

UNIVERSITÉ DE YAOUNDE I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE  
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES  
DE LA VIE, SANTE ET ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE ET DE  
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES  
DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET DE  
PHYSIOLOGIE ANIMALES



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

CENTRE FOR RESEARCH AND TRAINING IN  
GRADUATE STUDIES IN LIFE, HEALTH AND  
ENVIRONMENTAL SCIENCES

RESEARCH AND DOCTORATE TRAINING  
UNIT IN LIFE SCIENCES

DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND  
PHYSIOLOGY

## LABORATOIRE D'HYDROBIOLOGIE ET ENVIRONNEMENT

LABORATORY OF HYDROBIOLOGY AND ENVIRONMENT

# Résistance à quelques antimicrobiens des entérobactéries isolées des eaux superficielles et souterraines à Yaoundé, et importance de certains facteurs abiotiques

Présentée et soutenue publiquement le 05 avril 2023 en vue de l'obtention partielle du diplôme de Doctorat/Ph.D en  
Biologie des Organismes Animaux

Option : Hydrobiologie et Environnement

Par

**MANOURE NJOYA Awawou**  
Matricule 08Q0527

Devant le jury composé ainsi qu'il suit :

**Président : MBACHAM Wilfred FON**, *Professeur*, Université de Yaoundé I ;

**Rapporteur : NOLA Moïse**, *Professeur*, Université de Yaoundé I ;

**Membres : AJEAGAH Gidéon AGHAINDUM**, *Professeur*, Université de Yaoundé I ;

**ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert**, *Professeur*, Université de Yaoundé I ;

**NGAKOU Albert**, *Professeur*, Université de Ngaoundéré.



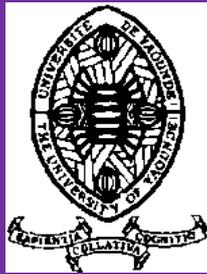
Année 2023

UNIVERSITÉ DE YAOUNDE I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE  
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES  
DE LA VIE, SANTE ET ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE ET DE  
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES  
DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET DE  
PHYSIOLOGIE ANIMALES



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

CENTRE FOR RESEARCH AND TRAINING IN  
GRADUATE STUDIES IN LIFE, HEALTH AND  
ENVIRONMENTAL SCIENCES

RESEARCH AND DOCTORATE TRAINING  
UNIT IN LIFE SCIENCES

DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND  
PHYSIOLOGY

## LABORATOIRE D'HYDROBIOLOGIE ET ENVIRONNEMENT

LABORATORY OF HYDROBIOLOGY AND ENVIRONMENT

# Résistance à quelques antimicrobiens des entérobactéries isolées des eaux superficielles et souterraines à Yaoundé, et importance de certains facteurs abiotiques

Présentée et soutenue publiquement le 05 avril 2023 en vue de l'obtention partielle du diplôme de Doctorat/Ph.D en  
Biologie des Organismes Animaux

**Option : Hydrobiologie et Environnement**

Par

**MANOUORE NJOYA Awawou**  
Matricule 08Q0527

Devant le jury composé ainsi qu'il suit :

**Président : MBACHAM Wilfred FON**, *Professeur*, Université de Yaoundé I ;

**Rapporteur : NOLA Moïse**, *Professeur*, Université de Yaoundé I ;

**Membres : AJEAGAH Gidéon AGHAINDUM**, *Professeur*, Université de Yaoundé I ;

**ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert**, *Professeur*, Université de Yaoundé I ;

**NGAKOU Albert**, *Professeur*, Université de Ngaoundéré.

Année 2023

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix - Travail – Patrie

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
FACULTE DES SCIENCES

\*\*\*\*\*

B.P. 812 Yaoundé  
Tél: (237) 242239584  
Fax: (237) 242234496



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace – Work – Fatherland

\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDE I  
FACULTY OF SCIENCE

\*\*\*\*\*

P.O. BOX 812 Yaounde  
Phone: (237) 242239584  
Fax: (237) 242234496

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES  
*DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY*

## ATTESTATION DE CORRECTION

\*\*\*\*\*

Nous soussignés, membres du jury de soutenance de la **Thèse de Doctorat/Ph.D en Biologie des Organismes Animaux**, Option : **Hydrobiologie et Environnement**, de Madame **MANOUORE NJOYA Awawou**, matricule **08Q0527**, soutenance autorisée par la correspondance N° 023-075/UYI/VREPDTIC/DAAC/DEPE/SPD/SPDA/CB-asr du Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 03 avril 2023 sur le sujet intitulé : « **Résistance à quelques antimicrobiens des entérobactéries isolées des eaux superficielles et souterraines à Yaoundé, et importance de certains facteurs abiotiques** », attestons que les corrections exigées à la candidate lors de cette évaluation, qui a eu lieu le **mercredi 05 avril 2023** dans la **salle S01/02** du **bloc pédagogique** de la **Faculté des Sciences**, ont réellement été effectuées et que le présent document peut être déposé sous sa forme actuelle.

En foi de quoi, la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le..... **12 AVR 2023** .....

Examineurs

*[Handwritten signatures in blue ink]*  
**ASEACAH**

Président du Jury

*[Handwritten signature in blue ink]*  
**Prof. Mbacham Wilfred Fon**  
MS, DS, ScD (Harvard), FASi, FCAS, FAAS  
Public Health Biotechnologist

Le Chef de Département



*[Handwritten signature in red ink]*  
**Charles Etelin Bilong Bilong**  
Professeur

<b>UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I</b> <b>Faculté des Sciences</b> Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		<b>THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I</b> <b>Faculty of Science</b> Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>		<b>LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF</b>

## LISTE PROTOCOLAIRE DE LA FACULTE DES SCIENCES

**ANNÉE ACADEMIQUE 2021/2022**

(Par Département et par Grade)

**DATE D'ACTUALISATION 22 juin 2022**

### ADMINISTRATION

**DOYEN** : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*

**VICE-DOYEN / DPSAA**: ATCHADE Alex de Théodore, *Maître de Conférences*

**VICE-DOYEN / DSSE** : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

**VICE-DOYEN / DRC** : ABOSSOLO ANGUE Monique, *Maître de Conférences*

**Chef Division Administrative et Financière** : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal,  
*Maître de Conférences*

**Chef Division des Affaires Académiques, de la Recherche et de la Scolarité DAARS** :  
AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

### 1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (39)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1.	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2.	BOUDJEKO Thaddée	Professeur	En poste
3.	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
4.	FOKOU Elie	Professeur	En poste
5.	KANSCI Germain	Professeur	En poste
6.	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En poste
7.	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
8.	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

9.	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10.	ATOGHO Barbara MMA	Maître de Conférences	En poste
11.	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12.	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS

13.	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
14.	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
15.	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
16.	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
17.	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Doyen FS / UDs
18.	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
19.	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
20.	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
21.	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
22.	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

23.	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
24.	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
25.	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
26.	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
27.	DJUUKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
28.	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
29.	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
30.	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En poste
31.	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
32.	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33.	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
34.	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En poste
35.	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
36.	PECHANGOU NSANGO Sylvain	Chargé de Cours	En poste
37.	WILFRED ANGIE Abia	Chargé de Cours	En poste

38.	FOUPOUPOUOGNIGNI Yacouba	Assistant	En poste
39.	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Chargée de Cours	En poste

## **2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (51)**

1.	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	DAARS/FS
2.	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département

3.	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4.	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5.	DZEUFJET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6.	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/UIYI</i>
7.	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8.	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste
9.	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
10.	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
11.	NOLA Moïse	Professeur	En poste
12.	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
13.	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
14.	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste

15.	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ MINESUP</i>
16.	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17.	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18.	JATSA BOUKENG Hermine épse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
19.	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
20.	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En poste
21.	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
22.	MONY Ruth épse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
23.	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
24.	NGUEMBOCK	Maître de Conférences	En poste
25.	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

26.	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
27.	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En poste
28.	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
29.	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Chargée de Cours	En poste
30.	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
31.	FEUGANG YOUMSSI François	Chargé de Cours	En poste
32.	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En poste
33.	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
34.	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
35.	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En poste
36.	LEME BANOCK Lucie	Chargé de Cours	En poste
37.	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
38.	METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
39.	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
40.	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
41.	NGOULATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
42.	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>

43.	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
44.	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
45.	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
46.	YEDE	Chargé de Cours	En poste
47.	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En poste

48.	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	Assistante	En poste
49.	FOKAM Alvine Christelle Epse KEGNE	Assistante	En poste
50.	MAPON NSANGOU Indou	Assistant	En poste
51.	NWANE Philippe Bienvenu	Assistant	En poste

### 3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (33)

1.	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef DAARS /UYII</i>
2.	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
3.	MBOLO Marie	Professeur	En poste
4.	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5.	YOUMBI Emmanuel	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6.	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

7.	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8.	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9.	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
10.	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	<i>DAAC /UDla</i>
11.	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
12.	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
13.	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	<i>CT / MINRESI</i>
14.	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
15.	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
16.	ONANA JEAN MICHEL	Maître de Conférences	En poste

17.	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
-----	------------------------	-----------------	----------

18.	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
19.	GONMADGE CHRISTELLE	Chargée de Cours	En poste
20.	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
21.	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
22.	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
23.	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
24.	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
25.	NSOM ZAMBO EPSE PIAL ANNIE CLAUDE	Chargé de Cours	<i>En détachement/UNESCO MALI</i>
26.	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En poste
27.	KABELONG BANAHOU Louis-Paul- Roger	Chargé de Cours	En poste
28.	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En poste
29.	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En poste
30.	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En poste
31.	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En poste
32.	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En poste
33.	MANGA NDJAGA JUDE	Assistant	En poste

#### 4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (31)

1.	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
3.	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé deMiss.PR</i>
4.	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
5.	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
6.	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
7.	NENWA Justin	Professeur	En poste
8.	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS Univ.Ngaoundere</i>
9.	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>

10.	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
11.	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
12.	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
13.	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste

14.	KENNE DEDZO GUSTAVE	Maître de Conférences	En poste
15.	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
16.	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En poste
17.	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
18.	NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>CT/ MINPROFF</i>
19.	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
20.	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
21.	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En poste
22.	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En poste
23.	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste

24.	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
25.	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
26.	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
27.	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
28.	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
29.	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En poste
30.	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En poste
31.	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste

#### **5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (38)**

1.	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UYYI</i>
2.	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
3.	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
4.	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/ Chef de Département</i>
5.	WANDJI Jean	Professeur	En poste
6.	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste

7.	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
8.	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9.	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10.	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de	En poste

		Conférences	
11.	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12.	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En poste
13.	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14.	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
15.	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
16.	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17.	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
18.	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>
19.	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E.A/ MINESUP</i>
20.	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>DAAC/Uté Bertoua</i>
21.	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22.	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
23.	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
24.	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
25.	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
26.	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

27.	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
28.	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
29.	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30.	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
31.	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En poste
32.	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En poste
33.	TSAMO TONTSA Armelle	Chargé de Cours	En poste
34.	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En poste

35.	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
36.	NONO NONO Éric Carly	Assistant	En poste
37.	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Assistante	En poste

38.	TSAFFACK Maurice	Assistant	En poste
-----	------------------	-----------	----------

### 6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)

1.	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2.	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>

3.	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4.	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En poste

5.	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>Sous- Directeur/MINFOPRA</i>
6.	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
7.	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
8.	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
9.	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10.	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En poste
11.	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En poste
12.	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
13.	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
14.	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
15.	OLE OLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	<i>Directeur adjoint ENSET. Ebolowa</i>
16.	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste

17.	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
18.	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
19.	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
20.	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
21.	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste
22.	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Assistant	En poste

### 7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (31)

1.	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2.	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>

3.	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
4.	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
5.	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6.	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
7.	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef Service des Programmes &amp; Diplômes/FS/UYI</i>
8.	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste
9.	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
10.	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

11.	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
12.	BOGSO ANTOINE MARIE	Chargé de Cours	En poste
13.	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
14.	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
15.	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
16.	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
17.	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
18.	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Uté Maroua</i>
19.	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
20.	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
21.	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En poste
22.	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
23.	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En poste
24.	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargé de Cours	En poste

25.	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
26.	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
27.	LOUMNGAM KAMGA Victor	Assistant	En poste
28.	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
29.	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
30.	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
31.	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Assistant	En poste

### 8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (22)

1.	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	NYEGUE Maximilienne	Professeur	<i>VICE-DOYEN /</i>

	Ascension		<i>DSSE/FS/UIYI</i>
3.	NWAGA Dieudonné M.	Professeur	En poste

4.	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5.	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En poste
6.	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
7.	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
8.	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
9.	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

10.	BODA Maurice	Chargé de Cours	En position d'absence irrégulière
11.	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12.	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13.	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
14.	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En poste
15.	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En poste
16.	MEYIN A EBONG Solange	Chargée de Cours	En poste
17.	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En poste
18.	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Chargée de Cours	En poste
19.	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En poste

20.	MONI NDEDI Esther Del Florence	Assistante	En poste
21.	NKOUÉ TONG ABRAHAM	Assistant	En poste
22.	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste

### 9. DEPARTEMENT DE PHYSIQUE(PHY) (43)

1.	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2.	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3.	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré</i>
4.	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5.	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
6.	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste

7.	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
8.	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
9.	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
10.	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
11.	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
12.	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FSUniv/Bda</i>
13.	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14.	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15.	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste

16.	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
17.	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18.	ENYEGUE A NYAM épouse	Maître de	En poste
19.	EYEBE FOUA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20.	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21.	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
22.	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
23.	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En poste
24.	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
25.	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
26.	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
27.	VONDOU DerbetiniAppolinaire	Maître de Conférences	En poste
28.	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UIYI</i>

29.	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
30.	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
31.	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
32.	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cell. MINADER</i>
33.	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
34.	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
35.	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	<i>Absente depuis Janvier 2022</i>
36.	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En poste
37.	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie	Chargée de Cours	En poste

	Angennes		
38.	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	En poste
39.	TEYOU NGOUPOU Ariel	Chargé de Cours	En poste

40.	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Assistant	En poste
41.	LAMARA Maurice	Assistant	En poste
42.	NGA ONGODO Dieudonné	Assistant	En poste
43.	WANDJI NYAMSI William	Assistant	En poste

### 10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)

1.	BITOM Dieudonné-Lucien	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2.	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3.	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
4.	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
5.	NGOS III Simon	Professeur	En poste
6.	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7.	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste

8.	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9.	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
10.	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11.	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
12.	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
13.	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>Chef de Département /Ute Maroua</i>
14.	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	CT/ MINIMDT
15.	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En poste
16.	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
17.	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
18.	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19.	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance &amp; du Matériel/UYII</i>
20.	TCHAKOUNTE J. épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
21.	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
22.	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En poste
23.	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
24.	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	DG/ART

25.	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
-----	----------------------------	-----------------	----------

26.	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
27.	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
28.	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
29.	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
30.	MAMDEM TAMTO LIONELLE ESTELLE	Chargé de Cours	En poste
31.	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
32.	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
33.	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
34.	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>CD/ Uté Maroua</i>
35.	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
36.	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37.	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38.	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
39.	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
40.	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En poste
41.	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En poste
42.	NGO'O ZE ARNAUD	Assistant	En poste

**Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I**

**NOMBRE D'ENSEIGNANTS**

<b>DÉPARTEMENT</b>	<b>Professeurs</b>	<b>Maîtres de Conférences</b>	<b>Chargés de Cours</b>	<b>Assistants</b>	<b>Total</b>
BCH	8 (00)	14 (10)	15 (05)	02 (01)	<b>39 (16)</b>
BPA	14 (01)	11 (07)	22 (07)	04 (02)	<b>51 (17)</b>
BPV	06 (01)	10(01)	16 (09)	01 (00)	<b>33 (11)</b>
CI	09(01)	14(04)	08 (01)	00 (00)	<b>31 (06)</b>
CO	06 (01)	20 (04)	08 (03)	04 (01)	<b>38(09)</b>
IN	02 (00)	02 (00)	12 (01)	06 (00)	<b>22 (01)</b>

MAT	02 (00)	08 (00)	14 (01)	07 (01)	<b>31 (02)</b>
MIB	03 (01)	06 (02)	10 (03)	03 (02)	<b>22 (08)</b>
PHY	15 (01)	13 (02)	11 (03)	04 (00)	<b>43 (06)</b>
ST	07 (01)	16 (03)	18 (04)	01 (00)	<b>42(08)</b>
<b>Total</b>	<b>72 (07)</b>	<b>114 (33)</b>	<b>134 (37)</b>	<b>32 (07)</b>	<b>352 (84)</b>

---

Soit un total de **352 (84)** dont :

- Professeurs **72 (07)**
- Maîtres de Conférences **114 (33)**
- Chargés de Cours **134 (37)**
- Assistants **32 (07)**

( ) = Nombre de Femmes **84**

## **DEDICACE**

À la mémoire de mon père **Amadou Njoya**

## REMERCIEMENTS

Louange à ALLAH de m'avoir permis de réaliser ce travail sous la direction du Professeur **NOLA Moïse**. C'est avec beaucoup de considération que je lui adresse mes remerciements et lui exprime ma reconnaissance pour son encadrement, ses encouragements, ses conseils, sa patience et son sens de l'écoute. Qu'il soit assuré de mon grand attachement et veuille bien trouver dans ce mémoire, le témoignage de ma profonde gratitude.

Je tiens à remercier :

- le Chef de Département de Biologie et Physiologie Animales de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, le Professeur **BILONG BILONG Charles-Félix** et tous les enseignants dudit Département pour la formation reçue ;
- les enseignants du Laboratoire d'Hydrobiologie et Environnement, notamment les Professeurs **AJEAGAH Gidéon AGHAINDUM, FOTO MENBOHAN Samuel ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert, MOUGANG Marlyse Luciane, NOAH EWOTI Olive Vivien** et **TAMSA Arfao Antoine** pour leurs conseils et remarques qui ont contribué à la concrétisation de ce travail ;
- l'équipe de recherche du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Biologie de l'Université Alexandru Ioan Cuza de Iasi, et précisément le Professeur **STEFAN Marius** pour son encadrement durant mon stage de recherche ;
- les Docteurs **Jean Samuel EHETH** et **Claire Stéphane METSOPKENG** pour leur orientation lors de la réalisation de ces travaux ;
- l'équipe de recherche du Laboratoire d'Hydrobiologie et Environnement, notamment **POUTOUM Yves** et **MOUAFO TAMNOU Edith** pour leur assistance ;
- tous mes camarades de promotion et particulièrement **Dr KAPSO Mireille** pour son soutien ;
- aux grandes familles **MOUSTAPHA, MANOUORE, NCHARE, NJIMOKÉ** pour leur prière, leur soutien moral et financier ;
- tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, qu'ils trouvent en ce moment, toute ma reconnaissance.

# SOMMAIRE

LISTE PROTOCOLAIRE DE LA FACULTE DES SCIENCES .....	i
DEDICACE.....	xv
REMERCIEMENTS .....	xvi
SOMMAIRE .....	xvii
LISTE DES ABBREVIATIONS ET DES ACRONYMES.....	xix
LISTE DES FIGURES .....	xx
LISTE DES TABLEAUX.....	xxii
LISTE DES ANNEXES.....	xxv
RESUME.....	xxvi
ABSTRACT .....	xxviii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE .....	5
I.1- Généralités sur les entérobactéries .....	6
I.1.1- Définition.....	6
I.1.2- Classification justifiée des entérobactéries.....	6
I.1.3- Habitat .....	8
I.1.4- Caractères généraux des entérobactéries .....	9
I.2- Généralités sur les antimicrobiens .....	13
I.2.1- Généralités sur les antibiotiques .....	13
I.2.2 - Généralités sur les flavonoïdes .....	28
I.3- Généralités sur les milieux aquatiques .....	30
I.3.1- Généralités sur les eaux souterraines.....	30
I.3.2- Généralités sur les eaux superficielles.....	32
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES .....	39
II.1. Matériel.....	40
II.2. Méthodes .....	47
II.2.1. Echantillonnage des eaux .....	47
II.2.2. Analyse des paramètres bactériologiques.....	47
II.2.3. Caractérisation de la susceptibilité des entérobactéries aux antibiotiques .....	51

II.2.4. Analyse des paramètres physicochimiques .....	59
II.2.5. Analyses statistiques des données physico-chimiques et microbiologiques .....	60
<b>CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>62</b>
III.1- Résultats .....	63
III.1.1- Aspects qualitatif et quantitatif des cellules bactériennes.....	63
III.1.2- Activités antimicrobiennes chez les entérobactéries isolées de différents biotopes aquatiques.....	95
III.1.3- Caractérisation des paramètres abiotiques et de leur influence sur les entérobactéries et les activités antimicrobiennes .....	118
III.2- Discussion .....	153
III.2.1- Abondances cellulaires des germes bactériens des différents biotopes aquatiques ...	153
III.2.2- Susceptibilité des entérobactéries aux antimicrobiens.....	156
III.2.3- Impact des paramètres physico-chimiques sur les entérobactéries et l'activité antimicrobienne.....	160
<b>CONCLUSION, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>168</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>169</b>
<b>RECOMMANDATIONS .....</b>	<b>171</b>
<b>PERSPECTIVES .....</b>	<b>172</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>173</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>190</b>
<b>PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE.....</b>	<b>196</b>
<b>COMMUNICATION SCIENTIFIQUE ISSUE DES TRAVAUX DE LA THESE.....</b>	<b>196</b>

## LISTE DES ABBREVIATIONS ET DES ACRONYMES

<b>ACH</b>	: Analyse de Classification Hiérarchique
<b>API</b>	: Appareils et Procédés d'Identification
<b>BHAM</b>	: Bactéries Hétérotrophes Aérobie Mésophile
<b>BLSE</b>	: Bêta-Lactamases à Spectre Elargi
<b>CFI</b>	: Concentration Fractionnelle Inhibitrice
<b>CMI</b>	: Concentration Minimale Inhibitrice
<b>CMIC</b>	: Concentration Minimale Inhibitrice Combinée
<b>CTX</b>	: Céfotaximase
<b>MLS</b>	: Macrolides-Lincosamides-Streptogramines
<b>MRA</b>	: Multirésistance aux Antibiotiques
<b>NC</b>	: Norme Camerounaise
<b>PABA</b>	: Para-Amino-Benzoïque Acide
<b>PLP</b>	: Protéines Liant la Pénicilline
<b>SHV</b>	: Bêta-lactamase « SulfHydryl Variable »
<b>TEM</b>	: Temoneira « Bêta-lactamase »
<b>TRI</b>	: Temoneira Résistant aux inhibiteurs
<b>UFC</b>	: Unité Format Colonie
<b>WHO</b>	: World Health Organization

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Cibles bactériennes des antibiotiques .....	16
<b>Figure 2</b> : Mécanismes génétiques de la résistance acquise .....	20
<b>Figure 3</b> : Mécanismes de résistances au sein des bactéries à Gram négatif .....	22
<b>Figure 4</b> : Mécanisme d'inactivation enzymatique .....	23
<b>Figure 5</b> : Modification de la cible de l'antibiotique .....	24
<b>Figure 6</b> : Pompes à efflux .....	24
<b>Figure 7</b> : Structure des parois des bactéries à Gram positif (A) et à Gram négatif (B) .....	25
<b>Figure 8</b> : Structure chimique de base des flavonoïdes .....	29
<b>Figure 9</b> : Principe de fonctionnement d'une station d'épuration à boues activées .....	36
<b>Figure 10</b> : Station à biofiltre ou à lit bactérien.....	37
<b>Figure 11</b> : Station d'épuration physico-chimique.....	38
<b>Figure 12</b> : Localisation géographique des sites d'échantillonnage.....	42
<b>Figure 13</b> : Test biochimique sur galerie Api 20 <sup>E</sup> .....	51
<b>Figure 14</b> : Image du dépôt des disques d'antibiotiques dans une boîte de Pétri.....	53
<b>Figure 15</b> : Image de synergie .....	54
<b>Figure 16</b> : Microplaque après dilution des antimicrobiens et inoculation de la suspension bactérienne .....	57
<b>Figure 17</b> : Image des Concentrations Minimales Inhibitrices sur microplaque.....	58
<b>Figure 18</b> : Colonies d'entérobactéries sur milieu Mac Conkey .....	63
<b>Figure 19</b> : Colonies de <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> et <i>Klebsiella</i> sur milieu EMB.....	64
<b>Figure 20</b> : Colonies d' <i>Escherichia coli</i> sur milieu Endo .....	64
<b>Figure 21</b> : Colonies de <i>Proteus</i> , <i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i> sur milieu SS .....	65
<b>Figure 22</b> : Variation temporelle des abondances cellulaires des entérobactéries dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C).....	68
<b>Figure 23</b> : Variation temporelle des abondances cellulaires du genre <i>Citrobacter</i> dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C) .....	70

<b>Figure 24:</b> Variation mensuelle des abondances cellulaires du genre <i>Enterobacter</i> dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C) .....	74
<b>Figure 25 :</b> Variation temporelle des abondances cellulaires du genre <i>Escherichia</i> dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C) .....	78
<b>Figure 26 :</b> Variation temporelle des abondances cellulaires du genre <i>Klebsiella</i> dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C).....	81
<b>Figure 27 :</b> Variation temporelle des abondances cellulaires du genre <i>Proteus</i> dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C).....	85
<b>Figure 28 :</b> Variation temporelle des abondances cellulaires du genre <i>Salmonella</i> dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C).....	89
<b>Figure 29 :</b> Variation temporelle des abondances cellulaires du genre <i>Shigella</i> dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C).....	92
<b>Figure 30 :</b> Variation mensuelle de la Température des eaux usées (A), des cours d'eau (B) et des eaux souterraines (C).....	119
<b>Figure 31 :</b> Variation mensuelle du pH des eaux usées (A), des cours d'eau (B) et des eaux souterraines (C) .....	121
<b>Figure 32:</b> Variation mensuelle de la Conductivité électrique des eaux usées (A), des cours d'eau (B) et des eaux souterraines (C) .....	123
<b>Figure 33 :</b> Variation mensuelle des solides totaux dissous (TDS) dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C) .....	125
<b>Figure 34 :</b> Variation mensuelle des teneurs en Nitrates dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C).....	127
<b>Figure 35 :</b> Variation mensuelle des teneurs en Orthophosphates dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C).....	129
<b>Figure 36 :</b> Analyse en Composantes Principales (ACP) des données physico-chimiques et bactériologiques mesurées dans les différentes stations : (A) Histogramme des valeurs propres, (B) Diagramme de dispersion des variables ; (C) Biplot montrant la distribution des paramètres dans le plan factoriel F1x F2. ....	137
<b>Figure 37 :</b> Hiérarchisation des stations d'échantillonnage à partir des valeurs des paramètres physico-chimiques et bactériologiques.....	138

