

**ORIGINAL ARTICLE**

## Multirésistance Des Entérobactéries Isolées Du Cours D'eau Olézoa et Des Eaux Souterraines De Son Bassin Versant (Région Du Centre, Cameroun)

Lucie Leme Banock<sup>1</sup>, Luciane Marlyse Moungang<sup>1</sup>, Antoine Tamsa Arfao<sup>1</sup>, Pélagie Ladibé<sup>1</sup>, Olive Vivien Noah Ewoti<sup>1\*</sup> et Serge Hubert Zébazé Togouet<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratory of Hydobiology and Environment, Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Sciences, University of Yaounde 1, PO Box 812.

Corresponding Author: Olive Vivien Noah Ewoti

### Résumé

Cette étude visait à évaluer la sensibilité ou la résistance *Salmonella typhi* et *Shigella sp* isolés du bassin versant du cours d'eau Olézoa a quelques antibiotiques. Des échantillons d'eaux ont été prélevés à différents points sur le cours d'eau Olézoa (cinq points) et également dans des puits (cinq) qui longent ce cours d'eau. Les résistances aux antibiotiques amoxicilline, ofloxacine, ciprofloxacine, chloramphénicol, ampicilline, sulfaméthoxazole / triméthoprim, céfotaxime et ceftriaxone ont été déterminées. Les taux de résistance des bactéries totales ainsi que le genre de bactéries résistantes ont été identifiés après culture sur des milieux spécifiques et quelques tests biochimiques. Le taux de résistance était plus élevé avec l'Ampicilline (57,5%), suivie par le l'Ofloxacine (55%), l'Amoxicilline (50%), la Ceftriaxone (40%), le Chloramphénicol et la Céfotaxime (35%) et enfin le sulfaméthoxazole/triméthoprim et la Ciprofloxacine (32,5%). Les taux de résistance obtenus étaient plus élevés au mois de Juillet comparés à ceux du mois d'Octobre.

**Mots clés :** Résistance aux antibiotiques, sensibilité aux antibiotiques, *Salmonella typhi* *Shigella sp*.

### Introduction

L'eau est un élément constitutif fondamental de la vie. Elle contribue au maintien de la santé et intervient dans diverses activités humaines (Boucenna, 2011). Sous la pression des besoins considérables de la civilisation moderne, le problème de la quantité et de la qualité des eaux n'a cessé de croître. L'on est passé de l'emploi des eaux de sources et de nappes, à une utilisation de plus en plus accrue des eaux de surface (Ibrahim *et al.*, 2014). Malgré leur importance pour la survie de l'Homme, ces eaux hébergent plusieurs micro-organismes (bactéries, champignons, parasites) pouvant causer chez le consommateur de nombreuses maladies (diarrhées, choléra, amibiases) (Wurtz, 2008). Les bactéries faisant partir de ces microorganismes, sont des microorganismes vivants unicellulaires procaryotes, de formes variées et qui appartiennent à deux groupes (Gram négatif et

Gram positif) (Noah Ewoti *et al.*, 2011). Actuellement, un nombre croissant d'entre elles retrouvé dans l'environnement est impliqué dans des maladies hydriques et infections nosocomiales (Martinez et Baquero, 2002 ; UMVF, 2014). Elles sont toutefois difficiles à éradiquer du fait qu'elles présentent fréquemment une multi-résistance aux antibiotiques et constituent par conséquent un problème majeur de santé publique (Holt *et al.*, 2000). A cet effet, l'OMS (2011), estime chaque année à 25000 le nombre de décès des suites d'une infection bactérienne grave et résistante.

L'espèce *Salmonella typhi* faisant partir des bactéries à Gram négatif, est considérée comme le prototype des espèces environnementales pathogènes de l'homme (Plesiat, 2011). A ce titre, elle intéresse divers spécialistes tels les microbiologistes, biochimistes, vétérinaires, et épidémiologistes, conscients du fait qu'il est plus

que jamais nécessaire de réunir les compétences pour pouvoir mieux appréhender un modèle aussi complexe (Plesiat, 2011). De plus, les shigelles sont également des bactéries à Gram négatif de la famille des *Enterobacteriaceae* pathogènes strictes rencontrées exclusivement chez l'homme (Anonyme, 2008). L'espèce *Shigella dysenteriae* est responsable de la dysenterie bacillaire ; et est très proche d'*Escherichia coli* (Anonyme, 2008).

L'utilisation intensive et inadaptée des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire favorise l'évolution des bactéries vers la résistance ; ce qui entraîne fréquemment des échecs thérapeutiques (Ndorma, 2012). Ces antibiotiques deviennent inefficaces à une vitesse qui dépasse de loin celle à laquelle ils sont fabriqués (OMS, 2011). Les rejets (excréta) issus de l'élevage et du milieu hospitalier introduisent dans les milieux aquatiques des fractions non métabolisées d'antibiotiques. Ces fractions vont être adsorbées au niveau des sols, contaminant ainsi les eaux superficielles puis à la suite des infiltrations, les eaux souterraines (AFSSA, 2006).

Les populations bactériennes vivant dans ces eaux vont acquérir une résistance entraînant ainsi le changement de fonction de certaines protéines en faveur de la résistance et de la protection de la cellule (Martinez et Baquero, 2002). Ces résistances peuvent aussi être dues à la variation des facteurs environnementaux tels que le pH, la température et les ions dissous (Fisher et Carol, 2009 ; Gyorgy et Sandor, 2010). Au Cameroun, de nombreuses études réalisées sur l'impact des facteurs abiotiques sur l'antibiorésistance ont montré que certains paramètres tels la température et le pH auraient une influence sur l'antibiorésistance des germes en milieu aquatique (Signe, 2013). D'autres études ont mis en évidence l'influence des résidus de produits pharmaceutiques et des paramètres météorologiques sur l'antibiorésistance (Eurin *et al.*, 2004). En dépit de ces travaux, les informations sur l'antibiorésistance des bactéries en milieu aquatique semblent très peu élucidées. Peu de données sont disponibles sur l'impact des facteurs abiotiques sur l'antibiorésistance. Le présent travail vise à évaluer la sensibilité/résistance aux antibiotiques, de quelques bactéries aquatiques d'importance sanitaire isolées à Yaoundé.

## Matériels et Méthode

### Période d'étude

L'étude s'est déroulée en deux phases : une phase préliminaire de prospection ayant servi à une visite d'observation et de repérage du cours d'eau et des différents puits ; cette phase s'est effectuée de Janvier à Février 2022 et à l'issue de cette dernière, 5 points d'échantillonnage codifiés O1 (Olézoa 1), O2 (Olézoa 2), O3 (Olézoa 3), O4 (Olézoa 4) et O5 (Olézoa 5) ont été choisis tout au long du cours d'eau Olézoa. Pour les eaux souterraines, cinq points d'eau de puits nommés P1 (Puits 1), P2 (Puits 2), P3 (Puits 3), P4 (Puits 4) et P5 (Puits 5) situés dans le bassin versant du même cours d'eau ont également été choisis. La seconde phase qui s'est déroulée de Juin à Novembre 2022, a consisté aux prélèvements et analyses proprement dits.

### Collecte des échantillons

#### Sur l'Olézoa

Les prélèvements ont été effectués dans deux types de flacons : les flacons en polyéthylène de 250 et 1000 mL soigneusement lavés et rincés à l'avance au laboratoire, et les flacons en verre stériles de 500 mL. Pour les prélèvements sur le cours d'eau Olézoa, la technique de quadra a été appliquée (Bernard et salle, 2010). Les paramètres considérés ont été la physico-chimie, la microbiologie et l'hydrologie (Rodier *et al.*, 2009).

#### Dans les puits du bassin versant de l'Olézoa

Pour les puits les eaux ont été prélevées d'après les techniques préconisées par APHA, (1998) et Rodier (1996). Les paramètres considérés ont été la physico-chimie, la microbiologie et la morphométrie. Ces échantillons ont été ensuite ramenés au laboratoire dans une enceinte réfrigérée et les analyses ont été effectuées dans les heures qui ont suivi l'échantillonnage. Les échantillons d'eau contenus dans les flacons en polyéthylène ont servi aux analyses physico-chimiques, et ceux contenus dans les flacons en verre aux analyses bactériologiques (Rodier *et al.*, 2009).

### Evaluation des Paramètres hydrologiques, morphométriques et physico-chimiques

#### Paramètres hydrologiques

Il s'agit des paramètres mesurés uniquement sur le cours d'eau Olézoa. Ces paramètres ont pris en compte la vitesse de l'eau (m/s) et le débit d'écoulement (m<sup>3</sup>/s). Ils ont été mesurés suivants les techniques préconisées par Rodier *et al.*, (2009).

### Paramètres morphométriques

Il s'agit du niveau piézométrique, des hauteurs de la colonne d'eau et de la margelle. Ces paramètres qui ont été mesurés à l'aide d'une corde graduée

et lestée, ont uniquement été pris en compte dans les puits (Vilaginès, 2003).

### Paramètres physico-chimiques

Les paramètres physicochimiques considérés dans cette étude ont été mesurés sur le terrain et au laboratoire suivant les techniques préconisées par Rodier *et al.*, (2009). Le tableau I ci-contre résume la méthodologie, l'unité et l'appareillage pour les analyses physico-chimiques des eaux collectées.

**Tableau I: Parameters analyzed, methods of measurement, devices and units used for each parameter (Rodier *et al.*, 2009).**

Parameters	Technique	Site	Apparatus	Units
Temperature	Direct	In situ	Thermometer	°C
pH	Direct	In situ	pH-meter	C.U
Conductivity	Direct	In situ	Conductimeter	μS.cm <sup>-1</sup>
Dissolved O <sub>2</sub>	Volumetry by Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Laboratory	Titrimetry	% saturation
Suspended Matter	Colorimetry (810 nm)	Laboratory	Spectrophotometer	mg l <sup>-1</sup>
Color	Colorimetry (455 nm)	Laboratory	Spectrophotometer	Pt.Co
Dissolved CO <sub>2</sub>	Volumetry by HCl	Laboratory	Titrimetry	mg l <sup>-1</sup>
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Colorimetry (880 nm)	Laboratory	Spectrophotometer	mg l <sup>-1</sup>
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Colorimetry (570 nm)	Laboratory	Spectrophotometer	mg l <sup>-1</sup>
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Colorimetry by Nessler (425 nm)	Laboratory	Spectrophotometer	mg l <sup>-1</sup>

### Isolement et identification des germes

Les germes recherchés ont été les bactéries des genres *Salmonella* et *Shigella* en raison de leur importance en hygiène et en santé publique et de leur implication dans la recrudescence des épidémies dans la région d'étude (Pasteur, 1987, Minsanté, 2018).

### Isolement des germes

Les espèces bactériennes recherchées ont été isolées à la surface du milieu de culture Salmonelle Shigelle AGAR par la technique d'étalement en surface pour les échantillons d'eau de surface récoltés sur le cours d'eau Olézoa. 100 μL de l'échantillon ont été prélevés à l'aide d'une pipette tenseur stérile puis déposés à la surface de la gélose coulée en boîte de Pétri. L'échantillon a été par la suite étalé à l'aide d'un râteau de pipette Pasteur stérile. Cet exercice est effectué en condition stérile définit par la flamme du bec bunsen (Marshal *et al.*, 1991). Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à la température de 37°C pendant 24h à 48h à l'étuve. Les souches aux

caractères satisfaisants ont été dénombrées par la méthode de comptage direct (Holt *et al.*, 2000).

Pour les eaux échantillonnées dans les puits, la technique de filtration sur membrane a été utilisée. En effet, la méthode de filtration sur membrane a consisté à faire passer à la surface d'une membrane filtrante les échantillons d'eau prélevés des puits du bassin de l'Olézoa (eau souterraine). Ainsi, 100 mL de l'échantillon ont été filtrés à travers une membrane en acétate de cellulose de porosité de 0,45 μm puis déposée sur gélose SS coulée dans les boîtes de Pétri de 55 mm de diamètre. Ces boîtes ont été incubées pendant 24 heures ± 3 heures à 37°C (Rodier *et al.*, 2009). Le dénombrement a été effectué par la technique de comptage directe et les résultats exprimés en UFC/ 100 mL d'eau échantillonnée (Holt *et al.*, 2000).

### Identification des germes

L'identification de ces deux entérobactéries a été effectuée à l'aide de la galerie classique. Elle s'est effectuée uniquement avec les colonies ayant

montré des caractères culturels satisfaisants. Cette galerie est constituée des tests tels que les recherches des enzymes oxydase, uréase et catalase, les vérifications de la fermentation du citrate, du mannitol, du glucose et du lactose, la production de gaz et du sulfure d'Hydrogène, l'affinité pour l'oxygène (aérobie anaérobie facultative), et la mobilité entre autres (Marchal *et al.*, 1991 ; Holt *et al.*, 2000).

### Evaluation de la sensibilité/ résistance aux antibiotiques

#### Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 heures sur milieu spécifique, une suspension bactérienne en solution salée 9% de turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de Mac Farland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/100ml) a été réalisée.

#### Choix des antibiotiques et réalisation des tests d'antibiogramme

Les tests d'antibiogramme ont été effectués sur les souches présomptives à l'issu des tests d'identifications par la méthode de diffusion des disques imprégnés d'antibiotiques sur milieu gélosé Müller Hinton suivant les recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). A cet effet les disques contenant les antibiotiques céphalosporines, pénicilline, fluoroquinolones entre autres ont été choisis (Tableau II). Les résultats ont été enregistrés comme résistant ou sensible par mesure du diamètre de la zone de l'inhibition à l'aide du pied à coulisse, d'après le niveau interprétatif du CA-SFM (2020).

