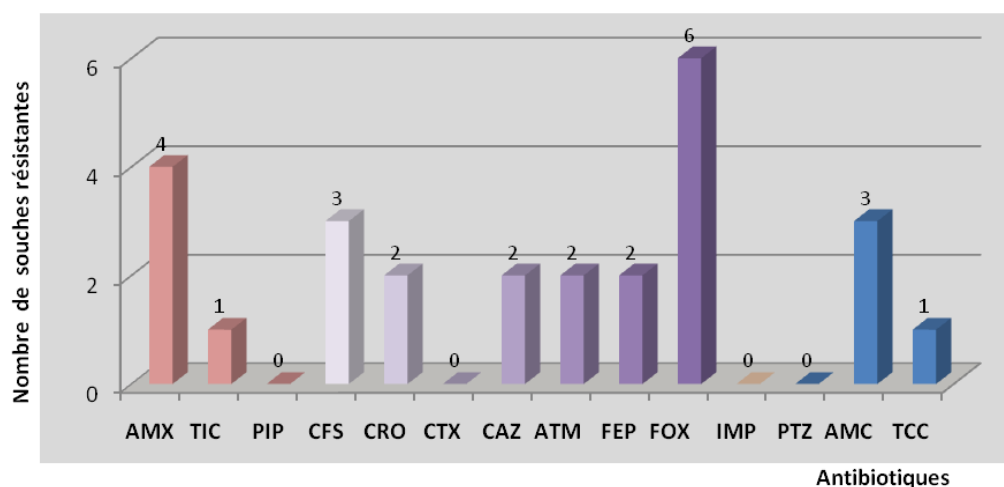


Figure 18 : Résistance aux bêta-lactamines des souches sélectionnées sur FOX.

AMX, amoxicilline; TIC, ticarcilline; PIP, pipéracilline; CFS, cefsulodine; CRO, céftriaxone; CTX, céfotaxime; CAZ, ceftazidime; ATM, aztréonam ; FEP, céfépime ; Fox, céfoxitine ; IMP, imipénème ; PTZ, pipéracilline/tazobactam ; AMC, amoxicilline/clavulanate ; TCC, ticarcilline/clavulanate.

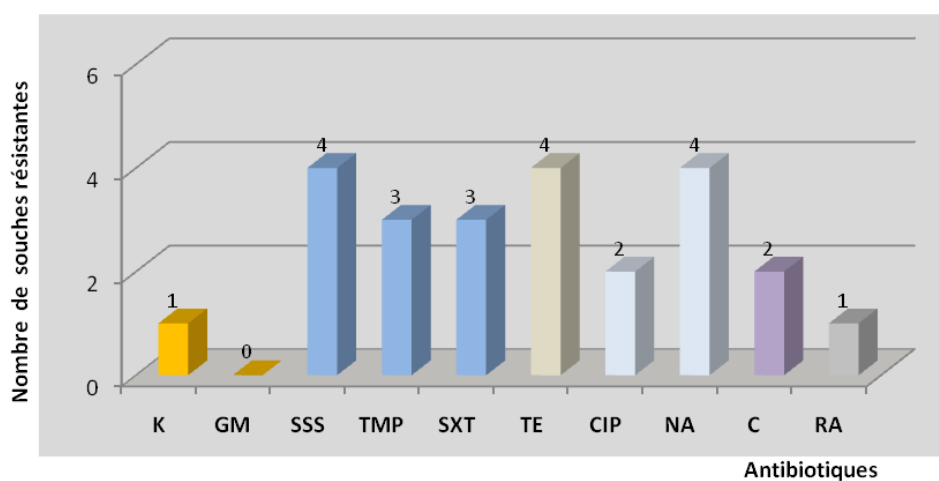


Figure 19 : Résistance aux non bêta-lactames des souches sélectionnées sur FOX.

K, kanamycine ; GM, gentamicine ; SSS, sulfamides ; TMP, triméthoprime ; SXT, Triméthoprime/Sulfaméthoxazole ; TE, tétracycline ; CIP, ciprofloxacine ; NA, acide nalidixique ; C, chloramphénicol ; RA, rifampicine.

IV.4. Profils d'antibiorésistance des souches sélectionnées sur ceftazidime

Les céphalosporines de 3^{ème} génération (CTX, CRO, CAZ et CFS) ont été inactives sur les souches. Une résistance importante a été notée vis-à-vis de la ticarcilline seule ou associée au clavulanate et de la céfoxitine (n=6 et n=7). La moitié des souches ont présenté une résistance à la pipéracilline, au céfépime, à l'amoxicilline ainsi qu'à l'ATM. En revanche, l'imipénème a été très efficace, seulement une seule souche a été résistante. L'AMC n'a pas été testé sur toutes les souches (Fig.20).

Les aminosides (GM, K), la tétracycline, la ciprofloxacine et la rifampicine ont été totalement actifs, aucune résistante n'a été détectée (Fig.21). Par contre, la résistance au triméthoprim et l'acide nalidixique a été très importante (n=6 et 7 respectivement). Il est à signaler aussi une résistance au chloramphénicol (C=3) et aux sulfamides (SSS=2, SXT=2). Les profils de résistance des huit souches étudiées sont récapitulés dans le tableau X ; elles présentent 7 à 11 résistances aux bêta-lactamines et 1 à 4 résistances aux non bêta-lactames.

Tableau X : Antibiotypes des souches sélectionnées sur CAZ.

<i>Souche</i>	<i>Espèce</i>	<i>Antibiotype</i>	<i>Nbre de R</i>
CZ1	<i>Pontoea. Spp</i>	PIP-CFS-CRO-CTX-CAZ-FOX-ATM-SSS-NA	9
CZ2	<i>P. fluorescens</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-CAZ-FOX-TCC-TMP-C	10
CZ3	<i>P. aeruginosa</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-CAZ-FOX-TCC-TMP-SXT-NA	11
CZ4	<i>P. fluorescens</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-CAZ-FOX-TCC-TMP-NA-C	11
CZ5	NI	TIC-PIP-TZP-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-FOX-TCC-NA	12
CZ6	NI	TIC-PIP-TZP-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-TCC-TMP-NA	12
CZ7	<i>Shigella. Spp</i>	TIC-PIP-TZP-CFS-CRO-CTX-CAZ-FOX-ATM-FEP-SSS-TMP-NA	13
CZ8	<i>P. fluorescens</i>	AMX-TIC-CFS-CRO-CTX-CAZ-ATM-FEP-FOX-IMP-TCC-TMP-SXT-NA-C	15

NI: non identifiée,

Nbre de R : nombre de résistances.

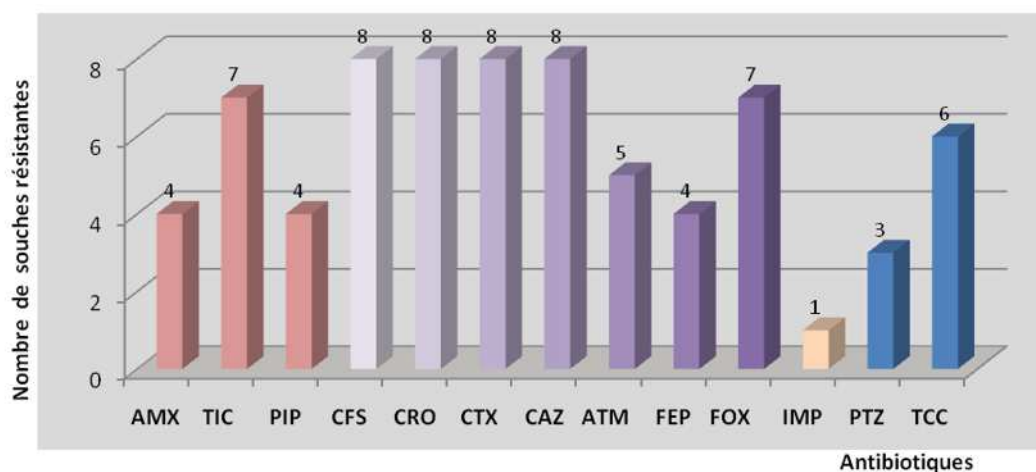


Figure 20 : Résistance aux bêta-lactamines des souches sélectionnées sur CAZ.

AMX, amoxicilline; TIC, ticarcilline; PIP, pipéracilline; CFS, cefsulodine; CRO, céftriaxone; CTX, céfotaxime; CAZ, ceftazidime; ATM, aztréonam ; FEP, céfépime ; Fox, céfoxitine ; IMP, imipénème ; PTZ, pipéracilline/tazobactam ; AMC, amoxicilline/clavulanate ; TCC, ticarcilline/clavulanate.

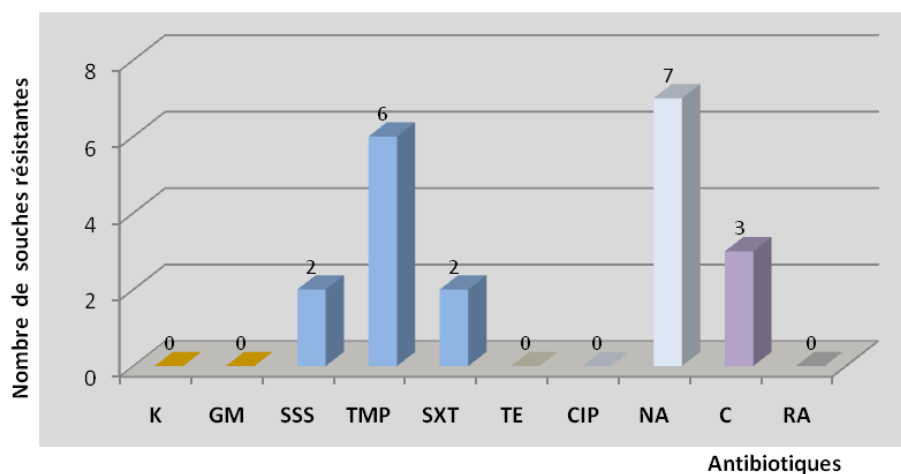


Figure 21 : Résistance aux non bêta-lactames des souches sélectionnées sur CAZ.

K, kanamycine ; GM, gentamicine ; SSS, sulfamide ; TMP, triméthoprime ; SXT, Triméthoprime/Sulfaméthoxazole ; TE, tétracycline ; CIP, ciprofloxacine ; NA, acide nalidixique ; C, chloramphénicol ; RA, rifampicine.

IV.5. Caractérisation de la résistance globale aux antibiotiques

Les 59 bactéries isolées sur quatre antibiotiques, imipénème (I), céfotaxime (CE), céfoxitine (F) et ceftazidime (CZ) ont fait l'objet d'une évaluation globale de leur sensibilité vis-à-vis de 24 antibiotiques. Les résultats sont représentés dans les figures 22 et 23.

Il en est ressorti une résistance marquée aux aminopénicillines (AMX), aux carboxypénicillines (TIC), aux C2G (FOX) et à certaines C3G (CTX, CRO et CFS) avec un taux de résistance variant de 81,3% à 93,2%. Une résistance relativement moindre est observée pour TCC (71,2 %), AMC (66%) et ATM (66%).

L'association du tazobactam à la pipéracilline a été sans effet sur l'activité de cette dernière pour 14 souches, tandis qu'un effet a été constaté sur *Pseudomonas aeruginosa* (CE21) et *Pantoea spp* (CZ1). L'acide clavulanique a restauré l'activité de l'amoxicilline chez une *Burkholderia cepacia* (I3) et celle de la ticarcilline chez neuf souches comprenant deux *Stenotrophomonas maltophilia* (I9 et I13), deux *Pseudomonas aeruginosa* (CE18 et CE23), une *Burkholderia cepacia* (I12), un *Acinetobacter baumannii* (CE27) et une *Shigella spp* (CZ7).

Concernant les antibiotiques non bêta-lactames, les souches ont présenté une résistance élevée vis-à-vis de l'acide nalidixique (84,7%) et triméthoprim (79,6%), une résistance marquée au chloramphénicol (54,2%) suivi de la tétracycline (44%), sulfamides et l'association sulfamides/triméthoprim (22% et 28,8%, respectivement) et une résistance faible à la rifampicine (15,2%) et à la ciprofloxacine (10%).

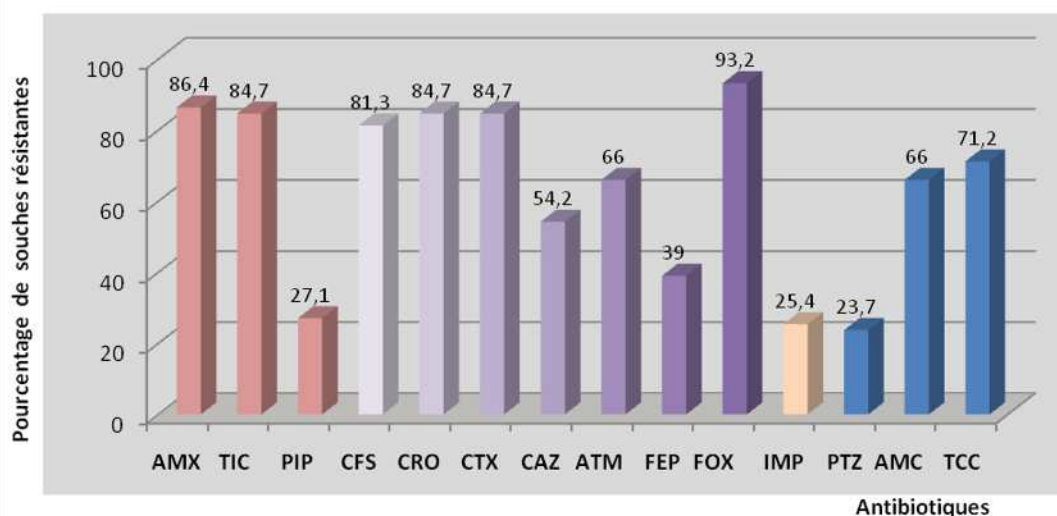


Figure 22 : Résistance aux bêta-lactamines des souches sélectionnées.

AMX, amoxicilline; TIC, ticarcilline; PIP, pipéracilline; CFS, cefsulodine; CRO, céftriaxone; CTX, céfotaxime; CAZ, ceftazidime; ATM, aztréonam ; FEP, céfépime ; Fox, céfoxitine ; IMP, imipénème ; PTZ, pipéracilline/tazobactam ; AMC, amoxicilline/clavulanate ; TCC, ticarcilline/clavulanate.

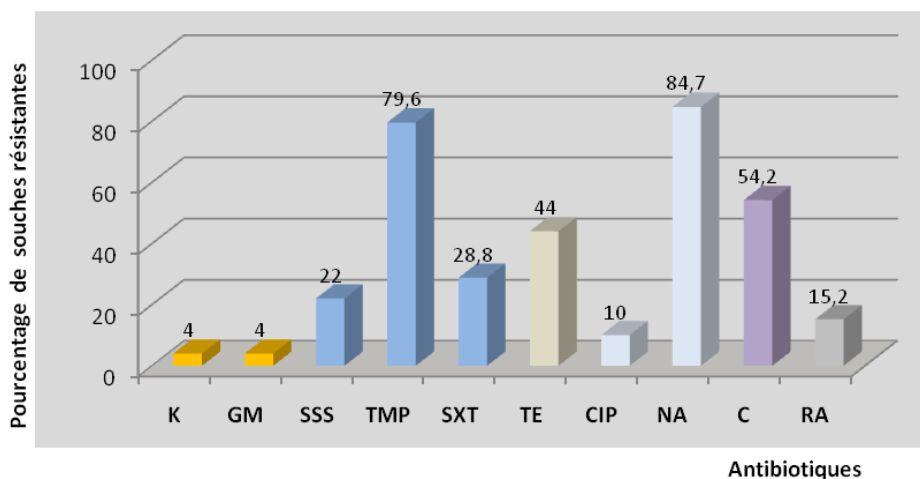


Figure 23 : Résistance aux non bêta-lactamines des souches sélectionnées.