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Classification des espèces d'entérobactéries les plus fréquentes .....	7
<b>Tableau II</b> : Caractères d'identification biochimique des genres des entérobactéries les plus fréquemment rencontrées .....	10
<b>Tableau III</b> : Principales familles d'antibiotiques .....	14
<b>Tableau IV</b> : Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe ....	29
<b>Tableau V</b> : Caractéristiques des sites d'échantillonnage des eaux usées .....	43
<b>Tableau VI</b> : Caractéristiques des sites d'échantillonnage des cours d'eau.....	44
<b>Tableau VII</b> : Caractéristiques des sites d'échantillonnage des eaux souterraines.....	46
<b>Tableau VIII</b> : Grille d'interprétation du test biochimique classique.....	50
<b>Tableau IX</b> : Liste des antibiotiques testés .....	52
<b>Tableau X</b> : Caractères biochimiques des espèces identifiées .....	66
<b>Tableau XI</b> : Moyennes des abondances cellulaires des espèces de <i>Citrobacter</i> dans les différentes stations des biotopes aquatiques .....	72
<b>Tableau XII</b> : Moyennes des abondances cellulaires des espèces d' <i>Enterobacter</i> dans les différentes stations des biotopes aquatiques .....	76
<b>Tableau XIII</b> : Moyennes des abondances cellulaires d' <i>Escherichia coli</i> dans les différentes stations des biotopes aquatiques .....	79
<b>Tableau XIV</b> : Moyennes des abondances cellulaires des espèces de <i>Klebsiella</i> dans les différentes stations des biotopes aquatiques.....	83
<b>Tableau XV</b> : Moyennes des abondances cellulaires des espèces appartenant au genre <i>Proteus</i> dans les différentes stations des biotopes aquatiques .....	87
<b>Tableau XVI</b> : Moyennes des abondances cellulaires de l'espèce <i>Salmonella typhi</i> dans les différentes stations .....	90
<b>Tableau XVII</b> : Moyennes des abondances cellulaires des espèces de <i>Shigella</i> dans les différentes stations des biotopes aquatiques .....	94
<b>Tableau XVIII</b> : Pourcentage de susceptibilité aux antibiotiques chez les espèces d'entérobactéries isolées des eaux usées.....	96
<b>Tableau XIX</b> : Pourcentage de susceptibilité aux antibiotiques chez les espèces d'entérobactéries isolées des cours d'eau.....	99
<b>Tableau XX</b> : Pourcentage de susceptibilité aux antibiotiques chez les espèces d'entérobactéries isolées des eaux souterraines.....	102

<b>Tableau XXI</b> : Fréquence des souches d' <i>Enterobacteriaceae</i> multirésistantes isolées des eaux usées, des cours d'eau et des eaux souterraines.....	104
<b>Tableau XXII</b> : Répartition des index de la multirésistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries dans les différents biotopes aquatiques .....	105
<b>Tableau XXIII</b> : Répartition des souches d'entérobactéries selon les phénotypes de résistance .....	106
<b>Tableau XXIV</b> : Répartition des souches d'entérobactéries isolées des eaux usées selon l'espèce et le phénotype de résistance .....	107
<b>Tableau XXV</b> : Répartition des souches d'entérobactéries isolées des cours d'eau selon l'espèce et le phénotype de résistance .....	108
<b>Tableau XXVI</b> : Répartition des souches d'entérobactéries isolées des eaux souterraines selon l'espèce et le phénotype de résistance .....	109
<b>Tableau XXVII</b> : Concentration minimale inhibitrice des antimicrobiens vis-à-vis des espèces isolées des eaux usées .....	111
<b>Tableau XXVIII</b> : Concentration minimale inhibitrice des antimicrobiens vis-à-vis des espèces isolées des cours d'eau .....	113
<b>Tableau XXIX</b> : Concentration minimale inhibitrice moyenne des antimicrobiens vis-à-vis des espèces isolées dans les eaux souterraines .....	115
<b>Tableau XXX</b> : Concentrations combinées de la Gentamicine et du Bromo-Chloro-Flavone .....	116
<b>Tableau XXXI</b> : Concentration fractionnelle inhibitrice et effets produits .....	117
<b>Tableau XXXII</b> : Concentrations combinées de la Gentamicine et du Chloro-Flavone .....	117
<b>Tableau XXXIII</b> : Comparaison à partir du test « <i>U</i> » de Mann-Whitney entre les différents biotopes aquatiques .....	130
<b>Tableau XXXIV</b> : Coefficients de corrélation « <i>r</i> » de Spearman entre les paramètres physico-chimiques et les abondances cellulaires des espèces isolées des eaux usées .....	132
<b>Tableau XXXV</b> : Coefficients de corrélation « <i>r</i> » de Spearman entre les paramètres physicochimiques et les abondances bactériennes des espèces isolées dans les cours d'eau .....	134
<b>Tableau XXXVI</b> : Coefficients de corrélation « <i>r</i> » de Spearman entre les paramètres physico-chimiques et les abondances bactériennes des espèces isolées dans les eaux souterraines .....	135
<b>Tableau XXXVII</b> : Corrélations entre les paramètres physicochimiques et les diamètres d'inhibition des antibiotiques chez les entérobactéries isolées des eaux usées .....	142

<b>Tableau XXXVIII</b> : Corrélations entre les paramètres physicochimiques et les diamètres d'inhibition des antibiotiques chez les entérobactéries isolées des cours d'eau.....	147
<b>Tableau XXXIX</b> : Corrélation entre les paramètres physicochimiques et les diamètres d'inhibition des antibiotiques chez les entérobactéries isolées des eaux souterraines.....	151

## LISTE DES ANNEXES

<b>Annexe 1</b> : Abondances cellulaires minimales et maximales des espèces du genre <i>Citrobacter</i> .....	191
<b>Annexe 2</b> : Abondances cellulaires minimales et maximales des espèces du genre <i>Enterobacter</i> .....	191
<b>Annexe 3</b> : Abondances cellulaires minimales et maximales des espèces d' <i>Escherichia coli</i> .....	192
<b>Annexe 4</b> : Abondances cellulaires minimales et maximales des espèces du genre <i>Klebsiella</i> .....	193
<b>Annexe 5</b> : Abondances cellulaires minimales et maximales des espèces du genre <i>Proteus</i>	193
<b>Annexe 6</b> : Abondances cellulaires minimales et maximales de l'espèce <i>Salmonella typhi</i> .	194
<b>Annexe 7</b> : Abondances cellulaires minimales et maximales des espèces du genre <i>Shigella</i> .....	195

## RESUME

La prolifération des bactéries résistantes aux agents antimicrobiens constitue l'un des plus grands fléaux sanitaires au monde et les entérobactéries figurent parmi les plus redoutables fréquemment rencontrées dans les effluents hospitaliers. La présente étude vise à déterminer la diversité et la dynamique d'abondance des entérobactéries dans certains biotopes aquatiques de Yaoundé, leur susceptibilité vis-à-vis de quelques agents antimicrobiens et l'influence des paramètres environnementaux sur cette susceptibilité. Les échantillonnages d'eau ont été réalisés à la fréquence mensuelle pendant 13 mois, et 18 points de prélèvement ont été choisis et repartis comme suit : 4 points de rejet provenant des stations d'épuration d'eaux usées, 9 points sur les cours d'eau recevant les rejets des stations d'épuration précédentes et 5 points provenant des eaux souterraines situées à proximité des stations d'épuration. Les analyses ont porté sur l'isolement des entérobactéries par la méthode classique d'étalement en surface sur milieux de culture spécifiques et leur identification par les tests biochimiques classiques et sur galerie API 20<sup>E</sup>. Les tests d'antibiogramme par les méthodes de diffusion de disque sur la gélose Müller-Hinton et de microdilution ont été réalisés. Les paramètres physico-chimiques des échantillons d'eau ont été analysés à l'aide des appareillages appropriés. Les comparaisons des abondances bactériennes ainsi que le rôle des facteurs abiotiques sur leur susceptibilité aux antibiotiques ont été faites à l'aide des tests appropriés. Il en ressort que les abondances des entérobactéries ont varié de  $3 \times 10^4$  à  $171 \times 10^5$  UFC/100 mL dans les eaux usées, de  $176 \times 10^3$  à  $159 \times 10^5$  UFC/100 mL dans les cours d'eau, et de 0 à  $122 \times 10^4$  UFC/100 mL dans les eaux souterraines. Un total de 7 genres (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* et *Shigella*) et de 17 espèces (*Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, et *Shigella sonnei*) ont été identifiés dans les différents biotopes aquatiques. Parmi ces entérobactéries, le genre *Shigella* et l'espèce *Shigella sonnei* sont les plus abondantes dans tous les milieux aquatiques étudiés. Le test de comparaison « H » de Kruskal-Wallis a montré qu'il existe des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les abondances des espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* dans les 3 biotopes aquatiques. Une similarité de l'ordre de 87,45% a été notée entre les eaux usées et les cours d'eau. Les antibiogrammes ont montré que les souches des différentes espèces d'entérobactéries

expriment des résistances à l'ensemble des antibiotiques des familles des  $\beta$ -lactamines, Quinolones, Aminoglycosides et des Sulfamides. Les pourcentages de résistance des entérobactéries aux familles d'antibiotiques ont varié de 93,12% à 98,48% vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines, de 93,08% à 98,48% contre les Quinolones, de 79,48% à 89,28% contre les Aminoglycosides, et de 91,26% à 94,49% vis-à-vis des Sulfamides et autres. Les souches isolées ont été multirésistantes, et l'index de multirésistance a varié de 0,91 à 0,95 pour les espèces isolées des eaux usées ; de 0,65 à 0,92 pour les espèces des cours d'eau ; et de 0,65 à 0,81 pour celles des eaux souterraines. Les phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines observés ont été les  $\beta$ -lactamases à Spectre Elargi, les Temoneira Bêta-lactamase, les Pénicillinases de bas et de Haut Niveau, les Céphalosporinases de Bas et de Haut Niveau. La Concentration Minimale Inhibitrice de l'Amoxicilline+acide clavulanique, du Ceftriaxone, de la Norfloxacin, de la Ciprofloxacine, de la Gentamicine et du Triméthoprime/Sulfaméthoxazole a été de 39,06  $\mu\text{g/mL}$  sur les souches isolées des eaux usées et des cours d'eau, et a varié de 2,44 à 19,53  $\mu\text{g/mL}$  sur les espèces isolées des eaux souterraines. Cependant, celle des flavonoïdes a été de 125  $\mu\text{g/mL}$  sur toutes les souches testées. Avec la combinaison du Bromo-Chloro-Flavone et de la Gentamicine, la concentration fractionnelle inhibitrice a été de 0,37  $\mu\text{g/mL}$ . Des corrélations significatives ( $P < 0,05$ ) ont été observées entre les paramètres physico-chimiques considérés et les diamètres d'inhibition des antibiotiques, montrant ainsi l'influence des facteurs abiotiques sur la susceptibilité des entérobactéries aux antibiotiques.

**Mots clés :** abondance, biotopes aquatiques, diversité, entérobactéries, facteurs abiotiques, susceptibilité aux antibiotiques.

## ABSTRACT

The increase in chemically resistant bacteria is one of the world's greatest health scourges, and enterobacteria are among the most feared bacteria that are frequently encountered in hospital effluents. The present study was aimed at determining the diversity and abundance dynamics of enterobacteria in various water bodies of Yaounde, then assessing their susceptibility to some antimicrobial agents and the influence of some environmental parameters affecting this susceptibility. Water sampling was carried out for 13 months at a monthly frequency, 18 sampling points were chosen and distributed as follows: 4 discharge points from wastewater treatment plants, 9 points on the rivers receiving discharges from the treatment plants and 5 points from groundwater located near wastewater treatment plants. The analyses focused on the search for and isolation of enterobacteria by classic surface spreading methods on specific culture media and their identification by classic biochemical tests and on API 20<sup>E</sup> gallery. Antibiotic susceptibility tests through disk diffusion method on Müller-Hinton agar and by microdilution method were performed. The physico-chemical parameters of the water samples were analysed using the appropriate equipment and standard methods. Comparisons of microbial abundance and the role of abiotic factors on bacterial susceptibility to antibiotics were made using appropriate statistical tests. It was found that the abundances of enterobacteria ranged from  $3 \times 10^4$  to  $171 \times 10^5$  CFU/100 mL in wastewater,  $176 \times 10^3$  to  $159 \times 10^5$  CFU/100 mL in stream, and 0 to  $122 \times 10^4$  CFU/100 mL in groundwater. A total of 7 bacteria genera (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* and *Shigella*) comprising 17 species (*Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, and *Shigella sonnei*) were identified in the 3 aquatic biotopes. Among these enterobacteria, *Shigella sonnei* was the most abundant in all aquatic environments studied. The Kruskal-Wallis "H" comparison test showed that there were significant differences ( $P < 0.05$ ) between the abundances of enterobacteria species in different biotopes. A similarity of 87.45% was noted between wastewater and streams. The antibiograms showed that the strains of the different species expressed resistance to all the antibiotics of the  $\beta$ -lactam, Quinolone, Aminoglycoside and Sulfonamide families. The resistance of enterobacteria to families of antibiotics ranged from 93.12% to 98.48% for  $\beta$ -lactams, 93.08% to 98.48% for Quinolones, 79.48% to 89.28% for Aminoglycosides, and 91.26% to 94.49% for

Sulfonamides and others. The most resistant strains were isolated from wastewater and stream. The multidrug resistance of the tested strains ranged from 0.91 to 0.95; from 0.65 to 0.92; and from 0.65 to 0.81 for species isolated from wastewater, stream and groundwater respectively. The  $\beta$ -lactam resistant phenotypes were of Broad Spectrum  $\beta$ -lactamases, Inhibitor Resistant Beta-lactamase Temoneira, Low- and High-Level Penicillinases, Low and High Level Cephalosporinases. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) to Amoxicillin+clavulanic acid, Ceftriaxone, Norfloxacin, Ciprofloxacin, Gentamicin and Trimethoprim/Sulfamethoxazole was 39.06  $\mu\text{g/mL}$  on strains isolated from sewage and stream, and ranged from 2.44 to 19.53  $\mu\text{g/mL}$  on species isolated from groundwater. The MIC for flavonoids was 125  $\mu\text{g/mL}$ . The combination of Bromo-Chloro-Flavone and Gentamicin revealed a fractional inhibitory concentration of 0.37  $\mu\text{g/mL}$ . Significant correlations ( $P < 0.05$ ) were observed between the abiotic parameters considered and the inhibition diameters of the antibiotics, thus indicating the influence of these abiotic factors on the susceptibility of enterobacteria to antibiotics.

**Key words:** abiotic factors, abundance, antibiotic susceptibility, aquatics biotics, diversity, enterobacteria.



# **INTRODUCTION**

La résistance aux antibiotiques est en constante augmentation dans le monde et pose un problème de santé publique majeur. Cette situation sanitaire qui s'accroît au fil des jours s'est aggravée avec la recrudescence des bactéries résistantes, qui ont été identifiées comme l'un des plus grands fléaux sanitaires mondiaux (Hayward *et al.*, 2020). Au cours de la dernière décennie, les systèmes de surveillance des résistances dans les établissements sanitaires ont montré un accroissement de l'antibiorésistance chez les bactéries (Ebongue *et al.*, 2014), en particulier celles appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*.

Les entérobactéries sont des bactéries à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs, retrouvés partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'Homme et des animaux à sang chaud. Elles constituent une famille bactérienne hétérogène comprenant un nombre très élevé de genres et d'espèces. Une proportion importante des bactéries isolées des eaux douces, des effluents provenant des municipalités, des industries, des activités vétérinaires, des hôpitaux et des sources de traitement secondaires appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (Njiné *et al.*, 2001 ; Galvin *et al.*, 2010 ; Harris *et al.*, 2014). Les rejets des effluents conduisent souvent à la contamination des milieux aquatiques naturels et par conséquent à l'accroissement du taux des maladies hydriques (Garcia-Armisen *et al.*, 2011).

Chaque année, les maladies d'origine hydrique causées par des organismes microscopiques touchent des centaines de millions de personnes, principalement celles n'ayant pas accès à l'eau potable et à un système d'assainissement adéquat (WHO, 2021). Certains agents pathogènes d'origine hydrique sont omniprésents et la plupart des bactéries concernées appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (Cabral, 2010 ; Magana-Arachchi et Wanigatunge, 2010 ; Saxena *et al.*, 2015). Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité et l'acquisition fréquente des mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus impliquées dans les pathologies infectieuses humaines et dont le traitement nécessite les antibiotiques (Savadago et Boubkeri, 2016).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces molécules entraîne la sélection de souches multirésistantes d'où l'utilisation d'autres antimicrobiens comme les flavonoïdes connus pour leur effet bactéricide et bactériostatique (Billing et Sherman, 1998).

L'efficacité des antimicrobiens en général est influencée par de nombreux facteurs, notamment le statut bactérien (sensibilité et résistance, tolérance, persistance, biofilm), la

taille de l'inoculum, les concentrations d'antimicrobiens (fenêtre de sélection des mutants et concentration sub-inhibitrice) et les facteurs liés à l'hôte (Li *et al.*, 2017). Parmi ces facteurs, le statut bactérien est le principal de par ses phénotypes de sensibilité et de résistance en cas d'exposition aux antibiotiques (Brauner *et al.*, 2016).

Les origines de la résistance aux antibiotiques pourraient résulter soit d'une modification génétique au cours de laquelle des mutations aléatoires des gènes codant pour les enzymes peuvent donner naissance à des catalyseurs modifiés avec des spectres de résistance de plus en plus étendus, soit d'une résistance intrinsèque qui fait référence à l'existence de gènes dans les génomes bactériens qui pourraient générer un phénotype de résistance (Gniadkowski, 2008 ; Davies et Davies, 2010). Les bactéries peuvent donc être naturellement résistantes à certains antibiotiques, d'autres, en revanche, développent une résistance par des mutations génétiques induites par l'exposition aux antibiotiques. La résistance aux antibiotiques a la possibilité de se propager, étant donné la facilité d'échange du matériel génétique entre les espèces bactériennes (Roberts et Zembower, 2021).

Les entérobactéries développent plusieurs formes de résistance aux antibiotiques dont la principale est la sécrétion des enzymes hydrolysant les antibiotiques (Kulkarni *et al.*, 2015 ; Li *et al.*, 2015). Auparavant, les germes résistants étaient rencontrés dans les centres hospitaliers ; mais aujourd'hui, ils sont de plus en plus détectés dans l'environnement, sans lien particulier avec les établissements de santé (Kumar et Schwezer, 2005). Leur présence dans l'environnement provient plutôt de l'augmentation de la fréquence de portage humain des bactéries résistantes aux antibiotiques favorisant l'échange et la dissémination des gènes de résistance via les eaux usées pouvant contaminer les cours d'eaux et les eaux souterraines (Dyar *et al.*, 2012 ; Bertrand, 2013 ; Machado *et al.*, 2013). Les gènes de résistance peuvent également provenir des microbes producteurs d'antibiotiques ou de ceux qui cohabitent avec eux dans l'environnement (D'Costa *et al.*, 2011).

Galvin *et al.* (2010) et Harris *et al.* (2014) ont montré dans leurs travaux que les effluents municipaux et hospitaliers, les sources de traitement secondaires, les eaux de surface et les eaux souterraines hébergent les entérobactéries. Ces rejets, ainsi que les activités vétérinaires et les bactéries fécales dans l'environnement conduisent systématiquement à la contamination des milieux aquatiques naturels (Garcia-Armisen *et al.*, 2011 ; Garcia-Armisen *et al.*, 2013 ; Sidrach-Cardona et Bécares, 2014).

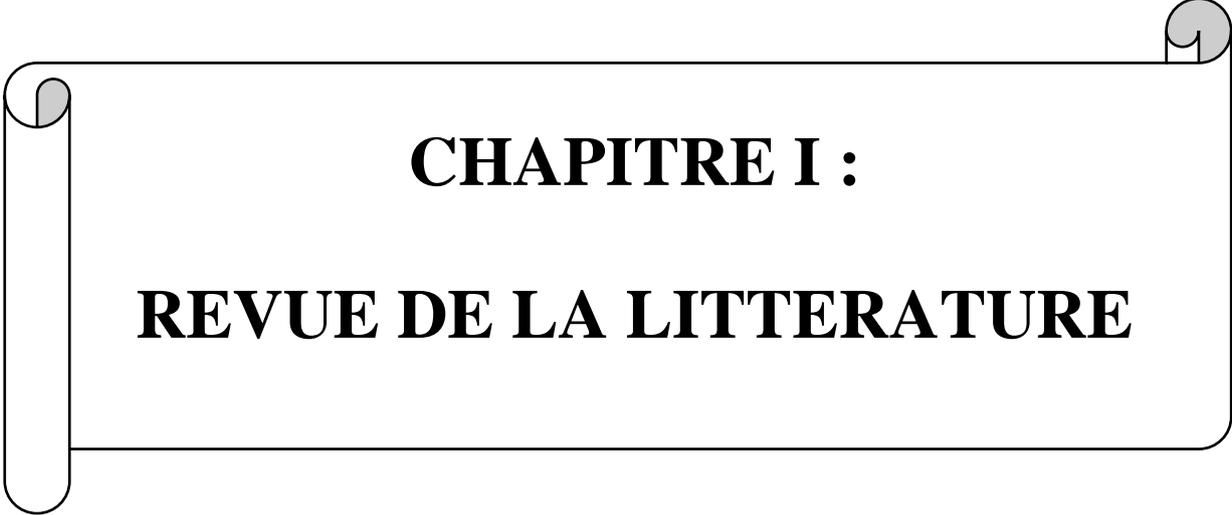
Des études réalisées par Toukam *et al.* (2010) et Cecile *et al.* (2015) dans les eaux usées hospitalières au Cameroun ont montré que de nombreuses bactéries, notamment les entérobactéries et les staphylocoques présentent des profils de résistance à plusieurs familles d'antibiotiques à l'instar des  $\beta$ -lactamines et des Quinolones. Certains auteurs ont également étudié le profil de résistance des familles d'antibiotiques sur les germes bactériens comme *Aeromonas* et *Pseudomonas* isolés dans les eaux souterraines et superficielles, et ont montré que la susceptibilité aux antibiotiques pourrait être influencée par de nombreux facteurs abiotiques (Signe *et al.*, 2015 ; Chelkia et Gueriani, 2019 ; Eheth *et al.*, 2019 ; Eheth, 2021).

Plusieurs travaux à l'instar de ceux de Brauner *et al.* (2016) ont été menés sur la sensibilité aux antibiotiques qui est le principal déterminant de l'activité antimicrobienne communément recherchée chez les bactéries. Certains auteurs comme Martini *et al.* (2004) ont également montré que les dérivés de flavonoïdes ont une activité antimicrobienne pouvant contribuer à la lutte contre la résistance des bactéries aux antibiotiques. Cependant, on se demanderait si la nature du milieu aquatique n'aurait pas une influence sur la résistance des bactéries aux antibiotiques. Peu d'études ont été réalisées sur l'impact des facteurs abiotiques de l'eau, et sur la sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques. Aussi, des travaux portant sur d'autres caractéristiques de l'activité antimicrobienne ainsi que l'effet combiné des antimicrobiens sont moins connus. De ce fait, la présente étude vise à déterminer la diversité et la dynamique d'abondance des entérobactéries dans certains biotopes aquatiques de Yaoundé, ainsi que leur susceptibilité vis-à-vis de quelques agents antimicrobiens.

Plus spécifiquement il s'est agi de :

- dénombrer les genres et espèces d'entérobactéries isolées dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines de Yaoundé ;
- caractériser la susceptibilité de ces bactéries aux antibiotiques et à quelques dérivés de flavonoïdes, ainsi que l'effet combiné de ces antimicrobiens sur les souches bactériennes résistantes ;
- évaluer l'impact de certains facteurs abiotiques sur l'activité antimicrobienne des molécules testées.

Outre cette introduction, le présent travail de thèse s'articule autour de trois chapitres dont le premier est consacré à la revue de la littérature ; le deuxième quant à lui présente le matériel et les méthodes utilisés ; tandis que le troisième chapitre expose les résultats, leur interprétation et la discussion qui en découle. À la suite du dernier chapitre s'en suit une conclusion, des recommandations et des perspectives de recherche.



**CHAPITRE I :**  
**REVUE DE LA LITTERATURE**

## I.1- Généralités sur les entérobactéries

### I.1.1- Définition

Les entérobactéries sont des bactéries usuellement rencontrées en bactériologie médicale et plus spécifiquement en pathologie infectieuse et la bio-industrie (Cristian, 2008). Elles sont ubiquitaires et constituent l'une des plus importantes familles des bactéries car très hétérogène. D'après la définition bactériologique, les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif de dimension variée, aéro-anaérobies facultatifs, mobiles ou immobiles (Sougakoff et Trystram, 2003 ; Bousseboua, 2005).

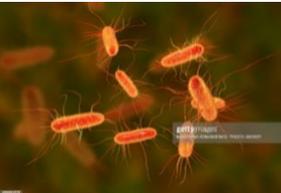
### I.1.2- Classification justifiée des entérobactéries

Selon Boone et *al.* (2001), les subdivisions hiérarchiques de classification des entérobactéries sont les suivantes :

<b>Rang taxonomique</b>	<b>Classification</b>	<b>Justification</b>
Domaine :	<i>Bacteria</i>	Microorganisme vivant formé d'une seule cellule, sans noyau, à structure très simple
Embranchement :	<i>Proteobacteria</i>	Bactéries chimiohétérotrophes à Gram négatif qui possède une séquence distinctive d'ARNr
Classe :	<i>Gammaproteobacteria</i>	Groupe de bactéries Gram négatives d'intérêt médical, écologique et scientifique
Ordre :	<i>Enterobacteriales</i>	Bactéries Gram négatives, non sporulées, anaérobies facultatives en forme de bâtonnet
Famille :	<i>Enterobacteriaceae</i>	Bacilles Gram négatifs, mobiles ou non, abondants dans l'environnement et le tube digestif des mammifères

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend plus de 100 espèces répertoriées (Mendaci et Mihoubi, 2015). Les espèces les plus communément isolées appartiennent à 12 genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*. Ces espèces sont classées comme suit (tableau I) (Joly et Reynaud, 2003) :

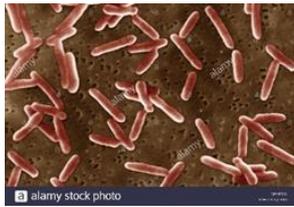
**Tableau I** : Classification des espèces d'entérobactéries les plus fréquentes (Joly et Reynaud, 2003)

Genres	Photos des germes observés au microscope	Espèces
<i>Citrobacter</i>	 <p data-bbox="454 517 927 551"><a href="https://www.shutterstock.com">https://www.shutterstock.com</a> 10/06/2011</p>	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Citrobacter diversus</i>
<i>Salmonella</i>	 <p data-bbox="523 752 952 786"><a href="https://www.gettyimage.fr">https://www.gettyimage.fr</a> 10/06/2011</p>	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi</i> <i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Escherichia</i>	 <p data-bbox="477 999 906 1032"><a href="https://www.gettyimage.fr">https://www.gettyimage.fr</a> 10/06/2011</p>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Shigella</i>	 <p data-bbox="454 1234 927 1267"><a href="https://www.shutterstock.com">https://www.shutterstock.com</a> 10/06/2011</p>	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonnei</i>
<i>Hafnia</i>	 <p data-bbox="443 1404 940 1438"><a href="https://www.global-engage.com">https://www.global-engage.com</a> 03/09/2012</p>	<i>Hafnia alvei</i>
<i>Klebsiella</i>	 <p data-bbox="426 1624 956 1657"><a href="https://www.antibio-responsable.fr">https://www.antibio-responsable.fr</a> 12/06/2011</p>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Enterobacter</i>	 <p data-bbox="464 1823 919 1856"><a href="https://www.alamyimages.fr">https://www.alamyimages.fr</a> 02/07/2012</p>	<i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Serratia</i>		<i>Serratia marcescens</i>

---

<https://www.alamyimages.fr> 11/06/2011

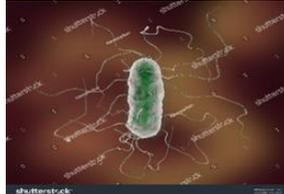
*Morganella*



*Morganella morganii*

<https://www.alamyimages.fr> 12/08/2011

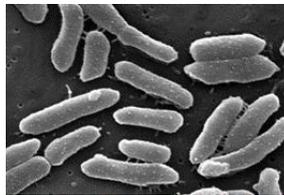
*Proteus*



*Proteus mirabilis*  
*Proteus vulgaris*  
*Proteus rettgeri*

<https://www.alamyimages.fr> 10/03/2012

*Providencia*



*Providencia stuartii*  
*Providencia alcalifaciens*

<https://www.alamyimages.fr> 02/04/2011

*Yersinia*



*Yersinia enterocolitica*  
*Yersinia pseudotuberculosis*

<https://www.sciencephoto.com> 03/10/2012

---

### I.1.3- Habitat

Les entérobactéries sont des hôtes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux où ils sont retrouvés soit à l'état de pathogène, soit à l'état de commensaux. Chez l'homme, elles font parties le plus souvent de la flore commensale du système digestif et pouvant devenir pathogènes opportunistes (Salah, 2015). On les retrouve également dans l'environnement (sols, eau) où ils participent à la dégradation des matières organiques, à l'altération des plantes suite à des nécroses, à une dégénérescence ou à un ramollissement (Drame, 2001 ; Cristian, 2008). Les genres plus récemment décrits sont plutôt des bactéries de l'environnement (Mendaci et Mihoubi, 2015) confirmant ainsi leur présence dans la nature.