Les valeurs des diamètres critiques de référence pour chaque antibiotique qui permettent de déterminer la sensibilité, la résistance ou l'intermédiarité sont consignées dans le tableau II (CA-SFM, 2020).

**Tableau II : Liste des antibiotiques utilisés et diamètres critiques de référence des divers antibiotiques utilisés.**

Classes d'antibiotiques	<i>Salmonella et Shigella</i>							
	Antibiotiques				Charge du disque ( $\mu\text{g}$ )			
Céphalosporines	Céfotaxime (CTX)				30			
Fluoroquinolones	Ofloxacin (OFX)				5			
	Ciprofloxacine (CIP)				5			
Pénicilline	Ampicilline (AX)				10			
	Amoxicilline (AM)				30			
Divers	Triméthoprim-sulfaméthoxazole (SXT)				25			
	Chloramphénicol (C)				30			
Céphalosporines	Ceftriaxone (CRO)				30			
Diamètres critiques de référence pour chaque Antibiotique								
Antibiotiques	CTX-30	OFX-5	CIP-5	C-30	AM-30	SXT-25	AX-30	CRO-5
Sensible	$\geq 20$	$\geq 24$	$\geq 25$	$\geq 17$	$\geq 14$	$\geq 14$	$\geq 19$	$\geq 25$
Intermédiaire	17-19	22-23	22-24	/	/	11-13	/	22-24
Résistant	$< 17$	$< 22$	$< 22$	$< 17$	$< 14$	$< 11$	$< 19$	$< 22$

#### Ensemencement et dépôt des disques d'antibiotiques

Afin de vérifier la multirésistance des germes identifiés aux antibiotiques, les tests d'antibiogramme ont été réalisés pendant la saison sèche et pendant la saison des pluies pour l'ensemble des dix (10) sites de prélèvement (5 puits et 5 points d'eau de surface) principalement sur les bactéries *Salmonella typhi* et *Shigella*

*dysenteriae* précédemment identifiées (parce que principalement citées par les autorités sanitaires comme responsables des épidémies). Ces tests d'antibiogramme ont été réalisés avec huit (8) antibiotiques différents.

Les suspensions bactériennes ont été ensemencées à l'aide des écouvillons sur la totalité de la surface de la gélose Müller Hinton de 4 mm d'épaisseur. Les boîtes ensemencées ont été mises à sécher

pendant 15 minutes à l'air libre près de la flamme du bec Bunsen avant le dépôt des disques d'antibiotiques (maximum six disques par boîte de 90 mm de diamètre). Un disque a été placé au centre et les autres ont été placés à 15 mm du bord de la boîte. L'écart entre les disques a été de 30 mm. Les boîtes de Pétri ont été incubées en aérobiose à  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 16 à 24 heures. Après incubation, la lecture s'est faite en mesurant les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse et en se référant aux normes de CA-SFM pour déclarer le germe sensible, intermédiaire ou résistant par rapport aux diamètres critiques de l'antibiotique testé (CA-SFM, 2016).

### Analyse des données

Les variations spatio-temporelles des paramètres physicochimiques, bactériologiques et les pourcentages de sensibilités ont été représentés sous forme de graphe à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2019. Les relations entre les paramètres analysés ont été évaluées par le test de corrélation de Spearman. Le test H de Kruskal-Wallis a permis de comparer dans le temps et l'espace, les médianes des différents paramètres physico-chimiques et des abondances de la microflore bactérienne pour déceler une

éventuelle différence. Le test U de Mann-Whitney a permis de comparer les différents paramètres deux à deux pour déterminer à quel niveau il y'a une différence. Ces tests ont été réalisés à partir du logiciel SPSS version 20.0. Les degrés de liaisons entre les paramètres abiotiques analysés et les diamètres d'inhibitions des antibiotiques ont été évalués par le test de corrélation « r » de Pearson.

## Résultats et discussion

### Résultats

#### Paramètres hydrologiques

Les paramètres hydrologiques mesurés renseignent sur la section d'eau, la vitesse d'écoulement, la largeur du lit aux différentes stations du cours d'eau Olézoa (eau de surface). Il ressort que sur le cours d'eau Olézoa, la largeur du lit la plus faible enregistrée a été de 0,95 m ( $\text{O}_2$ ), la section mouillée la plus faible a été obtenue au point  $\text{O}_2$  ( $0,08 \text{ m}^2$ ) ainsi que le débit le plus faible  $0,017 \text{ m}^3/\text{s}$  (Tableau VIII). En effet ce débit varie en fonction de la section mouillée qui elle-même varie d'un point d'échantillonnage à l'autre, et est fonction de la profondeur de l'eau et de la largeur du lit. Ces résultats sont regroupés dans le tableau III suivant.

**Tableau III : Paramètres hydrologiques des stations d'échantillonnage pendant la période d'étude.**

Paramètres	Stations				
	Olézoa 1	Olézoa 2	Olézoa 3	Olézoa 4	Olézoa 5
Vitesse (m/s)	0,31	0,34	0,27	0,21	0,43
Débit ( $\text{m}^3/\text{s}$ )	0,078	0,017	0,206	0,358	0,381

### Paramètres morphométriques

Il ressort de l'analyse du profil géographique des puits considérés que l'ensemble des puits est situé à une altitude comprise entre 713 m (P4) à 739 m (P5) par rapport au niveau de la mer. La distance moyenne entre ces puits étant de 719 m.

La hauteur de colonne d'eau a varié dans l'ensemble de 1,44 à 3,92 m. La valeur la plus faible a été enregistrée au puits P1 au mois de juin

alors que la plus élevée a été enregistrée au puits P5 au mois de septembre (Figure 1).

Les valeurs des niveaux piézométriques ont fluctué entre 0 et 2,95 m. La plus faible valeur a été enregistrée aux stations P1 et P4 pendant l'ensemble de la période d'étude et valeur la plus élevée a été enregistrée à la station P5 au mois de septembre (Figure 1).

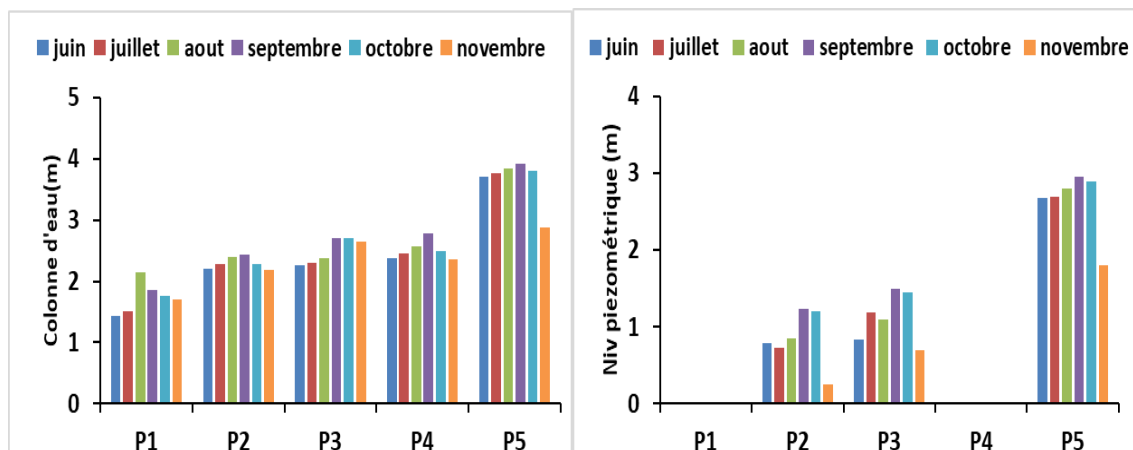


Figure 1 : Variations spatio-temporelles des paramètres morphométriques mesurés pendant la période d'étude (Colonne d'eau ; Niveau piézométrique).

## Paramètres physiques

### Pour les eaux du cours d'eau Olézoa

Les paramètres physiques considérés au cours de cette étude ont varié d'une campagne à l'autre et d'une station à l'autre. Les valeurs de température mesurées ont fluctué entre 22,2 et 29,8 °C (Figure 2-A). La valeur la plus élevée a été enregistrée à la station O3 au mois de septembre et la valeur la plus faible à la station O5 au mois d'octobre. On note toutefois une valeur moyenne de 24,73 ± 1,042 °C.

Les valeurs des matières en suspension (MES) (Figure 2-B) obtenues pendant la période d'étude

ont varié entre 0 et 75 (mg/L). La valeur la plus élevée a été obtenue à la station O2 au mois de novembre. La valeur la plus faible a été enregistrée à la station O1 au mois de juillet, septembre et novembre. Les teneurs en MES fluctuent autour d'une valeur moyenne de 21,73 ± 0,62 (mg/L).

Dans l'ensemble, les valeurs de la couleur de l'eau ont oscillé entre 0 et 567 (Pt.Co) avec une valeur moyenne de 208,43 ± 4,2 (Pt.Co) (Figure 2-C). La valeur la plus élevée a été notée à la station O4 au mois de septembre et la valeur la plus faible a été enregistrée à la station O1 aux mois de novembre.

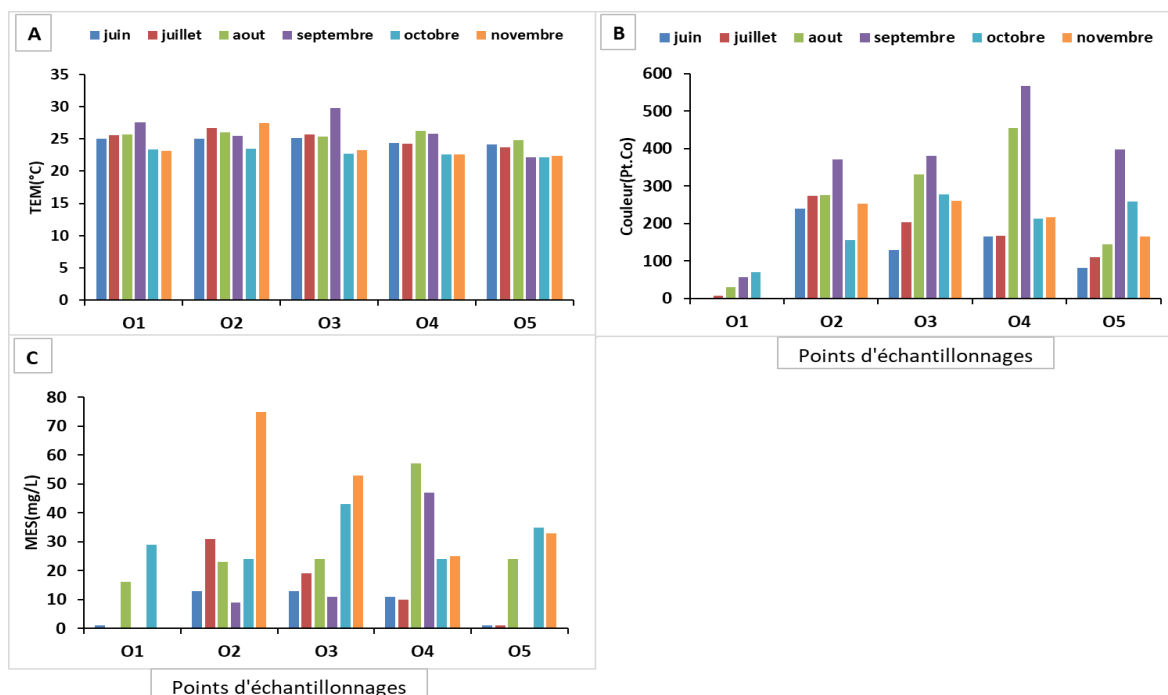


Figure 2 : Variations spatio-temporelles des paramètres physiques mesurés pendant la période d'étude au niveau du cours d'eau Olézoa (A : température ; B : couleur ; C : M.E.S).

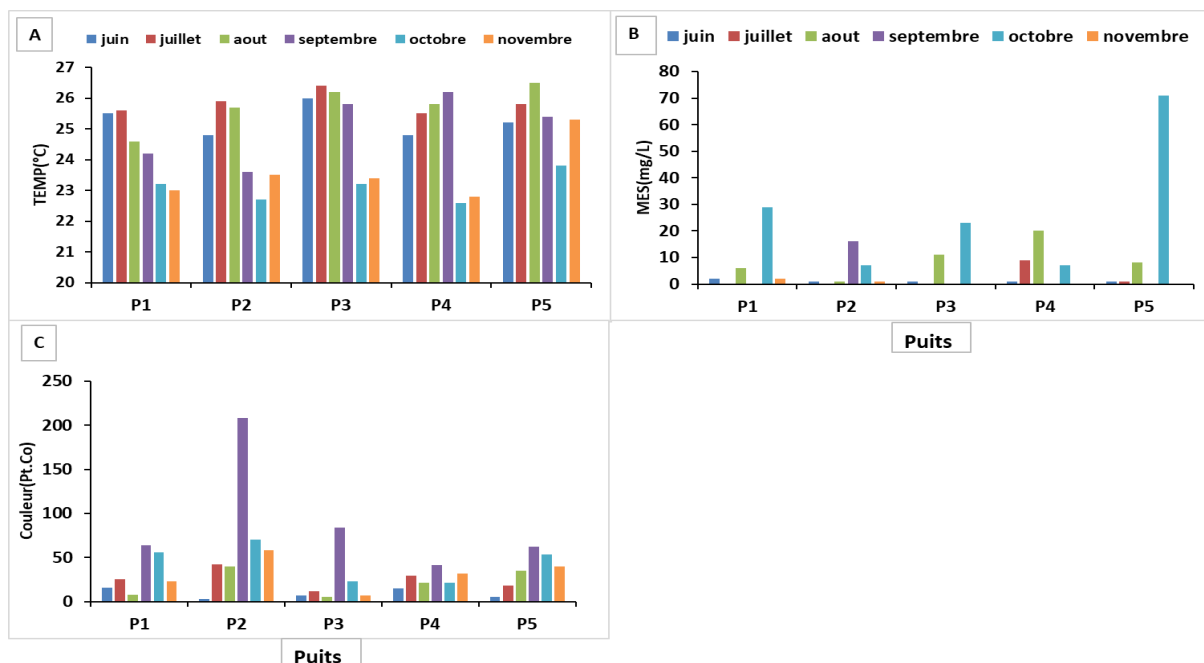
## Pour les eaux de puits du bassin versant de l'Olézoa

Les paramètres physiques considérés au cours de cette étude ont varié d'une campagne à l'autre et d'un puits à l'autre. Les valeurs de température mesurées ont fluctué entre 22,6 et 26,5 °C (figure 3-A). La valeur la plus élevée a été enregistrée à la station P5 au mois d'aout et la valeur la plus faible à la station P4 au mois d'octobre. On note toutefois une valeur moyenne de  $24,76 \pm 1,042^{\circ}\text{C}$ .