K, kanamycine ; GM, gentamicine ; SSS, sulfamide ; TMP, triméthoprimine ; SXT, Triméthoprimine/Sulfaméthoxazole ; TE, tétracycline ; CIP, ciprofloxacine ; NA, acide nalidixique ; C, chloramphénicol ; RA, rifampicine.

V. Résultats du test d'antagonisme

Nous avons recherché chez toutes les souches résistantes (59 souches), la présence de céphalosporinases chromosomiques AmpC inductibles, en utilisant l'imipénème comme inducteur. Ce dernier est placé sur un milieu gélosé à 3 cm des céphalosporines céfépime et cefsulodine. Un résultat positif doit se traduire par une image d'antagonisme (Fig.24).

La présence de céphalosporinase inductible a été constatée chez 32.2% des souches (tableau XI), elles sont réparties comme suit :

- ✦ Trois *Pseudomonas aeruginosa* isolées sur IMP, provenant de Surcouf,
- ✦ Dix souches sélectionnées sur CTX, il s'agit de 2 *P. aeruginosa* isolés de la Fayette, 3 *P. aeruginosa* et 3 *P. fluorescens* provenant de Réghaia et 1 *P. aeruginosa* et une *Bordetella spp* qui proviennent de Surcouf,
- ✦ Trois souches isolées sur FOX, *Aeromonas hydrophila* et *P. aeruginosa* isolés de la Fayette et *Citrobacter freundii* provenant de Surcouf,
- ✦ Trois *Pseudomonas fluorescens* sélectionnées sur CAZ dont 2 isolés de Réghaia et 1 isolé de Surcouf.

Tableau XI : Souches positives au test d'antagonisme.

<i>Souches</i>	<i>Identification</i>	<i>Image d'antagonisme</i>
CE3	<i>Bordetella spp</i>	IMP, FEP
F4	<i>C. freundii</i>	IMP, FEP
F5	<i>A. hydrophila</i>	IMP, FEP
CE6, CE21, CE22	<i>P. aeruginosa</i>	IMP, CFS, FEP
I5, I7, I8, CE12, CE15, CE25, F2	<i>P. aeruginosa</i>	IMP, FEP
CE2, CE14, CE20, CZ2, CZ4, CZ8	<i>P. fluorescens</i>	IMP, FEP

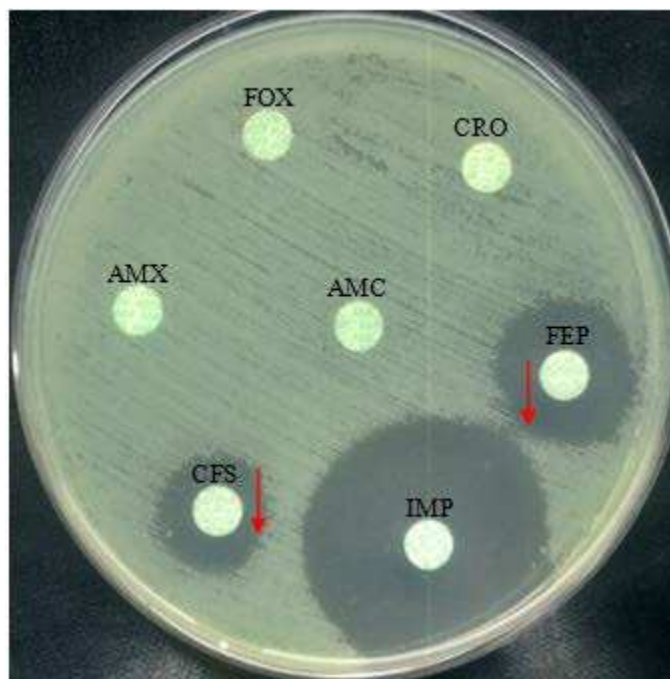


Figure 24 : Image d'antagonisme chez *Pseudomonas aeruginosa* (CE21).

VI. Résultats du test de synergie

Le test de synergie (Double Disk Synergy Test, DDST) réalisée de manière systématique lors de l'antibiogramme a permis de révéler le phénotype BLSE qui s'est traduit par une apparition ou une augmentation de sensibilité vis-à-vis d'une céphalosporine de 3^{ème} génération et/ou l'aztréonam du côté de l'inhibiteur, l'acide clavulanique (Vedel et al., 1997).

Le test DDS a été positif pour quatre souches : 2 *Stenotrophomonas maltophilia* et une *Burkholderia cepacia* sélectionnées sur IMP isolées de Réghaia et de Surcouf (Fig.25 et 26), ainsi que pour un *E. coli* isolé sur céfotaxime de l'eau de mer de Surcouf (Fig.27). Les résultats sont donnés dans le tableau XII.

Tableau XII : Souches positives au test de synergie.

Souches	Identification	Synergie
I9	<i>S. maltophilia</i>	ATM
I10	<i>S. maltophilia</i>	ATM, TIC
I12	<i>Burkholderia cepacia</i>	ATM, FEP, TIC, CAZ, CFS
CE10	<i>E. coli</i>	ATM, FEP, CRO, CAZ, CTX, MEC, MZ

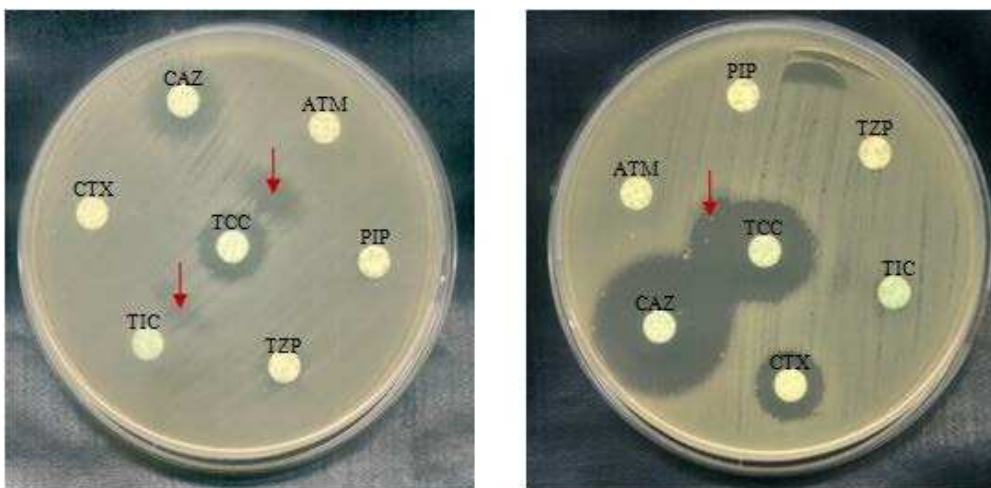


Figure 25 : Image de synergie chez les deux *Stenotrophomonas maltophilia* (I10) à gauche et (I9) à droite.

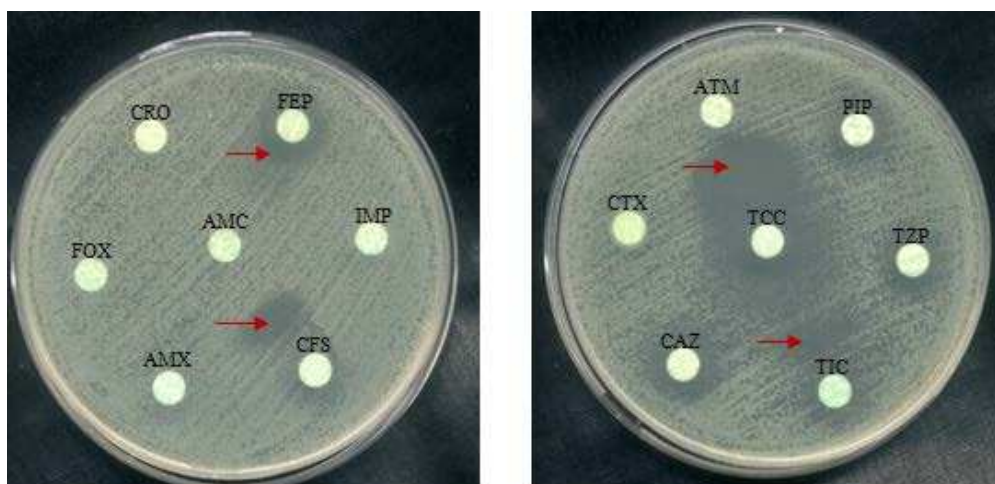


Figure 26 : Image de synergie chez *Burkholderia cepacia* (I12) par rapport aux béta-lactamines.

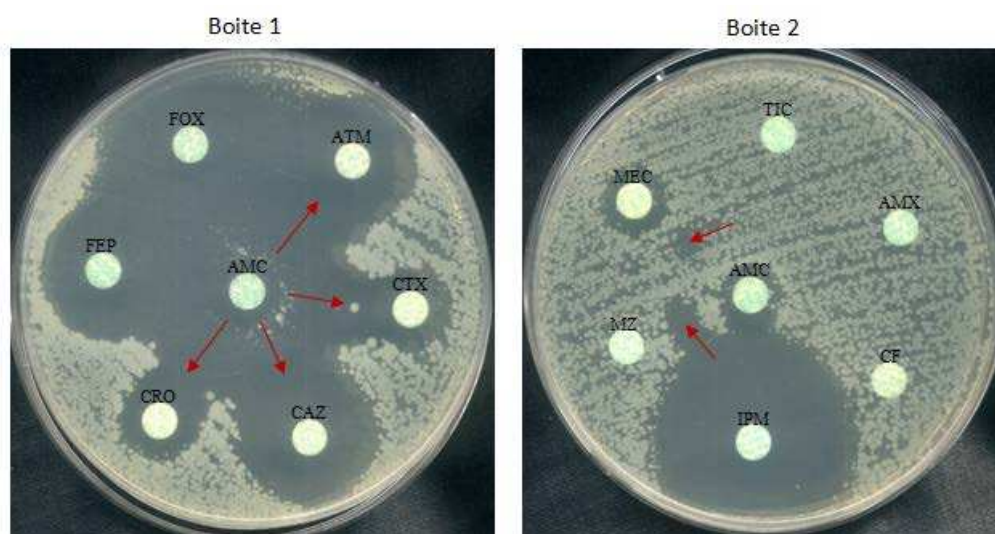


Figure 27 : Images de synergie chez *E. coli* (CE10).

VII. Résultats du transfert génétique par conjugaison

Des essais de transfert génétique par conjugaison en milieu solide ont été réalisés sur les souches ayant montré une image de synergie, c'est-à-dire sur les souches de *Stenotrophomonas maltophilia* (I9 et I10), *Burkholderia cepacia* (I12) et *E. coli* (CE10). Deux souches multirésistantes : une *Shigella spp* (CZ7) et une *Bordetella spp.* (CE26) ont aussi fait objet d'un transfert génétique par conjugaison vers deux souches réceptrices (*E.coli* K-12 BM21 NA^R et *E.coli* K12 J53 RA^R).

Le transfert n'a été positif que pour *E.coli*. Après 20 heures de contact entre les souches parentales, trois transconjugants d'*E. coli* (Tc1, Tc2 et Tc3) ont été sélectionnés sur boîte MH contenant CTX (4µg/ml) et NA (50µg/ml). Ces transconjugants, analysés par antibiogramme, ont été positifs pour le test de synergie, ce qui confirme le transfert du phénotype BLSE. Le tableau XIII comprend les profils de résistance de la souche donatrice (*E. coli*) et de ses transconjugants.

Tableau XIII : Les profils de résistance chez *E. coli* et ses transconjugants.

		Phénotype de résistance
Souche sauvage (<i>E. coli</i>)		AMX-TIC-CRO-CTX –AMC-MZ-MEC-CF-SSS-TMP-SXT-C
Transconjugants	Tc1	AMX-TIC-CRO-CTX-MZ-MEC-CF-NA
	Tc2	AMX-TIC-CRO-CTX-MZ-MEC-CF-NA
	Tc3	AMX-TIC-CRO-CTX-MZ-MEC-CF-NA

Le phénotype BLSE présenté par *E.coli* est donc porté par un plasmide transférable. Concernant les céphalosporines de 3^{ème} génération, une hydrolyse préférentielle du céfotaxime et une sensibilité à la ceftazidime ont été observées. Il est à noter l'absence de co-transfert de la résistance à la céfoxitine avec celle aux céphalosporines de 3^{ème} génération, de même pour les molécules non bêta-lactames : aminosides et sulfamides.

VIII. Résultats de la recherche des gènes BLSE(s) par PCR

Les souches ayant présenté des images de synergie ont été analysées par PCR pour la recherche de la présence d'un ou des gènes codant une ou des BLSE(s), en utilisant des amorces *bla_{TEM}* et *bla_{CTX-M}* spécifiques de famille, ainsi que les amorces spécifiques des 5 groupes de CTX-M.

L'examen des profils d'amplification après électrophorèse sur gel d'agarose a permis de noter la présence du gène *bla_{CTX-M}* du groupe 1 chez *E. coli* seulement et ses transconjugants (Fig.28 et 29). Le gène TEM n'a pas été détecté.

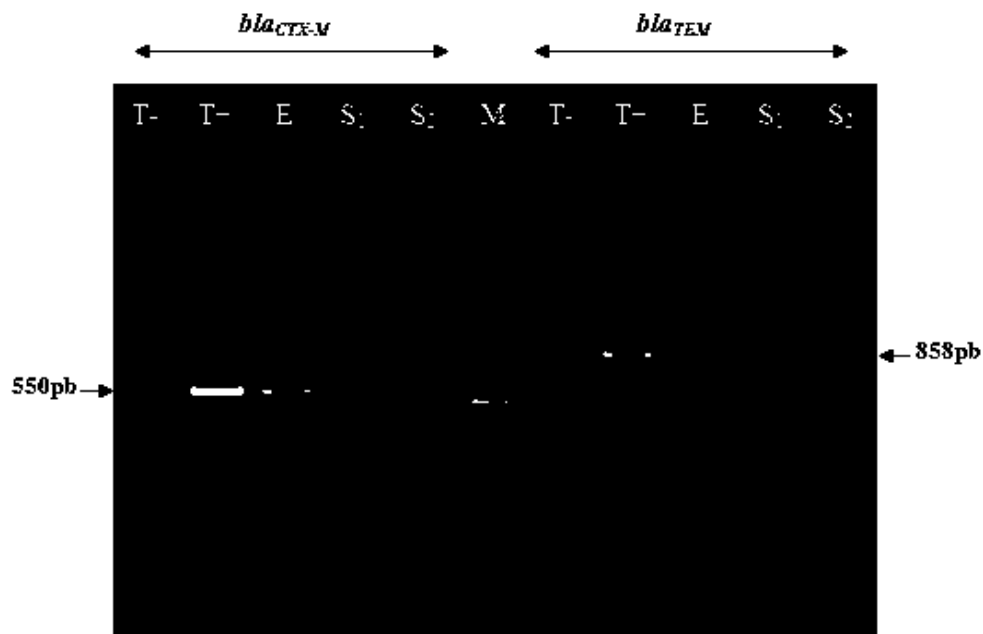


Figure 28 : Résultat de l'amplification des gènes *bla_{CTX-M}* et *bla_{TEM}*.
E: *E. coli* (CE10), **S₁:** *S. maltophilia* (I9), **S₂:** *S. maltophilia* (I10),
T+ : souche témoin positif,
T- : témoin négatif de la PCR,
M : marqueur de taille 100bp DNA Ladder.