## **I.1.4- Caractères généraux des entérobactéries**

L'identification des entérobactéries se fait essentiellement par l'étude des caractères morphologiques, culturels, biochimiques et antigéniques.

### **I.1.4.1- Caractères morphologiques**

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement singulière de type bacilles à Gram négatif de 2-3 $\mu$  de long sur 0,6 $\mu$  de large, généralement polymorphes (Kassama et Hamadi, 2013). De nombreuses espèces sont mobiles grâce à une ciliature péritriche (*Salmonella*), et d'autres sont immobiles (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia*). La présence d'une capsule visible au microscope est habituelle chez les Klebsiellales. La plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des fimbriae ou pili qui sont des facteurs d'adhésion (Bakhoun, 2004).

### **I.1.4.2- Caractères culturels**

Les entérobactéries poussent facilement aussi bien en bouillon que sur milieux gélosés ordinaires après une incubation de 18 à 24 heures à 37°C en aérobie et en anaérobie, donnant différents types de colonies que sont :

- colonies de types S (Smooth) : colonies lisses, bombées, brillantes et humides sur milieu solide et en milieu liquide, le bouillon est trouble et homogène ;
- colonies de types R (Rough) : colonies rugueuses, sèches à contours irréguliers et de teinte mate sur milieu solide et en milieu liquide, le bouillon a un aspect grumeleux ;
- colonies de types M (Muqueuses) ayant une tendance à la confluence (Bakhoun, 2004 ; Delarass, 2007 ; Salah, 2015).

### **I.1.4.3- Caractères biochimiques**

Les germes de la famille des *Enterobacteriaceae* ont des caractères biochimiques communs à savoir : aéro-anaérobie et de type fermentatif du glucose (respiration aérobie le plus souvent et fermentation en anaérobie) avec souvent production de gaz ; réduisant en général les nitrates en nitrites ; habituellement catalase (+) et dépourvus d'oxydase ; mobiles ou immobiles (Delarass, 2007 ; Kassama et Hamadi, 2013).

Les différences entre les genres et les espèces viennent de critères plus précis à savoir : la fermentation des différents sucres ; la production ou non de sulfures ; la présence ou

l'absence des enzymes ( $\beta$ -galactosidase, désaminase, décarboxylase) ; le type de fermentation (acide mixte ou 2,3-butanédiol) (tableau II) (Madigan et Martinko, 2007).

**Tableau II :** Caractères d'identification biochimique des genres des entérobactéries les plus fréquemment rencontrées (Madigan et Martinko, 2007)

	<i>Escherichia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mobilité	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
H <sub>2</sub> S	-	+/-	-	-	-	+	-	-	-	-
VP	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-

(+) : positif ; (-) : négatif ; (+/-) : variable ; ONPG : Ortho-Nitro-Phényl- $\beta$ -D-Galactopyranoside ; H<sub>2</sub>S : Sulfure d'hydrogène ; VP : Voges-Proskauer ; TDA : Tryptophane Désaminase

#### I.1.4.4- Caractères antigéniques

L'étude des caractères antigéniques permet d'individualiser les espèces au sein de chaque genre. Les entérobactéries possèdent toutes des antigènes de paroi « somatiques » ou antigènes O, certains possèdent des antigènes de surface tel que les adhésines et les antigènes d'enveloppe ou antigènes K, et celles qui sont mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle « flagellaires » ou antigènes H. On peut identifier ces antigènes par plusieurs techniques dont la plus courante est l'agglutination sur lame avec des sérums spécifiques : la présence d'une agglutination indique qu'il y a correspondance entre le sérum utilisé et un antigène de la souche étudiée.

#### I.1.4.5- Facteurs influençant la survie et la croissance des entérobactéries dans les eaux

La dynamique des entérobactéries dans l'eau peut être traduite par sa croissance dans l'espace et/ou le temps, ceci en fonction de certains facteurs abiotiques et biotiques que sont :

- **la température** : c'est l'un des facteurs importants qui assurent la croissance bactérienne dans l'eau. Les entérobactéries étant mésophiles (taux de croissance optimum vers 30 - 40°C), leur taux de croissance augmente avec la température de l'eau (Bouteleux, 2005) ;
- **le pH** : la croissance des entérobactéries dépend de la variation du pH du milieu. Cette croissance est optimale lorsque le pH est compris entre 7,4 et 8,2 U.C (Grandjean, 2004) ;
- **les nutriments bactériens** : les entérobactéries requièrent la présence des différents éléments incluant le carbone (qui sert de source d'énergie), d'azote et de phosphore (nécessaire pour la biosynthèse) pour croître (Boualam *et al.*, 2002) ;
- **les désinfectants** : les désinfectants tels que le chlore, la monochloramine rejetés dans l'environnement aquatique sont susceptibles d'impacter la croissance des entérobactéries bien qu'ils n'aient pas la capacité à interagir avec les bactéries (Bouteleux, 2005) ;
- **la présence d'autres microorganismes** : la présence d'autres microorganismes à l'instar de *Pseudomonas* est susceptible/capable d'inhiber la croissance des entérobactéries (Ramalho *et al.*, 2001). L'activité des protozoaires a également été suggérée par Sibille *et al.* (1998) comme pouvant diminuer les concentrations bactériennes dans l'eau.

#### **I.1.4.6- Pathogénicité, mode de contamination et facteurs de virulence des entérobactéries**

Les entérobactéries sont les principales bactéries retrouvées en pathogénicité humaine ou animale, en milieu communautaire ou hospitalier. Certaines espèces sont des pathogènes stricts (ex : *Shigella sp.*) alors que d'autres sont des pathogènes occasionnels ou opportunistes (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*). Elles peuvent être responsables de nombreuses pathologies, telles que des infections urinaires, pulmonaires, abdominales mais également de sepsis graves. Du fait de leur capacité à acquérir du matériel génétique et de leur fort potentiel de diffusion, les entérobactéries peuvent être à l'origine d'épidémies nosocomiales et faire l'objet d'une surveillance particulière (Lecour, 2017). Elles représentent la deuxième cause d'infections graves après les cocci à Gram positif (Mendaci et Mihoubi, 2015).

Les contaminations aux souches d'entérobactéries se font soit par contact direct par absorption d'eau ou d'aliments souillés par les selles des malades ou des porteurs sains ; soit

par contact indirect via l'environnement ou les objets contaminés. Certaines souches à l'instar de *Klebsiella* sont beaucoup plus transmises en milieu hospitalier par contact direct avec les patients ou les soignants (Philippon et Arlet, 2006).

Les entérobactéries élaborent de nombreux facteurs de virulence qui leur permettent de survivre aussi bien dans les différents hôtes que dans l'environnement (Mainil, 2003). Ces facteurs de virulence sont impliqués dans les différentes étapes du processus d'infection et permettent aux entérobactéries de coloniser son hôte. Ils comprennent notamment les adhésines (flagelle, pili, fimbriae), impliquées dans l'adhérence et la mobilité des entérobactéries (Loukiadis, 2007). D'autres facteurs de virulence comprennent des toxines et des protéases qui provoquent des lésions tissulaires facilitant aussi la multiplication et la dissémination bactérienne dans les tissus de l'hôte.

#### **I.1.4.7- Antibiorésistance chez les entérobactéries**

Les entérobactéries ont une résistance naturelle à certaines familles d'antibiotiques. De nombreuses classes d'antibiotiques restent cependant actives comme la plupart des Bêta-lactamines, les Aminoglycosides, les Tétracyclines, les Quinolones et les Sulfamides (Mendaci et Mihoubi, 2015). La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries varie selon les souches.

Les souches *Escherichia coli* sont généralement sensibles aux principaux antibiotiques tels que les Amino-pénicillines, les Céphalosporines, les Quinolones et les Aminosides. Cependant, un certain nombre de souches peuvent acquérir des résistances multiples aux antibiotiques par production de Pénicillinase de bas et haut niveau, de Céphalosporinase et de Bêta-Lactamase à Spectre Elargi (Sougakoff et Trystram, 2003).

Les *Klebsiella* sont naturellement résistants aux pénicillines (Ampicilline, Ticarcilline, Pipéracilline) et normalement sensibles aux Céphalosporines. Des enzymes bêta-lactamases TEM-3 et SHV-2 rendent les souches qui les produisent résistantes aux Uréidopénicillines et à toutes les Céphalosporines et aux Monobactames (Sougakoff et Trystram, 2003).

Les *Enterobacter* ont une résistance naturelle à l'Ampicilline, à la Céphalotine et à la Céfoxitine. Il peut produire une bêta-lactamase induite à la suite d'un traitement par les Céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération (Mendaci et Mihoubi, 2015).

Les *Proteus* révèlent une résistance naturelle à la Colistine et aux Tétracyclines ; les *Providencia* sont résistantes à l'Ampicilline et aux Céphalosporines de première génération, souvent à la Gentamicine et à la Tobramycine ; les *Morganella* sont résistantes à la Colistine, à l'Ampicilline et aux Céphalosporines de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> générations. Les entérobactéries TDA<sup>+</sup> restent néanmoins généralement sensibles aux Céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, à l'Amikacine et aux Fluoroquinolones (Sougakoff et Trystram, 2003).

Les *Serratia* et *Citrobacter* développent une résistance à toutes les Céphalosporines et restent sensibles aux Carbapénèmes. Les *Salmonella* et *Shigella* sont naturellement sensibles aux Aminopénicillines, Carboxypénicillines, Uréïdopénicillines, à l'Aztréonam, aux Céphalosporines et aux Carbapénèmes (Haouachi, 2018).

## **I.2- Généralités sur les antimicrobiens**

### **I.2.1- Généralités sur les antibiotiques**

#### **I.2.1.1- Définition des antibiotiques**

Du grec *anti* : « contre » et *bios*: «la vie». Au sens strict, les antibiotiques sont des agents antibactériens naturels ou synthétiques ; capables de tuer les micro-organismes ou d'inhiber leur croissance à des concentrations tolérées par l'hôte (Regnault, 2002). Les produits employés actuellement sont des dérivés semi-synthétiques préparés par modification de produits de base naturels (Ndiaye, 2005). La pénicilline est le premier antibiotique découvert par Flemming en 1928 à partir du champignon *Penicillium notatum*.

#### **I.2.1.2- Classification des antibiotiques**

Actuellement, il existe un nombre très important d'antibiotiques qui peuvent être classés selon plusieurs critères à savoir : leur origine, leur activité antibactérienne, leur structure chimique (leur famille). Une famille d'antibiotiques regroupe des composés dont les structures chimiques sont proches. Les modes d'action, ainsi que les spectres d'action, sont aussi semblables. Cette famille pourra ensuite être subdivisée en groupes et en sous-groupes (Agregé *et al.*, 2015).

##### **I.2.1.2.1- Classification des antibiotiques selon l'origine**

On distingue trois grands groupes d'antibiotiques :

- les antibiotiques naturels élaborés par les micro-organismes : des champignons inférieurs (*Penicillium*, *Cephalosporium*); des bactéries (*Bacillus* et surtout *Streptomyces* (90% des antibiotiques sont produits par des *Streptomyces*));
- les antibiotiques hémisynthétiques ou de semi-synthèse qui résultent de la transformation chimique des composés naturels ;
- les antibiotiques synthétiques obtenus par synthèse chimique (Agregé *et al.*, 2015).

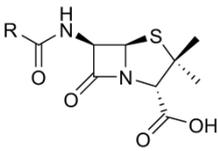
#### I.2.1.2.2- Classification des antibiotiques selon leur spectre d'activité

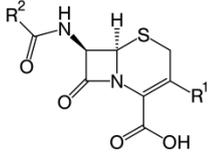
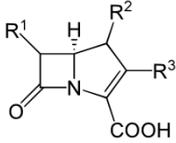
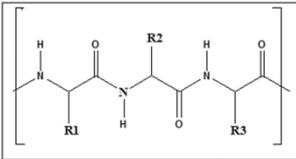
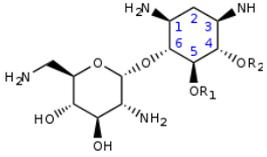
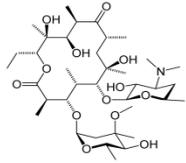
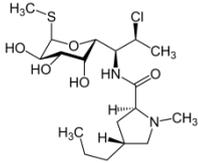
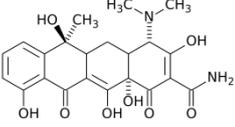
Le spectre d'activité d'un anti-infectieux correspond à l'ensemble des espèces bactériennes qui lui sont sensibles. Lorsque le spectre d'activité est limité à un certain nombre d'espèces bactériennes, il est dit « étroit », tandis qu'un antibiotique actif sur de nombreuses bactéries est dit à spectre « large ». Enfin, une bactérie insensible à un antibiotique est définie comme étant résistante. Un antibiotique à spectre large agit sur un grand nombre de bactéries (sur les bacilles et coques Gram + et Gram -). Un antibiotique à spectre étroit agit seulement sur les bacilles et coques Gram + ou Gram - (Agregé *et al.*, 2015).

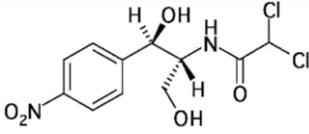
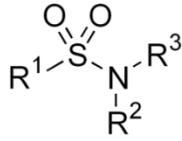
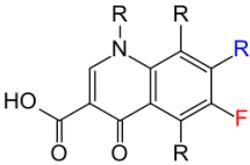
#### I.2.1.2.3- Classification des antibiotiques selon leur structure chimique ou famille

Cette classification est la plus utilisée et regroupe des produits ayant des caractéristiques communes : de structure, de spectre d'activité, de cible moléculaire bactérienne, de sensibilité à des mécanismes de résistance (résistances croisées) et d'indications cliniques (tableau III). Cependant, il faut noter qu'il existe des antibiotiques « orphelins », n'appartenant à aucune famille tels que l'acide fusidique, la fosfomycine.

**Tableau III :** Principales familles d'antibiotiques (Agregé *et al.*, 2015)

Familles	Sous-familles	Structure chimique	Molécule(s)
			Pénicilline G
	Pénicillines		Oxacilline et Cloxacilline (groupe M)
			Ampicilline et amoxicilline (groupe A)
	Céphalosporines		Céfalotine, Cefalexine, Céfatrizine (1 <sup>ère</sup> génération)
			Céfamandole, Céfuroxime

Bêta-lactamines		<p>(2<sup>ème</sup> génération) Céftriaxone, Céfixime, Céfotaxime, Ceftazidime</p> <p>(3<sup>ème</sup> génération) Cefpirome, Céfépime</p> <p>(4<sup>ème</sup> génération) Ceftaroline, Ceftobiprome</p> <p>(5<sup>ème</sup> génération)</p>	
Carbapénèmes		<p>Imipénème, Méropénème, Ertapénème, Doripénème</p>	
Polypeptides	Monobactame		<p>Aztréonam Colistine, Bacitracine</p>
Aminosides			<p>Streptomycine, Kanamycine, Apramycine, Gentamicine, Néomycine, Amikacine Spectinomycine</p>
Macrolides			<p>Erythromycine, Spiramycine, Tylosine, Tilmicosin</p>
Apparentés aux Macrolides	Lincosamides		<p>Lincomycine, Clindamycine</p>
Tétracyclines			<p>Chlortétracycline, Oxytétracycline, Doxycycline</p>

Phénicolés		Florfenicol, Chloramphenicol et Thiamphenicol
Sulfamides		Sulfaguanidine, Sulfadimidine, Sulfadiméthoxine, Sulfaméthoxazole
Quinolones		Acides nalidixique et oxolinique (1 <sup>ère</sup> génération) Fluméquine (2 <sup>ème</sup> génération) Enro-, dano-, marbo-, difloxacin (3 <sup>ème</sup> génération)

### I.2.1.3- Mode d'action

Les antibiotiques bloquent de manière spécifique les processus métaboliques vitaux des bactéries sensibles et arrêtent ainsi leur multiplication, le plus souvent seulement temporairement (effet bactériostatique) mais parfois définitivement (effet bactéricide). Il existe différents types d'antibiotiques capables d'agir sur les bactéries selon différents mécanismes (Gaudy, 2005). La figure 1 présente les cibles bactériennes des antibiotiques.

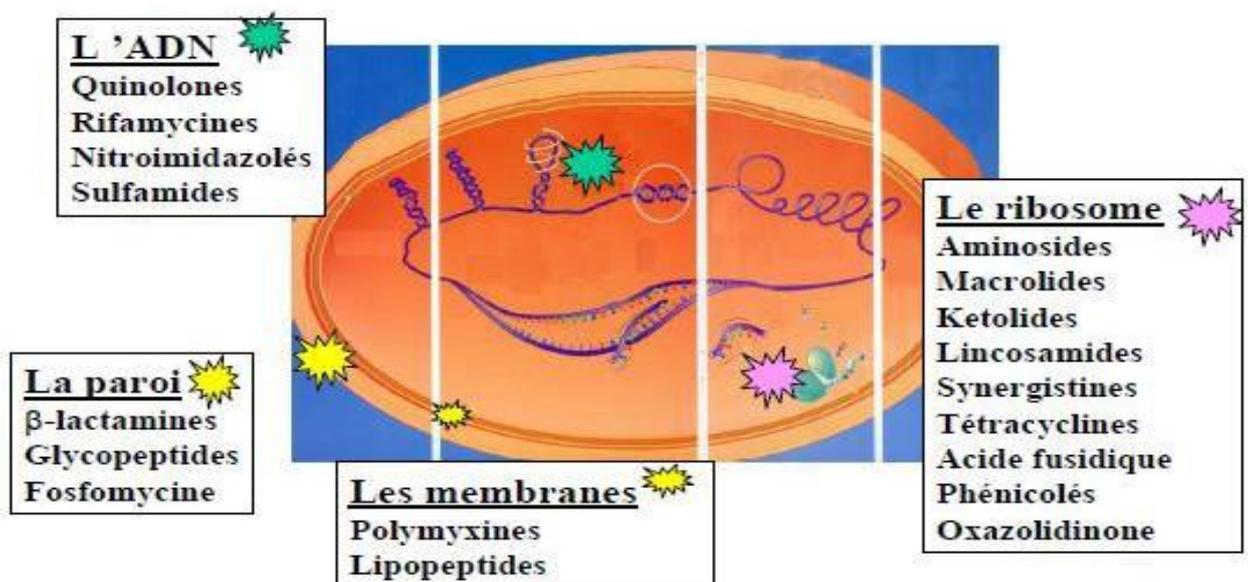


Figure 1 : Cibles bactériennes des antibiotiques (Gaudy, 2005)

### **I.2.1.3.1- Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane**

Les principales familles d'antibiotiques agissant sur la paroi des bactéries sont les suivantes (Nauciel et Vildé, 2005) :

- **les  $\beta$ -lactamines** : qui agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les Protéines Liant la Pénicilline (PLP). Les PLP ont une activité transpeptidasique, carboxypeptidasique et transglycolasique. L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi. On obtient ainsi des formes rondes ou filamenteuses qui aboutissent à la lyse bactérienne ;
- **les Glycopeptides** : qui bloquent la polymérisation du peptidoglycane en se fixant sur la partie D-Ala-D-Ala terminale des peptides impliqués dans la phase de polymérisation du peptidoglycane ;
- **non classé** : ici on retrouve la Fosfomycine qui se fixe sur une enzyme impliquée dans la formation de l'acide N acétylmuramique qui est l'un des précurseurs du peptidoglycane.

### **I.2.1.3.2- Antibiotiques agissant la synthèse des protéines**

Plusieurs familles d'antibiotiques peuvent inhiber par différents mécanismes, l'élongation de la chaîne polypeptidique chez les bactéries, notamment :

- **les Aminosides** : qui se fixent sur la sous unité 30S du ribosome où ils s'interfèrent avec la synthèse des protéines (Singleton, 2005) ;
- **les Macrolides-Lincosamides-Streptogramines (MLS)** : se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome. Ils inhibent la croissance de la chaîne polypeptidique en formation (Yala *et al.* 2001) ;
- **les Tétracyclines et les phénicolés** : qui inhibent la peptidyl-transférase en se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien (Wareham et Wilson, 2002) ;
- **les Oxazolidinones** : qui se fixent sur la sous-unité 50S du ribosome et empêche sa liaison à la sous-unité 30S (Nauciel et Vildé, 2005).

### **I.2.1.3.3- Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques**

On distinguera les antibiotiques actifs, d'une part, sur la synthèse des ARN et, d'autre part, sur la synthèse des ADN ou de leurs précurseurs (Nauciel et Vildé, 2005). Il s'agit :

- **les Quinolones et Fluoroquinolones** : qui agissent sur deux enzymes impliquées dans cette synthèse : ADN gyrase (cible principale des bactéries Gram négatives) qui forme un complexe, et ADN gyrase-Quinolones qui va bloquer la progression de l'ADN polymérase bactérienne au cours de la réplication ADN topo- isomérase IV. L'interaction entre l'ADN, Quinolone et Topoisomérase stimule la coupure de l'ADN et inhibe la relégation ;
- **les Rifamycines** : inhibent la transcription de l'ADN en ARNm par inhibition de l'ARN polymérase ;
- **les Nitrofuranes** : agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases).

#### **I.2.1.3.4- Antibiotiques agissant sur les membranes**

On retrouve ici les Polymyxines qui se fixent sur les phospholipides, et perturbent ainsi les transferts transmembranaires de nutriments et inhibent les phosphorylations oxydatives du métabolisme énergétique (Fauchère et Avril, 2002).

#### **I.2.1.3.5- Antibiotiques agissant sur la synthèse de l'acide folique**

Plusieurs familles d'antibiotiques inhibent la synthèse des folates. Il s'agit de :

- **les Sulfamides** : qui inhibent la synthèse des folates, agissent en compétition avec le Para-Amino-Benzoïque-Acide (PABA) pour le site actif, la dihydroptéroate synthétase (DHPS) qui catalyse une réaction essentielle à la synthèse de l'acide tétrahydrofolique (DHF) nécessaire à la production des purines et pyrimidines pour la synthèse de l'acide nucléique ;
- **les Diaminopyridines** : qui inhibent la réduction de l'acide folique en tirant parti de la différence de sensibilité de la dihydrofolate réductase bactérienne par comparaison avec l'enzyme des cellules eucaryotes (Agréé *et al.*, 2015).

#### **I.2.1.4- Résistance bactérienne aux antibiotiques**

La résistance bactérienne est définie comme la capacité des bactéries à résister à une concentration d'antibiotique plus élevée que la concentration qu'on peut atteindre *in vivo* à la suite d'un traitement (Sylvie, 2009 ; Sophie, 2014). Le phénomène de la résistance bactérienne constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale. Chaque jour, de nouveaux mécanismes de résistance voient le jour et se propagent à l'échelle

mondiale, compromettant la capacité de traiter les maladies infectieuses les plus courantes (OMS, 2014 ; OMS, 2015).

#### **I.2.1.4.1- Origine de la résistance bactérienne aux antibiotiques**

La résistance bactérienne à un antibiotique peut être soit naturelle, soit acquise (Mandell *et al.*, 2009).

##### **I.2.1.4.1.1- Résistance naturelle**

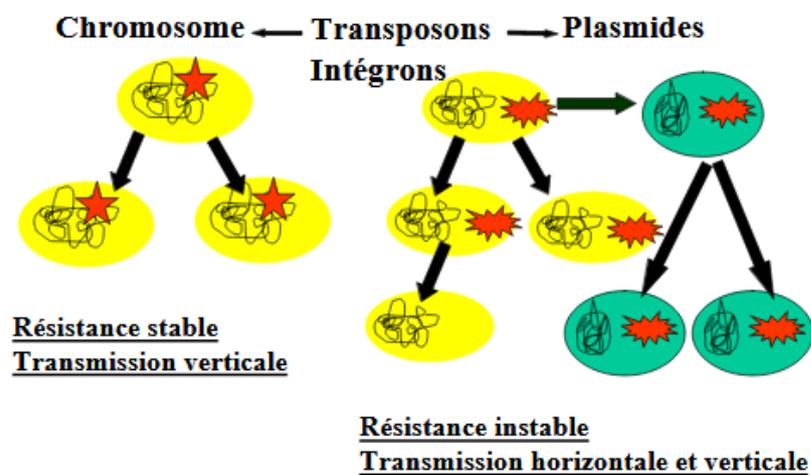
La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce (Courvalin *et al.*, 2001). Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien. Ceci peut être dû à l'absence de la cible (comme l'absence de paroi chez les mycoplasmes les rendant insensibles aux bêta-lactamines) ou encore à l'absence de pénétration de l'antibiotique (rôle de la membrane externe par exemple chez les bactéries à Gram négatif avec la Vancomycine) (AFSSA, 2006). La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique, stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (Messai, 2006).

##### **I.2.1.4.1.2- Résistance acquise**

La résistance acquise est un caractère qui ne concerne que quelques souches d'une espèce donnée. Elle détermine le phénotype de résistance des bactéries et constitue un caractère épidémiologique (Lalaoui, 2016). Elle est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien, par l'acquisition des nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotique (Peyrou, 2001 ; Yala *et al.*, 2001 ; Sylvie-Carle, 2009). Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome (plutôt rare), ou par l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides (plutôt fréquent), de bactériophages ou de transposons (Chopra *et al.*, 2003). Plusieurs mécanismes de résistance acquise sont développés par les bactéries et sont repartis en 2 grands groupes à savoir : les mécanismes génétiques et les mécanismes biochimiques.

#### I.2.1.4.2- Mécanismes génétiques de la résistance acquise

Le potentiel génétique d'une bactérie est constitué, d'une part, d'un génophore obligatoire : le chromosome ; et, d'autre part, d'un ou de plusieurs génophores facultatifs et extra-chromosomiques : les plasmides. Des gènes sont également portés par des éléments génétiques transposables et par des intégrons. Une bactérie peut ainsi acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques (figure 2). L'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra-chromosomique (Tigaud, 2000).