Les valeurs de MES (figure 3-B) obtenues pendant la période d'étude ont varié entre 0 et 71(mg/L). La valeur la plus élevée a été obtenue à

la station P5 au mois d'octobre. La valeur la plus faible a été enregistrée dans plusieurs stations à des mois différents. Les teneurs en MES fluctuent autour d'une valeur moyenne de  $7,26 \pm 0,62(\text{mg/L})$ .

Dans l'ensemble, les valeurs de la couleur de l'eau ont oscillé entre 0 et 208 Pt.Co avec une valeur moyenne de  $37,43 \pm 4,2 \text{ Pt.Co}$  (Figure 3-C). La valeur la plus élevée a été notée à la station P2 au mois de septembre et la valeur la plus faible a été enregistrée à la station P2 également au mois de juin.



**Figure 3 : Variations spatio-temporelles des paramètres physiques mesurés pendant la période d'étude au niveau des puits de Bonamoussadi (A : Température ; B : Couleur ; C : M.E.S).**

## Paramètres chimiques

### Pour les eaux du cours d'eau Olézoa

Les paramètres chimiques considérés tout au long de l'étude ont varié dans l'ensemble d'un point d'échantillonnage à l'autre et d'un mois à l'autre. Dans l'ensemble, les valeurs de pH ont fluctué entre 5,21 et 8,67 U.C (Figure 4-A), avec une valeur moyenne de  $6,51 \pm 1,555 \text{ U.C}$ . La valeur la plus élevée a été obtenue au niveau de la station O2 au mois de novembre et la valeur la plus faible a été obtenue au niveau de cette même station O1 mais plutôt en juin.

Les valeurs de conductivité électrique ont oscillé entre 120 et 670  $\mu\text{S/cm}$  (Figure 4-B), avec une valeur moyenne de  $315,56 \pm 232,641 \mu\text{S/cm}$ . La

valeur la plus élevée a été enregistrée à la station O2 au mois de juin et la valeur la plus faible à la station O1 au mois de septembre.

Les teneurs en oxygène dissous ont fluctué entre 0,6 et 5,3 mg/L (Figure 4-C). Elles ont atteint leur valeur maximale à la station O3 (Figure 4C) au mois d'aout et la valeur minimale a été enregistrée à la fois dans les stations O1 et O3 au mois de juillet. Une valeur moyenne de  $2,53 \pm 2,799 \text{ mg/L}$  a été notée.

Les valeurs de dioxyde de carbone ont oscillé entre 19,36 et 97,15 mg/L (Figure 4-D). La valeur la plus élevée a été enregistrée à la station O1 au mois de septembre. La plus petite valeur a été enregistrée dans la station O1 au mois d'octobre.

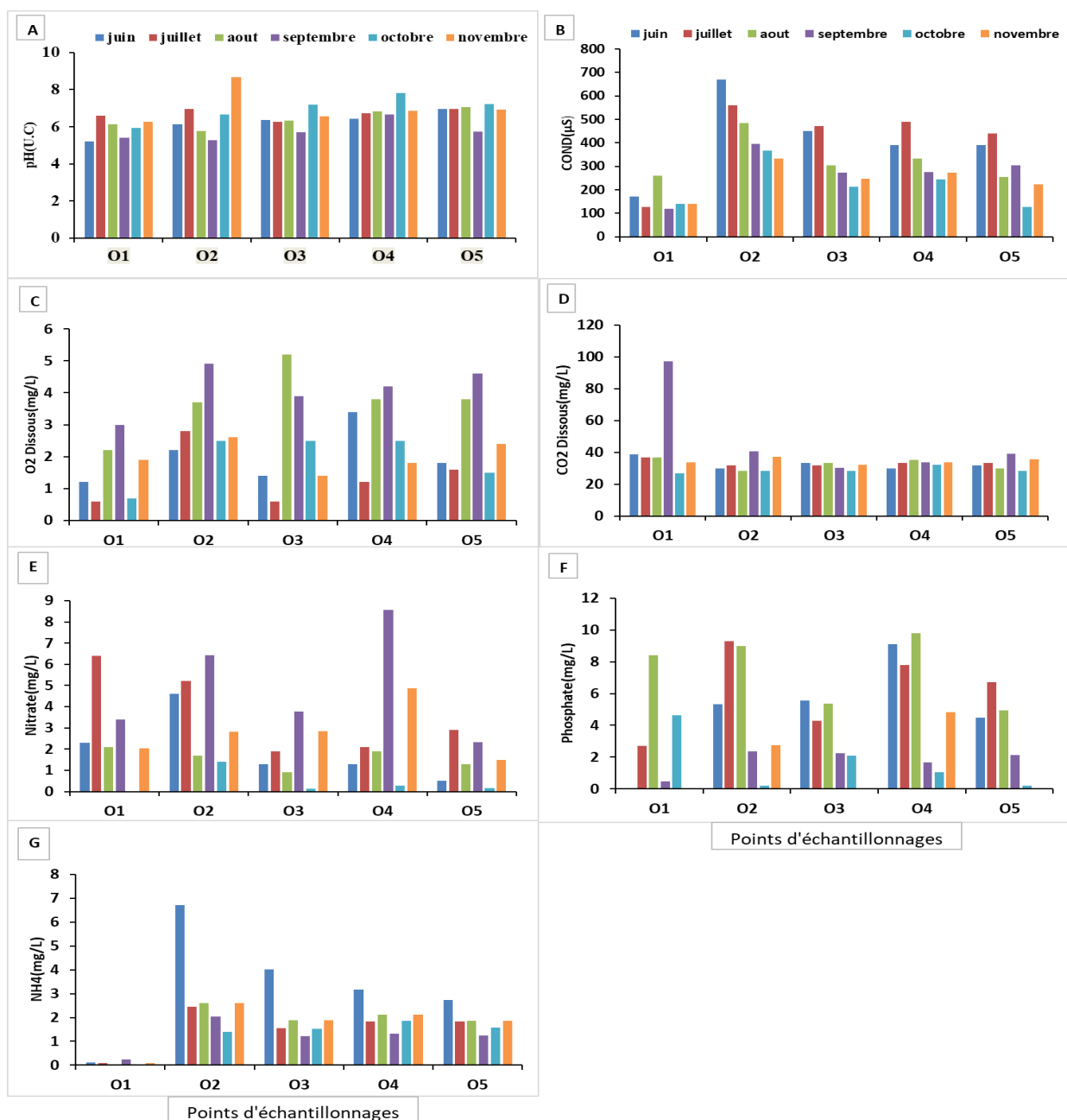
On note toutefois une valeur moyenne de  $35,082 \pm 8,019$  mg/L.

Les teneurs en nitrates présentent des variations irrégulières et ont fluctué entre 0,005 et 14 mg/L avec une valeur moyenne de  $2,564 \pm 3,029$  mg/L (Figure 4-E). La valeur la plus élevée a été atteinte au mois de septembre à la station O4 et la plus faible a été notée au mois d'octobre à la station O1.

Les teneurs de l'eau en orthophosphates présentent des variations irrégulières, avec une

valeur atteignant  $9,79$  ( $\mu\text{g/L}$ ) en février à la station O4 (figure 4-F). Elles ont été rares dans la plupart des stations d'un mois à l'autre. On note toutefois une valeur moyenne de  $3,91 \pm 2,071$  ( $\mu\text{g/L}$ ).

Les teneurs en azote ammoniacal ont oscillé entre 0 et  $6,72$  mg/L. La valeur la plus élevée a été enregistrée en juin à la station O2 (figure 4-G). La plus petite valeur a été enregistrée à la station O1 en octobre. On note toutefois une valeur moyenne de  $1,96 \pm 2,090$  mg/L.



**Figure 4 : Variations spatio-temporelles des paramètres chimiques mesurés pendant la période d'étude au niveau du cours d'eau Olézoa (A: pH; B: Conductivité électrique; C: Oxygène dissous; D: CO<sub>2</sub> dissous; E: Nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>); F: orthophosphates (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>); G: Azote ammoniacal (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)).**

### Pour les eaux de puits du bassin versant de l'Olézoa

Les paramètres chimiques considérés tout au long de l'étude ont varié d'un puits d'échantillonnage à l'autre et d'un mois à l'autre. Dans l'ensemble, les valeurs de pH ont fluctué entre 4,03 et 7,77 U.C (Figure 5-A), avec une valeur moyenne de  $6,11 \pm 1,555$  U.C. La valeur la plus élevée a été obtenue au niveau de la station P1 au mois de novembre et la valeur la plus faible a été obtenue au niveau de cette même station P1 mais plutôt en juin.

Les valeurs de conductivité électrique ont oscillé entre 36 et 930  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (Figure 5-B), avec une valeur moyenne de  $416,86 \pm 232,641$   $\mu\text{S}/\text{cm}$ . La valeur la plus élevée a été enregistrée à la station P1 au mois de juillet et la valeur la plus faible à la station P5 au mois de septembre. Les teneurs en oxygène dissous ont fluctué entre 0,6 et 5,3 mg/L (Figure 5-C). Elles ont atteint leur valeur maximale à la station P3 au mois de septembre et la valeur minimale a été enregistrée à la fois dans les stations P1 et P5 au mois de juin et juillet. Une valeur moyenne de  $1,826 \pm 2,799$  mg/L a été notée.

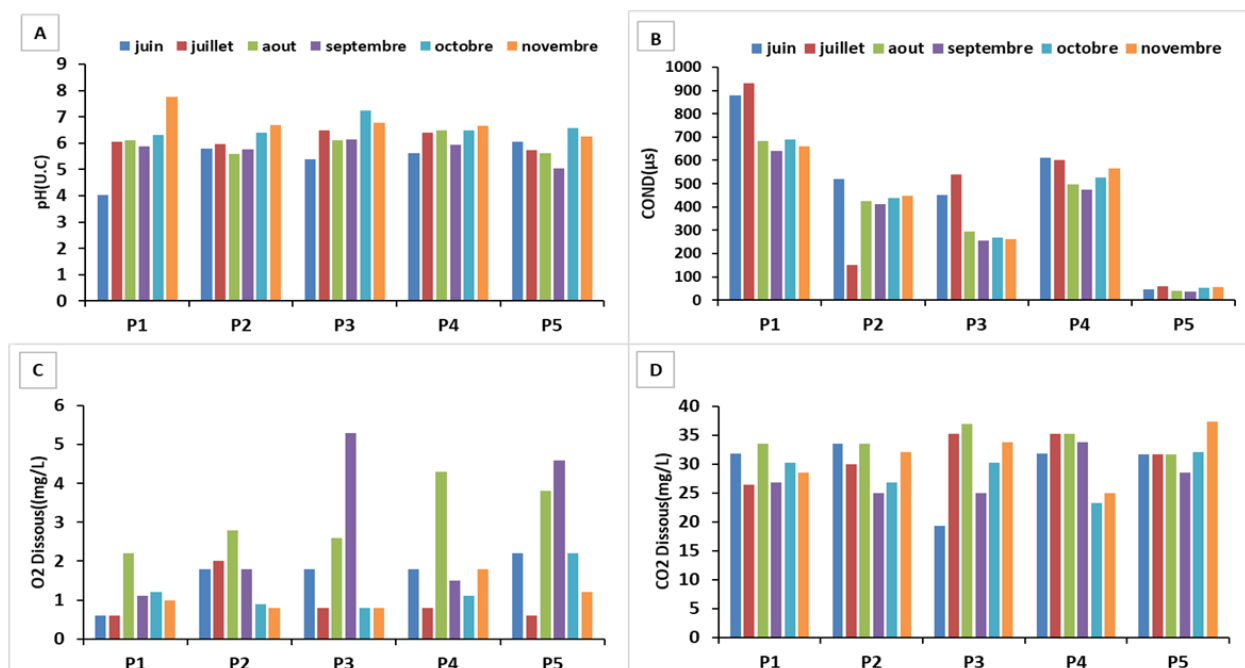
Les valeurs de dioxyde de carbone ont oscillé entre 19,36 et 37,31 mg/L (Figure 5-D). La valeur la plus élevée a été enregistrée à la station P5 au