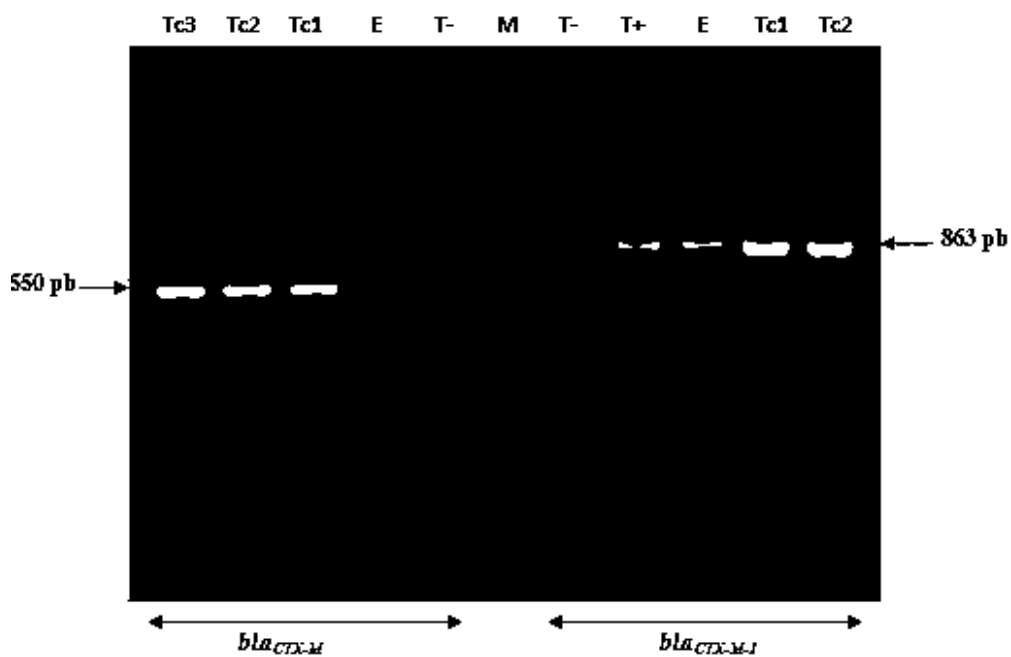


Figure 29 : Détection des gènes *bla_{CTX-M}* et *bla_{CTX-M-1}*.
E : *E. coli*,
Tc1, Tc2, Tc3 : transconjugants 1, 2 et 3.

IX. Résultats d'analyse des profils plasmidiques

Dans le but de mieux typer la souche BLSE, les contenus plasmiques d'*E. coli* et ses transconjugants ont été analysés.

Les profils plasmidiques obtenus ont montré que *E. coli* possédait 8 bandes plasmidiques de taille variant de 2.7 kb à environ 54 kb (Fig.30). Le gène *bla_{CTX-M-1}* est porté par un plasmide autotransférable d'environ 50Kb. Le transconjugant 1 (Tc1) possédait aussi deux plasmides.

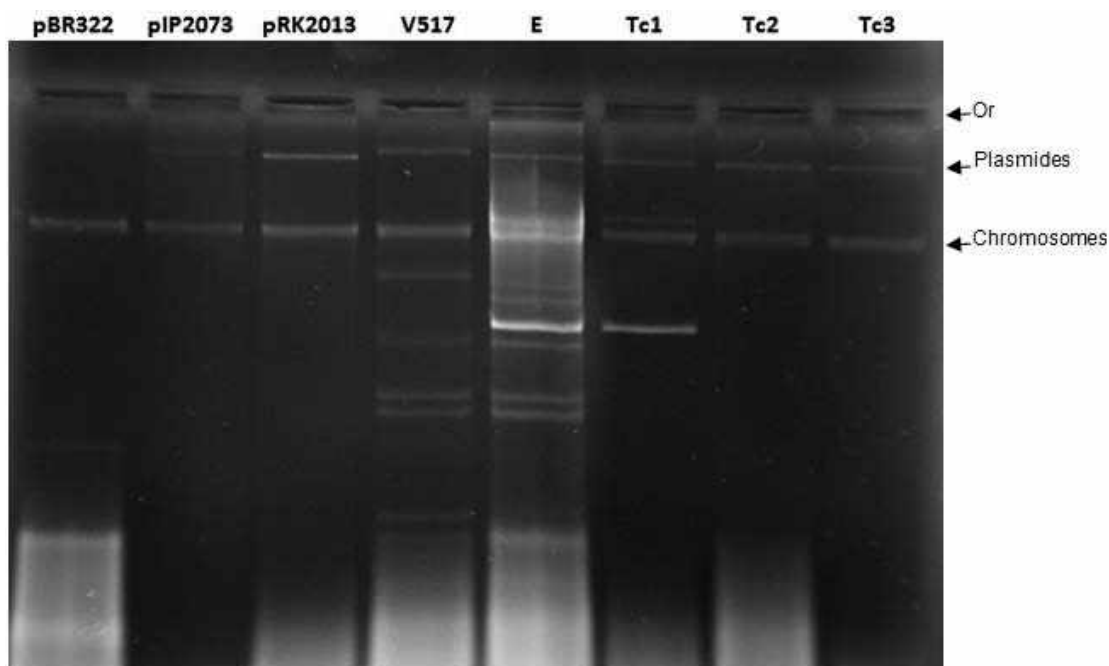


Figure 30 : Profils plasmidiques chez *E. coli* (E) et ces transconjugants (Tc1, Tc2, Tc3).

Marqueurs de taille des plasmides : *E. coli* V517 (54, 35, 5.6, 5.1, 3.9, 3, 2.7 et 2.1 kb), pRK2013 (48 kb), pIP2073 (54 kb) et pBR322 (4.36 kb).

Or : origine de migration (puits).

DISCUSSION

DISCUSSION

Notre étude qui a pour objectif l'évaluation de la résistance bactérienne aux antibiotiques et l'influence des apports anthropiques, peut être considérée parmi les premières de ce genre sur l'environnement marin côtier, en Algérie. En effet, la majorité d'études microbiologiques consacrées à l'aspect sanitaire de l'environnement aquatique se limitent à l'évaluation de la charge et des indicateurs de pollution. Peu de données sur la résistance aux antibiotiques dans l'environnement marin côtier sont disponibles ; tandis que celle-ci apparaît de plus en plus comme une réalité qui doit être prise en compte dans les stratégies de santé.

Les résultats d'analyse du pH, de la salinité et de la température sont caractéristiques de celles des eaux méditerranéennes au printemps. Les variations observées sont due à l'influence des eaux du large et l'influence des eaux continentales en particulier les apports des oueds ainsi que les conditions météorologiques (**Rouibah et al., 2005**). L'empreinte des eaux continentales est marquée par les dessalures superficielles plus ou moins importantes observées selon la période de l'année, en face des embouchures des oueds et des émissaires.

Les analyses microbiologiques ont montré que les eaux de Réghaia et Surcouf sont d'une qualité acceptable, alors que celles d'Ain Tagourait et Anse de Kouâli sont d'une qualité bonne par rapport à la directive européenne 76/160/CEE du 8 décembre 1975 (**Rodier et al., 2009**). Les eaux de la Fayette sont de mauvaise qualité ; ce constat a confirmé son état de pollution déclaré par l'APPL (**Agence de Promotion et de Protection du Littoral, 2008**) et son interdiction à la baignade.

Les taux de résistance aux bêta-lactamines de la flore totale ont montré un niveau de résistance remarquable dans les plages recevant des apports anthropiques (embouchure du lac de Réghaia et de Surcouf) que dans les plages non polluées (Ain Tagourait et Anse de Kouâli). Ces résultats sont en accord avec ceux d'**Oliveira et al. (2010)** et de **Mudryk et al. (2010)**, qui ont signalé l'influence des activités humaines sur la prédominance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans l'environnement marin. La pression de sélection et la diffusion via des échanges horizontaux d'éléments génétiques sous l'influence de plusieurs facteurs biotiques et abiotiques, favorisent cette résistance aux antibiotiques (**Davison, 1999 ; Goni-Urriza et al., 2000 ; Kümmerer, 2004 ; Martínez, 2009**). La corésistance et la résistance croisée aux antibiotiques auraient aussi une part dans ce phénomène de résistance (**Harada et Asai, 2010**).

Une résistance marquée a été observée dans cette étude vis-à-vis l'amoxicilline, la ticarcilline et la céfoxitine, avec des taux qui dépassent ceux notés en clinique. Ceci peut refléter probablement l'histoire de l'introduction et d'utilisation de ces antibiotiques (**Baquero et al., 2008 ; Mudryk et al., 2010**), la pression sélective indirecte par des molécules non antibiotiques (**Dhakephalkar et Chopade, 1994 ; Baker-Austin et al., 2006**) et la présence des bactéries intrinsèquement résistantes aux antibiotiques dans le milieu marin (**Nair et al., 1992 ; Choi et al., 2003**).

Plusieurs travaux ont rapporté des taux élevés de résistance aux bêta-lactamines dans l'environnement marin, particulièrement pour les pénicillines (**Chelossi et al., 2003 ; Dang et al., 2006 ; Perliński et Mudryk, 2009**), et une résistance limitée à l'imipénème (**Matyar et al., 2008 ; Henriques et al., 2006**).

La résistance aux bêta-lactamines des coliformes totaux a été aussi investiguée ; ce groupe de germes est utilisé comme indicateur de pollution et peut être associé à des maladies infectieuses (**Jones et al, 1986 ; Chitanand et al., 2010**). Une résistance variée est observée vis-à-vis des antibiotiques testés ; elle est due principalement soit à une résistance naturelle, soit à une résistance acquise via des éléments génétiques mobiles (**Philippon et al., 1988 ; Vedel, 1997 ; CA-SFM, 2008**). Cette résistance peut être aussi modulée par l'incidence relative de chaque genre bactérien dans les différents échantillons d'eau (**Niemi et al., 1983**), ainsi que par l'introduction des bactéries exogènes en eau de mer via des sources naturelles ou anthropiques (**Goni-Urriza et al., 2000 ; Hu et al., 2008**).

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Fernandez-Delgado et Suarez (2009)** qui ont signalé une résistance des coliformes en mer des Caraïbes (côte Nord-Ouest du Venezuela) avec des taux élevés vis-à-vis du céfoxitine (50%) et la ceftazidime (25%), essentiellement en périodes des pluies. **Harakeh et al. (2006)** a aussi trouvé un taux élevé de résistance au céfotaxime (27%), à Tripoli au Liban. L'influence des effluents polluants a été signalée ; en effet, les plages soumises à un niveau élevé de pollution ont présenté des pourcentages plus élevés de résistance aux antibiotiques comparées aux plages moins polluées (**Oliveira et Pinhata, 2008 ; Al-Bahry et al., 2009**).

Les souches étudiées sont au total de cinquante neuf (n=59), sélectionnées sur imipénème, céfotaxime, céfoxitine et ceftazidime. Ces antibiotiques sont connus par leur importance en clinique et leur utilisation comme antibiotique clé pour détecter les mécanismes de résistance acquis. En dehors de *Pontoea*, *Aeromonas hydrophila* et de quatre entérobactéries, toutes les autres souches identifiées sont des bacilles à Gram négatif non fermentaires, largement répandues dans l'environnement marin, pathogènes opportunistes responsables essentiellement d'infections nosocomiales (**Berthelot et al., 2005 ; Cavallo et al., 2009 ; Uğur et al., 2012**). Les mêmes constatations ont été rapportées par **Henriques et al. (2006)** et **Matyar et al. (2008)** et qui ont expliqué qu'en milieu marin, les souches sélectionnées sur ampicilline sont principalement des bacilles à Gram négatif.

Une résistance marquée est observée vis-à-vis d'autres bêta-lactamines, en plus de la résistance aux antibiotiques de sélection, à savoir les pénicillines, les céphalosporines de deuxième et troisième génération. Des études ont également signalé l'isolement, en environnement aquatique, de bactéries résistantes aux bêta-lactamines (**Ash et al., 2002 ; Henriques et al., 2006 ; Matyar et al., 2008**).

Une résistance aux non bêta-lactamines a été également observée, le comportement de nos souches est différent selon l'antibiotique testé ; des taux de résistance faibles à moyens pour les aminosides (gentamicine et kanamycine), ciprofloxacine, rifampicine, sulfamide et triméthoprim + sulfaméthoxazole. Au contraire, des taux élevés de résistance sont notés pour l'acide nalidixique, triméthoprim, chloramphénicol et tétracycline.

Ces résultats sont conformes aux données de la littérature qui ont rapporté des résistances aux non bêta-lactamines chez les bacilles à Gram négatif isolés d'eau de mer (**Mudryk, 2005 ; Matyar et al., 2008 ; Nikolakopoulou et al., 2008 ; Manivasagan et al., 2011**), estuaires (**Henriques et al., 2006 ; Baker-Austin et al., 2009**), du sédiment des mangroves (**Jalal et al., 2010**), et des sites aquacoles marins (**Miranda et Zemelman, 2001**). Ces auteurs ont signalé des taux de résistance en concordance avec nos résultats. Parmi les non bêta-lactamines, la résistance à la tétracycline est la plus étudiée, en effet, elle est souvent utilisée massivement en thérapeutique vétérinaire et comme additif pour la promotion de la croissance animale (**Chopra et Roberts, 2001**).

Les phénotypes de résistance de ces bactéries sont en grande partie d'origine naturelle ; les souches isolées appartiennent en majorité au genre *Pseudomonas* (56%) qui présente une résistance naturelle à de nombreuses bêta-lactamines (aminopénicillines, céphalosporines de première et deuxième génération, céfotaxime), tétracyclines, chloramphénicol, triméthoprim et acide nalidixique (**Cavallo et Mérens, 2008**). Cependant, ce genre est naturellement sensible aux carboxypénicillines, comme la ticarcilline, aux uréidopénicillines, comme la pipéracilline, à certaines céphalosporines (cefsulodine et ceftazidime), aux monobactames, comme l'aztréonam, aux carbapénèmes, comme l'imipénème, aminoglycosides et fluoroquinolones (**Poirel, 2006**).

La résistance rencontrée serait due, en grande partie, à la production chromosomique de céphalosporinases ou de pénicillinase, combinée aux mécanismes d'imperméabilité et aux systèmes d'efflux des bactéries qui résultent de divers mécanismes protéiques présents sur les membranes de l'enveloppe bactérienne (**Pagés et Garnotel, 2003 ; Berthelot et al., 2005 ; Poole, 2005 ; Vedel, 2005**).

La lecture interprétative des profils de résistance laisse suggérer chez *Pseudomonas aeruginosa* l'hyperexpression du système d'efflux MexAB-OprM comme le mécanisme de résistance le plus dominant (64%), suivi de la surexpression des céphalosporinases chromosomiques (32%). Ces résultats sont en parfait accord avec ceux obtenus par **Cavallo et al. (2002)** et **Vedel (2005)** qui, dans des études de souches cliniques, ont rapporté que 12.5% et 43% d'entre elles sont résistantes via l'hyperexpression des OprM de MexAB, et que les autres mécanismes (AmpC et bêta-lactamases acquises) sont moins fréquents. Par contre, parmi les souches résistantes à la ceftazidime, une autre étude identifiait la surexpression des céphalosporinases chromosomiques comme le principal mécanisme de cette résistance avec un taux de 68% (**Poirel, 2006**).

La résistance élevée à l'imipénème n'est expliquée que par une modification qualitative ou une diminution de la production de la porine OprD spécifique à cet antibiotique ; **Drissi et al. (2008)** ont observé 36% de résistance à l'imipénème, causée par ce mécanisme, chez *Pseudomonas aeruginosa* isolé de l'hôpital de Tlemcen. Cette espèce est remarquable par ses mécanismes multiples de résistance, ce qui donne des phénotypes de résistance complexes (**Cavallo et Mérens, 2008 ; Mérens et al., 2011**).