**Figure 2** : Mécanismes génétiques de la résistance acquise (Tigaud, 2000)

##### I.2.1.4.2.1- Résistance par mutation chromosomique

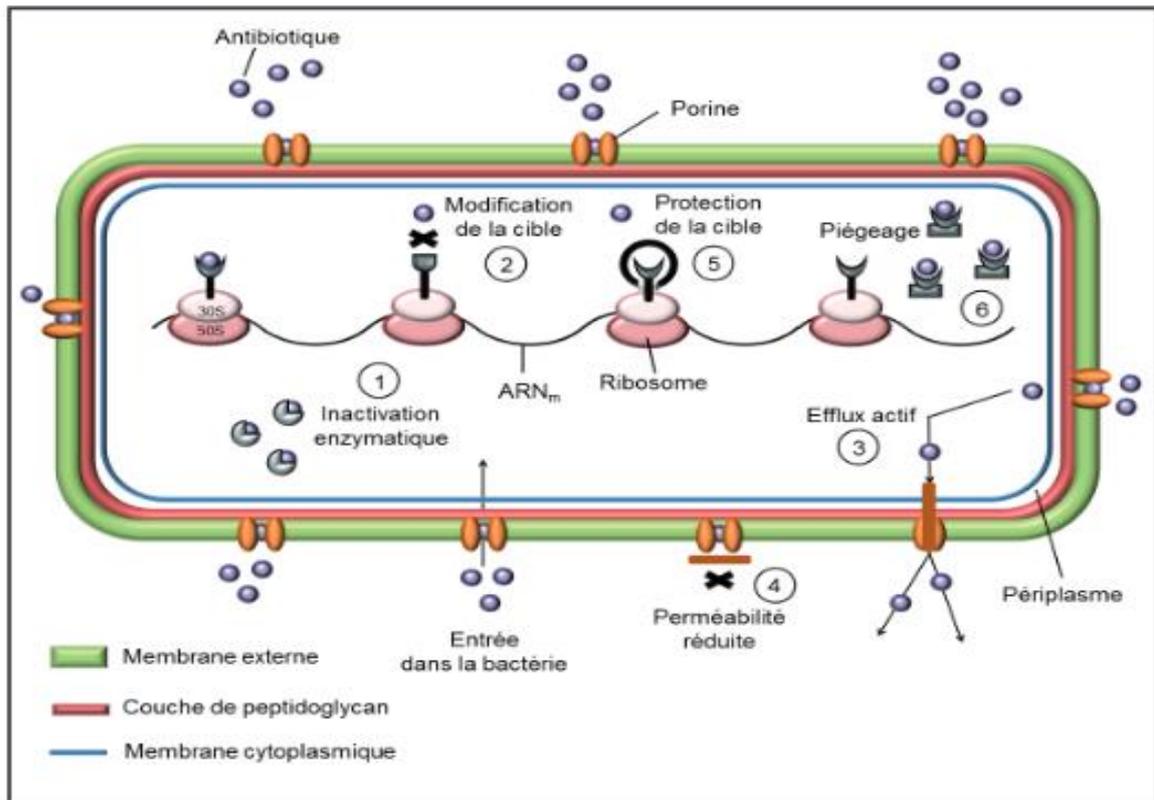
Le mécanisme chromosomique des résistances bactériennes peut être dû à une mutation spontanée au niveau du génome ou à une recombinaison. La mutation est un changement fortuit dans la séquence des acides nucléiques qui peut transformer la molécule cible d'un antibiotique et rendre l'interaction avec l'antibiotique impossible. Quant à la recombinaison, elle consiste en un transfert de fragments de gènes d'un endroit du chromosome bactérien à un autre. Si ces fragments sont incorporés à des endroits bien précis, ils sont appelés intégrons, alors que s'ils se déplacent librement, il s'agit de transposons (Zogheib et Dupont, 2005).

#### **I.2.1.4.2.2- Résistance par acquisition de matériel génétique exogène (extra-chromosomique)**

La résistance aux antibiotiques acquise par les bactéries est principalement due à la présence de trois types d'éléments extra-chromosomiques portant des gènes de résistance : les plasmides, les transposons et les intégrons (Wallsh, 2006 ; Bennett, 2008 ; Martinez, 2009). Ces derniers constituent un système de capture et d'expression de gènes contenus dans des cassettes. Les cassettes sont des éléments mobiles capables d'être intégrés ou excisés par un système de recombinaison spécifique de site médié par une intégrase. Les intégrons ne sont pas mobiles par eux-mêmes ; ils sont incapables d'autoréplication et sont généralement portés par des plasmides ou des transposons (Fluit et Schmitz, 2004 ; Faure, 2009). Les bactéries utilisent trois mécanismes principaux de transfert horizontal d'éléments génétiques entre bactéries d'une même espèce ou d'espèces et de genres différents, à savoir la conjugaison (transfert direct entre deux bactéries ayant établi temporairement un contact physique), la transformation (transfert d'ADN nu) et la transduction (transport d'ADN bactérien par des bactériophages) (Doublet *et al.*, 2012).

#### **I.2.1.4.3- Mécanismes biochimiques de la résistance acquise**

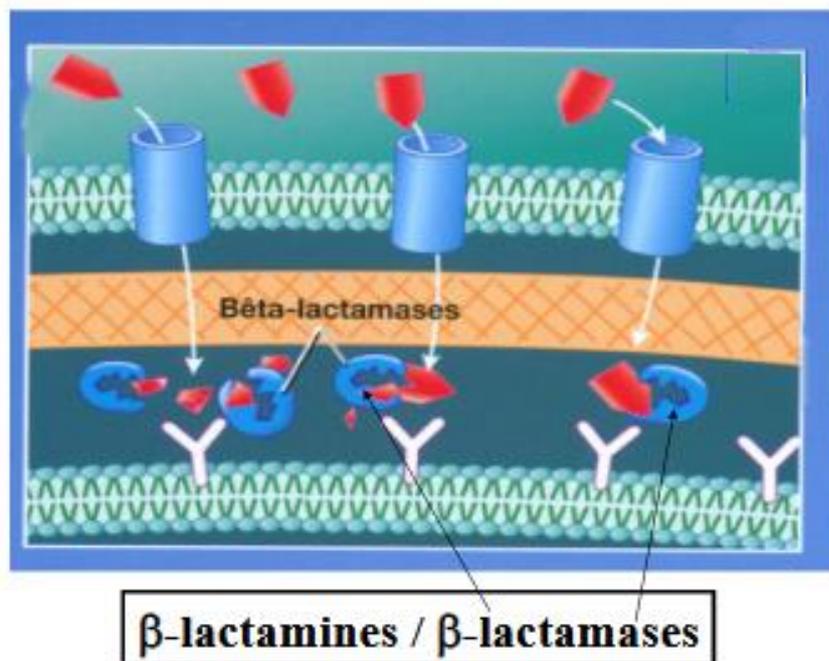
Les mécanismes biochimiques les plus répandus sont l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique sont également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés (Guardabassi et Courvalin, 2019). La figure 3 présente une illustration de ces différents mécanismes de résistance au sein des bactéries à Gram négatif.



**Figure 3** : Mécanismes de résistances au sein des bactéries à Gram négatif (Guardabassi et Courvalin, 2019)

#### I.2.1.4.3.1- Inactivation enzymatique de l'antibiotique

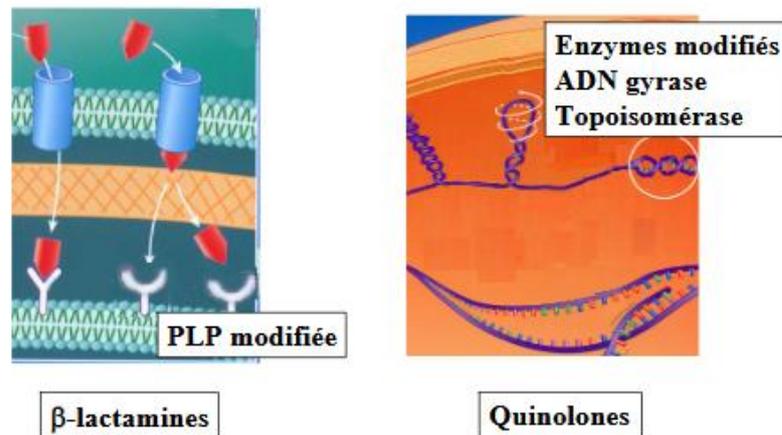
L'inactivation enzymatique représente le principal mécanisme de résistance aux Bêta-lactamines, aux Aminoglycosides et aux Phénicolés (Garneau et Labby, 2016). L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité (figure 4). Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Aleksun et Levy, 2007 ; Guardabassi et Courvalin, 2019).



**Figure 4** : Mécanisme d'inactivation enzymatique (Garneau et Labby, 2016)

#### **I.2.1.4.3.2- Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique**

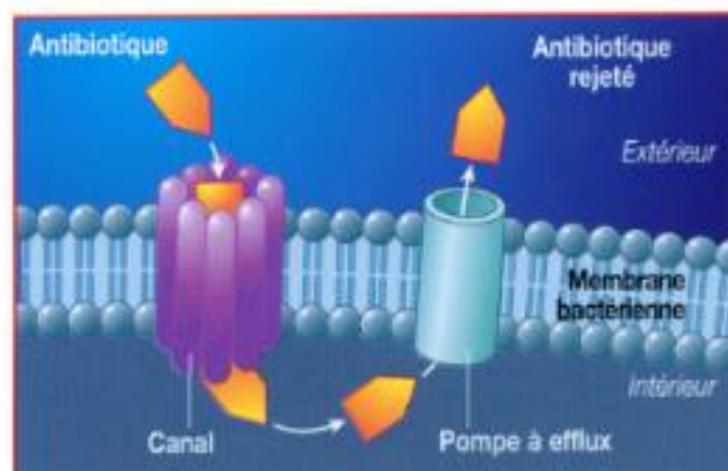
La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux Pénicillines, aux Glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries Gram positives, et pour les résistances aux Quinolones chez les bactéries Gram positives et Gram négatives. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible (figure 5). Le remplacement de la cible de l'antibiotique est, quant à lui, un mécanisme décrit pour les Sulfamidés, les Diaminopyrimidines (Triméthoprime) et les Bêta-lactames (Alekhshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009 ; Guardabassi et Courvalin, 2019).



**Figure 5** : Modification de la cible de l'antibiotique (Nikaido, 2009)

### I.2.1.4.3.3- Pompes à efflux

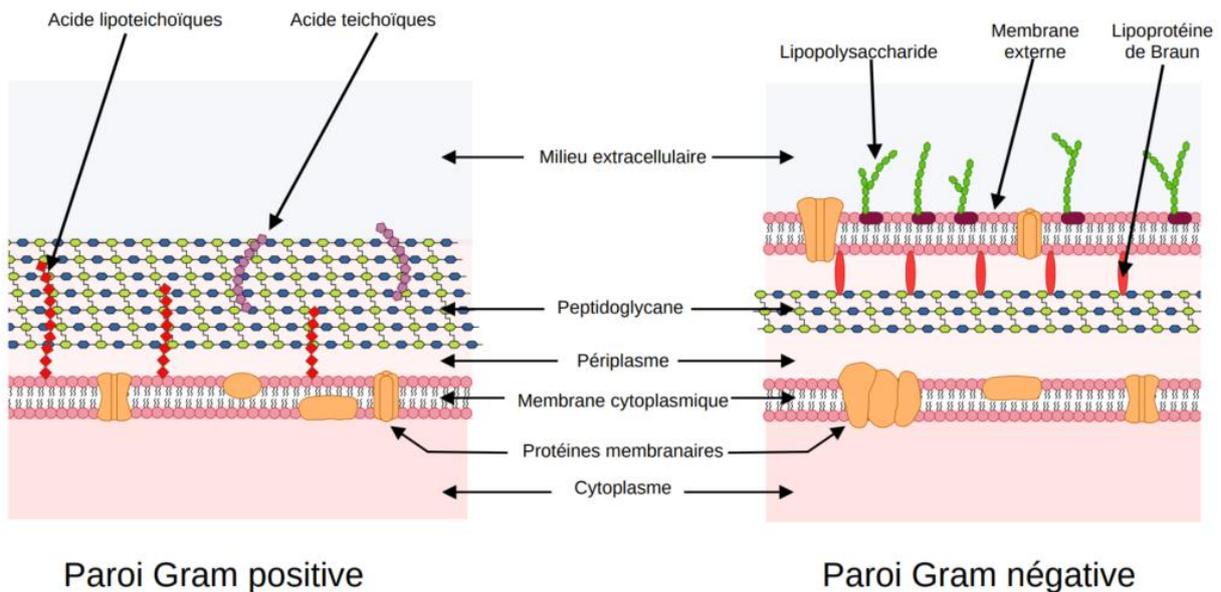
L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments (Poole, 2001 ; Li et Nikaido, 2004). Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible (figure 6).



**Figure 6** : Pompes à efflux (Li et Nikaido, 2004)

#### I.2.1.4.3.4- Diminution de la perméabilité membranaire

Contrairement aux bactéries à Gram positif, dont la structure enveloppante est assez simple, composée d'une paroi externe épaisse de peptidoglycane que les antibiotiques traversent par simple diffusion, les bactéries à Gram négatif jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable (figure 7). L'imperméabilisation est un phénomène observé chez les bactéries à coloration de Gram négative. La structure même de leur paroi et plus particulièrement la présence d'éléments dédiés à la pénétration de molécules exogènes est à l'origine de ce type de résistance. La perméabilité membranaire intervient dans le contrôle de la concentration de différentes classes d'antibiotiques comme les  $\beta$ -lactamines ou les Quinolones via l'expression des porines ou des transporteurs-pompes (Delihias et Forest, 2001 ; Blair *et al.*, 2015).



**Figure 7** : Structure des parois des bactéries à Gram positif (A) et à Gram négatif (B) (Delihias et Forest, 2001)

#### I.2.1.4.3.5- Protection de la cible de l'antibiotique

La protection de la cible de l'antibiotique est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrit pour les Quinolones et les Fluoroquinolones. Ainsi, on ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux Tétracyclines en les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome (Robicsek *et al.*,

2006). Les protéines *qnr* (Quinolone résistance) en se fixant sur les topoïsomérasés, cibles des Fluoroquinolones, réduisent l'affinité de la famille d'antibiotiques pour leurs cibles (Wang *et al.*, 2009).

#### **I.2.1.4.3.6- Piégeage de l'antibiotique**

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des Sulfamidés et du Triméthoprime ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes. Ce mécanisme est également impliqué dans des bas niveaux de résistance aux glycopeptides chez certaines souches de *Staphylococcus aureus*, et à la Tobramycine chez *Escherichia coli* (Guardabassi et Courvalin, 2019).

#### **I.2.1.5- Dissémination de la résistance aux antibiotiques dans les eaux naturelles**

##### **I.2.1.5.1- Rôle des effluents hospitaliers**

La forte consommation d'antibiotiques dans les hôpitaux exerce une pression de sélection des bactéries résistantes susceptibles de se retrouver dans les effluents hospitaliers (Vander Stichele *et al.*, 2006 ; Kunz et Brook, 2010). Ces effluents peuvent traverser le système d'égouts, et se retrouver dans l'environnement, principalement dans le compartiment « eau », participant ainsi à la dissémination de l'antibiorésistance dans l'environnement (Sadikalay, 2018). Certaines bactéries environnementales soumises à cette pression antibiotique pourront développer des résistances par sélection ou par acquisition de gènes de résistance provenant de bactéries résistantes présentes dans leur biotope (Wintersdorff *et al.*, 2016).

##### **I.2.1.5.2- Rôle des effluents d'abattoirs**

Les déchets issus des abattoirs constituent une autre source potentielle d'introduction de bactéries résistantes et de gènes de résistance dans l'environnement. Une fois que l'animal traité aux antibiotiques est abattu, le contenu du tube digestif riche en bactéries résistantes et en résidus d'antibiotiques est éliminé et, les eaux de lavage de ces installations rejoignent, après des traitements plus ou moins élaborés, au mieux les eaux naturelles, avec le risque de

dissémination des bactéries spécifiques des abattoirs (Da Costa *et al.*, 2008 ; Igbiosa *et al.*, 2012 ; Eheth, 2021 ; Savin *et al.*, 2021).

#### **I.2.1.5.3- Rôle d'autres effluents anthropiques**

D'autres sources anthropiques ont été montrées comme impliquées dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement. Par exemple, les fermes aquacoles (piscicultures), où les antibiotiques sont directement introduits dans l'eau via l'alimentation des poissons, sont impliquées dans la persistance de gènes de résistance et, plus globalement, dans l'augmentation de l'antibiorésistance dans les sédiments et/ou les eaux naturelles (Tamminen *et al.*, 2011 ; Gao *et al.*, 2012). Les rejets agricoles qui représentent une source de contamination directe des eaux douces et des eaux salées, mais, aussi, des eaux souterraines ; sont également impliqués dans la dissémination des gènes de résistances dans les écosystèmes naturels (Martinez *et al.*, 2009). Les rejets des effluents d'usine de production d'antibiotiques ou usine pharmaceutique sont également à l'origine de la dissémination de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement (Sandikalay, 2018).

#### **I.2.1.6- Impact des facteurs environnementaux sur la résistance des entérobactéries aux antibiotiques**

Il est aujourd'hui établi que les souches d'entérobactéries d'origine environnementale peuvent exprimer des résistances acquises même en l'absence de la pression de sélection exercée par les résidus d'antibiotiques. Ce qui suggère que les conditions environnementales peuvent impacter la sensibilité aux antibiotiques (Macfarlane *et al.*, 2000 ; Johnson *et al.*, 2012 ; Narten *et al.*, 2012). L'impact significatif que l'environnement exerce sur les entérobactéries est le stress. Le stress déclenche des mécanismes moléculaires d'adaptation croisés aux mécanismes de résistance aux antibiotiques (Poole, 2012 ; Macdonald et Kuehn, 2013). Les entérobactéries font face à divers types de stress :

- **stress nutritif** : La limitation en nutriments principalement en acides aminés, peut impacter la résistance aux antibiotiques en activant une réponse dite rigoureuse au stress. Ce type de réponse est caractérisée par la réduction de l'expression des gènes associés à la croissance, et à l'hyper expression des gènes de survie qui économisent l'usage des nutriments rares (Chatterji et Ojha, 2001 ; Sharma et Chatterji, 2010) ;
- **stress thermique** : Le stress thermique peut modifier la configuration spatiale des protéines et augmenter la résistance des bactéries aux antibiotiques. Chez *Escherichia*

*coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, l'augmentation de la température induit une résistance aux Aminoglycosides (Guisbert *et al.*, 2008 ; Kindrachuk *et al.*, 2011). Cette perte de sensibilité serait liée directement à la réponse aux stress thermiques au cours de laquelle les protéines dénaturées sont éliminées dans la cellule, y comprises les protéines ribosomales ;

- **stress acide** : Le pH acide a un effet sur la résistance des entérobactéries aux antibiotiques et principalement les Aminoglycosides (Chelkia et Gueriani, 2019). Il est bien établi que les Aminoglycosides doivent traverser la membrane cytoplasmique de la bactérie pour initier leur effet bactéricide, et que l'augmentation de la perméabilité membranaire aux Aminoglycosides accroît leur effet bactéricide.

## **I.2.2 - Généralités sur les flavonoïdes**

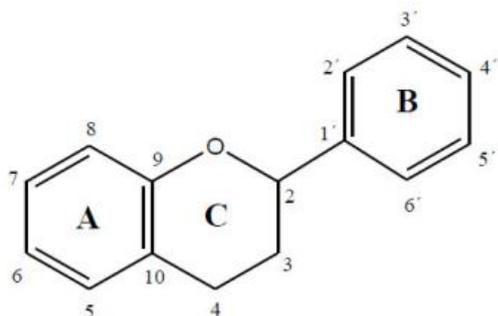
### **I.2.2.1- Définition**

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange (Piquemal, 2008). Cependant, d'autres auteurs supposaient que ce terme a été plutôt prêté du mot flavus (jaune) (Male\_Éév et Kunti\_ç, 2007). Les flavonoïdes sont donc des pigments végétaux de la famille des polyphénols qui sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Ils ont été désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins. Cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair qu'ils appartiennent aux flavonoïdes (Nijveldt *et al.*, 2001). Les travaux relatifs aux flavonoïdes sont multiples depuis la découverte du célèbre "french paradox" correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez les habitants des régions méditerranéennes, associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées, Près de 4000 flavonoïdes ont été décrits (Ghedira, 2005).

### **I.2.2.2- Structure chimique et classification**

La structure de base des flavonoïdes est le noyau du flavone (2-phenyl-benzo- $\gamma$ - pyrane) mais du point de vue de la classification, le groupe des flavonoïdes peut être divisé en plusieurs catégories. Cette division dépend de l'hydroxylation du noyau du flavonoïde aussi bien que du sucre lié. Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement phenyl-2 chromane (constitué de deux unités aromatiques : deux cycles en C6 (A et B), reliés par un

hétérocycle en C3) (figure 8). Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation de noyau pyranique central (Krishna *et al.*, 2001).



**Figure 8** : Structure chimique de base des flavonoïdes (Krishna *et al.*, 2001)

Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C (Pietta, 2000). 14 groupes différents ont été identifiés dont 6 groupes sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés à savoir : flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, flavonols, anthocyanidines (tableau IV) (Heim *et al.*, 2002 ; Hendrich, 2006).

**Tableau IV** : Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe (Hendrich, 2006)

Classe	Structure générale	Flavonoïde
Flavanol		(+)-catéchine (+)-épicatéchine épigallocatechine gallate
Flavone		chrysin apigénine rutine lutéoline lutéoline glucosides
Flavonol		kaempferol quercétine
Flavanone		myricétine tamarixétine naringine taxifoline hespéridine
Isoflavone		génistine génistéine
Anthocyanidine		apigénidine cyanidine

### **I.2.2.3- Activité antimicrobienne et autres intérêts thérapeutiques des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Yao *et al.*, 2004). Certains flavonoïdes, comme l'apigénine, ont été décrits comme des composés bactéricides et bactériostatiques très efficaces (Cushnie *et al.*, 2003 ; Martini *et al.*, 2004).

De même les flavonoïdes ont déjà été utilisés pour le traitement des cataractes d'origine diabétique (Goodarzi *et al.*, 2006 ; Ouali *et al.*, 2007). D'autres propriétés thérapeutiques sont attribuées aux flavonoïdes notamment l'activité antioxydante. En effet, les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus prooxydants, particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique (Tu *et al.*, 2007). De plus, ils ont une activité chélatrice des métaux tels que le cuivre et le fer qui, à l'état libre, peuvent être à l'origine de la production de radicaux libres par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss (Favier, 2003). Ils sont aussi de puissants inhibiteurs de l'oxydation des LDL (Hodek *et al.*, 2002).

## **I.3- Généralités sur les milieux aquatiques**

### **I.3.1- Généralités sur les eaux souterraines**

#### **I.3.1.1- Origine et définition**

Les eaux souterraines sont celles qui sont présentes dans les pores et interstices des roches ou des sédiments dans le sol. Elles résultent du séjour dans le sol des eaux en perpétuel déplacement dans l'environnement. Leur accumulation en profondeur donne naissance aux nappes d'eaux souterraines. La formation des eaux souterraines implique plusieurs processus naturels énoncés dans plusieurs théories (Banton et Bangoy, 1997).

La première théorie attribue en partie la formation de ces eaux souterraines à l'infiltration des précipitations atmosphériques dans les terrains (théorie de l'infiltration) (MacDonald *et al.*, 2002). Selon la deuxième théorie, les eaux souterraines se formeraient aussi par la pénétration de la vapeur d'eau de l'air dans les terrains. Cette vapeur d'eau se condenserait par la suite dans les conditions déterminées de température (théorie de la condensation). La troisième théorie qualifiée de juvénile stipule que les eaux souterraines proviennent de la vapeur d'eau et des émanations gazeuses qui se dégagent du magma dans

les profondeurs de la terre. Ces vapeurs d'eau en s'élevant vers les couches superficielles de l'écorce terrestre, se condensent et forment de l'eau juvénile. Enfin, la théorie des eaux reliques préconise que les eaux souterraines des zones profondes sont des eaux résiduelles des bassins anciens qui ont été enterrés dans les terrains de remblaiement et ont conservé leur aspect primitif jusqu'à l'époque actuelle (Banton et Bangoy, 1997).

### **I.3.1.2. Caractéristiques des eaux souterraines**

Les eaux souterraines se trouvent dans des formations géologiques, de substratum non confiné ou confiné. Dans les formations non confinées, la partie supérieure est constituée par la nappe où l'eau est à la pression atmosphérique. La nappe phréatique est moins profonde ; elle monte en réaction à une précipitation (événements de recharge) et retombe durant les périodes sèches. Selon la formation de l'aquifère et son emplacement topographique, le niveau de la nappe phréatique peut fluctuer par saison de quelques millimètres à des dizaines de centimètres ou davantage dans des conditions naturelles (Fetter, 2008). Le déplacement de l'eau souterraine dans sa matrice géologique se fait lentement, à raison de quelques millimètres ou centimètres par mois (Fetter, 2008 ; Vincent *et al.*, 2009). Toutefois, les formations calcaires karstiques peuvent présenter d'importants systèmes de cavités de dissolution qui rendent possible la circulation des eaux à grande vitesse.

Dans les systèmes confinés, l'aquifère est coincé entre deux couches relativement imperméables (argile ou substratum) que l'on appelle unités de confinement supérieure et inférieure. La pression de l'eau dans l'aquifère est supérieure à la pression atmosphérique. Le niveau de la nappe d'eau se situe à une plus grande profondeur et ne varie pas même en cas de précipitations (Freeze et Cherry, 2012).

En général, les eaux souterraines présentent des avantages de qualité par rapport aux eaux de surface. Les eaux souterraines renferment relativement moins de polluants microbiologiques. A mesure que les eaux de ruissellement polluées s'infiltrent dans les aquifères, le sol et les roches filtrent et retiennent des microorganismes vivants. Ce qui réduit parfois la charge microbiologique parvenant à la nappe (Vincent *et al.*, 2009).

### **I.3.1.3- Pollution des eaux souterraines**

La pollution est l'introduction de composants biologiques, physiques, ou chimiques dans le système environnemental à un rythme tel que l'environnement ne puisse s'en accommoder par dispersion, décomposition ou recyclage. Dans le cas des eaux souterraines,

la pollution peut se faire par infiltration des contaminants à la surface des affleurements de l'aquifère. Ces contaminants occasionnent un dégât structurel ou fonctionnel du système environnemental, et peuvent causer aussi un dommage à la santé humaine (Igesobta, 2015). Toute activité de développement (urbanisation, activité industrielle et agricole, exploitation minière) par l'homme génère des contaminants. Mais l'intensité de la pollution et sa vitesse de propagation dépendent essentiellement de la nature de l'aquifère (Schoeller, 2011).

### **I.3.2- Généralités sur les eaux superficielles**

Les eaux superficielles ou eaux de surface sont constituées, par opposition aux eaux souterraines, de l'ensemble des masses d'eaux courantes ou stagnantes, douces, saumâtres ou salées qui sont en contact direct de l'atmosphère. Elles englobent toutes les eaux circulantes ou stockées à la surface de la terre. Elles ont pour origine, soit des nappes souterraines dont l'émergence constitue une source, soit les eaux de ruissellement. Ces eaux se rassemblent en cours d'eau, caractérisés par une vitesse de circulation appréciable. Elles peuvent se trouver stockées en réserves naturelles (lacs) ou artificielles (retenues de barrages) où peut apparaître une grande hétérogénéité de la qualité selon la profondeur (Jacques, 2007).