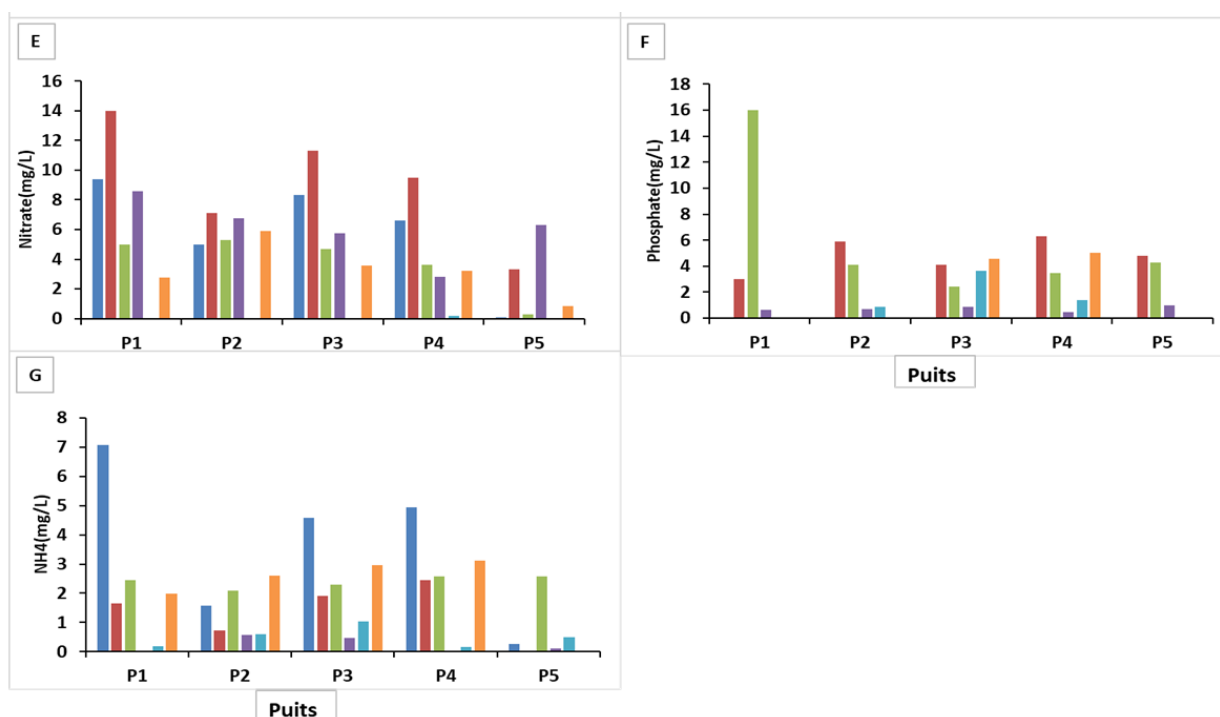
mois de novembre. La plus petite valeur a été enregistrée dans la station P3 au mois de juin. On note toutefois une valeur moyenne de  $30,391 \pm 8,019$  mg/L.

Les teneurs en nitrates présentent des variations irrégulières et ont fluctué entre 0 et 14 mg/L avec une valeur moyenne de  $4,67 \pm 3,029$  mg/L (Figure 5-E). La valeur la plus élevée a été atteinte au mois de juillet à la station P1 et la plus faible a été notée au mois d'octobre à la station P1, P2, P3 et P5.

Les teneurs de l'eau en orthophosphates présentent des variations irrégulières, et ont fluctué entre 0 et 16,01 ( $\mu\text{g}/\text{L}$ ). La valeur la plus élevée a été enregistrée à la station P1 au mois d'août. La plus petite valeur a été enregistrée dans plusieurs stations (figure 5-F). Elles ont été rares dans la plupart des stations d'un mois à l'autre. On note toutefois une valeur moyenne de  $2,45 \pm 2,071$  ( $\mu\text{g}/\text{L}$ ).

Les teneurs en azote ammoniacal ont oscillé entre 0 et 7,08 mg/L. La valeur la plus élevée a été enregistrée en juin à la station P1 au mois de juin (figure 5-G). La plus petite valeur a été enregistrée dans les stations P1 et P4 en septembre. On note toutefois une valeur moyenne de  $1,716 \pm 2,090$  mg/L.





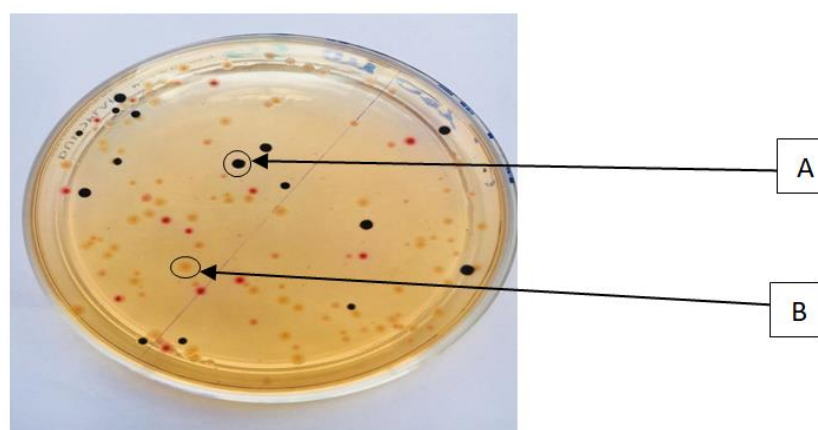
**Figure 5: Variations spatio-temporelles des paramètres chimiques mesurés pendant la période d'étude au niveau des Puits de Bonamoussadi (A: pH ; B : Conductivité électrique ; C : Oxygène dissous; D : CO<sub>2</sub> dissous ; E: Nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ; F: orthophosphates (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) ; G: Azote ammoniacal (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)).**

## Paramètres bactériologiques

### ➤ Analyse qualitative

L'examen des colonies bactériennes a montré différents types de colonies. Sur milieu gélose SS (Salmonella-Shigella), des colonies incolores à centres noirs, des colonies incolores sans centre

noir et rosâtres de tailles variables ont été observées. Les colonies présumptives de *Salmonella* étaient les colonies incolores à centre noir, et celles présumptives de *Shigella* avaient pour caractères cultureux les colonies incolores sans centre noir (Figure 6).



**Figure 6 : A : Photographie des colonies de *Salmonella typhi* ; B : photographie des colonies du genre *Shigella*. Photo auteurs.**

## Identification des germes

Les différents tests d'identification réalisés sur les colonies transparentes à centre noir ont montré

des colonies à Gram<sup>-</sup>, possédant l'enzyme catalase, mobile et fermentant le glucose qui correspondent à *Salmonella typhi*. De même, les colonies ne présentant pas de centre noir et dont la

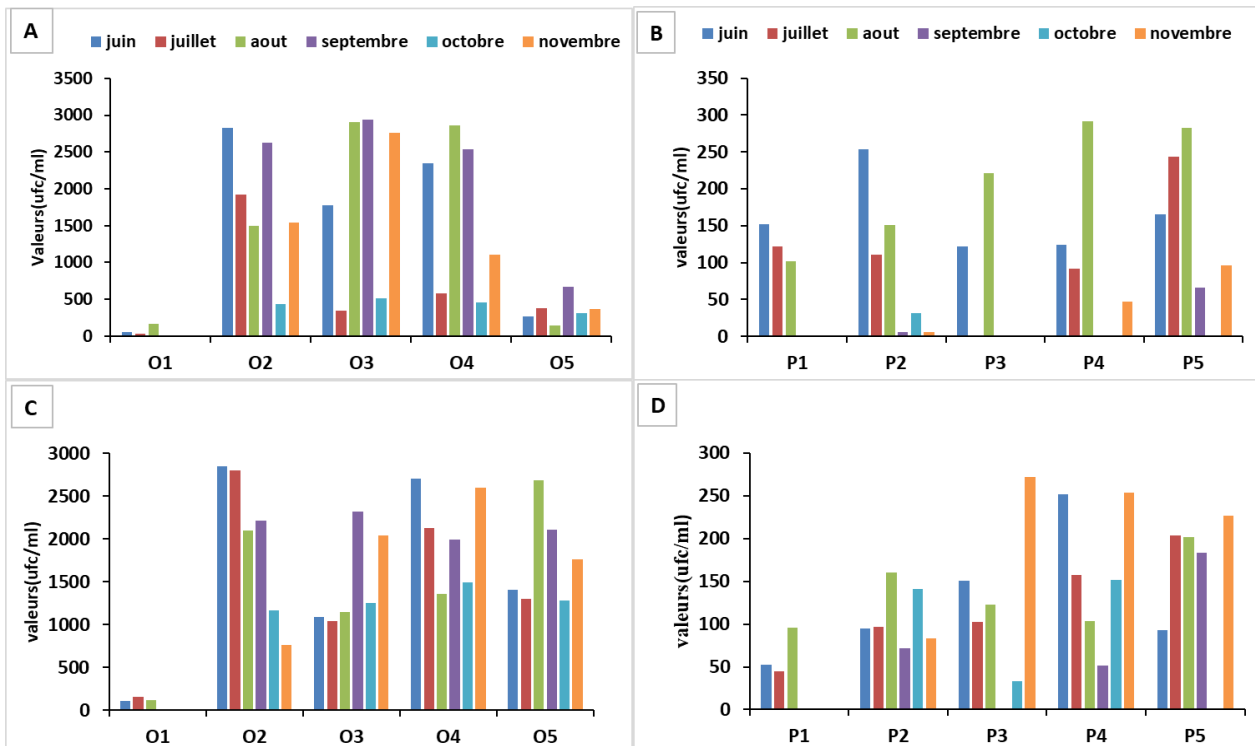
plupart des tests réalisés sont négatifs sont celles de *Shigella dysenteriae*. Les autres colonies à l'instar des *Proteus* isolées dans la boîte de pétri contenant le milieu SS n'ont pas été considérées dans l'étude car ne faisant pas partie des germes recherchés.

### Variation spatiotemporelle des abondances à chaque période d'échantillonnage

Les germes isolés sur le milieu SS et identifiés dans les sites étudiés, ont fait l'objet des analyses quantitatives. En générale, les salmonelles et shigelles ont été présentes durant toute la période d'étude. Les densités des colonies de *Salmonella* ont varié pendant la période d'étude en fonction du site et du mois d'échantillonnage. La valeur la plus élevée (2940 UFC/mL d'eau), a été enregistrée à la station O3 (Figure 7-A) au mois de septembre. La plus petite valeur (0 UFC/mL d'eau) a toutefois été obtenu dans les stations P1, P3, P4, P5 et O1 à des mois différents (Figure 7-

B).

Pour ce qui est de *Shigella*, les densités des colonies ont également varié pendant la période d'étude en fonction du site et du mois d'échantillonnage. La valeur la plus élevée (2853UFC/mL d'eau) a été obtenue à la station O2 (Figure 7-C) au mois de juin. Et cette espèce a parfois été rare (0UFC/mL d'eau) pendant la période d'étude à la station O1 mais également dans les stations P1, P3 et P5 à des mois différents (Figure 7-D). De façon saisonnière, au niveau du cours d'eau Olézoa, les abondances de shigelles sont plus élevées que celles des salmonelles que ce soit pendant la petite saison sèche (PSS) ou pendant la grande saison pluvieuse (GSP) (Figure 7-E). Par contre, au niveau des puits du bassin versant de l'Olézoa, les shigelles sont plus abondantes que les salmonelles uniquement durant la grande saison de pluie (Figure 7-F).



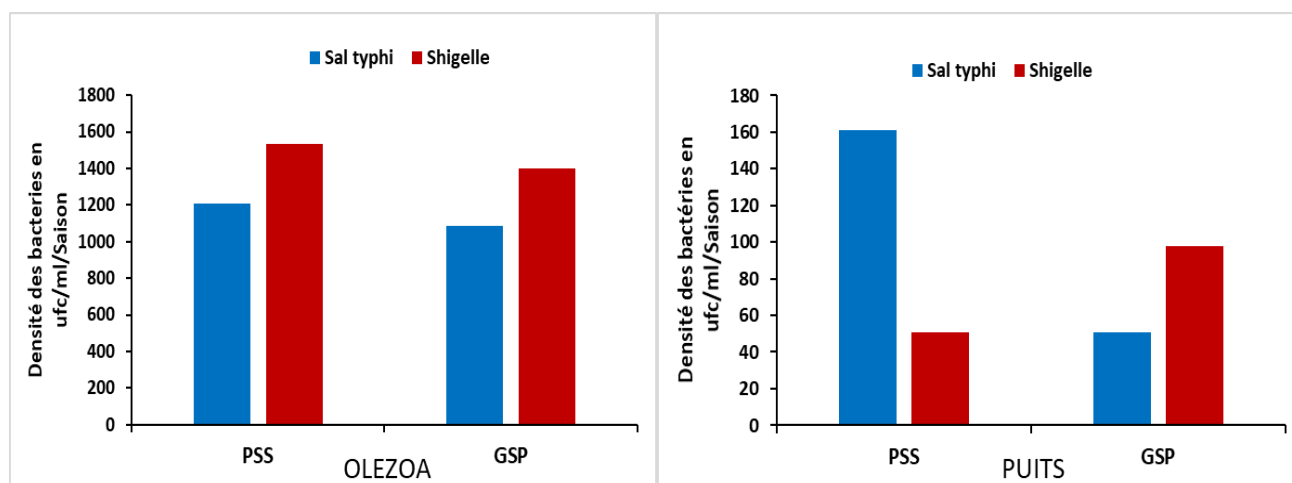


Figure 7 : Variations spatio-temporelles (*Salmonella* : A, B ; *Shigella* : C, D) et saisonnières (E, F) des abondances des bactéries isolées pendant la période d'étude au niveau du cours d'eau Olézoa.

### Comportement des germes aux antibiotiques à chaque saison d'étude

Le tableau IV montre des fréquences absolues de sensibilité/résistance de *Shigella dysenteriae* et *Salmonella typhi* aux antibiotiques. Il ressort dans l'ensemble que *Salmonella typhi* est sensible (80%) pendant la GSP. Le même résultat a été obtenu avec *Shigella dysenteriae* (53,75%). Pendant la PSS, les deux bactéries sont plus

résistantes aux antibiotiques avec des taux de résistance de l'ordre de 65% et 56,25% pour *Salmonella typhi* et *Shigella dysenteriae* respectivement. Lorsque l'on considère, l'ensemble des germes, on note une multirésistance à tous les antibiotiques à des pourcentages pouvant atteindre 57,5% avec l'Amoxicilline (AX 30) (Tableau V).