La résistance signalée chez *Stenotrophomonas maltophilia* est la résultante de la production naturelle de deux bêta-lactamases chromosomiques inductibles L1 et L2 ; la première est une métallobêta-lactamase qui résiste à toutes les bêta-lactamines excepté l'aztréonam, tandis que la deuxième est une bêta-lactamase à serine qui hydrolyse l'aztréonam et qui est inhibée par l'acide clavulanique (**Lavigne et al., 2008 ; Bush et Jacoby, 2010**). De plus, la membrane externe de *S. maltophilia* est très peu perméable par la présence d'un nombre très faibles de porines ainsi que des systèmes d'efflux très efficace (SmeABC et SmeDEF), ce qui confère la résistance à plusieurs familles d'antibiotiques comme les bêta-lactamines, aminoglycosides, fluoroquinolones et tétracycline (**Cattoir, 2004 ; Poole, 2005 ; Lavigne et al., 2008**).

Acinetobacter baumannii a une résistance enzymatique intrinsèque via une céphalosporinase chromosomique AmpC et une oxacillinase naturelle OXA-69 ayant une faible activité carbapénémase (**Mansour et al., 2008 ; Peleg et al., 2008**). L'expression de cette AmpC n'est pas inductible ; en effet, l'analyse de son environnement génétique a montré une absence de gène régulateur. Cependant, la surexpression de ce mécanisme est observée grâce à la présence d'une séquence d'insertion (SI) appelé ISAbal (**Heritier et al., 2006 ; Poirel et Nordmann, 2006 ;**). A ceci s'ajoute un autre mécanisme non enzymatique, qui est l'hyperexpression du système d'efflux AdeABC (**Higgins et al., 2004 ; Pannek et al., 2006 ; Ruzin et al., 2007**).

Les inhibiteurs de bêta-lactamines, essentiellement l'acide clavulanique, n'ont pas restauré l'activité des bêta-lactamines associées sur un grand nombre de souches. Ce résultat est indicatif du non production de bêta-lactamases plasmidiques. La résistance observée ne pourrait être donc que le résultat principalement d'imperméabilité et/ou de systèmes d'efflux (**Vedel, 2005 ; Mérens et al., 2011**).

La recherche de céphalosporinase chromosomique AmpC inductible, en utilisant l'imipénème comme inducteur, était concluante chez 32% de souches testées. Ce mécanisme est observé chez plusieurs bacilles à Gram-négatif (**Philippon et Arlet, 2005**). L'absence d'image d'antagonisme pourrait s'expliquer soit par l'absence d'une céphalosporinase, soit par l'hyperexpression de celle-ci (**Vedel, 2005 ; Mérens et al., 2011**).

Nos souches ont montré une résistance multiple avec des profils de résistance allant de 4 à 20 antibiotiques. Ces résultats rejoignent ceux de plusieurs travaux, effectués en milieu marin, qui ont rapporté ce phénomène de multirésistance (**Mudryk, 2005 ; Oliveira et al., 2010 ; Ramesh et al., 2010 ; Manivasagan et al., 2011**).

Dans une étude effectuée sur les eaux côtières de Kerala en Inde, **Manjusha et al. (2005)** a rapporté que 55.5% des *Vibrio sp* isolés étaient résistants à une série de 4 à 10 antibiotiques, 14.14% étaient résistants à plus de 10 antibiotiques et 54% ont montré une multirésistance. **Kumar et al. (2005)** a signalé aussi cette multirésistance au sein de souches d'*E. coli* isolées des fruits de mer à Mangalore en Inde.

Le niveau de multirésistance obtenu est significatif pour les plages de La Fayette, Surcouf et embouchure du lac de Réghaia, exposées en continu aux apports anthropiques. Ce résultat est similaire à ceux obtenus par **Erdem-Kimiran et al. (2007)** et **Oliveira et al. (2010)**, qui ont signalé une corrélation entre la pollution et la résistance aux antibiotiques en mer de Marmara, mer Noire et aux plages Gonzaguinha et Ilha Porchat au Brésil. **Oliveira et al. (2010)** explique que cette incidence élevée de bactéries résistantes peut être principalement liée à la quantité d'apport d'effluents organiques, et pourrait ainsi refléter la pression anthropique élevée dans ces écosystèmes marins. Ce phénomène pourrait être aussi le résultat d'apport de bactéries résistantes allochtones à l'écosystème marin (**Goni-Urriza et al., 2000 ; Miranda et Zemelman, 2001**), hébergeant des plasmides de résistance aux antibiotiques (**Chandrasekarn et al., 1998**), qui pourraient interagir avec les bactéries autochtones par transfert horizontal de gènes de résistance *via* la conjugaison, transduction ou transformation (**Zhang et al., 2009**).

Le test de synergie (DDST), utilisé pour la recherche du phénotype BLSE lors de l'antibiogramme, a été positif chez 4 souches : deux *Stenotrophomonas maltophilia* et 1 *Burkholderia cepacia* isolées sur imipénème et *E. coli* isolée sur céfotaxime. Pour les deux premières souches, la synergie de l'acide clavulanique était avec ATM, pour *Burkholderia* la synergie était avec ATM, FEP, CAZ, et CFS, et enfin pour *E. coli*, elle était avec ATM, FEP, CRO, CAZ et CTX. Ces synergies résultent de l'inhibition de la bêta-lactamase chromosomique de type L2 chez *Stenotrophomonas maltophilia* (**Lavigne et al., 2008**) et de la métallo-enzyme chromosomique de type PCM-1 chez *Burkholderia cepacia* (**Cavallo et al., 2004 ; Poole, 2004 ; Segonds et al., 2006**), alors qu'elle démontre clairement la production d'une BLSE chez *E. coli* (**Bush et Jacoby, 2010**).

Parmi les souches testées, le transfert génétique par conjugaison en milieu solide a été positif pour *E. coli* seulement, ce qui implique que le phénotype BLSE est porté par un plasmide autotransférable (**Baya et al., 1986 ; Ozgumus et al., 2009 ; Nash et al., 2010**). Les résultats négatifs pour les autres souches testées suggèrent une résistance plasmidique non transférable en raison de la localisation des BLSE(s) sur de petits plasmides non-auto-transférables, ou de grands plasmides déficients en gènes de transfert (**Messai, 2006**), ou bien une résistance chromosomique qui reste la plus plausible par rapport aux espèces testées.

L'amplification par PCR visualisée après migration sur gel d'agarose, a montré que la BLSE détectée chez *E. coli* est de type CTX-M-1; tandis qu'il y a eu absence d'amplification chez *Stenotrophomonas maltophilia*, bien que la présence de BLSE du type CTX-M chez *S. maltophilia* d'origine clinique a été rapportée. (**Al Naiemi et al., 2006 ; Lavigne et al., 2008**).

Le gène CTX-M-1 serait porté par un plasmide autotransférable d'environ 50 kb. L'absence du gène TEM sur ce plasmide n'est pas en accord avec les très nombreux travaux en clinique qui signalent la coexpression avec CTX-M de TEM, ainsi que d'autres phénotypes de résistance telles la résistance aux aminosides, quinolones, sulfamides (**Peirano and Pitout, 2010; Amaya et al., 2011**)

Les enzymes CTX-M sont caractérisées par une prédominance et une dissémination massive chez les *Entérobactéries* (**Canton et Coque, 2006**). Actuellement, c'est le type de BLSE le plus distribué chez *Escherichia coli* d'origine clinique (**Brigante et al., 2005 ; Hopkins et al., 2006 ; Fam et El-Damarawy, 2008 ; Song et al., 2009 ; Isaiah et al., 2011**) et d'origine animale (**Li et al., 2007 ; Machado et al., 2008**).

La prédominance des enzymes CTX-M concorde avec plusieurs rapports sur la question en Algérie. En effet, on a constaté un état endémique où le cluster *bla*_{CTX-M-1}, prédomine chez les entérobactéries d'origine clinique comme *Salmonella enterica* sérotype *Seftenberg* à Constantine (**Naas et al., 2005**), *Klebsiella pneumoniae* à Bejaia et Alger (**Touati et al., 2006 ; Messai et al., 2008**), chez *Enterobacter cloacae* à Alger, Tizi-Ouzou et Tlemcen (**Iabadene et al., 2008**), et enfin *Escherichia coli* à Alger (**Messai et al., 2006 ; Ramdani-Bougoussa et al., 2006**) et à Bejaia (**Touati et al., 2006**).

Les milieux aquatiques continentales n'ont pas échappé à la présence de ce gène, en effet, plusieurs travaux l'ont décrit chez *E. coli* isolée des eaux de stations d'épuration (**Dolejska et al., 2011**), des rivières (**Kim et al., 2008 ; Chen et al., 2010 ; Graham et al., 2011**) et du sédiment des rivières (**Lu et al., 2010**). Tandis qu'en milieu marin, il n'a pas été signalé dans les plages. Mais au port d'Alger, un travail a montré l'isolement d'une *E. coli* porteuse d'un gène CTX-M-1 (**Anssour, 2009**). Contrairement à nos résultats, cette étude a signalé une coexpression de TEM et une corésistance aux molécules non béta-lactames : aminosides et sulfamides. La détection de BLSE de type CTX-M dans nos plages représente un risque de santé publique, quand on connaît la capacité de diffusion de ces enzymes et les échecs thérapeutiques auxquels elles sont associées.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'objectif du travail était la détection et l'évaluation de la prévalence de la résistance aux antibiotiques des bactéries de l'environnement marin côtier représenté par plusieurs plages dont certaines sont exposées à des apports anthropiques.

La présence de phénotypes de résistance à des taux élevés pour les pénicillines et appréciables pour les bêta-lactamines à large spectre a été montrée. Il existe une dépendance entre le niveau de résistance, sur les plans qualitatif et quantitatif, et l'état physico-chimique et biologique du milieu en rapport avec les apports anthropiques. Des résistances élevées notamment à la ceftazidime ont été retrouvées dans le site de l'anse de Kouâli qui, normalement, n'a pas subi de pollution ; ceci peut être inhérent à une sélection endogène trophique ou toxique d'une propriété naturelle des germes retrouvés dans ce site, ceci est facilité par la charge microbienne faible du milieu.

Cependant, l'influence des apports anthropiques est très significative, du fait que la prévalence de ces mécanismes naturels est directement en rapport avec la charge biotique et abiotique du milieu. L'identification des 59 souches sélectionnées sur imipénème, céfotaxime, céfoxitine et ceftazidime a révélé la prédominance des bactéries de l'environnement, *Pseudomonadaceae* (*P. fluorescens* et *P. aeruginosa*), *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Chrysiomonas luteola*, *Aeromonas hydrophila*, *Acinetobacter baumannii* avec la présence d'entérobactéries saprophytes de l'environnement *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* ou strictement fécales, *Escherichia coli*, *Shigella*, cette dernière étant un pathogène strict.

Les germes doués de résistance retrouvés dans les stations sont principalement des germes adaptés ou autochtones de l'environnement, à métabolisme principalement oxydatif et aux mécanismes de résistance principalement naturels tels que les céphalosporines inductibles, les systèmes d'efflux et l'imperméabilité ; ce qui explique, la très faible proportion de mécanismes de résistance acquis. Dans ce sens, la présence de bêta-lactamases à spectre élargi n'a été détectée que chez l'unique souche d'*E. coli*, elle est de type CTX-M du groupe 1 et codée par un plasmide transférable d'environ 50kb.

La sélection des bactéries résistantes comme conséquence des apports anthropiques donc de déséquilibres des écosystèmes est une préoccupation à effet immédiat quand il s'agit de la santé publique. D'autant plus que, outre l'implication de bactéries pathogènes strictes ou opportunistes d'origine humaine, des infections ayant comme agents étiologiques des bactéries natives de l'environnement sont de plus en plus rapportées. L'exacerbation de la virulence et de la résistance de ces bactéries par les environnements pollués, ajoutée à la proximité de ces derniers par rapport aux agglomérations peuvent contribuer à l'émergence de nouveaux types d'infections au niveau communautaire et hospitalier. Il faut noter que parmi les bactéries identifiées, certaines sont des ichtyo-pathogènes et d'autres peuvent être des pourvoyeurs de ces derniers en gènes de résistance ; avec des conséquences sur l'équilibre faunistique du milieu et son exploitation en mariculture.

En perspective à ce travail :

- Elargir l'investigation des mécanismes de résistance acquis à l'ensemble des souches résistantes sélectionnés sur les bêta-lactamines majeures,
- L'étude de la variation spatio-temporelle de la résistance aux antibiotiques,
- Analyser l'environnement génétique du gène BLSE CTX-M afin d'établir une éventuelle corrélation avec les gènes des souches cliniques,
- Rechercher l'effet probiotique en aquaculture des souches non ichtyo-pathogènes prédominantes dans le milieu.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Al Naiemi, N., B. Duim, et A. Bart. 2006.** A CTX-M extended-spectrum beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Med Microbiol.* **55**: 1607-1608.
- **Al-Bahry, S. N., I. Y. Mahmoud, K. I. A. Al-Belushi, A. E. Elshafie, A. Al-Harthy, et C. K. Bakheit. 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** : 1534-1539.
- **Alonso, A., P. Sanchez, et J. L. Martinez. 2001.** Environmental selection of antibiotic resistance genes. *Environ. Microbiol.* **3**: 1-9.
- **Ambler, R. P. 1980.** The structure of β -lactamases. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B.* **289**: 321-31.
- **Aminaut, A., et M. Chaussepied. 1983.** Manuel des analyses chimiques en milieu marin. *Centre National pour l'Exploitation des Océans.* 395p.
- **Aminov, R. I., et R. I. Mackie. 2007.** Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. *FEMS Microbiol Lett.* **271**: 147-161.
- **Anssour, L. 2009.** Détection et caractérisation de bêta-lactamases à spectre élargi chez des bactéries à Gram négatif isolées des eaux du port d'Alger. *Thèse de magister.* (Faculté des Sciences Biologiques, USTHB).
- **APPL. 2008.** Agence de Promotion et de Protection du Littoral, Fiche signalétique : commune de Hammamet.
- **Arlet, G., et A. Philippon, 2003.** Les nouvelles bêta-lactamases à l'aube du troisième millénaire. *Revue française des laboratoires.* **352** : 41-55.
- **Ash, R. J., B. Mauck, et M. Morgan. 2002.** Antibiotic Resistance of Gram-Negative Bacteria in Rivers, United States. *Emerging Infectious Diseases.* **8** (7): 713-716.
- **Ayama, E., D. Reyes, S. Vilchez, M. Paniagua, R. Möllby, C.E. Nord, et A. Weintraub. 2011.** Antibiotic resistance patterns of intestinal *Escherichia coli* isolates from Nicaraguan children. *Journal of Medical Microbiology.* **60**: 216-222.
- **Babic, M. A., M. Hujer, et R. A. Bonomo. 2006.** What's new in antibiotic resistance? Focus on β -lactamases. *Drug Resist. Updat.* **9**: 142-156.
- **Baker-Austin, C., J. V. McArthur, A. H. Lindell, M. S. Wright, R. C. Tuckfield, J. Gooch, L. Warner, J. Oliver, et R. Stepanauskas. 2009.** Multi-site Analysis Reveals Widespread Antibiotic Resistance in the Marine Pathogen *Vibrio vulnificus*. *Microb. Ecol.* **57** : 151-159.
- **Baker-Austin, C., M. S. Wright, R. Stepanauskas, et J. V. McArthur. 2006.** Co-selection of antibiotic and metal resistance. *Trends Microbiol.* **14**: 176-182.
- **Bakour, R., Y. Laroche, et G. Cornelis. 1983.** Studies of the incompatibility and replication of the 70Kb virulence plasmids of *Yersinia*. *Plasmid.* **10**: 279-289.