#### **I.3.2.1- Cas des cours d'eau**

##### **I.3.2.1.1- Définition et origine**

Les cours d'eau sont des écoulements terrestres d'eau liquide entre une source et une embouchure ou une confluence avec un débit à module supérieur à zéro (Allen et Pavelsky, 2018). Le point où un cours d'eau a son origine est sa source. De cette source à son confluent ou à son embouchure, il reçoit, de part et d'autre, directement ou par l'intermédiaire d'affluents, toutes les eaux qui découlent des terrains plus élevés.

##### **I.3.2.1.2- Caractéristiques chimiques des cours d'eau**

La composition chimique des cours d'eau dépend de la nature des terrains rencontrés durant leur parcours. Au cours de son cheminement, l'eau dissout des différents éléments constitutifs des terrains. En revanche, sa teneur en gaz dissous (oxygène, azote, gaz carbonique) dépend des échanges à l'interface eau-atmosphère et de l'activité métabolique des organismes aquatiques au sein de l'eau. Les cours d'eau ont une concentration importante en matières en suspension très diverses, allant des particules colloïdales aux éléments figurés entraînés par les rivières en cas d'augmentation importante du débit. La présence des matières organiques d'origine naturelle provenant du métabolisme, puis de la décomposition des

organismes végétaux ou animaux vivant à la surface du bassin versant ou dans la rivière (Momento, 2021).

### **I.3.2.1.3- Pollution des cours d'eau**

Les cours d'eau sont rarement potables sans aucun traitement et sont toujours plus ou moins pollués par divers rejets à savoir : les rejets d'origine urbaine provenant de la collecte des eaux résiduaires urbaines même après leur traitement en station d'épuration ; les rejets d'origine industrielle provenant des polluants et micropolluants organiques (hydrocarbures, solvants, produits de synthèse, phénols) ou inorganiques (métaux lourds, ammoniac, produits toxiques) ; les rejets d'origine agricole issus des engrais et produits pesticides entraînés par les eaux de pluie et de ruissellement, dans les zones d'élevage intensif (rejets riches en composés de l'azote et du phosphore ainsi qu'en pollution organique) ; et les rejets d'origine animale et humaine causant la pollution bactériologique (Momento, 2021).

### **I.3.2.2- Cas des eaux usées**

#### **I.3.2.2.1- Définition et origine**

L'eau usée est le synonyme de l'eau résiduaire et représente une eau qui a subi une détérioration après usage (Djermakoyé, 2005). L'eau usée non traitée désigne des eaux d'égout qui n'ont pas subi de transformation physique ou chimique visant à enlever les déchets solides et les contaminants. Ces eaux peuvent causer des problèmes de pollution comme la propagation de produits chimiques toxiques, de bactéries porteuses de maladies et la prolifération d'algues (DE, 2010). Les eaux usées sont d'origine diverse et classées par catégorie, ainsi qu'il suit :

#### **I.3.2.2.1.1- Eaux usées domestiques**

Les eaux usées domestiques se composent des eaux vannes ou eaux noires issues des évacuations des toilettes ; des eaux ménagères ou eaux grises issues des évacuations des cuisines et des salles de bains. Les déchets présents dans ces eaux souillées par des matières organiques biodégradables et des matières minérales sont sous forme dissoute ou en suspension (DE, 2010).

#### **I.3.2.2.1.2- Eaux usées industrielles**

Tous les rejets résultant d'une utilisation de l'eau autre que domestique sont qualifiés de rejets industriels. Cette définition concerne les rejets des usines, mais aussi les rejets

d'activités artisanales ou commerciales. Ces eaux ont une grande variété et peuvent être toxiques pour la vie aquatique, ou pour l'homme (Tebib, 2020). Les eaux résiduaires d'origine industrielle ont généralement une composition plus spécifique et directement liée au type d'industrie considérée.

#### **I.3.2.2.1.3- Eaux pluviales**

Ce sont les eaux de ruissellement (eaux pluviales, eaux d'arrosage des voies publiques, eaux de lavage des caniveaux, des marchés et des cours). Les eaux qui ruissellent sur les toitures, les cours, les jardins, les espaces verts, les voies publiques et les marchés entraînent toute sortes de déchets minéraux et organiques : de la terre, des limons, des déchets végétaux ; et toute sortes de micropolluants (hydrocarbures, pesticides, détergents) (Tebib, 2020).

#### **I.3.2.2.1.4- Eaux usées agricoles**

Ce sont des eaux qui ont été polluées par des substances utilisées dans le domaine agricole. Dans le contexte d'une agriculture performante et intensive, l'agriculteur est conduit à utiliser divers produits d'origine industrielle ou agricole dont certains présentent ou peuvent présenter, des risques pour l'environnement et plus particulièrement pour la qualité des eaux (Tebib, 2020).

#### **I.3.2.2.1.5- Eaux usées hospitalières**

Les eaux usées hospitalières sont des rejets spécifiques communs aux différents services de soins constitués des produits désinfectants et antiseptiques, les rejets de germes pathogènes, les médicaments et les métaux lourds. Ces eaux ont des caractéristiques très proches de celles des eaux usées domestiques de par leur contenu en matières organiques et leurs paramètres physico-chimiques globaux ; mais, elles sont aussi proches des eaux usées industrielles par leur contenu en éléments chimiques et en métaux lourds. Ces eaux ont une biodégradabilité plus faible que celle des eaux usées domestiques et une toxicité plus élevée. En plus, les variations de leurs charges polluantes peuvent être importantes suivant le lieu, l'heure, le jour de prélèvement et le débit (Darsy *et al.*, 2002 ; Mbog, 2012).

#### **I.3.2.2.2- Caractéristiques et pollution des eaux usées**

Les eaux usées présentent des caractéristiques diverses selon leurs origines. Les eaux domestiques sont très chargées en matières organiques hydrocarbonées, en composés azotés, phosphatés et microorganismes ; des produits détergents ; des matières grasses hydrocarbonées (DE, 2010 ; Rejsek, 2002). Les eaux usées industrielles sont caractérisées par

la présence des matières en suspension minérales ; des matières en solution minérales ; des matières organiques et graisses (industries agroalimentaires, pâte à papier) ; des rejets hydrocarbonés et chimiques divers (raffineries de pétrole, produits pharmaceutiques) ; des rejets toxiques (effluents radioactifs des industries nucléaires). Dans les eaux usées agricoles on retrouve les fertilisants (engrais minéraux ou déjections animales produites) ; des produits phytosanitaires (pesticides) (Grosclaude, 1999). Par contre, les eaux usées hospitalières sont caractérisées par les matières minérales et organiques, des germes pathogènes. La pollution des eaux usées se fait par diffusion directe ou indirecte de substances chimiques, physiques ou biologiques qui sont potentiellement toxiques pour les organismes vivants ou qui perturbent de manière plus ou moins importante le fonctionnement naturel des écosystèmes. (Tebib, 2020 ; CPEPESC, 2017).

### **I.3.2.2.3- Stations d'épuration (STEP) et fonctionnement**

#### **I.3.2.2.3.1- Définition**

Une station d'épuration est une succession de dispositifs installée généralement à l'extrémité d'un réseau de collecte des effluents (eaux usées domestiques et urbaines et, par extension, les eaux industrielles ou agricoles) et juste en amont de la sortie des eaux qui seront épurées et rejetées dans le milieu naturel (très souvent une rivière ou une mer).

#### **I.3.2.2.3.2- Types de stations d'épuration et leur fonctionnement**

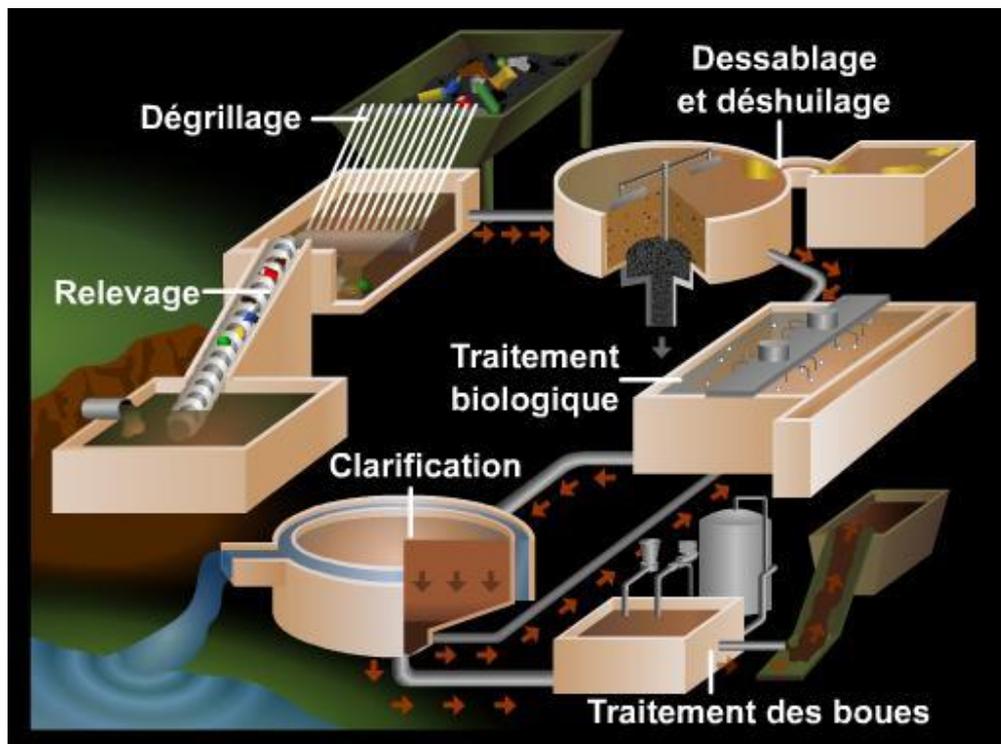
Les stations d'épuration dépendent du procédé d'épuration principal utilisé et des dispositifs mis en œuvre. Pour traiter de grands volumes d'eaux usées, les plus répandues sont les stations à boues activées et les stations à biofiltres ou à lits bactériens. Les stations physico-chimiques sont surtout utilisées pour épurer des eaux de sites industriels (Cyglér, 2008).

##### **I.3.2.2.3.2.1- Stations à boues activées**

Les boues activées sont une méthode de traitement réalisée par les microorganismes qui se nourrissent des matières polluantes avec un apport d'air pour faciliter l'assimilation des polluants (Canler *et al.*, 2011). Les étapes de fonctionnement tels que présentés par la figure 9 sont les suivantes :

- le relevage qui consiste à utiliser les pompes pour transporter les eaux usées vers la station d'épuration lorsque ces dernières arrivent à un niveau plus bas que les installations de dépollution ;

- le dégrillage qui consiste à faire passer les eaux usées au travers d'une grille dont les barreaux retiennent les éléments les plus grossiers ;
- le dessablage qui consiste à débarrasser les eaux usées des sables par sédimentation ;
- le dégraissage (ou déshuilage) qui consiste à éliminer la présence de graisses qui pourraient gêner l'efficacité des traitements biologiques qui interviennent ensuite ;
- le traitement biologique qui permet de sélectionner des espèces de bactéries capables soit de transformer le carbone en  $\text{CO}_2$ , soit de transformer l'azote en nitrates puis les nitrates en azote gaz ( $\text{N}_2$ ), soit de stocker le phosphore ;
- la clarification qui renvoie à la séparation de l'eau traitée et de la masse des bactéries (les « Boues ») dans un bassin appelé clarificateur ;
- le traitement de l'azote et du phosphore : pour le cas de l'azote, le traitement biologique se fait par nitrification de l'ammoniaque en milieu aérobie puis réduction des nitrates en milieu anoxique qui sont transformés en azote gazeux ; pour le cas du phosphore, l'élimination se fait par déphosphatation suivant la précipitation chimique des phosphates sous forme de phosphate de fer insoluble.

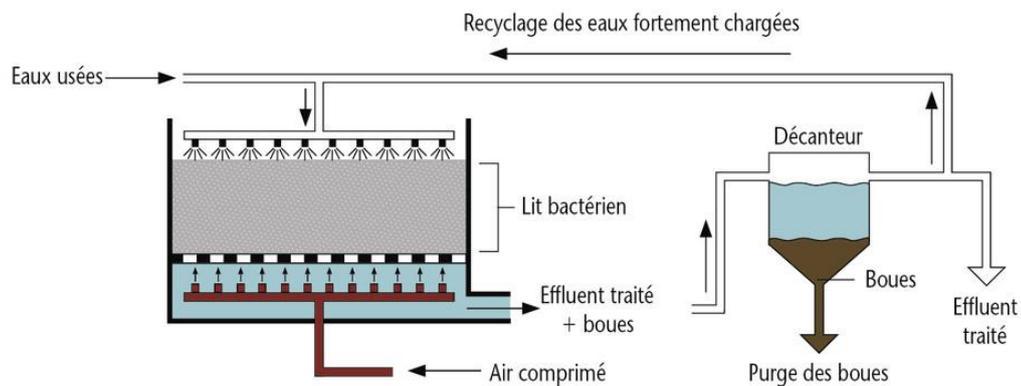


**Figure 9** : Principe de fonctionnement d'une station d'épuration à boues activées (Canler *et al.*, 2011)

### I.3.2.2.3.2- Stations à biofiltres ou à lits bactériens

Le principe de ces procédés consiste à faire percoler l'eau à traiter à travers un matériau sur lequel les bactéries se développent constituant alors un biofilm sur ce support (Chaudhary *et al.*, 2003) (figure 10). Le type de matériau varie suivant les procédés :

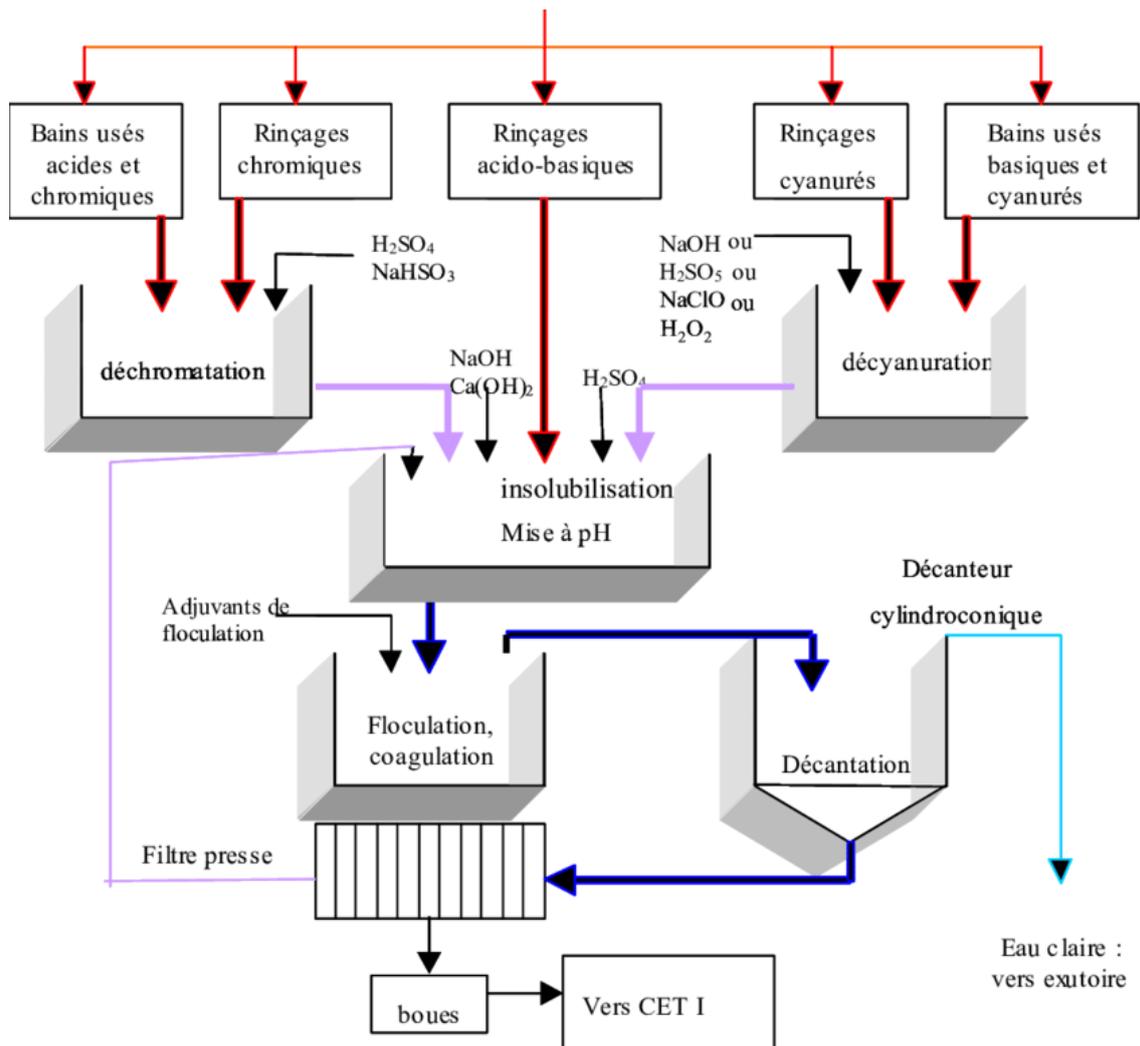
- lit bactérien (des galets ou des supports alvéolaires) : les eaux usées décantent sur un lit bactérien poreux. L'aération est donnée par l'oxygène de l'air. Le biofilm qui se forme se détache et tombe au fur et à mesure de sa formation ;
- les biofiltres (des argiles cuites, des schistes, du polystyrène, des graviers ou des sables), le développement des bactéries se fait sur des disques. Le biofilm obtenu dans ce cas reste accroché aux filtres.



**Figure 10** : Station à biofiltre ou à lit bactérien (Chaudhary *et al.*, 2003)

### I.3.2.2.3.2.3- Stations physico-chimiques

Elles sont adaptées aux effluents industriels. Les traitements dépendent des caractères des eaux produites (Naamane *et al.*, 2013). En particulier les particules dispersées sont agglomérées par adjonction d'agents coagulants et floculants (sels de fer ou d'alumine, chaux...). Les amas de particules ainsi formés, ou "flocs", sont ensuite séparés de l'eau par décantation ou par flottation (figure 11).



**Figure 11** : Station d'épuration physico-chimique (Naamane *et al.*, 2013)



**CHAPITRE II :**  
**MATERIEL ET METHODES**

## **II.1. Matériel**

### **II.1.1. Présentation du site d'étude**

#### **II.1.1.1. Situations géographique et démographique**

La ville de Yaoundé est située dans l'interfluve des fleuves Nyong et Sanaga, à 300 km de la côte Atlantique, entre le 3° 52' 12" de latitude Nord et le 11° 31' 12" de longitude Est (Yogo, 2005). Elle s'étend sur 304 km<sup>2</sup> dont une superficie urbanisée de 183 km<sup>2</sup> et abrite une population estimée, en 2020, à 4 100 000 habitants, soit une densité moyenne de 13 486 habitants par km<sup>2</sup> (Cameroun, 2021).

#### **II.1.1.2. Relief et sol**

Yaoundé est localisée dans la bordure occidentale du plateau Sud-Cameroun et est située en grande partie dans le bassin versant du cours d'eau Mfoundi. Son relief est relativement surélevé à une altitude moyenne de 735 m au-dessus du niveau de la mer. Elle est entourée de 7 collines qui seraient responsables de son climat particulier et dont les plus élevées sont situées du côté de l'Ouest et Nord-Ouest (Patrice, 2006).

Le sol de Yaoundé est ferro-latéritique, insaturé, acide, avec un pH généralement inférieur à 5. La teneur du sol en sable atteint parfois 73% à la surface, et diminue progressivement avec la profondeur (Hieng, 2003). La porosité du sol varie de 5 à 71% et sa densité oscille entre 2,7 et 3,1. La perméabilité verticale du sol atteint 300 cm/h vers la surface et sa perméabilité horizontale subie des variations spatiales et atteint parfois 40 cm/h dans cette région (Tabué *et al.*, 2009).

#### **II.1.1.3. Climat et végétation**

Le climat qui y règne est de type équatorial (Yaoundéen), caractérisé par l'alternance de deux saisons sèches (la plus petite allant de mi-mai à mi-juillet ; et la plus grande de mi-novembre à mi-mars) et deux saisons de pluies (la plus petite allant de mi-mars à mi-mai et la plus grande de mi-juillet à mi-novembre). La température moyenne est de 23,5°C contrastée entre 16 et 31°C selon les saisons et dont les précipitations annuelles sont de 1650 mm d'eau. L'hygrométrie moyenne est de 80% et varie dans la journée entre 35 et 98%. Les vents fréquents sont humides et soufflent en direction du Sud-Ouest ; les vents violents sont orientés vers le Nord-Ouest. La végétation est du type intertropical avec prédominance de la forêt humide méridionale (Wéthé, 1999 ; Cameroun, 2021).

#### **II.1.1.4. Hydrographie**

Le réseau hydrographique de la ville est très dense et essentiellement composé du cours d'eau Mfoundi et de ses affluents. Ceux-ci assurent le drainage naturel des eaux de ruissellement et des eaux superficielles qui sont rejetées dans le fleuve Mefou, qui à son tour déverse ses eaux dans le fleuve Nyong. C'est en amont de ce dernier point de rejet que se trouve la zone de captage actuel des eaux brutes destinées à la production d'eau potable pour les habitants de la ville Yaoundé et de ses environs. À côté de ces cours d'eau, la ville compte quelques lacs et étangs naturels ou artificiels dont les eaux sont rendues dangereuses pour la santé publique ; à cause du déversement des eaux des stations d'épuration non fonctionnelles (cas du lac municipal), des ordures ménagères et des eaux des latrines situées dans les zones marécageuses (Patrice, 2006).

#### **I.1.1.5. Ouvrages de potabilisation et d'assainissement**

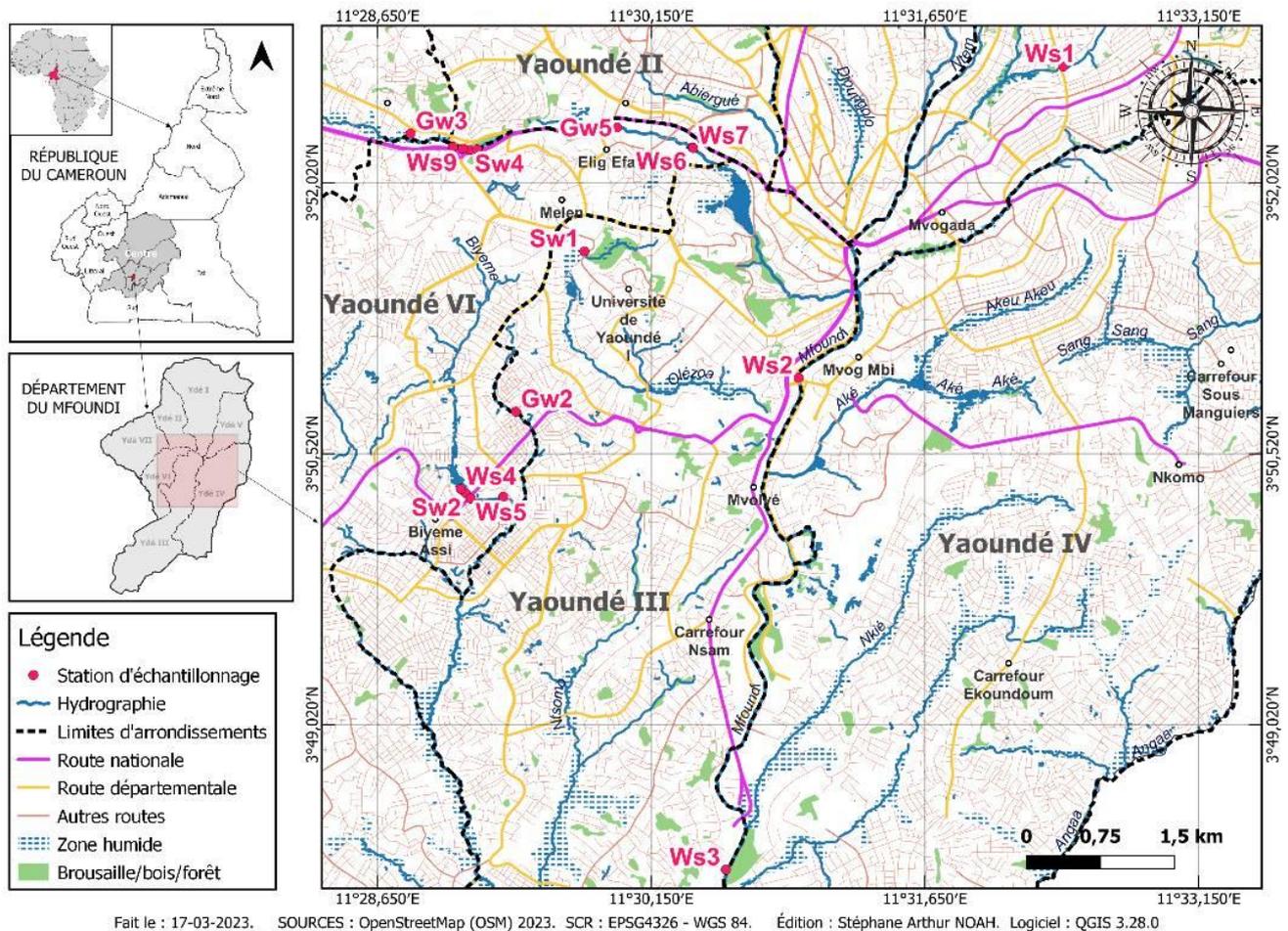
Les habitants de Yaoundé utilisent divers ouvrages d'approvisionnement en eau que sont : le réseau d'adduction en eau potable, les puits et les sources aménagées et non aménagées (INS, 2013 ; Tekam *et al.*, 2019). Les ouvrages d'assainissement quant à eux sont classés en deux catégories à savoir : les ouvrages d'assainissement individuel (fosses septiques et latrines) et les ouvrages d'assainissement collectif (réseau d'égout et station d'épuration). Ces derniers sont retrouvés dans quelques quartiers résidentiels et hôpitaux bien que certains sont non fonctionnels (Wéthé *et al.*, 2003 ; Youmbi *et al.*, 2013).

#### **I.1.2. Choix et description des sites d'échantillonnage**

Dans le cadre de cette étude, 2 types de biotopes aquatiques ont été choisis sur la base de plusieurs critères, à savoir :

- les eaux souterraines (puits et sources) : choisies selon leur grande utilisation par les ménages, leur accessibilité et leur vulnérabilité à la pollution ;
- les eaux superficielles (cours d'eau et eaux usées) : retenues pour leur exposition aux divers types de pollution, leur utilisation par la population environnante et leur critère d'assainissement caractérisant la présence d'une station d'épuration s'agissant des eaux usées.

Au total, 18 sites d'échantillonnage ont été choisis et leur localisation géographique est représentée par la figure 12.



**Figure 12** : Localisation géographique des sites d'échantillonnage

**Légende** : Sw : points de rejet des stations d'épuration ; Ws : points sur les cours d'eau ; Gw : points d'eaux souterraines

### I.1.2.1- Description des sites d'échantillonnage des eaux usées

Les eaux usées ont été échantillonnées sur 4 sites au niveau du point de rejet des stations d'épuration (STEP) du Centre Hospitalier Universitaire (CHU), de Biyem-Assi, de la Cité-verte et de Messa dont les caractéristiques sont décrites dans le tableau V. Le choix s'est porté sur ces STEP car elles étaient encore opérationnelles.