Tableau IV: pourcentage de sensibilité/ résistance des différentes souches isolées en fonction de la saison.

Espèces isolées	Saisons	Résistante (%)	Sensible (%)	Intermédiaire (%)
<i>Salmonella typhi</i>	GSP	12,5	80	7,5
	PSS	65	28,75	6,25
<i>Shigella dysenteriae</i>	GSP	40	53,75	6,25
	PSS	56,25	38,75	5

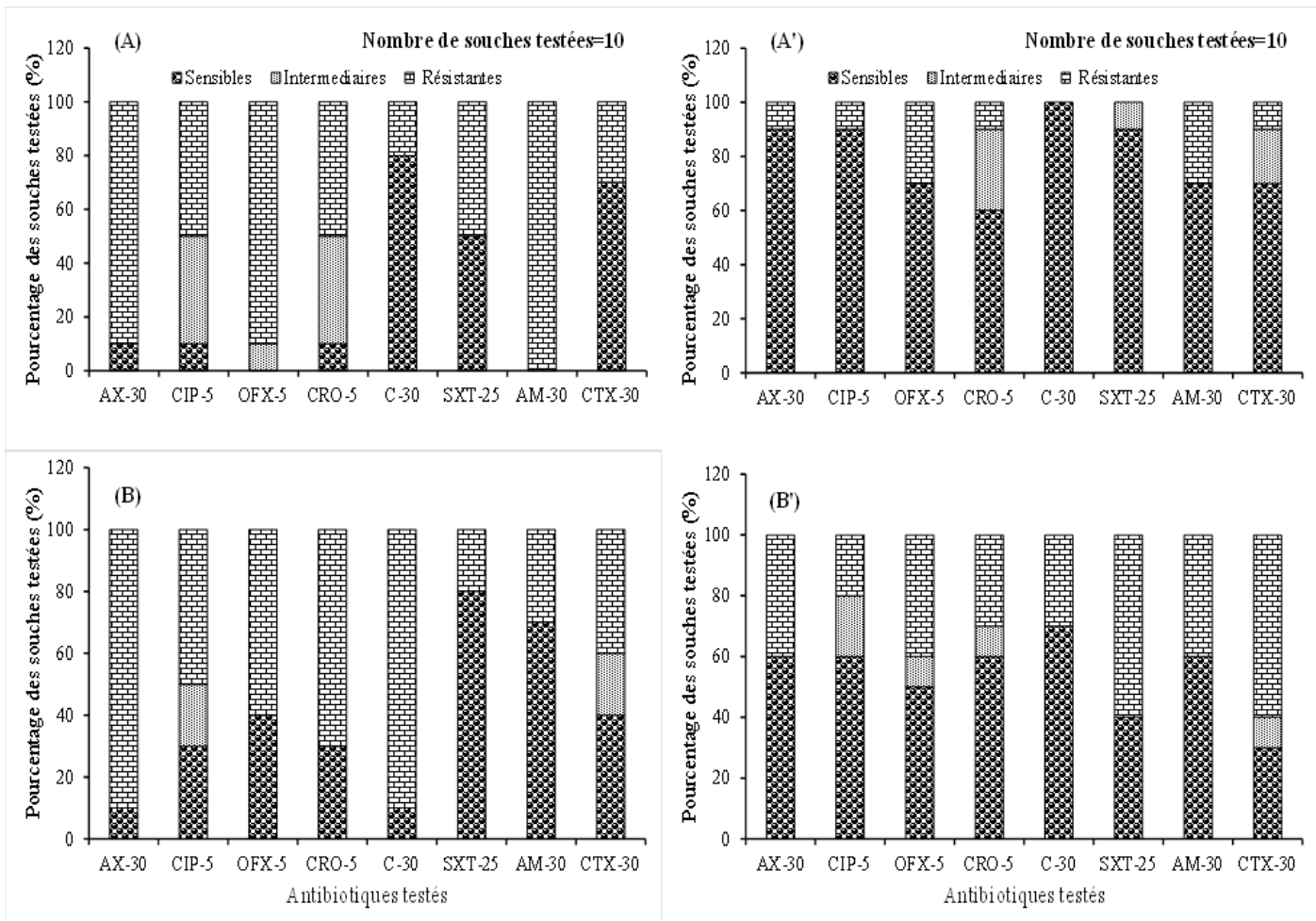
Tableau V : pourcentage de sensibilité/ résistance des différentes souches isolées aux différents antibiotiques utilisées.

Antibiotiques	AX-30	CIP-5	OFX-5	CRO-5	C-30	SXT-25	AM-30	CTX-30
Résistance (%)	57,5	32,5	55	40	35	32,5	50	35
Sensibilité (%)	42,5	47,5	40	40	65	65	50	52,5
Intermédiaire (%)	0	20	5	20	0	2,5	0	12,5

### Comportement des germes à chaque antibiotique en fonction des saisons

Dans l'ensemble il a été noté qu'en fonction de l'antibiotique considéré, *Salmonella typhi* et *Shigella dysenteriae* peut passer d'une saison à l'autre de la sensibilité à l'intermédiaire puis à la

résistance progressivement ou de la sensibilité à la résistance ou encore rester résistante à toutes les saisons (Figure 8). La résistance de *Salmonella typhi* à l'antibiotique ampicilline (AM-30) a par exemple été observée à toutes les saisons.



**Figure 8: Distribution des pourcentages de résistance aux antibiotiques de *Salmonella* (A, A') et de *Shigella* (B, B') au cours des saisons sèche et de pluies respectivement.**

**Corrélations entre variables bactériologiques, physico-chimiques et morphométriques des différents puits étudiés**

Une corrélation très significative ( $P < 0,01$ ) et négative a été observée entre les densités de *Salmonella typhi*, de *Shigella dysenteriae* et le débit du cours d'eau. Les coefficients de corrélations obtenues étaient  $r = -0,644$  et  $r = -0,599$  respectivement. Et également entre les densités de *Salmonella typhi* et le pH. (Tableau VI).

On note toutefois une corrélation très significative ( $P < 0,01$ ) et positive a été observée entre la densité de *Salmonella typhi* et la température (Tableau VI). D'autre part, une corrélation significative ( $P < 0,05$ ) et positive

a été observée entre la densité de *Shigella* et  $NH_4^+$ . De même une corrélation significative ( $P < 0,05$ ) et négative a été observée entre la densité de *Salmonella typhi* et *Shigella dysenteriae* avec le paramètre couleur (Tableau VI).

Une corrélation très significative ( $P < 0,01$ ) et négative a été notée entre la colonne d'eau, le niveau piézométrique et la conductivité, et d'autre part une corrélation significative ( $P < 0,01$ ) et positive a été observée entre la hauteur de la colonne d'eau et l' $O_2$  dissous. De même une corrélation significative ( $P < 0,01$ ) et négative a été observée entre la colonne d'eau et la teneur en nitrate (Tableau VI).

**Tableau VI: Corrélations entre variables bactériologiques, physico-chimiques et morphométriques des différents puits étudiés.**

Variables	Variables bactériologiques	Variables morphométriques
-----------	----------------------------	---------------------------

physico-chimiques	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Shigella sp</i>	Niveau piézométrique	Colonne d'eau
pH	<b>-0,528**</b>	-0,297	-0,048	0,101
Conductivité	-0,182	-0,139	<b>-0,890**</b>	<b>-0,710**</b>
Température	<b>0,497**</b>	0,285	0,139	0,178
O <sub>2</sub> dissous	0,332	0,309	0,166	<b>0,383*</b>
CO <sub>2</sub> dissous	0,234	0,243	0,064	0,267
Couleur	<b>-0,418*</b>	<b>-0,405*</b>	0,110	-0,095
M.E.S.	0,077	-0,087	-0,053	0,000
Nitrate	0,156	0,098	-0,290	<b>-0,390*</b>
Phosphate	0,094	0,352	-0,033	0,203
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,315	<b>0,416*</b>	-0,287	-0,140

\* : P < 0,05    \*\* : P < 0,01 P= degré de significativité

### Corrélations entre les diamètres d'inhibitions de *Salmonella typhi* et les paramètres physico-chimiques

#### Dans le cours d'eau l'Olézoa

Il a été observé que certains paramètres influencent très négativement la résistance de *Salmonella typhi* aux antibiotiques. Parmi ces paramètres l'on peut citer la conductivité, la température entre autres (Tableau VII). En effet, l'augmentation de ces deux paramètres entraîne une diminution de la résistance de *Salmonella typhi* aux antibiotiques. Les

tests de corrélation au niveau du cours d'eau (Olézoa) montrent des corrélations très

significatives (P<0,01) et négatives entre les diamètres d'inhibitions de la Ceftriaxone, la conductivité, la température, la teneur en CO<sub>2</sub> dissous, la couleur, le phosphate et l'azote ammoniacale; entre la Ciprofloxacine, l'Ofloxacine, le Chloramphénicol, la conductivité, le phosphate et l'azote ammoniacal; entre le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, la conductivité et la température; entre l'Amoxicilline, la conductivité et le phosphate. On note également des corrélations significatives (P < 0,05) et négatives entre la Céfotaxime, la conductivité, la température et la couleur; entre l'Ampicilline et la température.

Tableau VII: Coefficients de corrélations entre les diamètres d'inhibitions de *Salmonella typhi* et les paramètres physico-chimiques dans l'Olézoa.

Variables Abiotiques	ANTIBIOTIQUES							
	AX-30	CIP-5	OFX-5	CRO-5	C-30	SXT-25	AM-30	CTX-30
pH	0,098	-0,093	-0,129	-0,077	-0,236	0,191	0,042	-0,063
Conductivité	-0,305	-	-	-	-	<b>-0,405*</b>	-	<b>-0,395*</b>
Température	<b>-0,381*</b>	-0,253	-0,210	<b>-0,383*</b>	-0,307	-	-0,309	<b>-0,362*</b>
O <sub>2</sub> dissous	0,314	0,160	0,117	-0,237	-0,074	0,179	0,057	-0,127
CO <sub>2</sub> dissous	0,100	0,239	0,276	<b>0,384*</b>	0,225	0,087	0,087	0,105
Couleur	0,107	-0,016	0,003	<b>-0,423*</b>	-0,125	0,214	0,340	<b>-0,434*</b>

<b>M.E.S.</b>	0,117	0,075	0,128	-0,219	-0,085	0,165	0,287	-0,352
<b>Nitrate</b>	-0,047	0,089	0,100	-0,020	-0,115	-0,116	0,079	-0,353
<b>Phosphate</b>	<b>-0,400*</b>	- <b>0,659**</b>	- <b>0,626**</b>	- <b>0,559**</b>	- <b>0,736**</b>	-0,340	<b>-0,434*</b>	-0,095
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	-0,147	- <b>0,466**</b>	- <b>0,482**</b>	- <b>0,725**</b>	- <b>0,638**</b>	-0,206	-0,304	-0,350

\* : P < 0,05    \*\* : P < 0,01 P= degré de significativité

#### Dans les puits du bassin versant de l'Olézoa

Il a été observé que certains paramètres influencent très négativement mais aussi très positivement la résistance de *Salmonella typhi* aux antibiotiques. Parmi ces paramètres l'on peut citer la température et les nitrates qui influencent négativement mais également la couleur qui influence plutôt positivement (Tableau VIII). En effet, l'augmentation de ces deux paramètres entraîne une diminution de la résistance de *Salmonella typhi* aux antibiotiques ce qui n'est pas le cas avec la couleur qui lui augmente plutôt la résistance aux antibiotiques. Les tests de corrélation au niveau des puits montrent des corrélations très significatives (P<0,01) et négatives entre les diamètres d'inhibitions de

l'Ampicilline, de l'Amoxicilline, du Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, la température et le nitrate; entre l'Ofloxacin et la conductivité. On note également des corrélations significatives (P < 0,05) et négatives entre la Ciprofloxacine, le nitrate et le phosphate; entre l'Ampicilline, le Chloramphénicol, l'Amoxicilline et l'azote ammoniacale; entre la Ceftriaxone et la température. Nous observons aussi des corrélations très significatives (P<0,01) et positives entre les diamètres d'inhibitions de l'Ampicilline, de la Ciprofloxacine, de l'Amoxicilline et la couleur. Aussi, des corrélations significatives (P<0,05) et positives entre les diamètres d'inhibitions de la Ceftriaxone, le pH et la couleur ont été observées.