- **Baya, A. M., P. R. Brayton, V. L. Brown, D. J. Grimes, E. Russek-Cohen, et R. R. Colwell. 1986.** Coincident Plasmids and Antimicrobial Resistance in Marine Bacteria Isolated From Polluted and Unpolluted Atlantic Ocean Samples. *Applied and Environmental Microbiology*. **51**(6): 1285-1292.
- **Berche, P., L. Gaillard, et M. Simonet. 1988.** Bactériologie, Les bactéries des infections humaines, 1^{ère} édition. Ed. Flammarion. Paris, France. p230-590.
- **Berthelot, P., F. Grattard, F. O. Mallaval, A. Ros, F. Lucht, et B. Pozzetto. 2005.** Épidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathologie Biologie*. **53** : 341-348.
- **Bonnet, R. 2004.** Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **48** : 1-14.
- **Bouhaddioui, B., K. Ben Slama, S. Gharbi, et A. Boudabous. 2002.** Epidemiology of clinical and environmental *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Ann. Microbiol.* **52**: 223-235.
- **Bradford, A. P. 2001.** Extended-Spectrum β -lactamases in the 21st Century: Characterisation, Epidemiology, and Detection of this important Resistance Threat. *Clinical Microbiology Revue*. **14**: 933-951.
- **Brayan, A., N. Shapir, et M. J. Sadowsky. 2004.** Frequency and distribution of tetracycline resistance genes in genetically diverse, non selected and non clinical *Escherichia coli* strains isolated from diverse human and animal sources. *Applied Environmental Microbiology* .**70**: 2503 - 2507.
- **Brigante, G., F. Luzzaro, M. Perilli, G. Lombardi, A. Coli, G. M. Rossolini, G. Amicosante, et A. Toniolo. 2005.** Evolution of CTX-M-type β -lactamase in isolates of *Escherichia coli* infecting hospital and community patients. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **25**: 157-162.
- **Bryskier, A. 1999.** Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques. Ed, Ellipses. Paris, France. P 1216.
- **Busch, K. 1989.** Classification of β -lactamases: groups 1, 2a, 2b, and 2b' In Palzkill T., 1992. Identification of amino Acid Substitution That Alter the Substrate Specificity of TEM-1 β -lactamases. *Journal of Bacteriology*. **174**: 5237-5243.
- **Busch, K., G. A. Jachoby, et A. A. Medeiros. 1995.** A fonctional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*. **39**: 1211-1233.
- **Bush K. 1988.** Recent developments in β -lactamases research and their implications for the future. *Rev. Infect. Dis.* **10**: 681–690; 739–743.
- **Bush, K., et G. A. Jacoby. 2010.** Updated Functional Classification of β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **54**: 969-976.
- **Bush, K., et R. B. Sykes. 1987.** Characterization and epidemiology of β -lactamases. Elsevier Science Publishers BV, Philadelphia, PA.

- **Cabello, F. C. 2006.** Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ. Microbiol.* **8** : 1137-1144.
- **Canton, R., et T. M. Coque. 2006.** The CTX-M β -lactamase pandemic. *Current Opinion in Microbiology.* **9**: 466-475.
- **CA-SFM. 2008.** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie, recommandation (2008). Http : //www.SFM. ASSO. Fr.
- **Castiglioni, S., K. Miller, B. P. Burns, E. Zuccato, D. Calamari, et B. A. Neilan. 2008.** Novel homologs of the multiple resistance regulator marA in antibiotic-contaminated environments. *Water research.* **42**: 4271-4280.
- **Cattoir, V. 2004.** Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries § Efflux-mediated antibiotics resistance in bacteria. *Pathologie Biologie.* **52**: 607-616.
- **Cattoir, V. 2004.** Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie Biologie.* **52** : 607-616.
- **Cavallo J.D., et A. Mérens. 2008.** *Pseudomonas aeruginosa* et bêta-lactamines à l'heure de l'Europe. *Pathologie Biologie.* **56** : 435-438.
- **Cavallo, J. D., P. Plesiat, G. Couetdic, F. Leblanc, et R. Fabre1. 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**: 1039-1043.
- **Cavallo, J. D., R. Fabre, F. Jelhi, C. Rapp, et E. Garrabé. 2004.** Bêta-lactamines. *EMC-Maladies infectieuses.* **1** : 129-202.
- **Cavallo, R. A., M. I. Acquaviva, et L. Stabili. 2009.** Culturable heterotrophic bacteria in seawater and *Mytilus galloprovincialis* from a Mediterranean area (Northern Ionian Sea-Italy). *Environmental Monitoring Assessment.* **149** : 465-475.
- **Chandrasekaran, S., V. Balakrishnan, et D. Lalithakumari. 1998.** Transfer and Expression of a Multiple Antibiotic Resistance Plasmid in Marine Bacteria. *Current Microbiology.* **37**: 347-351.
- **Chandrasekarn, S., B. Venkatesh, et D. Laithakumari. 1998.** Transfer and expression of a multiple antibiotic resistance plasmid in marine bacteria. *Current Microbiology.* **37**: 347-351.
- **Charlier, P., J. Coyette, D. Dehareng, G. Dive, C. Duez, J. Dusart, É. Fonzé, C. Fraipont, J. M. Frère, M. Galleni, C. Goffin, B. Joris, J. Lamotte-Brasseur, et M. Nguyen-Distèche. 1998.** Résistance bactérienne aux β -lactamines. *Médecine/Sciences.* **14** : 544-555.
- **Chebab, B. 1996.** Influence sur la reproduction de l'immersion permanente de *Mytilus galloprovincialis* (LMK) placé en élevage. Contribution à l'amélioration des techniques de captage en milieu naturel. *Thèse Magistère.* ISMAL, 310 p.

- **Chee-Sanford, J. C., R. I. Aminov, I. J. Krapac, N. Garrigues-Jeanjean, et R. I. Mackie. 2001.** Occurrence and Diversity of Tetracycline Resistance Genes in Lagoons and Groundwater Underlying Two Swine Production Facilities. *Applied and Environmental Microbiology*. **67**: 1494-1502.
- **Chelossi, E., L. Vezzulli, A. Milano, M. Branzoni, M. Fabiano, G. Riccardi, et I. M. Banat. 2003.** Antibiotic resistance of benthic bacteria in fish-farm and control sediments of the Western Mediterranean. *Aquaculture*. **219** : 83-97.
- **Chen, H., W. Shu, X. Chang, J. Chen, Y. Guo, et Y. Tan. 2010.** The profile of antibiotics resistance and integrons of extended-spectrum beta-lactamase producing thermotolerant coliforms isolated from the Yangtze River basin in Chongqing. *Environmental Pollution*. **158**: 2459-2464.
- **Chitanand, M. P., T. A. Kadam, G. Gyananath, N. D. Totewad, et D. K. Balhal. 2010.** Multiple antibiotic resistance indexing of coliforms to identify high risk contamination sites in aquatic environment. *Indian Journal of Microbiology*. **50**: 216-220.
- **Choi, S., W. Chu, J. Brown, S. J. Becker, V. J. Harwood, et S. C. Jiang. 2003.** Application of *enterococci* antibiotic resistance patterns for contamination source identification at Huntington Beach, California. *Marine Pollution Bulletin*. **46**: 748-755.
- **Chopra, I., et M. Roberts. 2001.** Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. **65**: 232-260.
- **Colmen, K., M. Athalye, A. Clancey, M. Davison, D. J. Payne, C. R. Perry, et L. Chopra. 1994.** Bacterial resistance mechanisms as therapeutic targets. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. **33**: 1094-1116.. **9**
- **Courvalin, P., F. Goldstein, A. Philippon, et J. Sirot. 1985.** L'antibiogramme. *Ed. MPC Vigot*, Paris-Bruxelles.
- **Dang, H., J. Zhao, L. Song, M. Chen, et Y. Chang. 2009.** Molecular characterizations of chloramphenicol and oxytetracycline-resistant bacteria and resistance genes in mariculture waters of China. *Marine Pollution Bulletin*. **58** : 987-994.
- **Dang, H., L. Song, M. Chen, et Y. Chang. 2006.** Concurrence of *cat* and *tet* Genes in Multiple Antibiotic-Resistant Bacteria Isolated from a Sea Cucumber and Sea Urchin Mariculture Farm in China. *Microbiology Ecology*. **52** : 634-643.
- **Danovaro, R., A. Tselepides, A. Otegui, et N. Della Croce. 2000.** Dynamics of meiofaunal assemblages on the continental shelf and deep-sea sediments of the Cretan Sea (NE Mediterranean): relationships with seasonal changes in food supply. *Prog. Oceanogr*. **46**: 367- 400.
- **Davies, J. 1994.** Inactivation of antibiotics and dissemination of resistance genes. *Science*. **264**: 375-382.
- **Davison, H. C., J. C. Low, et E. J. Woolhouse. 2000.** What is antibiotic resistance and how can we measure it. *Trends in Microbiology*. **8** (12): 554-559.

- **Davison, J. 1999.** Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid*. **42**:73-91.
- **Dennis, J. J. 2005.** The evolution of Inc P catabolic plasmids. *Current Opinion in Biotechnology*. **16**: 291-298.
- **Dhakephalkar, P. K, et B. A. Chopade. 1994.** High levels of multiple metal resistance and its correlation to antibiotic resistance in environmental isolates of *Acinetobacter*. *BioMetals*.**7**: 67-74.
- **Doi, Y., J.I. Wachino, M. Ishiguro, H. Kurokawa, K. Yamane, N. Shibata, K. Shibayama, K. Yokoyama, H. Kato, T. Yagi, et Y. Arakawa. 2004.** Inhibitor sensitive AmpC β -lactamase variant produced by an *Escherichia coli* clinical isolate resistant to oxyiminocephalosporins and cephamycins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **48**: 2652-2658.
- **Dolejska, M, P. Frolkova, M. Florek, I. Jamborova, M. Purgertova, I. Kutilova, A Cizek, S. Guenther, et I. Literak. 2011.** CTX-M-15-producing *Escherichia coli* clone B2-O25b-ST131 and *Klebsiella spp.* isolates in municipal wastewater treatment plant effluents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **66**: 2784-2790
- **Doublet, B. 2004.** Caractérisation des éléments génétiques mobiles du gène de résistance au florfénicol floR chez *Salmonella enterica* et *Escherichia coli*. *Thèse de doctorat* (Université de Tours).
- **Drissi, M., Z. Baba Ahmed, B. Dehecq, R. Bakour, P. Plésiat, et D. Hocquet. 2008.** Sensibilité aux antibiotiques et mécanismes de résistance aux β -lactamines des souches cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* : première étude en Algérie. *Médecine et maladies infectieuses*. **38**: 187-191.
- **Dzidic S., J. Suskovic, et B. Kos. 2008.** Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. *Food Technol. Biotechnol.* **46** (1) : 11-21.
- **Eckert, C., V. Gautier, et G. Arlet. 2006.** DNA sequence analysis of the genetic environment of various *bla*_{CTX-M} genes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **57** : 14-23.
- **Erdem-Kimiran, A., E.O. Arslan, N. O. S. Yurudu, Z. Zeybek, N. Dogruoz, et A. Cotuk. 2007.** Isolation and identification of Enterococci from seawater samples: Assessment of their resistance to antibiotics and heavy metals. *Environmental Monitoring Assessment*. **125**: 219-228.
- **Fabrega, A., J. Sanchez-Céspedes, S. Soto, et J. Vila. 2008.** Quinolone resistance in the food chain. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **31**: 307-315.
- **Fam, N. S., et El-Damarawy M. M., 2008.** CTX-M-15 Extended-Spectrum Beta-lactamases Detected from Intensive Care Unit of an Egyptian Medical Research Institute. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*. **3** (1): 84-91.

- **Faye, K. 2005.** Le point sur l'usage vétérinaire des antibiotiques : impact sur l'antibiorésistance des bactéries en santé animale et humaine. *Antibiotiques*. **7** : 45-52.
- **Fernandez-Delgado, M., et P. Suarez. 2009.** Multiple antibiotic resistances of enteric bacteria isolated from recreational coastal waters and oysters of the Caribbean Sea. *Annals of Microbiology*. **59** (3): 409-414.
- **Frère, J. M. 1995.** Beta-lactamases and bacterial resistance to antibiotics. *Molecular Microbiology*. **16**: 385-95.
- **Glupczynski, Y., C. Berhin, C. Bauraing, et P. Bogaerts. 2007.** Evaluation of a New Selective Chromogenic Agar Medium for Detection of Extended-Spectrum β -lactamases-Producing *Enterobacteriaceae*. *Journal of Clinical Microbiology*. **45** (2): 501-505.
- **Goni-Urriza, M., M. Capdepuy, C. Arpin, N. Raymond, P. Caumette, et C. Quentin. 2000.** Impact of an urban effluent on antibiotic resistance of riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas spp.* *Applied and Environmental Microbiology*. **66**: 125-132.
- **Graham, D. W., S. Olivares-Rieumont, C. W.Knapp, et al. 2011.** Antibiotic resistance gene abundances associated with waste discharges to the Almendares River near Havana, Cuba. *Environ Sci Technol*. **45**(2):418-424.
- **Guardabassi, L., D. M. A. Lo Fo Wong, et A. Dalsgaard. 2002.** The effects of tertiary wastewater treatment on the prevalence of antimicrobial resistant bacteria. *Water Research*. **36**:1955-1964.
- **Halling-Sorensen, B., S. Nors Nielsen, P. F. Lanzky, F. Ingerslev, H. C. Holten Liitzhoff, et S. E. Jorgensen. 1998.** Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – a review. *Chemosphere*. **36**(2): 357-393.
- **Handal, T., et I. Olsen. 2000.** Antimicrobial resistance with focus on oral beta-lactamases. *Eur J Oral Sci*. **108**: 163-174.
- **Harada, K., et T. Asai. 2010.** Role of Antimicrobial Selective Pressure and Secondary Factors on Antimicrobial Resistance Prevalence in *Escherichia coli* from Food-Producing Animals in Japan. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. **10**, doi:10.1155/2010/180682.
- **Harakeh, S., Y. Hadi, et M. El-Fadel. 2006.** Antimicrobial-resistant patterns of *Escherichia coli* and *Salmonella* strains in the aquatic Lebanese environments. *Environmental Pollution*. **143**: 269-277.
- **Hawkey, P. M., et A. M. Jones. 2009.** The changing epidemiology of resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **64**: 3-10.
- **Henriques, I. S, F. Fonseca, A. Alves, M. J. Saavedra, et A. Correia. 2006.** Occurrence and diversity of integrons and β -lactamase genes among ampicillin-resistant isolates from estuarine waters. *Research in microbiology*. **157** : 938-947.
- **Héritier, C., L. Poirel, et P. Nordmann, 2006.** Cephalosporinase overexpression as a result of insertion of ISAbal in *Acinetobacter baumannii*. *Clinical Microbiology Infection*. **12**: 123-130.