**Tableau V : Caractéristiques des sites d'échantillonnage des eaux usées**

Sites d'échantillonnage (code)	Description	Photos	Coordonnées géographiques Latitude (N) Longitude (E)
STEP du CHU (Sw1)	Boues activées à faible charge ; 235 m <sup>2</sup> de superficie ; recevant les eaux usées du CHU comprenant 250 lits actifs pour un volume des effluents de 110 m <sup>3</sup> /jr déchargés dans l'environnement.		3°86'09,47'' 11°496'49,60''
STEP de Biyem-Assi (Sw2)	Système hybride, filtres et plantes ; 720 m <sup>2</sup> de superficie ; recevant les eaux usées du Camp-sic Biyem Assi dont la charge est de 650 Equivalent habitants pour une capacité d'épuration de 45m <sup>3</sup> /jr.		3°83'83,33'' 11°48'56,23''
STEP de Messa (Sw3)	Système hybride, filtres et plantes ; 945m <sup>2</sup> de superficie; recevant les eaux usées du Camp-sic Messa dont la charge est de 2200 Equivalent habitants pour une capacité d'épuration de 330m <sup>3</sup> /jr.		3°87'02,12'' 11°50'63,20''
STEP de la Cité Verte (Sw4)	Système hybride, filtres et plantes ; 1025 m <sup>2</sup> de superficie recevant les eaux usées du Camp-sic Cité Verte dont la charge est de 12 000 Equivalent habitants pour une capacité d'épuration de 1020m <sup>3</sup> /jr.		3°87'00,30'' 11°48'59,16''

### I.1.2.2- Description des sites d'échantillonnage des cours d'eau

Les échantillonnages des cours d'eau ont été effectués sur 9 sites (3 points sur le Mfoundi, 2 points sur l'Abiergué, 2 points sur le Biyéme et 2 points sur le Mingoa). Les caractéristiques des différents points sont inscrites dans le tableau VI. Ces cours d'eau ont été choisis car sont des réceptacles d'eaux usées issues des activités anthropiques et des STEP précédemment citées.

**Tableau VI** : Caractéristiques des sites d'échantillonnage des cours d'eau

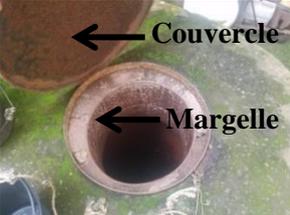
Sites d'échantillonnage (code)	Description	Photos	Coordonnées géographiques Latitude (N) Longitude (E)
Crénon du cours d'eau Mfoundi (Ws1)	Point situé au quartier Essos, dont la largeur du lit est de 1,72 m ; vitesse d'écoulement moyenne (0,02 m/s), reçoit les eaux de lavage des automobiles et les eaux de ruissellement.		3°87'77,22'' 11°54'01,30''
Rhitron du cours d'eau Mfoundi (Ws2)	Situé au quartier Mvog-Atangana Mballa, drain bien aménagé de largeur 3,7 m avec une vitesse d'écoulement moyenne de 0,14 m/s, reçoit les eaux de ruissellement.		3°84'90,11'' 11°51'59,68''
Potamon du cours d'eau Mfoundi (Ws3)	Situé au quartier Odza, drain bien aménagé de largeur 2,8 m et une vitesse d'écoulement moyenne de 0,08 m/s, il contient des déchets plastiques, reçoit les eaux de ruissellement.		3°80'36,78'' 11°50'93,25''
Amont de l'affluent Biyéme (Ws4)	Point du cours d'eau situé au quartier Biyem-Assi, reçoit les eaux de ruissellement, les déchets plastiques et ménagers, entouré des herbes.		3°83'87,69'' 11°48'50,98''

Aval de l'affluent Biyémé (Ws5)	Situé après le point de rejet de la STEP de Biyem Assi, les eaux de ruissellement, les déchets plastiques et ménagers, entouré des herbes.		3°83'78,86'' 11°48'60,18''
Amont de l'affluent Mingoa (Ws6)	Situé au quartier Messa, reçoit les eaux usées des ménages, de la lessive et les eaux de ruissellement.		3°87'02,55'' 11°50'62,68''
Aval de l'affluent Mingoa (Ws7)	Situé après le point de rejet de la STEP de Messa, les eaux usées issues de la lessive ainsi que les eaux de ruissellement.		3°87'01,94'' 11°50'63,40''
Amont de l'affluent Abiergue (Ws8)	Cours d'eau situé au quartier Cité-verte, reçoit les eaux usées des ménages et les eaux de ruissellement, les déchets plastiques et ménagers.		3°87'00,83'' 11°48'66,31''
Aval de l'affluent Abiergue (Ws9)	Point recevant les rejets de la STEP de la Cité Verte, du lavage des motos, les eaux de ruissellement, les déchets plastiques et ménagers.		3°87'01,42'' 11°48'52,98''

### I.1.2.3- Description des sites d'échantillonnage des eaux souterraines

Les eaux souterraines ont été échantillonnées sur 5 sites dont les caractéristiques sont décrites dans le tableau VII. Les ouvrages d'approvisionnement (puit et source) choisis sont quotidiennement utilisés par la population environnante et sont situés pour certains à proximité des STEP et pour d'autres près des ménages.

**Tableau VII :** Caractéristiques des sites d'échantillonnage des eaux souterraines

Sites d'échantillonnage (code)	Description	Photos	Coordonnées géographiques Latitude (N) Longitude (E)
Puit 1 (Gw1)	Puit résidentiel individuel avec margelle de 0,5 m de hauteur, couvert, pas de périmètre de protection, situé au quartier Biyem-Assi		3°83'85,53'' 11°48'85,19''
Puit 2 (Gw3)	Puit collectif non couvert avec margelle de 1,2 m de hauteur, périmètre de protection, situé au quartier Cité-verte		3°84'64,05'' 11°49'06,73''
Source 1 (Gw2)	Source aménagée située au quartier Biyem-Assi		3°87'15,31'' 11°48'53,30''
Source 2 (Gw4)	Source aménagée située à proximité de l'aval l'affluent Abiergué au quartier Cité-verte.		3°87'03,13'' 11°48'43,92''
Source 3 (Gw5)	Source aménagée située en amont de l'affluent Mingoa au quartier Messa.		3°87'20,89'' 11°49'94,01''

## **II.2. Méthodes**

### **II.2.1. Echantillonnage des eaux**

Les prélèvements des échantillons d'eau dans les différents sites ont été réalisés mensuellement durant la période allant de septembre 2020 à septembre 2021, soit 13 mois d'échantillonnage. Le choix de cette période a permis de boucler le cycle saisonnier de l'année. A chaque campagne, 2 échantillons d'eau ont été collectés : l'un dans un flacon en verre stérile de 500 ml rempli au  $\frac{3}{4}$  destiné aux analyses bactériologiques et, l'autre, dans un flacon en polyéthylène de 1000 ml préalablement rincé avec l'eau de l'échantillon puis rempli à ras bord sans faire de bulles pour les analyses physicochimiques (APHA, 2012). L'ensemble des échantillons ont été transportés en enceinte réfrigérée à 4°C au Laboratoire d'Hydrobiologie et Environnement de l'Université de Yaoundé 1, et les analyses ont été effectuées dans les 24 h qui suivaient le prélèvement (Rodier *et al.*, 2009). Une partie des analyses bactériologiques à savoir la détermination de l'effet combiné des antimicrobiens sur les entérobactéries, a été réalisée au Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Iasi en Roumanie.

### **II.2.2. Analyse des paramètres bactériologiques**

#### **II.2.2.1. Isolement des entérobactéries et des Bactéries Hétérotrophes Aérobie Mésophiles (BHAM)**

Les souches bactériennes ont été isolées sur les géloses spécifiques selon la technique de platage. Un volume de 0,1 mL de chaque échantillon a été prélevé à l'aide d'une micropipette et ensemencé à la surface de la gélose coulée dans les boîtes de pétri stérile en respectant le diamètre de stérilité défini autour de la flamme du bec Bunsen (Rodier *et al.*, 2009). Les BHAM ont été isolées sur milieu ordinaire ou Plate Count Agar (PCA), tandis que les entérobactéries sur milieu gélosé Mac Conkey afin d'obtenir l'abondance totale de ces souches dans chaque échantillon.

Afin de faciliter l'isolement des espèces d'entérobactéries, d'autres géloses spécifiques ont été utilisées à savoir le milieu Eosine Bleu de Méthylène (EMB), le milieu Salmonelle-Shigelle (SS) et le milieu Endo. Les différentes températures d'incubation des boîtes de Pétri sont les suivantes : 37°C pour les boîtes de Mac Conkey, SS et EMB ; 44°C pour les boîtes d'Endo pour une durée d'incubation de 18 à 24 heures. Cependant, les boîtes de PCA ont été incubées à température ambiante du laboratoire pendant 24 à 72 heures.

## **II.2.2.2. Examen macroscopique**

### **II.2.2.2.1- Aspect qualitatif**

Il a consisté à la reconnaissance des germes bactériens en se basant sur les caractères généraux que sont la forme, la couleur et la taille. Sur le milieu Mac Conkey, les colonies d'entérobactéries sont rosées et de diverses tailles.

Dans les boîtes de Pétri contenant les milieux EMB, certaines colonies sont bleuâtres à centre brun foncé avec un diamètre compris entre 4 et 6 mm et présentant occasionnellement un éclat métallique ; d'autres sont brunâtres, muqueuses sans reflet métallique avec un diamètre compris entre 4 et 6 mm ; tandis que d'autres sont violettes pâles à léger reflet métallique et dont la taille est de 2 mm.

Sur milieu SS, les colonies sont pour certaines opaques à centre noir et de taille variant entre 2 et 3 mm ; d'autres rosées avec un diamètre compris entre 2 et 3 mm ; et certaines incolores, transparentes et de petite taille. Tandis que sur milieu Endo, les colonies sont roses foncées avec reflet métallique.

### **II.2.2.2.2- Aspect quantitatif**

Il renvoie au dénombrement des colonies dans les différentes boîtes de Pétri suivant l'aspect qualitatif de chaque bactérie. Le comptage des colonies a été effectué au moyen d'un compteur de colonies et les résultats sont exprimés en Unité Format Colonie (UFC)/100 mL.

## **II.2.2.3. Identification des entérobactéries**

Après isolement des germes et reconnaissance macroscopique des colonies de divers germes d'entérobactéries, les souches ont été purifiées sur les différents milieux spécifiques utilisées lors de l'isolement. L'identification a été faite en utilisant 2 types de méthodes à savoir : la méthode classique de la galerie LeMinor (pour identifier les espèces dont les colonies des souches présentaient les caractères généraux spécifiques) et la méthode classique de la galerie API 20<sup>E</sup> (pour confirmer l'identité des espèces dont les caractères généraux ne renseignaient pas davantage). Ces tests d'identification ont été faits selon les recommandations de Holt *et al.* (2000).

### **II.2.2.3.1. Méthode classique de la galerie LeMinor**

Cette méthode consiste à réaliser des tests biochimiques sur les milieux de culture spécifiques coulés dans les tubes à essai afin d'identifier les espèces d'entérobactéries. La

combinaison des résultats positifs et négatifs permet d'identifier l'espèce en utilisant la grille d'identification des entérobactéries (tableau VIII). Ces tests biochimiques sont :

#### **II.2.2.3.1.1. Test sur milieu Kligler-Hajna**

Il a pour principe de rechercher si la bactérie fermente le glucose, oxyde le lactose, produit du gaz et/ou de l'hydrogène sulfureux (H<sub>2</sub>S). Le milieu utilisé est préparé et coulé dans les tubes en laissant un culot de 4 cm et une légère pente. A l'aide de l'anse de platine préalablement stérilisée, une colonie de la souche purifiée est prélevée puis, une piqûre centrale est faite au niveau du culot et les stries au niveau de la pente, ensuite, les tubes sont incubés à 37°C pendant 18 à 24 heures, suivie de la lecture et de l'interprétation des résultats selon la grille.

#### **II.2.2.3.1.2. Test sur milieu Mannitol-Mobilité**

Il consiste en la recherche de la fermentation du mannitol et de la mobilité bactérienne en prélevant une colonie de la souche pure puis, en effectuant une piqûre centrale sur le milieu coulé dans les tubes suivi de l'incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures. Par la suite, les résultats sont lus et interprétés selon la grille.

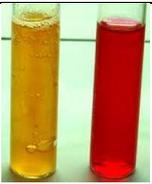
#### **II.2.2.3.1.3. Test sur milieu Urée-Indole**

Il a pour principe de rechercher l'uréase et la production de l'indole chez les bactéries. Il consiste à introduire dans le tube contenant le milieu une colonie de souche pure prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile, puis, l'homogénéiser et ensuite, l'incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après la durée d'incubation, 2 à 3 gouttes de réactifs de Kovac's sont ajoutées dans le tube pour la lecture de l'indole.

#### **II.2.2.3.1.4. Test sur milieu citrate de Simmons**

Il consiste à déterminer si la bactérie utilise le citrate comme seule source de carbone et d'énergie. Pour cela, une colonie de souche pure est prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile et une strie est faite sur le milieu coulé en pente dans les tubes. L'ensemble des tubes est incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures, suivie de l'interprétation des résultats.

**Tableau VIII :** Grille d'interprétation du test biochimique classique (Holt *et al.*, 2000)

Types de test	Caractères biochimiques	Résultat positif	Résultat négatif	Photos illustratives
<b>Kligler-Hajna</b>	Glucose	Virage du culot en jaune	Pas de changement de couleur du milieu	
	Lactose	Virage de la pente en jaune		
	Production du H <sub>2</sub> S	Noircissement de l'espace entre le culot et la pente		
	Production du gaz	Formation des bulles	Pas de bulles	
<b>Mannitol-Mobilité</b>	Mannitol	Virage de la couleur du milieu du rouge au jaune	Pas de virage de couleur	
	Mobilité	Apparition d'un trouble au niveau de la piqûre centrale	Pas de trouble	
<b>Uréase-Indole</b>	Uréase	Virage de la couleur du milieu en rose	Pas de virage de couleur	
	Indole	Formation d'un anneau rouge après l'ajout du réactif de Kovac's	Pas de formation d'anneau rouge	
<b>Citrate</b>	Citrate	Virage de la couleur du milieu au bleu	pas de virage de couleur	

### II.2.2.3.1. Méthode de la galerie API 20<sup>E</sup>

Cette méthode permet l'identification des entérobactéries d'intérêt clinique en se basant sur les tests biochimiques réalisés sur les microplaques dont les puits contiennent les milieux de culture spécifiques. La combinaison des réactions positives et négatives permet de déterminer un code numérique qui, à son tour, permet d'identifier la souche examinée en utilisant le catalogue API 20<sup>E</sup> des entérobactéries (ref. 71710).

Pour réaliser ce test, une suspension bactérienne est préparée à partir des souches récemment isolées (18-24 heures). Une colonie isolée a été délayée dans 3 mL de sérum physiologique (0,9% NaCl) et la turbidité de la suspension a été ajustée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 600 nm, à l'opacité de 0,5 Mac Farland de densité comprise entre 0,08 et 0,1 et correspondant à une concentration de  $1 \times 10^8$  UFC/100mL. Après dilution de l'inoculum au 1/100 ( $1 \times 10^6$  UFC/100 mL) puis homogénéisation, un volume de 0,2 mL est prélevé et introduit dans chaque cupule de la microplaque, puis, une goutte de l'huile de la vaseline est ajoutée dans les cupules 2-LDC, 3-ODC, 4- ADC, 7-UR et 8-H<sub>2</sub>S. La plaque est ensuite recouverte et incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures. A la fin de la période d'incubation, 2 gouttes de l'alpha-naphtol et une goutte de NaOH 40% (ref. 80252) sont ajoutées dans la cupule 10-VP et après 15 à 20 minutes, une couleur rose-rouge apparaît. Par la suite, 2 à 3 gouttes de réactif de KOVAC'S (ref. 80252) sont ajoutées dans la cupule 11-IND et après 1 à 2 minutes, une coloration rouge apparaît (figure 13). Après observation de changement de couleur dans les différentes cupules, les résultats sont interprétés d'après le catalogue API 20<sup>E</sup> (ref. 71710) afin de déterminer le code numérique et d'identifier l'espèce.



**Figure 13** : Test biochimique sur galerie Api 20<sup>E</sup>

### **II.2.3. Caractérisation de la susceptibilité des entérobactéries aux antibiotiques**

La susceptibilité des entérobactéries aux antibiotiques a été déterminée au moyen de l'antibiogramme réalisé sur des souches pures isolées dans les eaux souterraines, dans les eaux de surface et dans les eaux usées (hospitalières et domestiques). La méthode utilisée a été celle de la diffusion des disques imprégnés d'antibiotiques en milieu gélosé (Mueller-Hinton) conformément aux recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) et de l'European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (CA-SFM/EUCAST, 2020). Cette méthode a l'avantage d'offrir une variété dans le choix des antibiotiques et ne requiert aucun matériel particulier.

### II.2.3.1. Choix des antibiotiques

Le choix des antibiotiques testés sur les espèces d'entérobactéries a été fait sur la base des recommandations du CA-SFM/EUCAST (2020) et de la consommation des antibiotiques dans les hôpitaux dont les effluents ont fait l'objet d'une analyse. Deux listes distinctes d'antibiotiques ont été retenues à cet effet (tableau IX) : une liste standard qui comprend 18 antibiotiques nécessaires à l'orientation thérapeutique, en fonction des indications cliniques et de la prévalence de la résistance acquise et une liste complémentaire qui comprend 4 antibiotiques plus spécifiquement utilisés vis-à-vis des souches multirésistantes, de la surveillance épidémiologique de la résistance ou de l'aide à l'interprétation des résultats de l'antibiogramme.

**Tableau IX** : Liste des antibiotiques testés

N°	Familles	Antibiotiques	Charge du disque
<b>Liste des antibiotiques standards</b>			
<b>1</b>	β-lactamine (Pénicilline)	Pipéracilline	75µg
		Amoxicilline	30µg
		Amoxicilline+acide clavulanique	30µg
		Ticarcilline	75µg
<b>2</b>	β-lactamine (C1G)	Céfolatine	30 µg
<b>3</b>	β-lactamine (C2G)	Céfuroxime	5µg
		Céfoxitine	10µg
<b>4</b>	β-lactamine (C3G)	Ceftriaxone	5µg
		Ceftazidime	30µg
<b>5</b>	β-lactamine (Carbapénème)	Imipénème	10µg
		Méropénème	10µg
<b>6</b>	β-lactamine (Monobactame)	Aztréonam	30µg
<b>7</b>	Aminoglycosides	Gentamicine	30µg
		Amikacine	30µg
<b>8</b>	Sulfamide	Sulfaméthoxazole+triméthoprième	25µg
<b>9</b>	Fluoroquinolone	Ciprofloxacine	5µg
		Norfloxacine	10µg
		Ofloxacine	5µg
<b>Liste des antibiotiques complémentaires</b>			
<b>10</b>	β-lactamine (C4G)	Céfépime	10µg
	β-lactamine (Pénicilline)	Pipéracilline/Tazobactam	40µg
	Nitrofurane	Nitrofurantoïne	300µg
	Non classé	Fosfomycine	30µg

C1G : Céphalosporine de 1<sup>ère</sup> Génération ; C2G : Céphalosporine de 2<sup>ème</sup> Génération ; C3G : Céphalosporine de 3<sup>ème</sup> Génération ; C4G : Céphalosporine de 4<sup>ème</sup> Génération

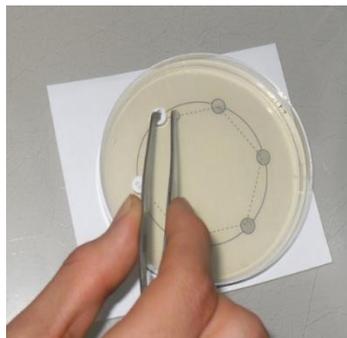
### II.2.3.2. Préparation du milieu et de la suspension bactérienne

Le milieu utilisé a été la gélose de Mueller-Hinton préalablement autoclavé à 121°C pendant 20 minutes, puis coulée dans les boîtes de Pétri. L'épaisseur de la gélose a été de 4 mm approximativement. (CA-SFM/EUCAST, 2020).

La suspension bactérienne a été préparée à partir d'une culture de 18-24 h sur milieu gélosé non sélectif (Plate Count Agar), et d'une solution salée (0,9 % NaCl). Sa turbidité a été ajustée à  $1 \times 10^8$  UFC/mL par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 600nm. Cette turbidité correspond à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de Mac Farland dont la densité optique est comprise entre 0,08 et 0,1. L'inoculum a ensuite été dilué au 1/100 ( $1 \times 10^6$  UFC/mL) avant d'être ensemencé sur la gélose Mueller-Hinton (CA-SFM/EUCAST, 2020).

### II.2.3.3. Ensemencement et dépôt des disques

La gélose a été ensemencée avec l'inoculum bactérien par la méthode d'écouvillonnage. La totalité de la surface de la gélose a été écouvillonnée dans trois directions, puis, les boîtes de Pétri ont été placées sous la hotte pendant 10 minutes. Après séchage, les disques d'antibiotiques ont été déposés à la surface de la gélose avec un écart de 3 cm afin d'éviter le chevauchement des diamètres d'inhibition (figure 14). Les boîtes de Pétri ont été laissées à température ambiante pour la prédiffusion des antibiotiques, et ensuite incubées 10 minutes après, à 37°C pendant 18 à 24 h (CA-SFM/EUCAST, 2020).



**Figure 14** : Image du dépôt des disques d'antibiotiques dans une boîte de Pétri

### II.2.3.4. Mesure des diamètres d'inhibition et catégorisation clinique

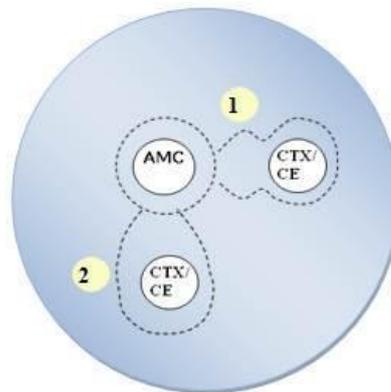
Les diamètres des zones d'inhibition circulaires ont été mesurés au millimètre le plus proche avec un pied à coulisse. L'interprétation de ces diamètres s'est faite par référence aux diamètres critiques fournis par le CA-SFM (2020). Les souches ont été catégorisées

cliniquement en souche résistante (R), sensible (S) ou intermédiaire (I). Les proportions (%) de chaque catégorie clinique ont ensuite été déterminées par rapport au nombre total de souches testées.

### II.2.3.5. Caractérisation des phénotypes de résistances aux antibiotiques : cas des $\beta$ -lactamines

#### II.2.3.5.1- Détermination des $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE)

Les  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) synthétisées par les souches d'entérobactéries ont été mises en évidence par le test de synergie. Ce test consiste à rechercher une image de synergie entre un antibiotique qui contient un inhibiteur de  $\beta$ -lactamase (Amoxicilline+acide clavulanique) et les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (Cefotaxime, Ceftazidime, Ceftriaxone) ou un monobactame (Aztréonam) en procédant par la méthode de diffusion sur disques d'antibiotiques (CA-SFM/EUCAST, 2020). L'image de synergie dite en « bouchon de champagne » ou en « entonnoir » est caractéristique de la présence des BLSE (figure 15).



**Figure 15** : Image de synergie

**Légende** : (1) : bouchon de champagne ; (2) : entonnoir ; AMC : Amoxicilline+acide clavulanique ; CTX : Cefotaxime, CE : Ceftazidime

La préparation de la suspension bactérienne et l'ensemencement à la surface de la gélose Mueller-Hinton ont été réalisés selon la technique de l'antibiogramme. Après séchage des boîtes de Pétri sous la hotte pendant 10 minutes, les disques d'antibiotiques ont été déposés selon les recommandations de CA-SFM/EUCAST (2020). A l'aide d'une pince stérile, un disque de l'Amoxicilline+acide clavulanique (AMC) a été déposé au centre de la boîte ensemencée, puis, les disques de Cefotaxime, de Ceftazidime, du Ceftriaxone et d'Aztréonam ont été déposés tout autour de l'AMC à une distance de 30 mm chacun et

ensuite, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. La production des BLSE s'est traduite par l'apparition d'une image de synergie en « bouchon de champagne » ou en « entonnoir » entre les disques d'AMC et les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération.

#### II.2.3.5.2- Détermination des phénotypes des $\beta$ -lactamase à spectre élargi

La détermination des phénotypes de la  $\beta$ -lactamase s'est faite par la détection des substrats préférentiels de cette enzyme en recherchant les éventuelles images de synergie en bouchon de champagne qui peut paraître sur la gélose entre les disques d'antibiotiques de  $\beta$ -lactamines utilisés (Farah *et al.*, 2007). La méthode utilisée a été celle de diffusion sur disques d'antibiotiques. L'interprétation des résultats pour la détection de l'image en « bouchon de champagne » a été faite en se référant aux figures correspondant aux différents phénotypes de résistance de la  $\beta$ -lactamase produite. Quatre phénotypes ont été initialement décrits parmi les BLSE plasmidiques dérivant de TEM et de SHV et sont les suivants :

- **le phénotype CTX** : se caractérise par une augmentation équivalente de la résistance au Cefotaxime, à la Ceftazidime et à l'Aztréonam, exemples : TEM-3, TEM-4 ;
- **le phénotype CAZa** : le niveau de résistance à la Ceftazidime est plus important que celui du Cefotaxime et de l'Aztréonam, exemples : TEM-12, TEM-7, SHV-6 ; et le **phénotype CAZb** qui se caractérise par une augmentation très importante de la résistance à la Ceftazidime et à l'Aztréonam comparée à une moindre résistance au Cefotaxime, exemples : TEM-24, SHV-4 ;
- **le phénotype ATM** : se caractérise par une résistance contre le disque d'Aztréonam avec des diamètres supérieurs à 20 mm pour la Ceftazidime et le Cefotaxime, exemple : TEM-2 ;
- **le phénotype TEM-20** : se caractérise par une légère augmentation de la résistance au Cefotaxime, la Ceftazidime et l'Aztréonam étant peu touchés.

#### II.2.3.5.3- Détermination d'autres phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines

La détermination d'autres phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines s'est faite de la même manière que celle des phénotypes de  $\beta$ -lactamase à spectre élargi. Les phénotypes recherchés sont :

- **les phénotypes de Céphalosporinase** : se caractérisent par la résistance à l'Amoxicilline, à la Céfalotine, à la Céfoxitine, au Ceftazidime, à l'Amoxicilline+acide clavulanique ;

- **les phénotypes Pénicillinases de bas niveau** : se caractérisent par la résistance à l'Amoxicilline et à la Ticarcilline, mais sensibles aux autres molécules ;
- **les phénotypes Pénicillinases de haut niveau** : se caractérisent par la résistance à l'Amoxicilline, à la Ticarcilline, à la Céfalotine et intermédiaires à l'Amoxicilline+acide clavulanique ;
- **les phénotypes TRI** : se caractérisent par la résistance à l'Amoxicilline, à la Ticarcilline, et à l'Amoxicilline+acide clavulanique.

### II.2.3.6. Détermination de l'index de la multirésistance aux antibiotiques dans les sites d'échantillonnage

L'index de la Multirésistance aux Antibiotiques (MRA) est un indicateur qui permet de comparer le niveau de la multirésistance dans chaque site et d'estimer le risque de transmission des bactéries multirésistantes aux populations. Il peut être évalué au niveau d'une simple souche bactérienne sur laquelle plusieurs antibiotiques ont été testés ou alors dans un site d'échantillonnage où plusieurs souches (appartenant à la même espèce bactérienne ou non) ont été isolées et soumises au test d'antibiogramme. Lorsqu'il est évalué au niveau d'une souche, l'Index MRA correspond tout simplement au ratio du nombre d'antibiotiques auxquels la souche résiste sur le nombre d'antibiotiques testés sur cette souche. Dans la présente étude, l'Index MRA a été calculé au niveau des sites d'échantillonnage. Ce calcul a pris en compte le nombre de souches des différentes espèces d'entérobactéries isolées dans chaque site (Eheth, 2021).