**Tableau VIII : Coefficients de corrélations entre les diamètres d'inhibitions de *Salmonella typhi* et les paramètres physico-chimiques dans les puits.**

Variables Abiotiques	ANTIBIOTIQUES							
	AX-30	CIP-5	OFX-5	CRO-5	C-30	SXT-25	AM-30	CTX-30
<b>pH</b>	<b>0,407*</b>	0,072	0,265	<b>0,427*</b>	0,326	<b>0,374*</b>	0,313	0,126
<b>Conductivité</b>	-0,180	0,327	- <b>0,590**</b>	-0,310	-0,195	-0,144	-0,096	-0,171
<b>Température</b>	- <b>0,522*</b>	-0,257	-0,192	<b>-0,376*</b>	-0,342	- <b>0,471**</b>	- <b>0,554**</b>	-0,014
<b>O<sub>2</sub> dissous</b>	-0,028	0,015	0,037	0,152	-0,070	-0,085	-0,085	-0,076
<b>CO<sub>2</sub> dissous</b>	-0,218	-0,136	-0,088	-0,228	-0,149	-0,355	-0,318	-0,245
<b>Couleur</b>	<b>0,541*</b>	<b>0,470**</b>	0,333	<b>0,400*</b>	0,357	0,358	<b>0,555**</b>	-0,041
<b>M.E.S</b>	0,017	0,087	-0,084	0,090	-0,058	-0,100	0,070	-0,051
<b>Nitrate</b>	- <b>0,471*</b>	<b>-0,397*</b>	-0,263	-0,326	-0,291	- <b>0,588**</b>	- <b>0,502**</b>	-0,344
<b>Phosphate</b>	-0,207	<b>-0,375*</b>	-0,216	-0,215	-0,285	-0,088	-0,212	-0,116
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	- <b>0,410*</b>	- <b>0,516**</b>	-0,328	-0,250	<b>-0,384*</b>	- <b>0,500**</b>	<b>-0,432*</b>	-0,351

\* : P < 0,05    \*\* : P < 0,01 P= degré de significativité

### Corrélations entre les diamètres d'inhibitions de *Shigella dysenteriae* et les paramètres physico-chimiques

#### Dans le cours d'eau l'Olézoa

Il a été observé que certains paramètres influencent très négativement la résistance de *Shigella dysenteriae* aux antibiotiques. Parmi ces paramètres l'on peut citer la température (Tableau IX). En effet, l'augmentation de ce de paramètre entraine une diminution de la résistance de *Shigella dysenteriae* aux antibiotiques.

Les tests de corrélation au niveau du cours d'eau

(Olézoa) montrent des corrélations très significatives ( $P < 0,01$ ) et négatives entre les diamètres d'inhibitions de la Ciprofloxacine, du Chloramphénicol et la température. On note également des corrélations significatives ( $P < 0,05$ ) et négatives entre l'Ofloxacine, l'Ampicilline, la Ceftriaxone et la température; entre le Chloramphénicol, la Céfotaxime et la conductivité. On observe aussi une corrélation très significative ( $P < 0,01$ ) et positive entre les diamètres d'inhibitions de la Céfotaxime et le phosphate.

**Tableau IX: Coefficients de corrélations entre les diamètres d'inhibitions de *Shigella dysenteriae* et les paramètres physico-chimiques dans l'Olézoa.**

Variables Abiotiques	ANTIBIOTIQUES							
	AX-30	CIP-5	OFX-5	CRO-5	C-30	SXT-25	AM-30	CTX-30
pH	0,110	0,213	0,020	0,033	0,184	-0,237	0,230	-0,112
Conductivité	-0,084	-0,298	-0,276	-0,245	<b>-0,377*</b>	0,238	-0,313	<b>-0,435*</b>
Température	-0,172	<b>-0,502**</b>	<b>-0,379*</b>	<b>-0,375*</b>	<b>-0,476**</b>	0,233	<b>-0,446*</b>	0,219
O <sub>2</sub> dissous	0,073	0,050	0,109	0,082	0,015	0,064	-0,018	-0,061
CO <sub>2</sub> dissous	-0,209	0,116	0,160	-0,095	0,194	-0,187	0,085	-0,117
Couleur	-0,169	0,123	0,088	0,132	-0,120	-0,254	-0,173	0,153
M.E.S	-0,086	0,113	0,066	0,099	-0,045	-0,226	-0,103	0,025
Nitrate	-0,273	-0,308	-0,328	-0,065	-0,216	-0,248	0,002	0,024
Phosphate	0,027	-0,241	-0,235	-0,280	-0,168	<b>0,432*</b>	0,220	<b>0,500**</b>
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,011	-0,103	-0,156	-0,073	-0,208	0,129	-0,160	0,343

\* :  $P < 0,05$  \*\* :  $P < 0,01$  P= degré de significativité

#### Dans les puits du bassin versant de l'Olézoa

Il a été observé que certains paramètres influencent très négativement la résistance de *Shigella dysenteriae* aux antibiotiques. Parmi ces paramètres l'on peut citer la conductivité, les nitrates entre autres (Tableau X). En effet, l'augmentation de ces deux paramètres entraine une diminution de la résistance de *Shigella dysenteriae* aux antibiotiques.

Les tests de corrélation au niveau des puits montrent des corrélations très significatives ( $P < 0,01$ ) et négatives entre les diamètres

d'inhibitions de l'Ampicilline, la conductivité, le nitrate et l'azote ammoniacale; entre la Ciprofloxacine, la conductivité et le nitrate ; Entre la Ceftriaxone, le Chloramphénicol, Triméthoprim/Sulfaméthoxazole et la conductivité. On observe aussi des corrélations significatives ( $P < 0,05$ ) et positives entre les diamètres d'inhibitions de l'Ampicilline et la couleur; entre le Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, l'oxygène dissous et le dioxyde de carbone dissous; entre l'Amoxicilline et la température.

**Tableau X: Coefficients de corrélations entre les diamètres d'inhibitions de *Shigella dysenteriae* et les paramètres physico-chimiques dans l'Olézoa.**

Variables Abiotiques	ANTIBIOTIQUES							
	AX-30	CIP-5	OFX-5	CRO-5	C-30	SXT-25	AM-30	CTX-30
pH	0,303	0,157	0,316	0,046	0,184	-0,129	<b>-0,374*</b>	0,300
Conductivité	- <b>0,654**</b>	- <b>0,544**</b>	-0,040	- <b>0,679**</b>	- <b>0,724**</b>	- <b>0,465**</b>	-0,169	-0,186
Température	-0,297	-0,168	-0,216	-0,223	-0,183	-0,321	<b>0,413*</b>	0,088
O <sub>2</sub> dissous	0,105	0,071	-0,216	-0,049	0,166	<b>0,378*</b>	0,063	0,118
CO <sub>2</sub> dissous	-0,118	-0,079	-0,269	0,089	-0,016	<b>0,395*</b>	0,099	0,111
Couleur	<b>0,384*</b>	0,214	0,054	0,068	0,358	-0,061	-0,303	-0,121
M.E.S	0,052	0,023	0,135	0,050	-0,133	0,006	-0,103	-0,131
Nitrate	- <b>0,595**</b>	- <b>0,548**</b>	-0,276	0,233	-0,347	0,143	0,323	-0,105
Phosphate	-0,071	0,002	0,035	-0,021	0,010	0,012	0,127	-0,005
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	- <b>0,468**</b>	-0,359	-0,042	0,128	-0,268	0,071	0,228	-0,102

\* : P &lt; 0,05 \*\* : P &lt; 0,01 P= degré de significativité

Comparaison entre différentes variables pendant la période d'étude

La comparaison entre les variables physicochimiques et microbiologiques pendant la durée d'étude a été effectuée à l'aide du test H de Kruskal-Wallis. De ce test, il ressort que l'ensemble des variables physico-chimiques et les

densités de *Shigella dysenteriae* diffèrent significativement pendant la période d'échantillonnage ( $p < 0,05$ ) à l'exception de la teneur en Nitrate, la conductivité électrique, le CO<sub>2</sub>, la couleur et de même que les densités de *Salmonella typhi* (Tableau XI).

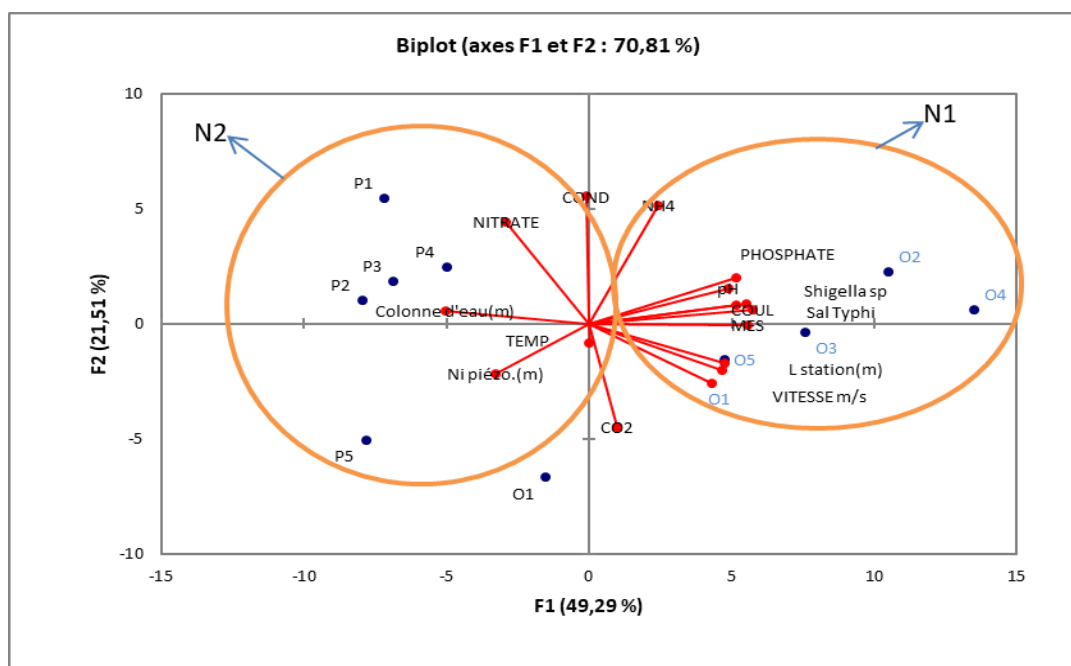
**Tableau XI: Valeurs de P indiquant les seuils de significativité relatifs au test H de comparaison de Kruskal-Wallis entre les paramètres physico-chimiques, les abondances bactériennes et les mois d'échantillonnage.**

	Variables physico-chimiques						
	pH	Conductivité	Température	O <sub>2</sub> dissous	CO <sub>2</sub> dissous	Couleur	M.E.S.
<b>Olézoa</b>	0,006*	0,094	0,254	0,035*	0,002	0,583	0,062
<b>Puits</b>	0,0002*	0,913	0,028*	0,009*	0,073	0,530	0,009*

#### Affinités entre paramètres physicochimiques, hydrologiques et biologiques (ACP)

L'ACP appliqué aux différentes variables biologiques, physico-chimiques et hydrologiques montre un regroupement des paramètres en deux noyaux (Figure 9). Le noyau 1 (N1) comprend les stations O1, O2, O3, O4, O5 dans lesquelles les

*Salmonella* et *Shigella* entretiennent de fortes corrélations avec l'azote ammoniacale, les MES, la couleur, le phosphate, le pH, la vitesse et la largeur de la station. Dans le noyau (N2) englobant les stations P1, P2, P3 et P4 on observe une affinité observée entre la température, les nitrates, la colonne d'eau et niveau piézométrique.



**Figure 9: valeurs de l'ACP regroupant les affinités entre les abondances bactériennes et les paramètres physicochimiques et hydrologiques.**

## Discussion

### Paramètres hydrologiques et morphométriques

L'irrégularité des vitesses d'écoulement des eaux de l'amont vers l'aval (Tableau III) serait due aux différents degrés d'inclinaison de la pente du lit du cours d'eau. Hebert et Légaré (2001) soulignent que lorsque la pente d'un cours d'eau s'adoucit, l'eau ralentit sa course. L'augmentation du débit de l'eau d'amont en aval observées pourrait s'expliquer par des apports d'eau latéraux des différents affluents, et d'eau de pluies. Levêque et Balian (2005) sont d'avis à ce propos qu'en recevant des petits tributaires, la section mouillée est appelée à s'accroître.

La mesure de la hauteur de la colonne d'eau qui fluctue entre 151 et 387 cm, permet de suivre la variation du niveau piézométrique. Ces fluctuations pourraient être dues à la fréquence d'utilisation de ces eaux par les populations locales, et à la saisonnalité. Ce qui rejoint les résultats de Nola (2005), qui dit que l'augmentation du niveau piézométrique entraîne la diminution de la hauteur de la colonne d'eau qui est restaurée avec un certain retard dans le temps, par infiltration des eaux de la nappe.

### Paramètres physico-chimiques

Les résultats de ce travail montrent que la température des eaux prélevées au niveau du cours d'eau et des puits varie très peu durant toute

la période d'étude avec une moyenne de  $24,74 \pm 1,042$  °C compatible avec l'activité des organismes du milieu. Cette faible variation thermique enregistrée au cours de la période d'étude tout d'abord au niveau de l'Olézoa pourrait être due aux saisons traversées (saison de sèche et saison de pluie) ou à l'influence de l'ensoleillement car les rayons solaires parviennent directement à la surface de l'eau. En effet, les variations thermiques des milieux lotiques dépendent fortement de la température ambiante (Dajoz (1985) et Liechti (2004). Au niveau des puits échantillonnés, la faible variation thermique pourrait s'expliquer par la faible conductivité du sol (Aït Boughrous, 2007) d'où la stabilité thermique de ces eaux. Ces données de température obtenues au cours de la période d'étude sont proches de celles obtenues par Banga Medjo, (2011); Ntsama *et al.*, (2017) et Noah Ewoti *et al.*, (2021b).

Les valeurs de MES et de la couleur sont plus élevées dans les eaux superficielles ( $21,73 \pm 0,62$  mg/L;  $208,43 \pm 4,2$  Pt.Co) que dans les eaux souterraines ( $7,26 \pm 0,62$  mg/L;  $37,43 \pm 2,4$  Pt.Co). Ces valeurs seraient dues aux eaux usées riches en matières organiques qui s'y déversent. D'après Rodier *et al.*, (2009), les eaux sont d'autant plus turbides et colorées que la densité des particules en suspension est forte. Elles sont fonction de la nature des terrains traversés, de la

saison, de la pluviométrie et des rejets. Cependant, au niveau des puits, des valeurs supérieures aux normes de qualité de l'eau potable ont été observées ; celles-ci peuvent se justifier par la pollution organique associée au mauvais état de protection de ces puits (absence de couvercle).