- **Higgins, P. G., H. Wisplinghoff, D. Stefanik, et H. Seifert. 2004.** Selection of topoisomerase mutations and overexpression of *adeB* mRNA transcripts during an outbreak of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **54**: 821-823.
- **Hopkins, K. L., M. J. Batchelor, E. Liebana, A.P. Deheer-Graham, et E. J. Threlfall. 2006.** Characterisation of CTX-M and *AmpC* genes in human isolates of *Escherichia coli* identified between 1995 and 2003 in England and Wales. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **28**: 180-192.
- **Hu, J., J. Shi, H. Chang, D. Li, M. Yang, et Y. Kamagata. 2008.** Phenotyping and genotyping of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from a natural river basin. *Environ. Sci. Technol.* **42**: 3415-3420.
- **Iabadene, H., Y. Messai, H. Ammari, N. Ramdani-Bouguessa, S. Lounes, R. Bakour, et G. Arlet. 2008.** Dissemination of ESBL and Qnr determinants in *Enterobacter cloacae* in Algeria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **62**:133-136.
- **Isaiah, I. N., B. T. Nche, I. G. Nwagu, et I. I. Nwagu. 2011.** Incidence of temonera, sulphuhydryl variables and cefotaximase genes associated with β -lactamase producing *Escherichia coli* in clinical isolates. *North American Journal Medical Sciences*. **3**(12): 557-561.
- **Jacoby, G. A. 2009.** AmpC β -Lactamases. *Clinical Microbiology Revue*. **22** (1): 161-182.
- **Jacoby, G. A., et A. A. Medeiros. 1991.** More extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **35**: 1697-1704.
- **Jalal, K. C. A., U. T. Nur Fatin, M. A. Mardiana, B. Akbar John, Y. B. Kamaruzzaman, S. Shahbudin, et M. Nor Omar. 2010.** Antibiotic resistance microbes in tropical mangrove sediments in east coast peninsular, Malaysia. *African Journal of Microbiology Research*. **4** (8): 640-645.
- **Jarlier, V. 1997.** Mécanismes de résistance aux antibiotiques. *Médecine Thérapeutique*, Hors série n°1 : 46-58.
- **Jarlier, V., M.H. Nicolas, G. Fournier, et A. Philippon. 1988.** Extended spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Revue of infection decreases*. **10**: 867-878.
- **Jones J. G., S. Gardener, B. M. Simon, et R. W. Pickup. 1986.** Antibiotic resistant bacteria in Windermere and two remote upland tarns in the English Lake District. *J. Appl. Bacteriol.* **60** : 443-453.
- **Kado, C. I., et S. T. Liu. 1981.** Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* **45**: 1365-1373.

- **Karisik, E., M. J. Ellington, R. Pike¹, R. E. Warren, D. M. Livermore, et N. Woodford. 2006.** Molecular characterization of plasmids encoding CTX-M-15 β -lactamases from *Escherichia coli* strains in the United Kingdom. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **58**: 665-668.
- **Kaszab, E., B. Kriszt, B. Atzél, G. Szabó, I. Szabó, P. Harkai, et S. Szoboszlay. 2010.** The Occurrence of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* on Hydrocarbon Contaminated Sites. *Microb Ecol*. **59** : 37-45.
- **Kemper, N. 2008.** Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecol Indic*. **8**:1-13.
- **Kim, J., H. Y. Kang, et Y. Lee. 2008.** The identification of CTX-M-14, TEM-52, and CMY-1 enzymes in *Escherichia coli* isolated from the Han River in Korea. *The Journal of Microbiology*. **46**: 478-481.
- **Kim, J., Y. J. Park, S. I. Kim, M. W. Kang, S. O. Lee, et K. Y Lee. 2004.** Nosocomial outbreak by *Proteus mirabilis* producing extended-spectrum β -lactamases VEB-1 in Korean university hospital. *Journal of antimicrobial Chemotherapy*. **54** (6): 1144-1147.
- **Kim, S. H., C. I. Wei, et H. An. 2005.** Molecular characterization of multidrug resistant *Proteus mirabilis* isolates from retail meat products. *Journal of Food Protection*. **68**: 1408-1413.
- **Knapp, C. W., W. Zhang, B. S. M. Sturm, et D. W. Graham. 2010.** Differential fate of erythromycin and beta-lactam resistance genes from swine lagoon waste under different aquatic conditions. *Environmental Pollution*. **158** : 1506-1512.
- **Kumar, H. S., A. Parvathi, I. Karunasagar, et I. Karunasagar. 2005.** Prevalence and antibiotic resistance of *Escherichia coli* in tropical seafood. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. **21**: 619-623.
- **Kümmerer, K. 2003.** Significance of antibiotics in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **52**: 5-7.
- **Kümmerer, K. 2004.** Resistance in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **54**: 311- 320.
- **Kümmerer, K. 2009.** Antibiotics in the aquatic environment-A review-Part II. *Chemosphere*. **75** : 435-441.
- **Lambert, P. A. 2005.** Bacterial resistance to antibiotics: Modified target sites. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **57**: 1471-1485.
- **Lateef, A., J. F. Oloke, et E. B. Gueguin Kana. 2005.** The prevalence of bacterial resistance in clinical food, water and some environmental samples in southwest Nigeria. *Environmental Monitoring and assessment*. **100**: 59-69.

- **Lavigne, J. P., J. B. Gaillard, G. Bourg, C. Tichit, E. E. Lecaillon, et A. Sotto. 2008.** Étude de souches de *Stenotrophomonas maltophilia* sécrétrices de BLSE : détection de CTX-M et étude de la virulence. *Pathologie Biologie*. **56** : 447-453.
- **Li X.Z., M. Mehrotra, S. Ghimire et L. Adewoye. 2007.** β -lactam resistance and β -lactamases in bacteria of animal origin. *Veterinary Microbiology*. **121** : 197-214.
- **Livermore D.M. et D.F.J. Brown. 2001.** Detection of β -lactamases mediated resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **48**, Suppl. S1: 59-64.
- **Livermore, D. M. 1995.** β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Revue*. **8**: 557-584.
- **Livermore, D. M. 1998.** β -lactamase-mediated resistance and opportunities for its control. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **41**: 25-41.
- **Livermore, D. M. 2001.** Of Pseudomonas, porins, pumps and carbapenems. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **47**: 247-250.
- **Livermore, D. M., et D. F. J. Brown. 2001.** Detection of β -lactamases mediated resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **48**, Suppl. S1: 59-64.
- **Livermore, D. M., T. G. Winstanley, et K. P. Shannon. 2001.** Interpretative reading: Recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *J. Antimicrob. Chemother.* **48** (Suppl. S1): 543-557.
- **Lobova, T. I., Y. V. Barkhatov, O. V. Salamatina, et L. Y. Popova. 2008.** Multiple antibiotic resistance of heterotrophic bacteria in the littoral zone of Lake Shira as an indicator of human impact on the ecosystem. *Microbiological Research*. **163**: 152-160.
- **Lorenz, M. G., et W. Wackernagel. 1994.** Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. *Microbiol Rev*. **58**: 563-602.
- **Lu, S. Y., Y. L. Zhang, S. N. Geng, T. Y. Li, Z. M. Ye, D. S. Zhang, F. Zou, et H. W. Zhou. 2010.** High Diversity of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Bacteria in an Urban River Sediment Habitat. *Applied Environmental Microbiology*. **76**(17): 5972-5976.
- **Machado, E., T. M. Coque, R. Canton, J. C. Sousa, et L. Peixe. 2008.** Antibiotic resistance integrons and extended-spectrum β -lactamases among *Enterobacteriaceae* isolates recovered from chickens and swine in Portugal. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **62**: 296-302.
- **Mainardi, J. L., F. W. Goldsein, et L. Gutamann. 1996.** Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. *Maladies infectieuses*. **8**: 1-8.
- **Manaia C. M., I. Vaz-Moreira, et O. C. Nunes. 2011.** Antibiotic resistance in waste water and surface water and human health implication. *The Handbook of Environmental Chemistry*. **19**: 1-40.
- **Manivasagan, P., G. Rajaram, S. Ramesh, S. Ashokkumar, et P. Damotharan. 2011.** Occurrence and seasonal distribution of antibiotic resistance heterotrophic bacteria and

- physico-chemical characteristics of Muthupettai mangrove environment, Southeast coast of India. *Journal of Environmental Science Technology*. **4**(2) : 139-149.
- **Manjusha, S., G. B. Sarita, K. K. Elyas, et M. Chandrasekaran.2005.** Multiple Antibiotic Resistances of *Vibrio* Isolates from Coastal and Brackish Water Areas. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. **1** (4): 201-206.
 - **Mansour, W., O. Bouallegue, S. Dahman, et N. Boujaafar. 2008.** Caractérisation des mécanismes enzymatiques de résistance aux β -lactamines chez des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées à l'hôpital universitaire Sahloul, Sousse en Tunisie (2005). *Pathologie Biologie*. **56** : 116-120.
 - **Martinez, J. L. 2003.** Recent advances on antibiotics resistance genes. In Recent Advances in Marine Biotechnology. Molecular Genetics of Marine organisms. *Fingerman* (Ed), *Nagabhushanam*. **10**:13-32.
 - **Martinez, J. L. 2009.** The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. *Proceeding of the royal society biological sciences*. **276**: 2521-2530.
 - **Matagne, A., J. Lmotte-Brasseur, et J. M. Frère. 1998.** Catalytic properties of class A β -lactamases: efficiency and diversity. *Biochem J*. **330**: 581-598.
 - **Matyar, F., A. Kaya, et S. Dinçer. 2008.** Antibacterial agents and heavy metal resistance in Gram-negative bacteria isolated from seawater, shrimp and sediment in Iskenderun Bay, Turkey. *Science of the Total Environment*. **407**:279-285.
 - **McArthur, J. V., et R. C. Tuckefield. 2000.** Spatial patterns in antibiotic resistance among stream bacteria: Effect of industrial pollution. *Applied and Environmental Microbiology*. **66**: 3722-3726.
 - **McIntosh, D., M. Cunningham, B. Ji, F. A. Fekete, E. M. Parry, S. E. Clark, Z. B. Zalinger, I. C. Gilg, G. R. Danner, K. A. Johnson, M. Beattie, et R. Ritchie. 2008.** Transferable, multiple antibiotic and mercury resistance in Atlantic Canadian isolates of *Aeromonas salmonicida subsp. Salmonicida* is associated with carriage of an IncA/C plasmid similar to the *Salmonella enterica* plasmid pSN254. *J. Antimicrob. Chemoth.* **61** : 1221-1228.
 - **McKeegan, K. S., M. I. Borges-Walmsley, et A. R. Walmsley. 2002.** Microbial and viral drug resistance mechanisms. *Trends in Microbiology*. Vol.10 N°.10 (Suppl.): 8-14.
 - **McManus, P. S., V. O. Stockwell, G. W. Sundin, et A. L. Jones. 2002.** Antibiotic use in plant agriculture. *Annu. Rev. Phytopathol.* **40**:443-465.
 - **McPhearson, R. M., A. De Paola, S. R. Zywno, J. M. L. Motes, et A. M. Guarino. 1991.** Antibiotic resistance in gram-negative bacteria from cultured catfish and aquaculture ponds. *Aquaculture*. **99**: 203-211.
 - **Mérens, A, H. Delacour, P. Plésiat, J.D. Cavallo, et K. Jeannot. 2011.** *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. *Revue Francophone des Laboratoires*. **435** : 49-62.

- **Messai, Y., H. Iabadene, T. Benhassine, S. Alouache, M. Tazir, V. Gautier, G. Arlet, et R. Bakour. 2008.** Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathologie Biologie*. **56**: 319-325.
- **Messai, Y., T. Benhassine, M. Naim, G. Paul, et R. Bakour. 2006.** Prevalence of β -lactams resistance among *Escherichia coli* clinical isolates from a hospital in Algiers. *Rev. Esp. Quimioterap.* **19**: 144-151.
- **Miranda, C. D., et R. Zemelman. 2001.** Antibiotic resistant bacteria in fish from the Conception Bay, Chile. *Mar. Pollut. Bull.* **42**: 1096-1102.
- **Miranda, C.D., et R. Zemelman. 2002.** Antimicrobial multiresistance in bacteria isolated from freshwater Chilean salmon farms. *The Science of the Total Environment*. **293**: 207-218.
- **Mudryk, Z. 2005.** Occurrence and distribution antibiotic resistance of heterotrophic bacteria isolated from a marine beach. *Marine Pollution Bulletin*. **50**: 80-86.
- **Mudryk, Z. J., P. Perliński, et P. Skorzewski. 2010.** Detection of antibiotic resistant bacteria inhabiting the sand of non-recreational marine beach. *Marine Pollution Bulletin*. **60**: 207-214.
- **Naas, T., A. Lezzar, C. Bentchouala, F. Smati, J.M. Scheftel, H. Monteil, et P. Nordmann. 2005.** Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype *Senftenberg* isolates producing CTX-M β -lactamases from Constantine, Algeria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **56**: 439-440.
- **Naas, T., et P. Nordmann. 1999.** OXA-type β -lactamases. *Curr. Pharm. Des.* **5**: 865-879.
- **Naas, T., L. Vandael, W. Sougakoff, D. M. Livermore, et P. Nordmann. 1994.** Cloning and sequence analysis of the gene for a carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, Sme-1, from *Serratia marcescens* S6. *Antimicrob. Agents Chemother.* **38**: 1262-1270.
- **Nair, S., D. Chandramohan, et L. Bharathi. 1992.** Differential sensitivity of pigmented and non-pigmented marine bacteria to metals and antibiotics. *Water Research*. **26**: 431-434.
- **Nash, R. P., S. Habibi, Y. Cheng, S. A. Lujan, et M. R. Redinbo. 2010.** The mechanism and control of DNA transfer by the conjugative relaxase of resistance plasmid pCU1. *Nucleic Acids Research*. **38** (17): 5929-5943.
- **Niemi, M., M. Sibakov, et S. Niemela. 1983.** Antibiotic Resistance Among Different Species of Fecal Coliforms Isolated from Water Samples. *Applied and Environmental Microbiology*. **45** (1): 79-83.
- **Nikaido, H. 1992.** Porins and specific channels of bacterial outer membranes. *Mol. Microbial.* **6** (4): 435-442.
- **Nikolakopoulou, T. L., E. P. Giannoutsou, A. A. Karabatsou, et A. D. Karagouni. 2008.** Prevalence of tetracycline resistance genes in Greek sea water habitats. *The Journal of Microbiology*. **46** (6): 633-640.

- Nordmann, P., et H. Mammeri. 2007. Résistance plasmidique aux quinolones. *ANTIBIOTIQUES*. **9**: 246-53.
- Nordmann, P., et L. Poirel. 2002. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin. Microbiol. Infect.* **8**: 321-331.
- Ohlsen, K., W. Ziebuhr, K. Koller, W. Hell, T. A. Wichelhaus, et J. Hacker. 1998. Effects of sub inhibitory concentrations of antibiotics on alpha-toxin (hla) gene expression of methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *Antimicrob. Agents Chemoth.* **42**: 2817-2823.
- Olaniran, A. O., K. Naicker, et B. Pillay. 2009. Antibiotic resistance profiles of *Escherichia coli* isolates from river sources in Durban, South Africa. *World J Microbiol Biotechnol.* **25**:1743-1749.
- Oliveira, A. J. F. C., et J. M. W. Pinhata. 2008. Antimicrobial resistance and species composition of *Enterococcus* spp. isolated from waters and sands of marine recreational beaches in Southeastern Brazil. *Water Research.* **42**: 2242-2250.
- Oliveira, A. J. F. C., P. T. R. Franca, et A. B. Pinto. 2010. Antimicrobial resistance of heterotrophic marine bacteria isolated from seawater and sands of recreational beaches with different organic pollution levels in southeastern Brazil: evidences of resistance dissemination. *Environmental Monitoring Assessment.* **169**: 375-384.
- Ozgumus, O. B., C. Sandalli1, A. Sevim, E. Celik-Sevim, et N. Sivri. 2009. Class 1 and Class 2 Integrons and Plasmid-Mediated Antibiotic Resistance in Coliforms Isolated from Ten Rivers in Northern Turkey. *The Journal of Microbiology.* **47**(1): 19-27.
- PAC. 2005. Lutte contre la pollution liée aux déchets solides – diagnostic – Programme d'Aménagement Côtier (PAC) « Zone Côtière Algéroise ». PAP-PAC. ALG/DS/04-04.
- Pagès, J. M., et E. Garnotel. 2003. Perméabilité membranaire et résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram négatif. *Revue Française des Laboratoires.* **352** : 57-63.
- Pannek, S., P. G. Higgins, P. Steinke, D. Jonas, M. Akova, J. A. Bohnert, H. Seifert, et W.V. Kern. 2006. Multidrug efflux inhibition in *Acinetobacter baumannii* : comparison between 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine and phenyl-arginine-beta-naphthylamide. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* **57**: 970-974.
- Peirano, G., et J. D. Pitout. 2010. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-Mb-lactamases: the worldwide emergence of clone ST131 O25:H4. *International Journal of Antimicrobial Agents.* **35**: 316-321.
- Peleg, A. Y., H. Seifert, et D. L. Paterson. 2008. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews.* **21** : 3538-3582.
- Perliński, P., et Z. Mudryk. 2009. Inhibitory effect of antibiotics on the growth of heterotrophic bacteria inhabiting marine beach. *Baltic Coastal Zone.* **13**:15-24.
- Philippon, A., et G. Arlet. 2005. Les bêta-lactamases chez les bacilles à Gram-négatif : que de nouveautés en 15 ans. *Antibiotiques.* **7** : 247-259.