L'index MRA d'un site d'échantillonnage est défini par l'équation suivante :

$$\text{Index MRA} = a / (b \times c) \quad 0 \leq \text{Index MRA} \leq 1$$

**a** : est la somme des scores de résistance aux antibiotiques, le score étant le nombre d'antibiotiques vis-à-vis desquels chaque souche isolée du site d'échantillonnage résiste ;

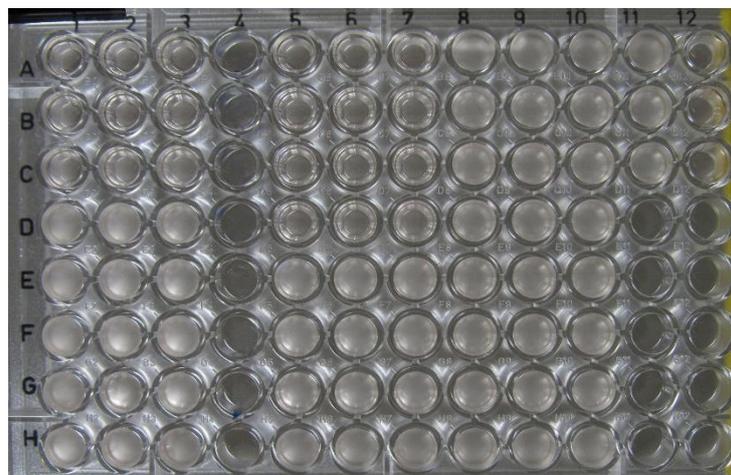
**b** : est le nombre d'antibiotiques testés (b = 22 dans cette étude) ;

**c** : est le nombre d'isolats provenant du site d'échantillonnage.

Il est admis que les sites ayant un Index MRA  $\geq 0,2$  présentent un taux de résistance élevé (Eheth, 2021).

### II.2.3.7. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques et des flavonoïdes

La méthode de microdilution en milieu liquide (bouillon de Mueller-Hinton) dans des microplaques de 96 puits a été utilisée pour évaluer les paramètres d'inhibition de croissance des bactéries par les antibiotiques et les flavonoïdes. Pour chaque espèce bactérienne, un ensemble de 7 microplaques reparties en 2 lots ont été utilisées : le premier lot constitué de 5 microplaques était destiné à la recherche des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) des antibiotiques et le second lot constitué de 2 microplaques était réservé à la recherche des CMI des flavonoïdes. Un volume de 0,1 mL du bouillon de Mueller-Hinton a été introduit dans les 96 puits de chaque microplaque ; puis 0,1 mL de la solution de chaque antimicrobien (antibiotique et flavonoïde) de concentration 1mg/ml a été ajouté dans les puits de la première ligne (ligne A), exceptés les 2 derniers puits dont l'un servira de contrôle positif (contenant le milieu et l'inoculum) et l'autre de contrôle négatif (contenant uniquement le milieu). Par la suite, des dilutions géométriques de la concentration antimicrobienne de raison 2 ont été réalisées (de 1/2 à 1/512) dans les puits des lignes B, C, D, E, F, G et H (figure 16).



**Figure 16** : Microplaque après dilution des antimicrobiens et inoculation de la suspension bactérienne

Après les dilutions, un volume de 0,1 mL de la suspension bactérienne a été inoculé dans les puits. Puis, la microplaque a été recouverte et incubée à 37°C pendant 18-24 heures. La concentration la plus faible d'antibiotique inhibant toute croissance visible à l'œil nu après la durée d'incubation était considérée comme étant la CMI. Pour confirmer la lecture faite à l'œil nu, 20 µL du réactif de RESAZIRIN ont été introduits dans tous les puits, puis la microplaque a été incubée à 37°C pendant 1 heure. Après la durée d'incubation, les puits dont

la couleur avait viré du bleu au rose étaient ceux qui correspondaient à la CMI (figure 17). Ainsi, trois essais ont été réalisés pour chacun des germes et la valeur de la CMI était déduite de la moyenne des trois tests.



**Figure 17** : Image des Concentrations Minimales Inhibitrices sur microplaque

**Légende** : Rose = réaction positive ; Bleu = réaction négative

#### **II.2.3.8. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des antimicrobiens combinés**

La méthode utilisée a été celle de la microdilution précédemment décrite pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice des antibiotiques et des flavonoïdes. Dans chaque microplaque, 0,1 mL de bouillon de Müller-Hinton a été mis dans tous les puits, puis 0,1 mL de la solution de flavonoïde a été ajouté dans les puits de la première colonne et la dilution a été faite dans le sens horizontal de la plaque. Par la suite, 0,1 mL de la solution d'antibiotique été introduite dans les puits de la première ligne et la dilution a été faite dans le sens vertical de la plaque.

Après les dilutions, un volume de 0,1 mL de la suspension bactérienne, a été inoculé dans les puits contenant la solution diluée des 2 antimicrobiens et dans les puits du contrôle positif. Puis la microplaque a été recouverte et incubée à 37°C pendant 18-24 heures. La lecture de la Concentration Minimale Inhibitrice des antimicrobiens Combinée (CMIC) a été faite de la même manière que celle de la CMI des antibiotiques et des flavonoïdes.

### II.2.3.9. Détermination de l'effet combiné des antimicrobiens dans les sites d'échantillonnage

L'effet combiné des antimicrobiens est déterminé en calculant les concentrations fractionnelles inhibitrices (CFI) des antimicrobiens à partir des CMIC obtenues, afin de déterminer laquelle des CFI présentent une synergie pour inhiber la croissance bactérienne. La formule utilisée est la suivante :

$$\mathbf{CFI = CFI_a + CFI_f}$$

$$\mathbf{CFI_a = \frac{CMI\ antibioticque\ dilu\acute{e}}{CMI\ antibioticque\ initiale}}$$

$$\mathbf{CFI_f = \frac{CMI\ flavono\acute{i}de\ dilu\acute{e}}{CMI\ flavono\acute{i}de\ initiale}}$$

avec **a** = antibiotique ; **f** = flavonoïde

Si **CFI ≤ 0,5** : effet synergique ;

**CFI > 0,5** : effet additif ;

**CFI > 1** : effet indifférent ;

**1 ≤ CFI ≤ 2** : effet antagoniste.

### II.2.4. Analyse des paramètres physicochimiques

Les analyses physicochimiques ont été faites selon les recommandations de Rodier *et al.* (2009). Les paramètres retenus sont ceux susceptibles de générer des stress modifiant la physiologie cellulaire, la survie, ainsi que la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries (Poole, 2012 ; Macdonald et Kuehn, 2013). Leur choix tenait également compte de la disponibilité des ressources matérielles au laboratoire.

La température, le pH, la conductivité électrique et les solides totaux dissous ont été mesurés *in situ* à l'aide d'un multimètre de marque HANNA/HI 9829 en plongeant l'électrode préalablement rincé avec de l'eau distillée et celle de l'échantillon à analyser dans un volume d'eau de cet échantillon. La lecture a été directe et les résultats exprimés en °C, U.C, µS/cm et en mg/L respectivement pour la température, le pH, la conductivité électrique et les solides totaux dissous.

Au laboratoire, les orthophosphates et les nitrates ont été déterminés par colorimétrie au spectrophotomètre de marque HACH DR/2000. Les nitrates ont été mesurés en utilisant le Nitrover III, la lecture a été faite à 400 nm et les résultats exprimés en mg/L de  $\text{NO}_3^-$ . Tandis que les orthophosphates ont été mesurés en utilisant le Phosver III, la lecture a été faite à 890 nm et les résultats exprimés en mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$  (De Villers *et al.*, 2005).

### **II.2.5. Analyses statistiques des données physico-chimiques et microbiologiques**

Le choix des analyses a été fait après vérification de la distribution des données à partir du test de normalité de Kolmogorov-Smirnov. Ce test a montré que les données ne suivent pas la loi normale.

#### **II.2.5.1. Relation entre les facteurs abiotiques et les paramètres microbiologiques mesurés (Test de corrélation « r » de Spearman et les Analyses en Composantes Principales)**

Le coefficient de corrélation de rang de Spearman a été calculé pour mesurer les degrés de liaison entre les variables abiotiques et les abondances des entérobactéries isolées dans les différents biotopes aquatiques, d'une part, et entre les variables abiotiques et les diamètres d'inhibition des antibiotiques, d'autre part, afin de déterminer si les différents niveaux de susceptibilité des antibiotiques (Résistance, Intermédiaire, Sensibilité) ont été influencés par les facteurs abiotiques. Deux séries de variables sont plus ou moins fortement liées selon que r est plus ou moins proche de 1. L'analyse a été effectuée à l'aide du logiciel SPSS version 25.0. L'Analyse en Composantes Principales (ACP) quant à elle a été utilisée pour établir la typologie abiotique des stations d'échantillonnage sur la base de l'ensemble des variables physico-chimiques et les abondances des entérobactéries isolées à chaque station pendant l'étude. Cette analyse a été réalisée à l'aide de logiciel XLSTAT 2022.

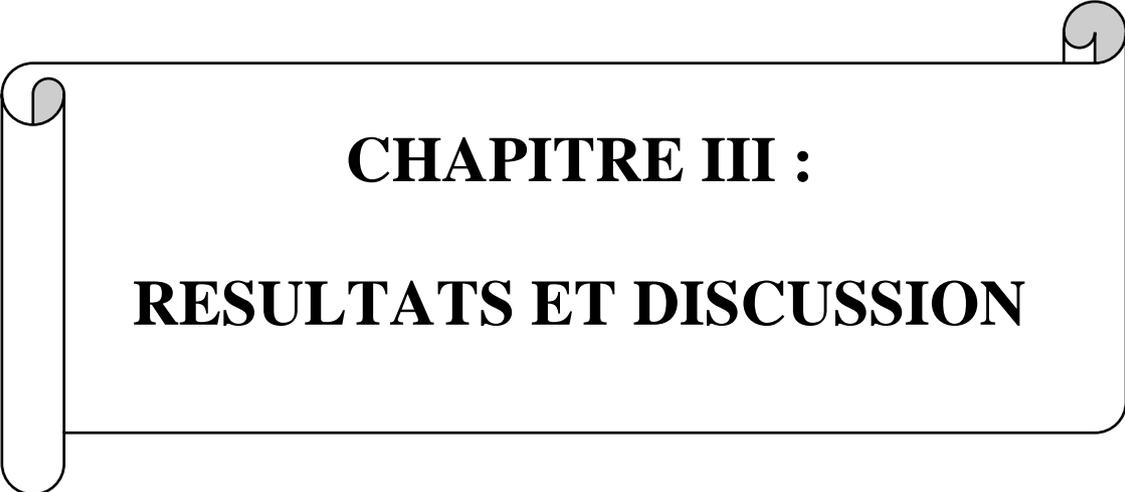
#### **II.2.5.2. Comparaison des paramètres microbiologiques et des facteurs abiotiques mesurés (Test « H » de Kruskal-Wallis)**

Le test non paramétrique de Kruskal-Wallis (test H) a été utilisé pour vérifier, sur le plan spatiotemporel, la signification des différences (ou similarités) de variances des paramètres abiotiques et des abondances des entérobactéries relatifs à leur distribution. Pour ce faire, deux hypothèses ont été émises : une hypothèse nulle selon laquelle les médianes des échantillons à comparer ne diffèrent pas significativement et une seconde hypothèse alternative selon laquelle il existe une différence significative entre les médianes des

échantillons à comparer. L'analyse a été effectuée à l'aide du logiciel SPSS version 25.0 qui donne la valeur de p (p-value). Si cette valeur est inférieure ou égale à 0,05 ( $P \leq 0,05$ ), l'hypothèse nulle est rejetée. Dans le cas contraire ( $P > 0,05$ ), elle est vérifiée. Les variables étant quantitatives, ce test de rang est mesuré avec au moins une échelle ordinale (rangs). Le test se fonde sur l'hypothèse que les différents échantillons à comparer suivent la même distribution ou qu'ils ont des distributions autour d'une médiane. Chaque fois que le test de Kruskal-Wallis a montré une différence significative entre les variances des échantillons comparés, le test de comparaison multiple de rangs ou le test U de Mann-Whitney a été utilisé pour une comparaison deux à deux, afin d'isoler les échantillons qui diffèrent significativement.

### **II.2.5.3. Recherche des similarités biotiques et abiotiques entre les sites d'échantillonnages (Analyse de Classification Hiérarchique (ACH))**

La recherche des similarités entre les sites d'échantillonnage a été faite au moyen de l'Analyse de Classification Hiérarchique (ACH) en rassemblant les moyennes de variables dans des classes de plus en plus larges, sur la base de certaines mesures de similarité ou de distance. Les résultats de ce type de classification sont habituellement représentés sous forme de dendrogramme. Cette méthode se distingue de toutes les autres par le fait qu'elle utilise une analyse de la variance approchée afin d'évaluer les distances entre les classes. Dans ce travail, l'ACH a été utilisée pour regrouper les stations en fonction de leurs similarités abiotiques d'une part, et, d'autre part, en fonction de la similarité des entérobactéries identifiées sur la base des densités moyennes. La similarité a été employée dans cette analyse de classification ascendante. Le principe de cette analyse est de regrouper des individus selon leurs ressemblances et les représenter sous la forme d'un arbre de classification. L'ACH a été réalisée à l'aide du logiciel XLSTAT 2022.



**CHAPITRE III :**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

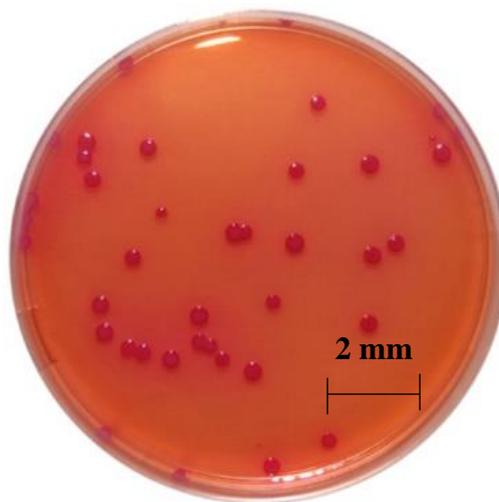
### III.1- Résultats

#### III.1.1- Aspects qualitatif et quantitatif des cellules bactériennes

##### III.1.1.1- Aspect qualitatif

###### III.1.1.1.1- Caractères morphologiques des entérobactéries sur milieux de culture

Les germes d'entérobactéries ont été isolés dans les différents types d'eau et leurs caractéristiques sur milieu Mac Conkey ont été les suivantes : colonies roses, forme arrondie et taille comprise entre 2 et 6 mm (figure 18).

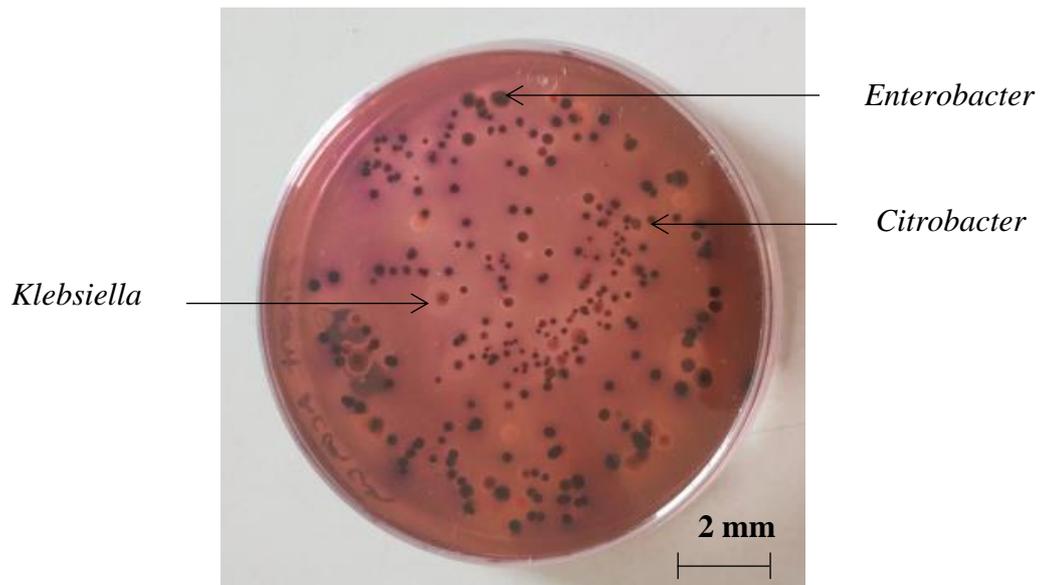


**Figure 18** : Colonies d'entérobactéries sur milieu Mac Conkey

Durant la période d'échantillonnage, 7 genres d'entérobactéries à savoir : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* et *Shigella* ont été isolés sur 3 types de milieux de culture que sont les milieux EMB, Endo et SS.

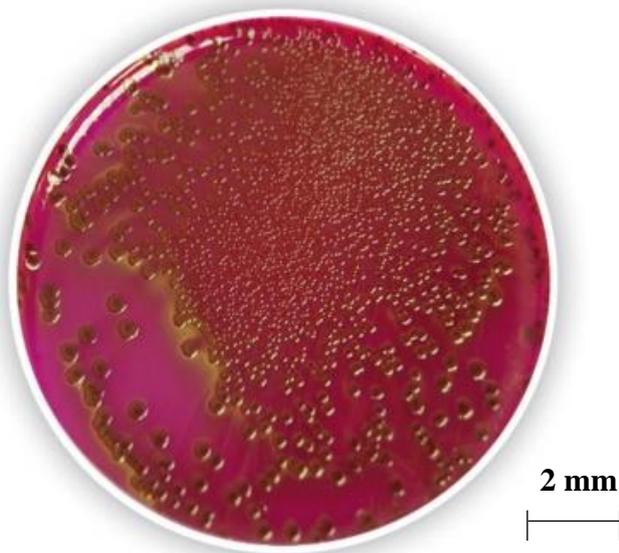
Sur le milieu EMB (figure 19), 3 types de cellules bactériennes de caractères généraux différents ont été isolées à savoir :

- les colonies d'*Enterobacter* de couleur bleuâtres à centre foncé présentant occasionnellement un reflet métallique, de forme arrondie et de diamètre compris entre 4 et 6 mm ;
- les colonies de *Klebsiella* qui sont brunâtres et muqueuses, sans reflet métallique, avec un diamètre compris entre 4 et 6 mm ;
- les colonies de *Citrobacter* de couleur violette pâle avec un léger reflet métallique, et dont la taille est de 2 mm.



**Figure 19** : Colonies de *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* sur milieu EMB

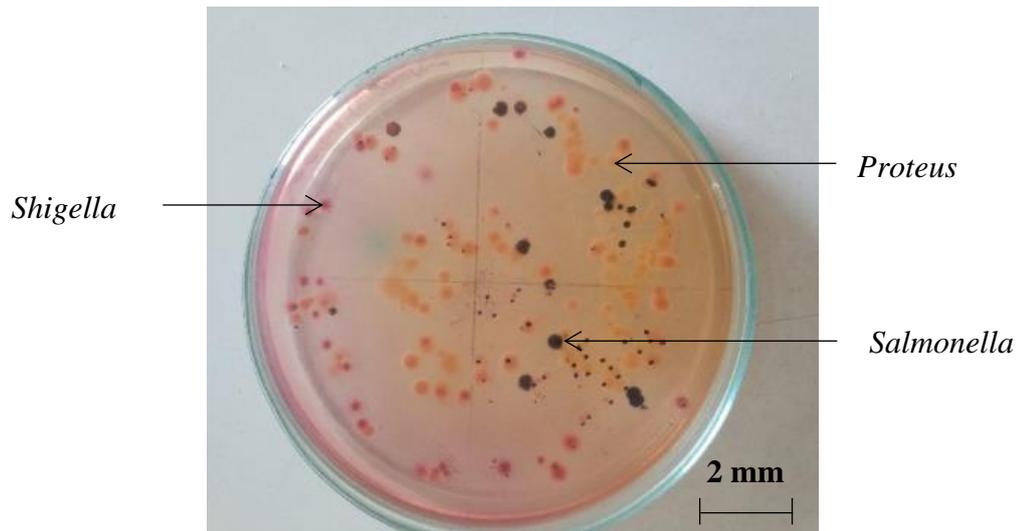
Sur le milieu Endo, les colonies de couleur rose avec reflet métallique et correspondant à *Escherichia coli* ont été isolées (figure 20).



**Figure 20** : Colonies d'*Escherichia coli* sur milieu Endo

Sur le milieu SS (figure 21), 3 types de cellules bactériennes ont été isolées à savoir :

- les colonies de *Proteus* qui sont incolores et transparentes, de diamètre compris entre 2 et 3 mm ;
- les colonies de *Salmonella* qui sont opaques et à centre noir, de taille variant entre 2 et 3 mm ;
- les colonies de *Shigella* de couleur rose et de petite taille.



**Figure 21** : Colonies de *Proteus*, *Salmonella* et *Shigella* sur milieu SS

#### III.1.1.1.2- Caractères biochimiques des espèces identifiées

Dix sept espèces d'entérobactéries ont été identifiées dans les 3 types d'eau durant la période d'échantillonnage. Les caractères biochimiques de ces espèces ont été inscrits dans le tableau X.

**Tableau X : Caractères biochimiques des espèces identifiées**

Numéros	Espèces identifiées	Caractères d'identification										
		Uréase	Indole	Mannitol	Mobilité	Gaz glucose	Lactose	H <sub>2</sub> S	LDC	ODC	Vp	Citrate
<b>1</b>	<i>Citrobacter diversus</i>	-	-	+	+	+	+	+/-	-	+	-	+
<b>2</b>	<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	+	+	+	+/-	+	-	+/-	-	+
<b>3</b>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	+	+	+	+/-	-	+	+	+	+
<b>4</b>	<i>Enterobacter agglomerans</i>	-	-	+	+	+/-	+/-	-	-	-	+	+
<b>5</b>	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+
<b>6</b>	<i>Escherichia coli</i>	-	+	+	+	+	+	-	+/-	+/-	-	-
<b>7</b>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
<b>8</b>	<i>Klebsiella ozaenae</i>	+/-	-	+	-	+/-	-	-	+/-	-	+	+
<b>9</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+
<b>10</b>	<i>Proteus mirabilis</i>	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+/-
<b>11</b>	<i>Proteus rettgeri</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+/-
<b>12</b>	<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	-	+	+/-	-	+	-	-	-	+/-
<b>13</b>	<i>Salmonella typhi</i>	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+/-
<b>14</b>	<i>Shigella boydii</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>15</b>	<i>Shigella dysenteriae</i>	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>16</b>	<i>Shigella flexneri</i>	-	+/-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>17</b>	<i>Shigella sonnei</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-

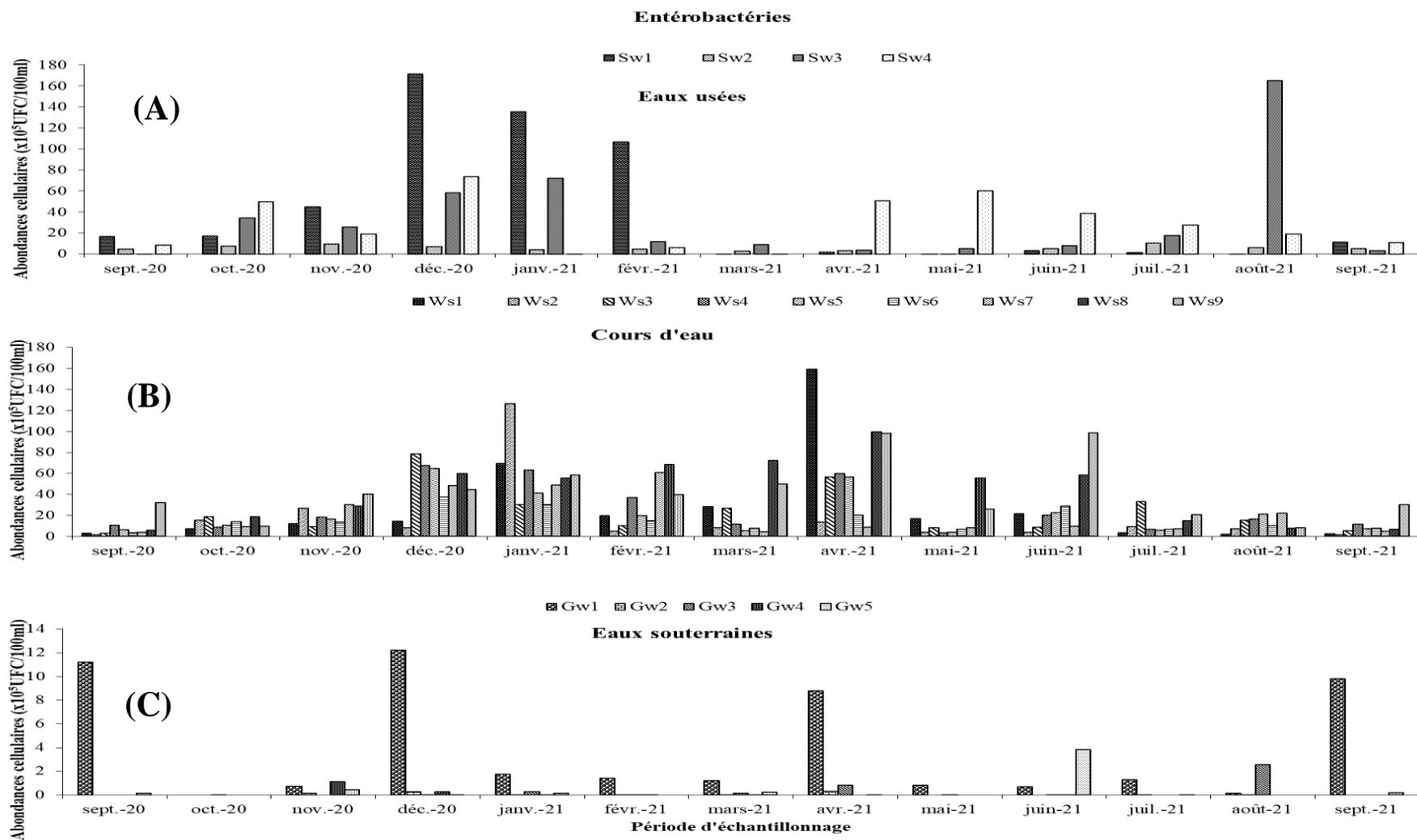
(+): positif ; (-): négatif ; (+/-): variable ; LDC : Lysine-Décarboxylase ; ODC : Ornithine-décarboxylase ; H<sub>2</sub>S : Sulfure d'hydrogène ; VP : Voges-Proskauer

### **III.1.1.2- Aspect quantitatif**

#### **III.1.1.2.1- Abondances cellulaires des entérobactéries**

Les abondances cellulaires des entérobactéries isolées dans les différents biotopes analysés ont été sujettes à des fluctuations spatio-temporelles (figure 22). Elles ont varié de  $30 \times 10^3$  à  $171 \times 10^5$ , de  $176 \times 10^3$  à  $159 \times 10^5$ , et de 0 et  $122 \times 10^4$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Les valeurs faibles ont été notées dans les stations Sw1 en mai, Ws2 en septembre 2020 avec des valeurs nulles obtenues dans Gw2, Gw3 et Gw4 durant plusieurs mois ; de fortes valeurs ont été enregistrées dans les stations Sw1, Gw1 en décembre, et Ws1 en avril. Les charges bactériennes ont été élevées durant les mois de décembre, de janvier, de février et d'août dans les eaux usées ; de janvier et d'avril dans les cours d'eau ; et de décembre, d'avril et de septembre 2020 et 2021 dans les eaux souterraines.