Le pH d'une eau représente son acidité ou son alcalinité et est lié à la nature des terrains traversés (Nola *et al.*, 1999 ; Rodier *et al.*, 2009 ; Temgoua *et al.*, 2003). Celui des eaux analysées oscille autour de  $6,31 \pm 1,555$  U.C et traduirait un glissement d'une tendance acide des eaux vers la neutralité et parfois la basicité. Cette acidité est légèrement prononcée dans les eaux souterraines (6,11 UC) que dans celles superficielles (6,51 U.C) et résulterait du contact direct et du lessivage des sols traversés (Nola *et al.*, 2002 ; Zébazé Togouet *et al.*, 2011).

La quantité d'O<sub>2</sub> dissous dans les eaux étudiées est intimement liée à la capacité d'un milieu aquatique à supporter la vie des organismes aérobies. Santosh *et al.* (2008) à ce propos suggèrent que la valeur optimale en oxygène dissous pour une eau de bonne qualité se situerait entre 4 et 6 mg/l, en deçà l'eau est de qualité médiocre, voire fortement polluée. Ce qui montre que les eaux superficielles (2,53 mg/L) analysées ont une mauvaise oxygénation de même que les eaux souterraines (1,826 mg/L).

Les valeurs moyennes de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ( $3,602 \pm 3,029$  mg/L de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) restent très faibles par rapport aux normes de l'OMS (2011) qui recommandent 50 mg/L d'ions nitrates pour les eaux de consommation. Par contre, on observe une pollution par le NH<sub>4</sub><sup>+</sup> dont la moyenne ( $1,835 \pm 2,090$  mg/L de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) reste supérieure à la norme (0,2 mg/L de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (OMS 2011). Cela serait dû à une forte concentration des eaux en matière organique en décomposition le long du cours d'eau, relative à l'omniprésence de sources de pollution (Rodier *et al.*, 2009).

Les teneurs assez élevées en PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> enregistrées au mois d'Aout dans les stations O1 à O4 et de nitrates à la station P4 au mois de Juillet pourraient s'expliquer par les apports exogènes. Ce qui proviendrait d'après Zébazé Togouet *et al.*, (2011), des détergents, voire des pollutions fécales qui arrivent dans le milieu par ruissellement.

### Paramètres microbiologiques

Sur le plan bactériologique, il ressort que les eaux échantillonnées hébergent une communauté bactérienne qualifiée de pathogène stricte. Au cours de cette étude, *Salmonella typhi* et *Shigella dysenteriae* ont été isolées des échantillons d'eaux collectés.

Les abondances des germes isolés subissent des variations spatio-temporelles. La concentration moyenne de ces bactéries dans les eaux étudiées étant de 1145 UFC/mL et 90 UFC/mL pour *Salmonella typhi* et 1466 UFC/mL et 113 UFC/mL) pour *Shigella dysenteriae* respectivement dans le cours d'eau Olézoa et les différents puits échantillonnés ce qui montre que les germes étudiés ont été plus diversifiés dans les puits contrairement au cours d'eau. Ces valeurs sont toutes supérieures aux normes (0 unité UFC/100 mL) établies par l'OMS (2004), ce qui indique par conséquent, une détérioration de la qualité bactériologique de l'eau (Santé Canada, 2006). La présence des bactéries pathogènes *Salmonella* et *Shigella* tous deux appartenant à la famille des *Entérobactériaceae* est dû au fait que ces espèces survivent et se multiplient abondamment dans les eaux superficielles riches en matières organiques (Villagines, 2003 ; Foppen et Schijven, 2006). Les profils de variation des abondances bactériennes et des paramètres physico-chimiques ne sont pas parallèles. Selon Leclerc (2003), la hausse d'abondance de certaines bactéries hétérotrophes dans les eaux douces peut résulter de leur grande capacité à survivre dans les conditions hostiles ou à s'adapter à une large variété de conditions. La densité élevée de ce groupe de bactéries dans ces puits pourrait s'expliquer par des contaminations fécales accentuées par les effluents des ménages. En effet selon Noah Ewoti (2012), ces effluents transfèrent à ces dernières des germes pathogènes et des indicateurs fécaux qu'ils contiennent. Les fluctuations spatio-temporelles des abondances bactériennes dans les eaux souterraines étudiées ont aussi été signalées par Nola *et al.*, (1998a, 1998b), lors des études portant sur la qualité des eaux souterraines dans divers arrondissements de la ville de Yaoundé. Selon ces auteurs, ces fluctuations pourraient être liées aux différentes densités de populations humaines, propriétaires des latrines, aux profondeurs variables ainsi qu'aux fluctuations spatiales des propriétés physiques du sol de la région. Et les polluants

atteignent ainsi la nappe par infiltration.

### Multirésistance des bactéries aux antibiotiques

Les antibiogrammes réalisés avec des souches de *Salmonella typhi* et de *Shigella dysenteriae* montrent une multitude de souches multirésistantes en fonction de la saison et de l'antibiotique en présence. Les souches étudiées sont toutes résistantes à plus d'un antibiotique. Le pourcentage de résistance des souches étudiées variait de 65% à 56,25% en juillet et de 40% à 12,50% en octobre. Ces résultats sont en contradictions avec ceux de Tamema (2020), qui dans ces travaux a trouvé des ratios de résistance bien plus élevés de l'ordre de 100% à 82,9% en octobre et 80,90% à 59,10% en mars dans les effluents de l'abattoir d'Etoudi (Yaoundé, Cameroun). Il a été relevé également un taux de résistance plus élevé en saison sèche (60,63%) qu'en saison de pluie (26,25%). Des rapports de résistance variables au cours des différents mois ont également été retrouvés par Akiyama *et al.*, (2010), et Diwan *et al.*, (2018), dont les résultats ont révélé une variation saisonnière des bactéries résistantes aux antibiotiques dans l'eau des rivières du centre de l'Inde. Cependant les taux de résistances les plus élevés ont été observés la saison sèche 59,13% ; cela peut s'expliquer par le fait que pendant cette période les microorganismes sont confrontés à de rudes conditions climatiques les obligeants à développer des mécanismes leur permettant de survivre pendant cette saison. La résistance à la ciprofloxacine était de 32,50% différent des résultats obtenus par Novo et Manaia, (2013) sur l'évaluation de la résistance aux antibiotiques dans les eaux usées urbaines de la ville de Porto, avec des résultats assez inférieurs (2,23%). Résultats aussi différents également de ceux de Ben Said *et al.*, (2015), qui ont rapporté une résistance de 7% à la ciprofloxacine. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les fluoroquinolones sont devenues les médicaments de choix pour le traitement des infections en raison de la résistance accrue aux antibiotiques conventionnels (Iroha *et al.*, 2015). Un taux élevé de résistance à la ciprofloxacine est un problème grave de santé publique car la ciprofloxacine est un antibiotique à large spectre de dernière génération considéré comme très efficace contre diverses infections bactériennes comme celle à *Salmonella* (Iroha *et al.*, 2015). Les isolats bactériens étaient

multirésistants car leurs profils de résistance aux antibiotiques ont montré qu'ils étaient résistants à au moins trois classes d'antibiotiques. Il est communément admis de parler de multirésistance lorsqu'une souche bactérienne s'est accumulée sur son profil sauvage de sensibilité aux antibiotiques, des résistances acquises telles que la souche ne reste sensible qu'à un nombre limité d'antibiotiques utilisable en thérapie (Cattoen, 2015). Bien que cette étude ne permet pas de dire avec exactitude si ces bactéries multirésistantes sont de type MDR (MultiDrug Resistant), XDR (Extensively Drug Resistant) ou PDR (Pandrug Resistant); le fait qu'elles soient multirésistantes représente un réel problème de santé publique pour toutes les populations entrant en contact avec ces eaux en raison de la difficulté à traiter les infections qu'elles provoquent.

### Liaisons entre les paramètres évalués

Les résultats des corrélations entre les variables physicochimiques et biologiques montrent que parmi les paramètres physicochimiques analysés, certaines variables ont influencé significativement sur le peuplement et la distribution des bactéries tout au long de l'étude. Au niveau du cours d'eau Olézoa, l'augmentation de la conductivité, de la couleur et de la teneur en  $\text{NH}_4^+$  de l'eau accroît très significativement l'abondance de *Salmonella typhi*. Ceci se traduirait par le fait que les bactéries réagissent différemment face à la matière organique et en fonction de la composition de celle-ci. En effet, la matière organique influence la disponibilité des nutriments en servant en même temps comme source d'énergie et de carbone pour certains microorganismes (Nola *et al.*, 2004). L'augmentation de la teneur en  $\text{CO}_2$  dissous et en nitrate diminue très significativement l'abondance de *Shigella dysenteriae*. Ceci signifierait que les faibles abondances de *Shigella dysenteriae* seraient dues aux faibles valeurs de la teneur en  $\text{CO}_2$  dissous et en nitrate. On note tout de même des corrélations significatives d'une part entre le taux d'orthophosphate et l'abondance de *Salmonella typhi* et d'autre part entre la conductivité et l'abondance de *Shigella dysenteriae*. Ce qui signifierait que les faibles abondances des espèces bactériennes seraient également dues aux faibles teneurs en orthophosphate et en conductivité respectivement.

Au niveau des puits, l'augmentation du pH et l'abondance de *Salmonella typhi* diminuent significativement l'abondance de *Shigella dysenteriae*. Ceci signifierait que les faibles abondances de *Shigella dysenteriae* seraient dues aux faibles teneurs en pH et en *Salmonella typhi*.

### Conclusion

Au terme de ce travail dont l'objectif principal était d'évaluer la multirésistance aux antibiotiques, de *Salmonella typhi* et *Shigella* isolés du bassin versant du cours d'eau l'Olézoa. Il en ressort de ces travaux que les eaux analysées sont acides, peu minéralisées, caractérisées par une température très peu variable; elles sont également riches en matières organiques tels que les orthophosphates et l'azote ammoniacale. Les paramètres tels que la conductivité électrique, la couleur, les MES, l'O<sub>2</sub> dissous, le CO<sub>2</sub> dissous, le PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> et le NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ont influencé la distribution des bactéries. De plus, on note que cette charge bactérienne est également influencée par les sources de pollution environnantes des stations et par les apports exogènes. Les analyses bactériologiques ont révélé la présence des bactéries pathogènes et opportunistes *Salmonella typhi* et *Shigella dysenteriae* à des proportions élevées et non recommandables pour les eaux de consommations. Les antibiogrammes réalisés montrent que ces germes sont multirésistants aux antibiotiques usuels. *Salmonella typhi* est plus résistante à l'Amoxicilline et *Shigella dysenteriae* à la Céfotaxime. La présence de ces germes pathogènes ont permis de conclure que les eaux analysées sont impropres à toute consommation sans traitement préalable. Une contamination suite à l'alimentation par ces eaux devrait envisager au préalable un examen à l'antibiogramme avant une prescription de traitement adéquat.

### Remerciements

Les remerciements sont adressés au laboratoire d'Hydrobiologie et Environnement, et au laboratoire de Microbiologie de l'Université de Yaoundé 1.

### Contribution des auteurs

Ce travail est une conception de Noah Ewoti Olive Vivien. Il a été réalisé par Leme Banock Lucie et a suivi une contribution sur la paillasse et dans la rédaction de Tamsa Arfao Antoine, Mougang Luciane Marlyse, Pélagie Ladibé et Moïse Nola.

### Conflits d'intérêt

Les auteurs déclarent qu'il n'existe aucun conflit d'intérêt.

### Références bibliographiques

1. Abdelmadjid N., 2007. Traitement biologique des eaux usées par les bactéries anaérobies butyriques (*Clostridium butyricum*) qui produisent de l'hydrogène. Thèse, Université de Ghardaïa -Algeria, pp27.
2. Abossolo Samuel Aimé \*, Joseph A. A., Mesmin T., Marin Silvère Mena et Romain A. S. Batha, 2015. *Analyse des précipitations annuelles à la station de Yaoundé de 1895 à 2006*, Afrique science 11(2) ,2015 ,183-194p.
3. Adam F. Aouati H. et Drouillard I., 2003. Sulfamides et associations, maladies infectieuses. *Médecine Chirurgicale*, 8 : 4-10.
4. AFSSPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé). (2004) Antibiotic treatment of *shigella sonnei* gastroenteritis. *Presse Med.*, 33(21) : 1538-45.
5. Aït Boughrous A., 2007. Biodiversité, écologie et qualité des eaux souterraines de deux régions arides du Maroc: le Tafilalet et la région de Marrakech. Thèse de Doctorat d'État, Faculté des Sciences. Université Cadi Ayyad Semlalia, Marrakech, Maroc. 236 p.
6. Akiyama T. and Savin M. (2010). Populations of antibiotic-resistant conform bacteria change rapidly in a wastewater effluent dominated stream. *The Science of the Total Environment*. 408:6192-6201.
7. Allan D., 2004. Landscape and rivers cape : the influence of land use on stream ecosystems. *Annals Review of Ecological Systems*, 35 : 257-284
8. Amy G., 2006. Les résistances aux antibiotiques. ELBS, Toronto, pp. 404-416.
9. Anonyme. (2008). *Shigella*. Un article de Wikipédia l'encyclopédie libre.
10. Archambaud M., 2009. Mécanismes d'action des antibiotiques. SIMED, Tunisie, pp. 3 - 8.
11. Banton, O. et Bangoy, L. M., 1999. Mise en valeur des eaux souterraines. Dans *Hydrogéologie, multiscience environnement - ale des eaux souterraines*. PUQ/AUPELF, Sainte-Foy-Québec, pp. 460.
12. Ben-Said L., Klibi N., Lozano C., Dziri R., Ben-Slama K., Boudabous A., and Torres C. (2015). Diversity of enterococcal species and