- **Philippon, A., G. Arlet, et G. A. Jacoby. 2002.** Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **46**: 1-11.
- **Philippon, A., G. Fournier, G. Paul, G. Vedel, et P. Nevot. 1988.** Détection et distribution des bêta-lactamases à spectre élargi chez les entérobactéries. *Medecine et Maladies Infectieuses*. **12**: 869-876.
- **Ploy, M. C., A. Gassama, D. Chainier, et F. Denis. 2005.** Les intégrons en tant que support génétique de résistance aux antibiotiques § Integrons: an antibiotic resistance gene capture system. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*. **20** : 343-352.
- **Poirel, L. 2006.** Nouveaux mécanismes de résistance chez *Pseudomonas aeruginosa* : quelles perspectives. XVII^e Congrès national de la SFHH - Nantes - 1^{er} et 2 juin. p25-26.
- **Poirel, L., et P. Nordmann. 2006.** Résistance aux β -lactamines chez *Acinetobacter baumannii* : évolution et émergence de nouveaux mécanismes. *Antibiotiques*. **8** : 100-107.
- **Poirel, L., T. Nass, M. Guibert, E. B. Chaib, R. Labia, et P. Nordmann. 1999.** Molecular and biochemical characterization of VEB, a novel class A extended-spectrum β -lactamase encoded by an *Escherichia coli* integron gene. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **42**: 573-581.
- **Pontes, D. S., F. A. Pinheiro, C. I. Lima-Bittencourt, R. L. M. Guedes, L. Cursino, F. Barbosa, F. R. Santos, E. Chartone-Souza, et A. M. A. Nascimento. 2009.** Multiple Antimicrobial Resistance of Gram-Negative Bacteria from Natural Oligotrophic Lakes under Distinct Anthropogenic Influence in a Tropical Region. *Microb Ecol*. **58**: 762-772.
- **Poole, K. 2004.** Resistance to β -lactam antibiotics. *CMLS, Cellular and Molecular Life Science*. **61**: 2200-2223.
- **Poole, K. 2005.** Efflux-mediated antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **56**: 20-51.
- **Queenan, A. M., et K. Bush. 2007.** Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clin. Microbiol. Rev*. **20** (3): 440-458.
- **Ramdani-Bouguessa, N., N. Mendonca, J. Leitao, E. Ferreira, M. Tazir, et M. Canica. 2006.** CTX-M-3 and CTX-M-15 Extended-Spectrum beta-lactamases in isolates of *Escherichia coli* from a Hospital in Algiers, Algeria. *Journal of Clinical Microbiology*. **44**: 4584-4586.
- **Ramesh, S., P. Manivasagan, S. Ashokkumar, G. Rajaram, et P. Mayavu. 2010.** Plasmid profiling and multiple antibiotic resistance of heterotrophic bacteria isolated from Muthupattai mangrove environment, southeast coast of India. *Current Research in Bacteriology*. **3**: 227-237.
- **Recchia, G. D., et R.M. Hall. 1995.** Gene cassettes: a new class of mobile element. *Microbiology*. **141**: 3015-3027.
- **Rodier, J., B. Legube, N. Merlet, et al., 2009.** L'analyse de l'eau. 9^{ème} édition DUNOD, Paris, France.

- **Rouibah, M., M. Boulahdid, B. Boudejellal, N. Eddalia, et F. Ounadi. 2005.** Étude de la pollution du littoral Algérois et du lac de Réghaia. Contrat ISMAL-APPL : 1-73.
- **Ruzin, A., D. Keeney, et P. A. Bradford. 2007.** AdeABC multidrug efflux pump is associated with decreased susceptibility to tigecycline in *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **59**: 1001-1004.
- **Sambrook, J., E. F. Fritsh, et T. Maniatis. 1989.** Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd ed. Cold spring Harbor Laboratory Press. Cold spring Harbor. N.Y.
- **Sarmah, A. K., M. T. Meyer, et A. B. A. Boxall. 2006.** A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*. **65**:725-759.
- **Sarter, S., H. N. K. Nguyen, L. T. Hung, J. Lazard, et D. Montet. 2007.** Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. *Food Control*. **18**: 1391-1396.
- **Schmidt, A. S., M. S. Bruun, I. Dalsgaard, et J. L. Larsen. 2001.** Incidence, distribution, and spread of tetracycline resistance determinants and integron-associated antibiotic resistance genes among motile aeromonads from a fish farming environment. *Applied and Environmental Microbiology*. **67** (12): 5675-5682.
- **Schneiders, T., J. Findlay, et S.G.B. Amyes. 2008.** Efflux Pumps in *Acinetobacter baumannii*. *Acinetobacter Biology and Pathogenesis*. 105-127.
- **Schwarz, S., C. Kehrenberg, B. Doublet, et A. Cloeckaert. 2004.** Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiol. Rev.* **28**: 519-542.
- **Segonds, C., H. Monteil, et G. Chabanon. 2006.** Espèces du complexe *Burkholderia cepacia* : épidémiologie, pathogénicité et résistance aux antibiotiques. *Antibiotiques*. **8** : 43-50.
- **Servais, P., et J. Passerat. 2009.** Antimicrobial resistance of fecal bacteria in waters of the Seine river watershed (France). *Science of the Total Environment*. **408**: 365-372.
- **Seyfried, E. E., R. J. Newton, K. F. Rubert IV, J. A. Pedersen, et K. D. McMahon. 2010.** Occurrence of Tetracycline Resistance Genes in Aquaculture Facilities with Varying Use of Oxytetracycline. *Microb Ecol.* **59** : 799-807.
- **Skurnik, D. 2009.** Les intégrons : structure et épidémiologie. *Antibiotiques*. **11**: 116-129.
- **Sobecky, P. A. 1999.** Plasmid ecology of marine sediment microbial communities. *Hydrobiologia*. **401**: 9-18.
- **Song, W., H. Lee, K. Lee, S. H. Jeong, I. K. Bae, J. S. Kim, et H. S Kwak. 2009.** CTX-M-14 and CTX-M-15 enzymes are the dominant type of extended-spectrum β -lactamase in clinical isolates of *Escherichia coli* from Korea. *Journal of Medical Microbiology*. **58**: 261-266.

- **Sørum, H., et T. M. L'Abeé-Lund. 2002.** Antibiotic resistance in food-related bacteria-a result of interfering with the global web of bacterial genetics. *International Journal of Food Microbiology*. **78**: 43-56.
- **Stokes, H. W., et R. M. Hall. 1989.** A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene integration functions: integrons. *Mol. Microbiol.* **3**: 1669-1683.
- **Tenover F. C. 2006.** Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *The American Journal of Medicine*. **119**: 3-10.
- **Teuber, M. 2001.** Veterinary use and antibiotic resistance. *Current Opinion Microbiology*. **4**: 493-499.
- **Thomas, C.M, et K. M. Nielsen. 2005.** Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nat Rev Microbiol.* **3**: 711-721.
- **Touati, A., S. Benallaoua, D. Forte, J. Madoux, L. Brasme, et C. de Champs. 2006.** First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 beta-lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Bejaia, Algeria. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **27**: 397-402.
- **Uğur, A., Ö. Ceylan, et B. Ashm. 2012.** Characterization of *Pseudomonas* spp. from Seawater of the Southwest Coast of Turkey. *Journal of Biology and Environmental Science*. **6**(16) : 15-23.
- **Vedel, G. 1997.** La lecture interprétative facteur de maîtrise de l'antibiogramme. *Spectra Biologie*. **16** : 465-478.
- **Vedel, G. 2005.** Simple method to determine β -lactam resistance phenotypes in *Pseudomonas aeruginosa* using the disc agar diffusion test. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **56**: 657-664.
- **Vedel, G., D. Ratovohery, G. Paul, et P. Nevot. 1994.** Phenotypes de résistance des *Enterobacteries* aux bêta-lactamines. *Laboratoire jouveimal, eds. Pyramide. Sante Paris* : 1-103.
- **Wang, H. H., M. Manuzon, K. Wan, H. Luo, T. E. Wittum, A. Yousef, et L. O. Bakaletz. 2006.** Food commensal microbes as a potentially important avenue in transmitting antibiotic resistance genes. *FEMS microbial Lett.* **254**: 226-231.
- **Watkinson A. J., G. B. Micalizzi, G. M. Graham, J. B. Bates, et S. D. Costanzo. 2007.** Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* in Wastewaters, Surface Waters, and Oysters from an Urban Riverine System. *Applied and Environmental Microbiology*. **73** : 5667-5670.
- **Webber, M. A., et L. J. Piddock. 2003.** The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **51**: 9-11.
- **Wise, R. 2002.** Antimicrobial resistance: priorities for action. *J. Antimicrob. Chemoth.* **49**: 585-586.

- **Witte, W. 1998.** Medical consequences of antibiotic use in agriculture. *Science*. **279**: 996-997.
- **Witte, W. 2000.** Ecological impact of antibiotic use in animals on different complex microflora environment. *Int J Antimicrob Agents*. **14**: 321-325.
- **Wright, G. D. 2005.** Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **57**: 1451-1470.
- **Wright, G. D. 2007.** The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nat Rev Microbiol*. **5**:175-186.
- **Wright, G. D. 2010.** Antibiotic resistance in the environment: a link to the clinic. *Current Opinion in Microbiology*. **13** : 589-594.
- **Yala, D., A. S. Merad, D. Mohamedi, et M. N. Ouar Korich. 2001.** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb* **1** : 5-12.
- **Yates, C. M., D. J. Brown, G. F. S. Edwards, et S. G. B. Amyes. 2003.** Detection of TEM-52 in *Salmonella enterica* serovar *Enteridis* isolated in Scotland. *Journal of antimicrobial Chemotherapy*.**53**: 407-408.
- **Zhang, R., Y. Wang, et J. D. Gu. 2006.** Identification of environmental plasmid-bearing *Vibrio* species isolated from polluted and pristine marine reserves of Hong Kong, and resistance to antibiotics and mercury. *Antonie van Leeuwenhoek*. **89** : 307-315.
- **Zhang, X. X., T. Zhang, et H.H.P. Fang. 2009.** Antibiotic resistance genes in water environment. *Appl Microbiol Biotechnol*. **82**: 397-414.

ANNEXES

Tableau XIV : Localisation des souches sélectionnées sur imipénème.

<i>Station</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Nom de la souche</i>
La Fayette	<i>I6</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>I11</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	<i>I14</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	<i>I17</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
Surcouf	<i>I2</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	<i>I5</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>I7</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>I8</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>I9</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	<i>I12</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
	<i>I13</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	<i>I15</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Réghaia	<i>I4</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>I10</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Ain Tagourait	<i>I1</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	<i>I3</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
	<i>I16</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>I18</i>	<i>Pantoea spp</i>

Tableau XV : Localisation des souches sélectionnées sur céfotaxime.

<i>Station</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Nom de la souche</i>
La Fayette	CE1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE16	<i>Bordetella spp</i>
	CE18	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE21	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE22	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE23	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE26	<i>Bordetella spp</i>
Surcouf	CE10	<i>Escherichia coli</i>
	CE3	<i>Bordetella spp</i>
	CE7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE24	<i>Ochrobactrum anthropii</i>
	CE27	<i>Acinetobacter baumannii</i>
Réghaia	CE2	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	CE4	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	CE5	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	CE6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE8	<i>Chrysiomonas luteola</i>
	CE9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE11	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE14	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	CE15	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE17	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE19	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CE20	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
CE25	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

Tableau XVI : Localisation des souches sélectionnées sur céfoxitine.

<i>Station</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Nom de la souche</i>
La Fayette	<i>F1</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
	<i>F2</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>F5</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>
	<i>F6</i>	Non identifiée
Surcouf	<i>F4</i>	<i>Citrobacter anthropii</i>
Ain Tagourait	<i>F3</i>	Non identifiée

Tableau XVII : Localisation des souches sélectionnées sur ceftazidime.

<i>Station</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Nom de la souche</i>
Réghaia	<i>CZ2</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	<i>CZ3</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>CZ4</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Surcouf	<i>CZ8</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Ain Tagourait	<i>CZ7</i>	<i>Shigella spp</i>
Anse de Kouâli	<i>CZ1</i>	<i>Pontoea spp</i>
	<i>CZ5</i>	Non identifiée
	<i>CZ6</i>	Non identifiée

Tableau XVIII : Résultats des antibiogrammes des souches isolées sur imipénème.

Souches	AMX	TIC	PIP	ATM	FOX	CTX	CAZ	CRO	CFS	FEP	IMP	AMC	TCC	TZP	K	GM	TE	C	SSS	TMP	SXT	NA	CIP	RA
<i>I1</i>	0 R	12 R	S	25 I	0 R	26 S	S	25 I	0 R	20 S	12 R	NF	0 R	S	S	S	19 S	20 I	S	0 R	NF	12 R	S	0 R
<i>I2</i>	0 R	21 I	29 S	25 I	0 R	21 R	35 S	24 I	17 I	35 S	24 S	9 R	23 S	31 S	47 S	43 S	10 R	15 R	33 S	0 R	8 R	0 R	15 R	17 I
<i>I3</i>	0 R	0 R	40 S	15 R	24 R	18 R	19 I	0 R	14 R	31 S	35 S	16 I	17 R	38 S	S	S	S	12 R	S	0 R	19 S	S	S	32 S
<i>I4</i>	0 R	17 R	S	26 I	0 R	25 I	S	26 S	0 R	21 S	14 R	NF	0 R	S	S	S	15 R	15 R	S	0 R	NF	8 R	S	0 R
<i>I5</i>	0 R	13 R	28 S	20 I	0 R	16 R	28 S	23 I	11 R	31 S	24 S	NF	17 R	29 S	S	S	12 R	14 R	S	0 R	NF	13 R	S	0 R
<i>I6</i>	0 R	0 R	32 S	19 I	0 R	0 R	35 S	0 R	0 R	25 S	23 S	0 R	0 R	37 S	S	S	25 S	11 R	S	0 R	0 R	12 R	45 S	20 S
<i>I7</i>	0 R	15 R	29 S	25 I	0 R	20 R	29 S	17 R	12 R	30 S	23 S	NF	16 R	28 S	S	S	15 R	18 R	S	0 R	NF	11 R	S	0 R
<i>I8</i>	0 R	15 R	29 S	20 I	0 R	20 R	28 S	17 R	12 R	30 S	24 S	NF	16 R	27 S	S	S	12 R	18 R	S	0 R	NF	11 R	S	0 R
<i>I9</i>	0 R	8 R	0 R	0 R	0 R	13 R	29 S	8 R	0 R	17 R	0 R	0 R	23 S	0 R	43 S	47 S	NF	22 I	33 S	13 I	18 S	13 R	19 I	21 S
<i>I10</i>	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	16 R	0 R	0 R	9 R	0 R	0 R	15 R	9 R	42 S	51 S	NF	19 I	35 S	8 R	22 S	17 I	45 S	23 S
<i>I11</i>	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	8 R	0 R	0 R	13 R	0 R	0 R	15 R	0 R	37 S	47 S	0 R	19 I	36 S	12 I	22 S	12 R	20 I	18 I
<i>I12</i>	0 R	9 R	10 R	0 R	0 R	0 R	13 R	0 R	8 R	14 R	0 R	0 R	19 I	11 R	S	S	11 R	29 S	35 S	8 R	22 S	14 R	27 S	19 S
<i>I13</i>	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	19 I	0 R	25 S	39 S	0 R	15 R	39 S	0 R	13 I	9 R	22 S	17 I
<i>I14</i>	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	10 R	0 R	0 R	14 R	0 R	37 S	45 S	NF	12 R	37 S	12 I	22 S	12 R	25 S	21 S
<i>I15</i>	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	10 R	0 R	0 R	16 R	0 R	32 S	41 S	0 R	13 R	37 S	9 R	17 S	13 R	23 S	18 I
<i>I16</i>	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	8 R	0 R	0 R	11 R	0 R	0 R	14 R	0 R	34 S	47 S	0 R	15 R	37 S	11 R	27 I	13 R	21 I	14 I
<i>I17</i>	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	9 R	0 R	0 R	14 R	0 R	33 S	47 S	0 R	15 R	35 S	9 R	19 S	10 R	20 I	15 I
<i>I18</i>	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	NF	0 R	0 R	S	S	0 R	0 R	0 R	0 R	NF	0 R	0 R	0 R

Tableau XIX (suite) : Résultats des antibiogrammes des souches isolées sur céfotaxime.

Souches	AMX	TIC	PIP	ATM	FOX	CTX	CAZ	CRO	CFS	FEP	IMP	AMC	TCC	TZP	K	GM	TE	C	SSS	TMP	SXT	NA	CIP	RA
<i>CE19</i>	0 R	0 R	30 S	10 R	0 R	0 R	23 S	0 R	0 R	21 S	33 S	0 R	0 R	18 I	>40 S	>40 S	16 R	12 R	44 S	0 R	15 I	0 R	43 S	17 I
<i>CE20</i>	0 R	0 R	26 S	0 R	0 R	0 R	21 S	0 R	0 R	23 S	23 S	0 R	0 R	31 S	S	S	18 R	10 R	S	0 R	18 S	0 R	S	23 S
<i>CE21</i>	0 R	17 R	13 R	16 R	0 R	0 R	17 R	0 R	17 I	21 S	33 S	0 R	14 R	15 I	30 S	40 S	9 R	22 I	30 S	0 R	0 R	0 R	35 S	14 I
<i>CE22</i>	0 R	17 R	15 I	18 R	0 R	0 R	18 R	0 R	18 I	21 S	31 S	0 R	16 R	16 I	31 S	43 S	11 R	24 S	33 S	0 R	0 R	0 R	41 S	12 R
<i>CE23</i>	0 R	12 R	13 I	21 I	0 R	0 R	16 R	0 R	16 S	21 S	18 I	0 R	20 I	18 S	23 S	9 R	10 R	22 I	0 R	0 R	0 R	0 R	8 R	14 I
<i>CE24</i>	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	12 R	40 S	0 R	0 R	0 R	S	S	19 S	10 R	S	0 R	26 S	15 I	37 S	25 S
<i>CE25</i>	0 R	0 R	21 S	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	11 R	20 I	0 R	0 R	21 S	S	S	14 R	15 R	S	0 R	0 R	8 R	S	20 S
<i>CE26</i>	0 R	0 R	18 S	25 S	0 R	0 R	13 R	0 R	0 R	14 R	15 R	0 R	0 R	18 I	25 S	31 S	20 S	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	25 S	25 S
<i>CE27</i>	0 R	15 R	18 S	0 R	0 R	0 R	9 R	0 R	0 R	14 R	33 S	0 R	18 I	16 I	13 R	24 S	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	14 R	28 S	19 S

Tableau XX : Résultats des antibiogrammes des souches isolées sur céfoxitine.

Souches	AMX	TIC	PIP	ATM	FOX	CTX	CAZ	CRO	CFS	FEP	IMP	AMC	TCC	TZP	K	GM	TE	C	SSS	TMP	SXT	NA	CIP	RA
<i>F1</i>	0 R	S	S	S	0 R	S	S	35 S	NF	35 S	35 S	0 R	S	S	S	S	S	27 S	S	27 S	25 S	S	S	13 R
<i>F2</i>	0 R	31 S	37 S	35 S	0 R	27 S	36 S	29 S	NF	31 S	35 S	0 R	S	37 S	31 S	S	14 R	25 S	37 S	0 R	8 R	10 R	S	14 I
<i>F3</i>	41 S	27 S	37 S	0 R	0 R	23 I	11 R	20 R	0 R	12 R	29 S	NF	24 S	37 S	33 S	26 S	29 S	S	0 R	36 S	S	0 R	22 I	26 S
<i>F4</i>	0 R	0 R	21 S	47 S	9 R	43 S	35 S	41 S	8 R	43 S	33 S	0 R	27 S	35 S	37 S	41 S	8 R	33 S	0 R	0 R	0 R	29 S	47 S	14 I
<i>F5</i>	0 R	NF	30 S	S	0 R	S	41 S	35 S	20 I	S	30 S	NF	0 R	29 S	19 S	41 S	16 R	18 R	0 R	0 R	0 R	0 R	15 R	31 S
<i>F6</i>	31 S	24 S	26 S	0 R	0 R	24 I	12 R	20 R	0 R	13 R	29 S	NF	21 I	25 S	0 R	24 S	0 R	9 R	0 R	31 S	30 S	0 R	21 R	23 S

Tableau XXI : Résultats des antibiogrammes des souches isolées sur ceftazidime.

Souches	AMX	TIC	PIP	ATM	FOX	CTX	CAZ	CRO	CFS	FEP	IMP	AMC	TCC	TZP	K	GM	TE	C	SSS	TMP	SXT	NA	CIP	RA
CA1	33 S	27 S	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	19 I	S	NF	S	32 S	S	S	S	S	0 R	S	NF	0 R	37 S	S
CA2	0 R	0 R	22 S	26 I	0 R	17 R	18 R	0 R	0 R	29 S	33 S	NF	0 R	35 S	S	S	23 S	0 R	S	0 R	NF	17 I	S	16 I
CA3	0 R	0 R	28 S	20 I	0 R	11 R	18 R	0 R	0 R	25 S	27 S	NF	0 R	27 S	S	S	17 I	19 I	S	0 R	0 R	15 R	S	15 I
CA4	0 R	0 R	33 S	25 I	0 R	17 R	0 R	0 R	0 R	31 S	31 S	NF	0 R	33 S	S	S	19 S	0 R	S	0 R	NF	15 R	S	15 I
CA5	19 I	11 R	9 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	9 R	33 S	NF	0 R	10 R	S	S	32 S	29 S	33 S	S	S	0 R	30 S	22 S
CA6	17 I	11 R	9 R	0 R	19 I	0 R	0 R	0 R	0 R	8 R	S	NF	16 R	11 R	S	S	32 S	31 S	28 S	0 R	nf	0 R	26 S	15 I
CA7	22 S	16 R	13 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	0 R	8 R	S	NF	27 S	12 R	S	S	11 S	S	0 R	0 R	NF	0 R	S	S
CA8	0 R	0 R	30 S	17 R	0 R	12 R	14 R	0 R	0 R	17 R	15 R	NF	0 R	30 S	S	S	19 S	14 R	S	0 R	0 R	8 R	S	22 S

Tableau XXII : Résultats des antibiogrammes chez *E. coli* (CE10) et ses transconjugants.

Souches	AMX	TIC	PIP	ATM	FOX	CTX	CAZ	CRO	CFS	FEP	IMP	AMC	TCC	TZP	K	GM	TE	C	SSS	TMP	SXT	NA	CIP	RA
<i>CE10</i>	0 R	0 R	NF	26 I	>35 S	15 R	26 S	15 R	NF	21 I	38 S	12 R	NF	NF	38 S	29 S	26 S	0 R	0 R	0 R	0 R	26 S	>40 S	25 S
<i>Tc1</i>	0 R	0 R	0 R	24 I	S	17 R	23 I	19 R	0 R	26 S	S	NF	0 R	0 R	S	S	26 S	S	S	S	S	0 R	S	16 I
<i>Tc2</i>	0 R	0 R	13 I	22 I	S	17 R	25 I	20 R	0 R	S	S	NF	9 R	9 R	S	S	22 S	27 S	27 S	29 S	27 S	0 R	S	16 I
<i>Tc3</i>	0 R	0 R	12 I	22 I	S	20 R	26 S	20 R	0 R	27 S	S	NF	9 R	9 R	S	S	22 S	28 S	S	27 S	25 S	0 R	S	15 I

الملخص

هذا العمل يهدف إلى تقييم نسبة المقاومة للمضادات الحيوية لدى بكتيريا عزلت من عدة شواطئ من ساحل الجزائر وتأثير العوامل البشرية على هذه الظاهرة .

معدلات المقاومة من مجموع البكتيريا كبيرة بالنسبة للأموكسيسيلين وتيكارسيلين، في حين أنها منخفضة نسبيا بالنسبة لالسيفنازديم، السيفوتاكسيم و الايميبينام. مستوى المقاومة اكبر في الشواطئ الملوثة (أموكسيسيلين، 52.2% و 43.1%، تيكارسيلين، 47.7% و 19.6%، سيفوتاكسيم، 2.8% و 8.3%) منها في الشواطئ غير الملوثة (أموكسيسيلين، و 9.4% 1.15%، تيكارسيلين، 7.6% و 0.8%، سيفوتاكسيم، 0.1% و 0.6%).

في مجموع القولونيات، تم العثور على معدلات عالية من المقاومة بالنسبة للأموكسيسيلين (20.7%، 8.3%، 16.2% و 43.2%)، والتيكارسيلين (10.3%، 10.4%، 13.5% و 40.9%). وقد لوحظ وجود مقاومة بالنسبة لسيفوتاكسيم و الايميبينام مع نسبة 8.3% و 0.4% في شاطئ رغبة.

تحديد هوية 59 سلالة مقاومة على الأقل لواحدة من المضادات الحيوية الكبرى، الايميبينام ، السيفوتاكسيم، السيفوكسيتين والسيفنازديم اعطي النتائج التالية : بسودوموناس ايروجينوزا (23)، بسودوموناس فليوريسانس (10)، ستينوتروفوموناس ملتوفيليا (06)، برخولديريا سياسيا (03)، بورديتلا سيب (03)، ايروموناس ايدروفيليا، كريزيوموناس لوتيو لا، اكتروم انتروبي، اسينيتوباكثير بوماني، بونتوا سيب (02)، اشيريشيا كولي، انتيروباكتر كلواكي، سيتروباكتر فروندي و شيقبلا سيب.س

أظهرت دراسة مقاومتها للمضادات الحيوية مقاومة ملحوظة للبيتا لاكتامات كما يلي: البنسلين (أموكسيسيلين، تيكارسيلين و 86.4%، 84.7%)، سيفوكسيتين (93.2%) وسيفالوسبورينات الجيل الثالث (السيفوتاكسيم، 84.7%؛ سيفترياكسون، 84.7%، السيفسولودين 81.3%). المقاومة لالسيفنازديم، والاستريبيونام و السيفيبيم كانت متوسطة (54.2%، 66% و 39% على التوالي)، في حين المقاومة لايميبينام كانت أقل (25.4%). بالنسبة لغيز البيتلاكتامات لوحظ ارتفاع المقاومة لحمض الناليديكسيك (84.7%) وسلفاميثوكسازول (79.6%)، يليه الكلورامفينيكول (54.2%)، التتراسيكلين (44%)، سلفاميثوكسازول + السلفوناميدات (28.8%)، والسلفوناميدات (22%). وقد لوحظ مقاومة صغيرة جدا اتجاه الأمينوغليكوزيد (GM، K)، سيبروفلوكساسين والريفامبيسين (4% و 10% و 15.2% على التوالي).

لوحظ إنتاج السيفالوسبوريناز الكروموزومية AmpC المحرصة عند 32.2% من السلالات المدروسة. البيتلاكتاماز ذات الطيف الواسع (BLSE) وجدت فقط عند سلالة كولا ي معزولة على السيفوتاكسيم . اظهر الوصف الجيني لهذا الإنزيم وجود جين CTX-M من النوع الأول محمول على بلاسميد ذو تنقل مستقل بسعة 54 كيلو باز .

الكلمات المفتاحية : البيتلاكتاماز ذات الطيف الواسع - المقاومة - البيتلاكتامين- شواطئ - مجموع البكتيريا- مجموع القولونيات.

ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the prevalence of bacterial antibiotic resistance in seawater and the anthropogenic influence from five beaches in Algiers.

The rates of resistance of the total flora were significant for amoxicillin and ticarcillin, whereas they are relatively low for ceftazidime, céfotaxime and imipenem. The level of resistance is higher in beaches receiving the anthropogenic inputs (amoxicillin, 52.2% and 43.1%; ticarcillin, 47.7% and 19.6%; céfotaxime, 2.8% and 8.3%) than in the unpolluted beaches (amoxicillin, 9.4% and 1.15% ; ticarcillin, 7.6% and 0.8% ; céfotaxime, 0.1% and 0.6%).

In total coliforms, high rates of resistance were found against amoxicillin (20.7%, 8.3%, 16.2% and 43.2%) and ticarcillin (10.3%, 10.4%, 13.5% and 40.9%). Resistance to cefotaxime and imipenem was observed with rates of 8.3% and 0.4% in Réghaia.

59 strains resistant to at least one of the major antibiotics, imipenem, cefotaxime, cefoxitin and ceftazidime were identified as *Pseudomonas aeruginosa* (n=23), *Pseudomonas fluorescens* (n=10), *Stenotrophomonas maltophilia* (n=6), *Burkholderia cepacia* (n=3), *Bordetella spp* (n=3), *Pontoea spp* (n=2), *Acinetobacter baumannii*, *Chrysiomonas luteola*, *E.coli*, *Ochrobactrum anthropi*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Aeromonas hydrophila* and *Shigella spp*.

The study of their antibiotic sensitivity showed a high rates of resistance to beta-lactam antibiotics including penicillins (amoxicillin, 86.4% ; ticarcillin, 84.7%), cefoxitin (93.2%) and third generation cephalosporins (cefotaxime, 84.7% ; ceftriaxone , 84.7% and cefsulodin, 81.3%). Resistance to ceftazidime, aztreonam and cefepime was average (54.2%, 66% and 39%, respectively). Whereas the imipenem resistance was lower (25.4%). Concerning the other families of antibiotics, a high resistance was observed to the acid nalidixic (84.7%) and triméthoprim (79.6%) followed by chloramphenicol (54.2%), tétracycline (44%), triméthoprim+sulfamides (28.8%), and sulphamides (22%). A very low resistance was observed against aminoglycosides (K, GM), ciprofloxacin and rifampicin (4%, 10% and 15.2%, respectively).

The production of inducible chromosomal AmpC was observed at 32.2% of strains. The synthesis of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) was found at only one strain: *E.coli* selected on cefotaxime. The genetic characterization of this enzyme showed the presence of CTX-M gene of group 1 carried by a selfconjugative plasmid of approximately 54Kb.

Key words: BLSE – résistance - beta-lactamines – beaches - total flora – total coliforms.