- characterization of high-level aminoglycoside resistant enterococci of samples of wastewater and surface water in Tunisia. *Science of The Total Environment*. 30:11–17.
13. Bonnet R., 2007. Les Bêta-lactamines et *Enterobacteriaceae*. Dans *bactériologie Clinique*. ESKA, Lyon, 142-158.
  14. Boucenna F., 2011. Différentes méthodes de vulnérabilité à la pollution d'une nappe côtière : cas de la plaine alluviale de l'oued djendjen (jijel, nord-est algérien). Thèse, Université de badji mokhtar-annaba.
  15. Boutin C., 1993. L'eau des nappes phréatiques superficielles, une richesse naturelle vitale mais vulnérable. L'exemple des zones rurales du Maroc. *Revue des Sciences de l'Eau*, 6 (3): 357-365.
  16. Bouziane, 2000. L'eau, de la pénurie aux maladies. Edition Iben Khldoune, Tunis, pp. 26.
  17. Burnichon N. et Texier A., 2003. L'antibiogramme : détermination des sensibilités aux antibiotiques. *DES bactériologie*, Toulouse-France, pp.29.
  18. CA –SFM, 2020. étude de la sensibilité aux antimicrobiens; recommandations 2020 : [http://www.sfm-microbiologie.org/pages/ pages 9-11](http://www.sfm-microbiologie.org/pages/pages%209-11) consulté le 02/04/2020.
  19. CA-SFM, 2016. Etude de la sensibilité aux antimicrobiens ; recommandations 2016 : [http://www.sfm-microbiologie.org/pages/? page 746](http://www.sfm-microbiologie.org/pages/?page=746) Consulté le 27/09/16.
  20. Cattoen (2015). Persistence du portage des bactéries multirésistantes après la réanimation. *Réanimation*. 24(3): 249-255.
  21. Cattoir V., 2006. Chloramphénicol, fosfomycine, acide fusidique et polymyxines. In : *Antibiogramme*. Lecler P., Bingen, pp. 349-364.
  22. Chomarat M., Weber M., Gerad A. et François J., 2003. De l'antibiogramme à prescription. 1ère édition Biomerieux, France, pp. 8-22.
  23. CHU-PS (2003). *Bactériologie DCEM1*. Université Paris-VI Pierre et Marie Curie, Faculté de Médecine, Paris, pp.144.
  24. CNR, 2005. CNR des *Escherichia coli* et *Shigella* : Les *Escherichia coli* pathogènes. Portail Institut Pasteur. pp.3.
  25. Dajoz R., 1985. Précis d'écologie. 5e édition, Bordas, Paris, 525 p.
  26. Dioura M., 2007. Sensibilité des bactéries pathogènes aux antibiotiques dans le district de Bamako. *Mémoire, Université de Bamako* , pp. 57.
  27. Diwan V., Hanna N., Purohit M., Chandran S., Riggi E., Parashar V., Tamhankar J., and Stålsby C. (2018). Seasonal Variations in Water-Quality, Antibiotic Residues, Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes of *Escherichia coli* Isolates from Water and Sediments of the Kshipra River in Central India. *International journal of environmental research and public health*, 15(6):1281.
  28. Ekodeck G.E. & Kamgang Kabeyene B., V., 2002. L'altérologie normative et ses applications. Presses Universitaires de Yaoundé, 231 pages.
  29. Eurin J., Tamtam F., Ovillon D. et Karen T., 2004. Les antibiotiques dans les eaux de surface du bassin de Seine : évaluation de la contamination dans différents milieux. *Sisyphus*, 4 (5) : 49-58.
  30. Etame Mbongo C., 2012. Qualité des eaux souterraines de la ville d'Edéa : Analyses physico-chimiques et biodiversité faunique. *Mémoire de Master II, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I*. 51pages.
  31. Fisher K. and Carol P., 2009. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Review of Microbiology*, 155 : 1749–1757
  32. FMPMC-PS-Bactériologie-Niveau DCEM1
  33. Foppen, J. W.A. & Schijven, F. J. (2006). Evaluation of data from the literature on the transport and survival of *Escherichia coli* and thermotolerant coliform in aquifers under saturated conditions. *Water Research*, 40: 401-426.
  34. Foucault A. & Raoult J.F., 1995. *Dictionnaire de géologie*. Masson édition, Paris, 230
  35. Goossens H., Guillemot D., Ferech M., Schlemmer B., Costers M., Van Breda M., Baker L. J., Cars O., Davey P. P., 2006. National campaigns to improve antibiotic use.
  36. Goossens T., Yarnagore M. and Hammerum A. M., 2012. Enterococci of animal origin and their significance for public health. *Clinical Microbiology*, 18 (7) : 619-25.
  37. Gyorgy H. and Sandor S., 2010. The importance of *Pseudomonas aeruginosa* on environmental safety. *Media Under Athropogenic Affect*, pp. 96-118.
  38. Ham Y.-S., Kobori H., Kang J.-H., Matsuzaki T., Lino M., and Nomura H. (2012). Distribution of antibiotic resistance in urban

- watershed in Japan. *Environmental Pollution*, 162 :98–103.
39. Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. & Williams, S. T. (2000). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Lippincott Williams & Wilkins, 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia.
  40. Ibrahim S., Moussa K., Doulo T. et Guéladio C., 2014. Eau, hygiène, assainissement et santé dans les quartiers précaires à Nouakchott (Mauritanie) : contribution à l'approche écosanté à Hay Saken. *Vertigo*, 19 : 33-43.
  41. Iroha, I., Eromonsele O., Moses I. B., and Afiukwa F. (2016). In vitro antibiogram of multidrug resistant bacteria isolated from Ogbete abattoir effluent in Enugu State, Nigeria. *International Research Journal of Public and Environmental Health*, 3 (1): 1-6.
  42. Jarlier V., 2004. *Les antibiotiques*. ESKA, Lyon, pp.78 .
  43. Jehl., Chomar M. et Weber M., 2003. De l'antibiogramme à la prescription : Mécanisme de Résistance de Bétalactamines. 3<sup>ème</sup> édition Biomereux, France, pp. 66.
  44. Koller, E. 2004. *Traitement des pollutions industrielles : Eau, air, déchets, sols, boues*. Dunod, Paris, pp.117.
  45. Kuété M. (2000). Les aspects physiques de l'environnement d'une bordure de socle tropical au fond du Golfe de Guinée. *Presse universitaire de Yaoundé*, 17 : 12-18.
  46. Lasm T., Koffi Yao T., Oga M.S., Koffi Kouame F., Jourda P., Kanan Kouadio et Baka, 2008. Analysis of physico-chemical characteristics of Groundwater in Proterozoic Land Region of the Tiassale Area (Southern Cote d'Ivoire). *European Journal of Scientific Research*, 3 (20) : 526-543.
  47. Lavigne J.P., 2007. Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance. Dans *Antibiotiques et résistance*. Faculté de médecine, Montpellier-Nîmes : pp.1-13.
  48. Liechti P., Frutiger A., Zobrist J. 2004. Méthodes d'analyse et d'appréciation, des cours d'eau en suisse : *Module chimie-Analyses physico-chimiques* niveau R et C. Projet. OFEFP, Berne 27p
  49. Le Minor L. & Richard C. (1993). Méthodes de laboratoire pour l'identification des Entérobactéries. Edition, Institut Pasteur, Paris, pp.217.
  50. Lozniewski A. et Rabaud C., 2010. Résistance bactérienne aux antibiotiques : infections associées aux soins. Thèse, Université de Lorraine, pp. 1-7.
  51. Marchal, N., Bourdon, J. L. & Richard, Cl. (1991). *Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries*. Dion éd ; Paris, pp.505.
  52. Markham P. and Neyfakh A., 2001. Efflux-mediated drug resistance in Gram-positive bacteria. *Current Opinion in Microbiology*, 4 (5) : 509-14.
  53. Martínez J. L. and Baquero F., 2002. Interactions among strategies associated with bacterial infection : pathogenicity, epidemicity, and antibiotic resistance. *Clinical Microbiology*, 15(4) :647-79.
  54. Mohamedi T., Bent M. et Sidi B., 2004. *Manuel de travaux pratiques de microbiologie*. Thèse, Université de Nouakchott, pp.1-25.
  55. Ndorma O., 2012. La résistance bactérienne aux antibiotiques. AGDAL, Rabat, pp. 33.
  56. Nikaido H., 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology*, 67(4) : 593-656.
  57. Noah Ewoti O. V., Nola M., Mougang Luciane M., Nougang Mireille E., Krier Francois, Nour-Eddine Chihib, 2011. Adhesion of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* on Rock surface in aquatic Microcosm: Assessment of the influence of Dissolved Magnesium Sulfate and Monosodium Phosphate, *Ressources Journal of Environmental Earth Sciences*.3 (4): 364-374 pages.
  58. Nola M., Njiné, T. Boutin, C. Messouli, M. Servais, P. FotoMenbohan, S. Ngo Bidjeck, L. M., ZébazéTogouet H. S. et Kemka N., 2004. Retention of *Escherichia coli* from water infiltration in the equatorial soil in Cameroon (Central Africa): The role of various soil layers. *Journal of Cameroon Academy of Sciences*, 2 : 107-116.
  59. Nola, M., Njiné T., Monkiédje A., Sikati Foko, V., Djuikom, E. & Tailliez, R. (1998b). Qualité bactériologique des eaux de sources et des puits de Yaoundé (Cameroun). *Cahiers santé*, 8(5) : 330-336.
  60. Nola M., Njiné T., Monkiédje A. & Tailliez R., 1999. Approche colimétrique des eaux de la nappe phréatique superficielle de la ville de Yaoundé (Cameroun). *Microbiologie et*

- Hygiène Alimentaire, 11 : 4-9.
61. Novo A., and Manaia C. (2010). Factors influencing antibiotic resistance burden in municipal wastewater treatment plants. *Applied Microbiology Biotechnology* 87: 1157-1166.
  62. OMS (2004). Guidelines for drinking water quality. Vol.1 : recommandation, Geneva.
  63. OMS, 2011. Plan d'action stratégique européenne sur la résistance aux antibiotiques. Comité régional de l'Europe. 61e session, Bakou-Azerbaïdjan, pp.1-11.
  64. Onema, 2012. Les eaux souterraines. Dans *Gérer les milieux aquatiques de manière globale*. Les agences de l'eau, France, pp.8-12.
  65. Plesiat P., 2011. Groupement de recherche gdr pseudomonas. Centre national de la recherche scientifique, Nances, pp.56.
  66. Rabaud C., Henard S., Jouzeau N. et Villaume M., 2007. Prise en charge d'une épidémie de colonisation digestive à entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG). Elsevier, Amsterdam, pp. 32-41.
  67. Ramsar, 2010. Gestion des eaux souterraines. Dans *Manuels Ramsar pour l'utilisation rationnelle des zones humides*. Secrétariat de la Convention de Ramsar, Gland, Suisse, pp. 8.
  68. Rodier J., Legube B., Merlet N., et coll, 2009. L'analyse de l'eau. 9e édition, DUNOD, Paris, pp.1579.
  69. Santé Canada, 2006. Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : document technique—*Les bactéries pathogènes d'origine hydrique : micro-organismes préoccupants courants et émergents*. Bureau de la qualité de l'eau et de la santé, Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs, Santé Canada, Ottawa (Ontario).43P.
  70. Santosh M., Avvannavar S.M. & Shrihari S., 2008. Evaluation of water quality index for drinking purposes for river Netravathi, Mangalore, South India. *Environmental Monitoring and assessment*, 143: 279-290.
  71. Sarrazin V., Carrière A. et Barbeau B., 2003. Protocole québécois d'évaluation d'une eau souterraine sous l'influence directe des eaux de surface : Revue de littérature et développement d'un protocole provisoire. PARDE, Montréal, pp. 166.
  72. Science Photo Library ; Stock Image-C032/2572.
  73. Soussy C. J., 2007. Quinolones et bactéries à Gram négatif. Dans *bactériologie clinique*. ESKA, Lyon, pp.546.
  74. Tachet H., Richoux P., Bournaud M. et Usseglio-Polatera P., 2006. Invertébrés d'eau douce : systématique, biologie et écologie. CNRS édition, Paris-France, pp.588.
  75. Temgoua E., Bitom B., Djeuda T., and Yongue R., 2003. Habitation, agricultural practices and degradation of the soil in urban area: The case of Ngoa-Ekélé and Oyomabang district of Yaoundé Cameroon. Research report, University of Yaoundé I.
  76. Vilaginès R., 2003. Eau, environnement et santé publique. Lavoisier édition, Paris.
  77. Walsh C., 2003. Antibiotics: actions, origins, resistance. American Society for Microbiology Press, Washington, pp.117.
  78. Weiss K., 2002. La résistance bactérienne : la nouvelle guerre froide. *Le Médecin du Québec*, 37 (3) : 22-38.
  79. Wurtz A., 2008. Rôle et importance des bactéries dans l'eau. *Centre d'Hydrobiologie Appliquée*, 1 : 144-148.
  80. Yala D., Merad A. S., Mohamedi D. et Korich O. M., 2001. Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91 : 5-12.
  81. Yongue-Fouateu, R., 1986. Contribution à l'étude pétrographique de l'altération et des faciès de cuirassement ferrugineux des gneiss magmatiques de la région de Yaoundé. Thèse de Doctorat, Université de Yaoundé I, Cameroun, 125 pages.
  82. Zébazé Togouet S. H., Tuékam Kayo R. P., Boutin C., Nola M. et Foto Menbohan S., 2011. Impact de la pression anthropique sur l'eau et la faune aquatique des puits et sources de la région de Yaoundé (Cameroun, Afrique Centrale). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, 147 : 27-41.
  83. Zomahoun C., 2004. Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie du Centre National Hospitalier Universitaire-Hubert Koutoukou Maga de Cotonou. Thèse de pharmacie, Université d'Abomey-Calavi, pp.109.