L'examen des valeurs moyennes des abondances a montré que les cours d'eau ( $265,81 \pm 5,52 \times 10^4$  UFC/100 mL) hébergeaient plus de germes d'entérobactéries que les eaux usées ( $265,48 \pm 5,45 \times 10^4$  UFC/100 mL) et les eaux souterraines ( $95,01 \pm 9,74 \times 10^3$  UFC/100 mL).



**Figure 22 :** Variation temporelle des abondances cellulaires des entérobactéries dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C)

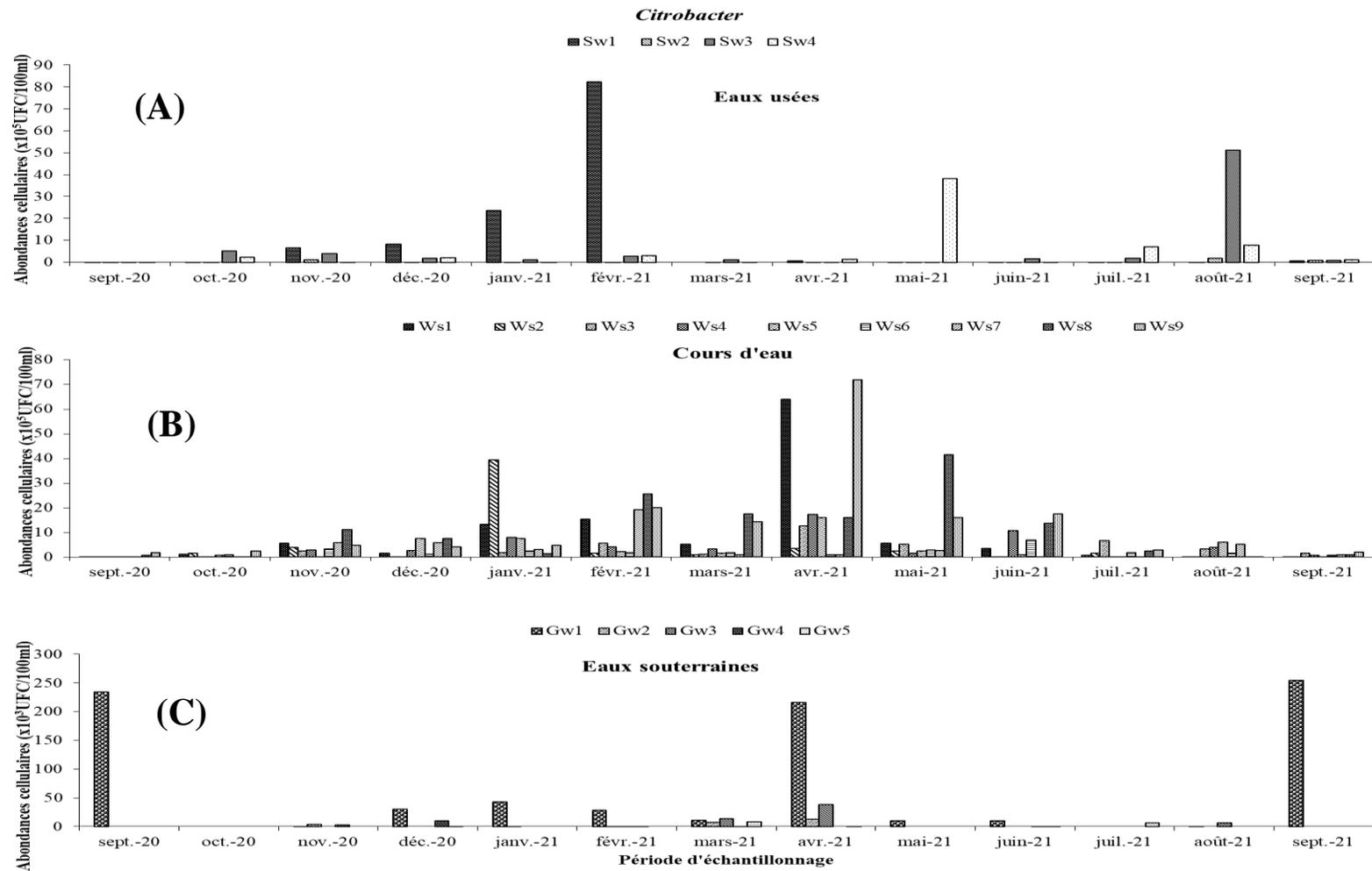
### **III.1.1.2.2- Répartition des genres et espèces d'entérobactéries dans les biotopes aquatiques de Yaoundé**

#### **III.1.1.2.2.1- Variation temporelle des abondances cellulaires du genre et des espèces de *Citrobacter***

##### **III.1.1.2.2.1.1- Abondances cellulaires du genre *Citrobacter***

Elles ont varié entre 0 et  $82 \times 10^5$ , entre  $2 \times 10^3$  et  $64 \times 10^5$ , et entre 0 et  $38 \times 10^4$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Les valeurs nulles ont été enregistrées dans les stations Sw1 au cours du mois de mars et dans Gw2, Gw3 et Gw4 durant presque toute la période d'échantillonnage ; tandis que les valeurs élevées ont été notées dans les stations Sw1, Ws1 et Gw1 respectivement au cours des mois de février, avril et septembre 2021. S'agissant de la charge bactérienne, elle a été élevée durant les mois de janvier, de février, de mai et d'août dans les eaux usées ; pendant les mois de janvier, de février, d'avril et de mai dans les cours d'eau ; et durant les mois de septembre 2020, d'avril et de septembre 2021 dans les eaux souterraines (figure 23).

Les valeurs moyennes des abondances cellulaires ont montré que les cours d'eau ( $53,90 \pm 2,21 \times 10^4$  UFC/100 mL) ont été plus peuplées en *Citrobacter* que les eaux usées ( $52,90 \pm 7,27 \times 10^4$  UFC/100 mL) et les eaux souterraines ( $18,49 \pm 4,37 \times 10^3$  UFC/100 mL).



**Figure 23** : Variation temporelle des abondances cellulaires du genre *Citrobacter* dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C)

### **III.1.1.2.2.1.2 – Abondances cellulaires des espèces de *Citrobacter***

Les espèces de *Citrobacter* identifiées étaient : *Citrobacter diversus* et *Citrobacter freundii*. Elles ont été réparties dans les différentes stations d'échantillonnage selon leur fréquence d'isolement. Leurs abondances cellulaires ont différé d'une période d'échantillonnage à une autre et d'une station à l'autre telles qu'illustrées en Annexe 1.

#### **III.1.1.2.2.1.2.1- Distribution spatio-temporelle des abondances de *Citrobacter diversus***

Ces abondances cellulaires ont varié de 0 à  $60 \times 10^5$ , de  $2 \times 10^3$  à  $41 \times 10^5$ , et de 0 à  $264 \times 10^3$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, dans les cours d'eau et dans les eaux souterraines. Les valeurs nulles ont été enregistrées dans la station Sw1 au mois de mars et dans plusieurs stations des eaux souterraines durant toute la période d'échantillonnage ; tandis que les valeurs élevées ont été notées dans les stations Sw1, Ws1 et Gw1 durant les mois de février, d'avril et de septembre 2021.

Les moyennes des abondances cellulaires de *Citrobacter diversus* représentées dans le tableau XI, ont montré que les charges bactériennes les plus élevées dans chaque biotope aquatique sont notées dans les stations Sw1, Ws8 et Gw1. Au regard de ces charges bactériennes, les cours d'eau ont été celles qui hébergeaient le plus de germe de *Citrobacter diversus*.

#### **III.1.1.2.2.1.2.2- Distribution spatio-temporelle des abondances de *Citrobacter freundii***

Pour ce qui est de l'espèce *Citrobacter freundii*, leurs abondances cellulaires ont oscillé entre 0 et  $224 \times 10^4$ , entre 0 et  $230 \times 10^4$ , et entre 0 et  $144 \times 10^3$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, dans les eaux superficielles et dans les eaux souterraines. La valeur nulle a été notée dans la majorité des stations des différents biotopes aquatiques durant la période d'échantillonnage. Quant à la valeur la plus élevée, elle a été enregistrée dans les stations Sw1, Ws1 et Gw1 respectivement durant les mois de février, d'avril et de septembre 2020.

Les moyennes des abondances cellulaires inscrites dans le tableau XI, ont montré que les charges bactériennes très élevées ont été enregistrées dans les stations Sw1, Ws8 et Gw1. En observant les charges bactériennes dans les différents types d'eau, il se dégage que les eaux superficielles hébergeaient plus de germes bactériens, contrairement aux autres types d'eau.

Au regard de la distribution de ces 2 espèces de *Citrobacter* dans les différents biotopes aquatiques, il a été noté que *Citrobacter diversus* a été la plus abondante dans toutes les stations.

**Tableau XI :** Moyennes des abondances cellulaires des espèces de *Citrobacter* dans les différentes stations des biotopes aquatiques

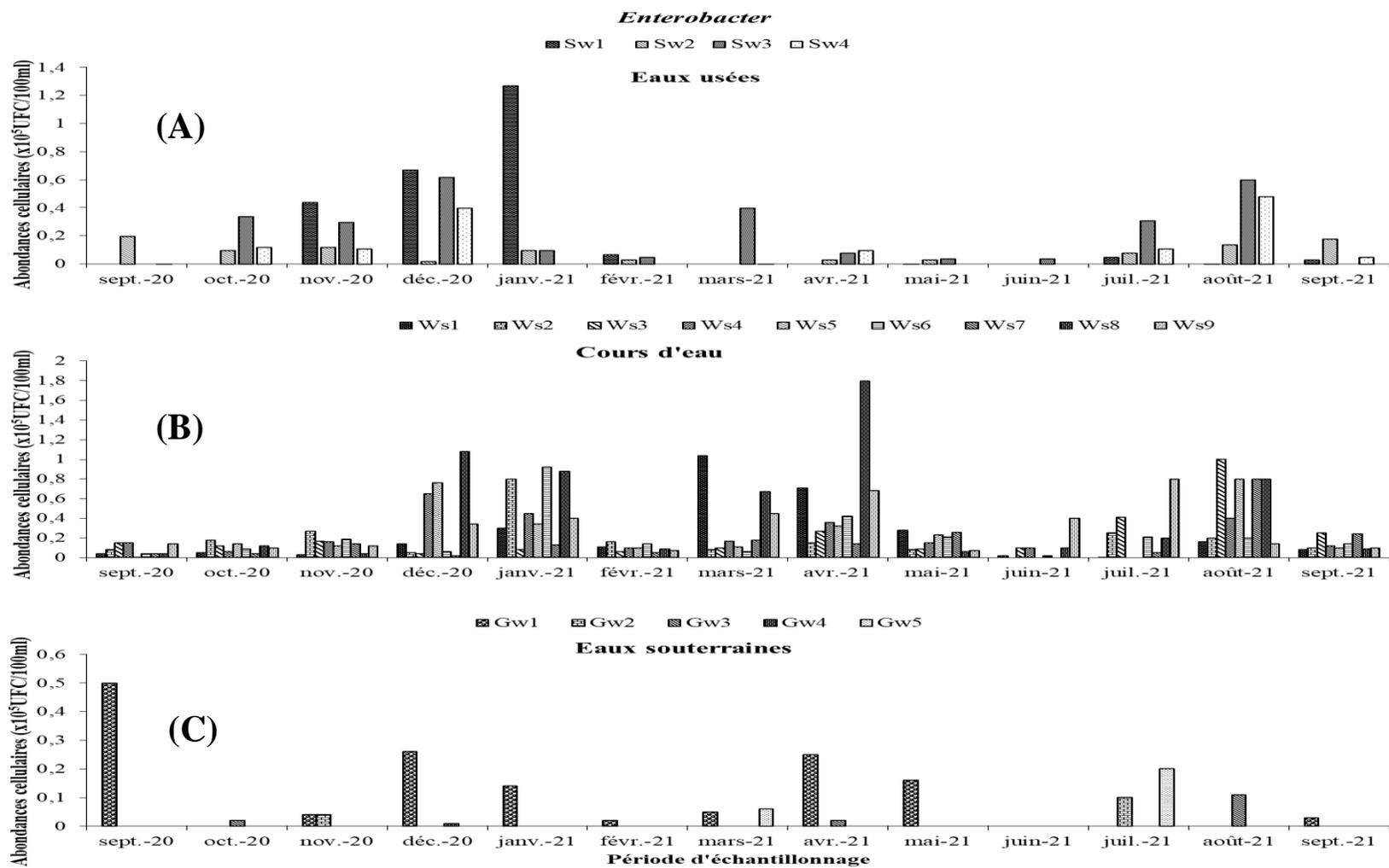
Biotopes	Stations	Moyennes des abondances cellulaires de <i>Citrobacter</i> (x10 <sup>4</sup> UFC/100 mL)	
		<i>Citrobacter diversus</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
Eaux usées	Sw1	66,85±3,78	29,32±2,95
	Sw2	4,23±6,02	2,77±4,33
	Sw3	39,23±2,65	19,92±1,63
	Sw4	36,85±2,91	16,15±1,57
Cours d'eau	Ws1	58,85±2,04	33,92±2,05
	Ws2	28,15±2,77	15,85±1,44
	Ws3	22,85±1,76	11,23±1,35
	Ws4	30,15±2,24	14,15±1,96
	Ws5	25,85±2,93	10,38±1,07
	Ws6	13,23±1,45	8,61±1,75
	Ws7	24,07±2,40	12,07±1,95
	Ws8	74±3,18	33,23±2,11
	Ws9	54,69±2,27	22,08±1,73
Eaux souterraines	Gw1	6,31±1,57	3,61±1,06
	Gw2	1,77±1,33	0,31±0,56
	Gw3	3,08±1,75	1,08±1,04
	Gw4	1,23±1,11	0
	Gw5	1,15±1,07	0,08±0,28

### III.1.1.2.2.2- Variation temporelle des abondances cellulaires du genre et des espèces d'*Enterobacter*

#### III.1.1.2.2.2.1- Abondances cellulaires du genre *Enterobacter*

Ces abondances ont varié de 0 à 127 x10<sup>3</sup>, de 0 à 180 x10<sup>3</sup> et de 0 à 26 x10<sup>3</sup> UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Plusieurs stations ont enregistré des valeurs nulles durant la période d'échantillonnage ; tandis que les valeurs les plus élevées ont été notées dans les stations Sw1, Ws8 et Gw1 respectivement durant les mois de janvier, d'avril, et de décembre (figure 24). La charge bactérienne a été élevée au cours des mois de novembre, de décembre et de janvier dans les eaux usées ; pendant les mois de décembre, de janvier, de mars, d'avril et d'août dans les cours d'eau.

Dans l'ensemble, les valeurs moyennes des abondances cellulaires du genre *Enterobacter* ont montré que les cours d'eau ( $23,89 \pm 4,88 \times 10^3$  UFC/100 mL) ont hébergé plus de germes que les eaux usées ( $15,09 \pm 3,88 \times 10^3$  UFC/100 mL) et les eaux souterraines ( $1,98 \pm 1,38 \times 10^3$  UFC/100 mL).



**Figure 24:** Variation mensuelle des abondances cellulaires du genre *Enterobacter* dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C)

### **III.1.1.2.2.2- Abondances cellulaires des espèces d'*Enterobacter***

Les espèces d'*Enterobacter* identifiées dans les 3 biotopes aquatiques, ont été réparties dans les différentes stations d'échantillonnage selon leur fréquence d'isolement. Ces espèces étaient : *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans* et *Enterobacter cloacae*. Leurs abondances cellulaires ont différencié d'une période d'échantillonnage à une autre et d'une station à l'autre comme illustrées en Annexe 2.

#### **III.1.1.2.2.2.1- Distribution spatio-temporelle des abondances d'*Enterobacter aerogenes***

Les abondances cellulaires de l'espèce *Enterobacter aerogenes* ont fluctué entre 0 et 30 x10<sup>3</sup>, entre 0 et 40 x10<sup>3</sup>, et entre 0 et 5 x10<sup>3</sup> UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. La valeur nulle a été enregistrée dans presque toutes les stations à des périodes d'échantillonnage différentes, tandis que la valeur élevée a été notée dans les stations Sw1 au mois de janvier, Ws8 au mois d'avril et Gw1 au cours des mois de décembre et d'avril.

Il ressort du tableau XII que les stations Sw3, Ws8 et Gw1 ont enregistré une charge bactérienne élevée d'*Enterobacter aerogenes* par rapport aux autres stations et que cette espèce a été très abondante dans les cours d'eau.

#### **III.1.1.2.2.2.2- Distribution spatio-temporelle des abondances d'*Enterobacter agglomerans***

Concernant l'espèce *Enterobacter agglomerans*, leurs abondances cellulaires ont varié de 0 à 27 x10<sup>3</sup>, de 0 à 60 x10<sup>3</sup> et de 0 à 7 x10<sup>3</sup> UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, dans les cours d'eau et dans les eaux souterraines. Plusieurs stations des différents biotopes aquatiques ont enregistré des valeurs nulles durant la période d'échantillonnage ; tandis que la valeur élevée a été enregistrée dans les stations Sw1 en janvier, Ws8 et Gw1 en avril.

Les moyennes des abondances cellulaires inscrites dans le tableau XII ont révélé que la charge bactérienne d'*Enterobacter agglomerans* a été élevée dans les stations Sw3, Ws8 et Gw1. Ainsi, au vu de ces charges bactériennes, les cours d'eau sont celles qui hébergeaient le plus de germe d'*Enterobacter agglomerans*.

### III.1.1.2.2.2.3- Distribution spatio-temporelle des abondances d'*Enterobacter cloacae*

S'agissant des abondances cellulaires de l'espèce *Enterobacter cloacae*, elles ont oscillé entre 0 et  $70 \times 10^3$ , entre 0 et  $80 \times 10^3$  et entre 0 et  $16 \times 10^3$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, dans les cours d'eau et dans les eaux souterraines. La valeur nulle a été notée dans plusieurs stations mais à des périodes d'échantillonnage différentes, tandis que la valeur élevée a été enregistrée dans les stations Sw1 en janvier, Ws8 en avril et Gw1 en décembre.

Le tableau XII, ressortant les moyennes des abondances cellulaires de l'espèce *Enterobacter cloacae*, montre que les stations Sw1, Ws8 et Gw1 ont présenté une charge bactérienne élevée contrairement aux autres stations et que parmi ces différents biotopes aquatiques, les cours d'eau ont été celles qui ont enregistré une forte abondance d'*Enterobacter cloacae*.

En observant les moyennes des abondances cellulaires des espèces appartenant au genre *Enterobacter*, il s'en suit qu'*Enterobacter cloacae* a été la plus abondante dans toutes les stations des 3 biotopes aquatiques.

**Tableau XII :** Moyennes des abondances cellulaires des espèces d'*Enterobacter* dans les différentes stations des biotopes aquatiques

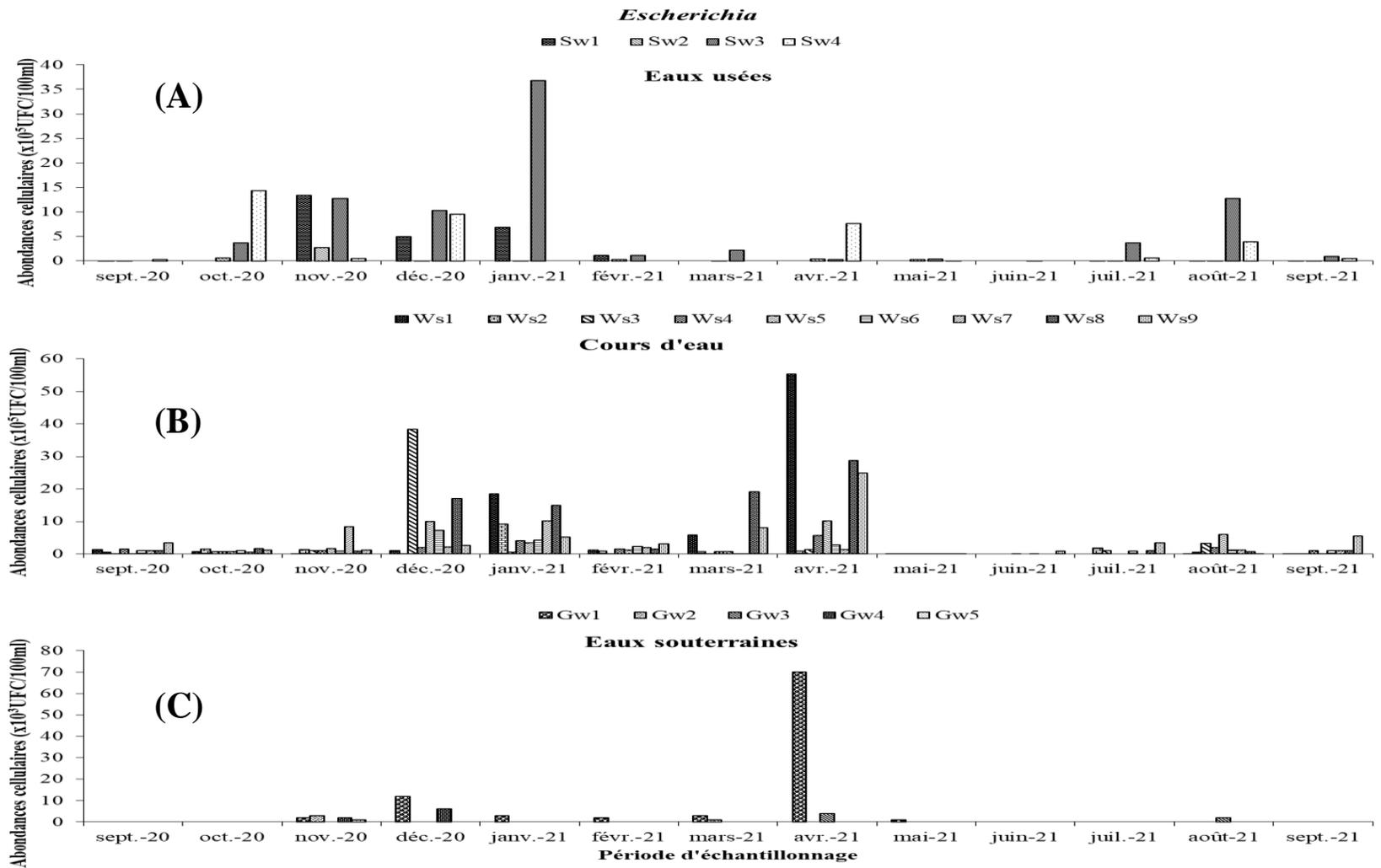
Biotopes	Stations	Moyennes des abondances cellulaires d' <i>Enterobacter</i> ( $\times 10^3$ UFC/100 mL)		
		<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Enterobacter agglomerans</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
Eaux usées	Sw1	4,23±2,05	3,38±1,84	12±3,46
	Sw2	1,92±1,38	2±1,41	4±2
	Sw3	5,92±2,43	5,92±2,43	10,61±3,26
	Sw4	3,31±1,82	2,08±1,44	5,34±2,32
Cours d'eau	Ws1	6,15±2,48	4,69±2,16	11,92±3,45
	Ws2	4,77±2,18	4±2	9,77±3,12
	Ws3	5,85±2,42	4,53±2,13	11,46±3,38
	Ws4	6,23±2,50	4,46±2,11	11,38±3,37
	Ws5	5,15±2,27	5,23±2,29	12,53±3,54
	Ws6	6,07±2,46	4,77±2,18	9,92±3,14
	Ws7	3,62±1,90	5,15±2,27	7,31±2,70
	Ws8	9,31±3,05	8,61±2,93	22,46±4,74
	Ws9	5,38±2,32	7,53±2,74	16,38±4,05
Eaux souterraines	Gw1	1,54±1,24	1,69±1,3	4,31±2,07
	Gw2	0	0	0,38±0,62
	Gw3	0,15±0,38	0,38±0,61	0,61±0,78
	Gw4	0	0	0,08±0,28
	Gw5	0,15±0,39	0,08±0,28	0,38±0,61

### **III.1.1.2.2.3- Variation temporelle des abondances cellulaires du genre et d'espèce d'*Escherichia***

#### **III.1.1.2.2.3.1- Abondances cellulaires du genre *Escherichia***

Les abondances cellulaires du genre *Escherichia* ont été sujettes à une fluctuation spatio-temporelle comme l'illustre la figure 25. Elles ont oscillé entre 0 et  $37 \times 10^5$ , entre 0 et  $55 \times 10^5$ , et entre 0 et  $70 \times 10^3$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Durant la période d'échantillonnage, plusieurs stations n'ont enregistré aucune abondance. Cependant, la plus grande valeur a été notée dans les stations Sw3 au cours du mois de janvier, Ws1 et Gw1 au mois d'avril. La charge bactérienne a été élevée pendant les mois de novembre, de décembre et de janvier dans les eaux usées, durant les mois de décembre, de janvier et d'avril dans les cours d'eau.

Au regard des valeurs moyennes des abondances cellulaires enregistrées dans les 3 biotopes aquatiques, le genre *Escherichia* a été très abondant dans les cours d'eau ( $35,42 \pm 2,58 \times 10^4$  UFC/100 mL) que dans les eaux usées ( $30,42 \pm 2,33 \times 10^4$  UFC/100 mL) et dans les eaux souterraines ( $1,72 \pm 1,31 \times 10^3$  UFC/100 mL).



**Figure 25** : Variation temporelle des abondances cellulaires du genre *Escherichia* dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C)

### III.1.1.2.3.2- Abondances cellulaires de l'espèce *Escherichia coli*

L'abondance cellulaire de l'espèce *Escherichia coli* a fluctué entre 0 et  $37 \times 10^5$ , entre 0 et  $55 \times 10^5$  et entre 0 et  $70 \times 10^3$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, dans les cours d'eau et dans les eaux souterraines. La valeur nulle a été notée dans plusieurs stations à des périodes différentes ; tandis que la valeur élevée a été enregistrée dans les stations Sw3 en janvier, Ws1 et Gw1 au mois d'avril (Annexe 3).

Les moyennes des abondances cellulaires inscrites dans le tableau XIII montrent que les cours d'eau hébergeaient plus d'espèce d'*Escherichia coli*.

**Tableau XIII :** Moyennes des abondances cellulaires d'*Escherichia coli* dans les différentes stations des biotopes aquatiques

Biotopes	Stations	Moyennes des abondances cellulaires de
		<i>Escherichia coli</i> ( $\times 10^4$ UFC/100 mL)
Eaux usées	Sw1	21,61±1,34
	Sw2	4,62±0,68
	Sw3	66,31±3,68
	Sw4	29,15±2,09
Cours d'eau	Ws1	65±3,49
	Ws2	14,92±1,78
	Ws3	36,31±2,01
	Ws4	16,85±1,60
	Ws5	26,31±2,23
	Ws6	18,23±1,39
	Ws7	22,69±1,86
	Ws8	68,31±3,01
	Ws9	46,38±2,46
Eaux souterraines	Gw1	7,15±2,67
	Gw2	0,31±0,56
	Gw3	0,46±0,68
	Gw4	0,61±0,78
	Gw5	0,08±0,28

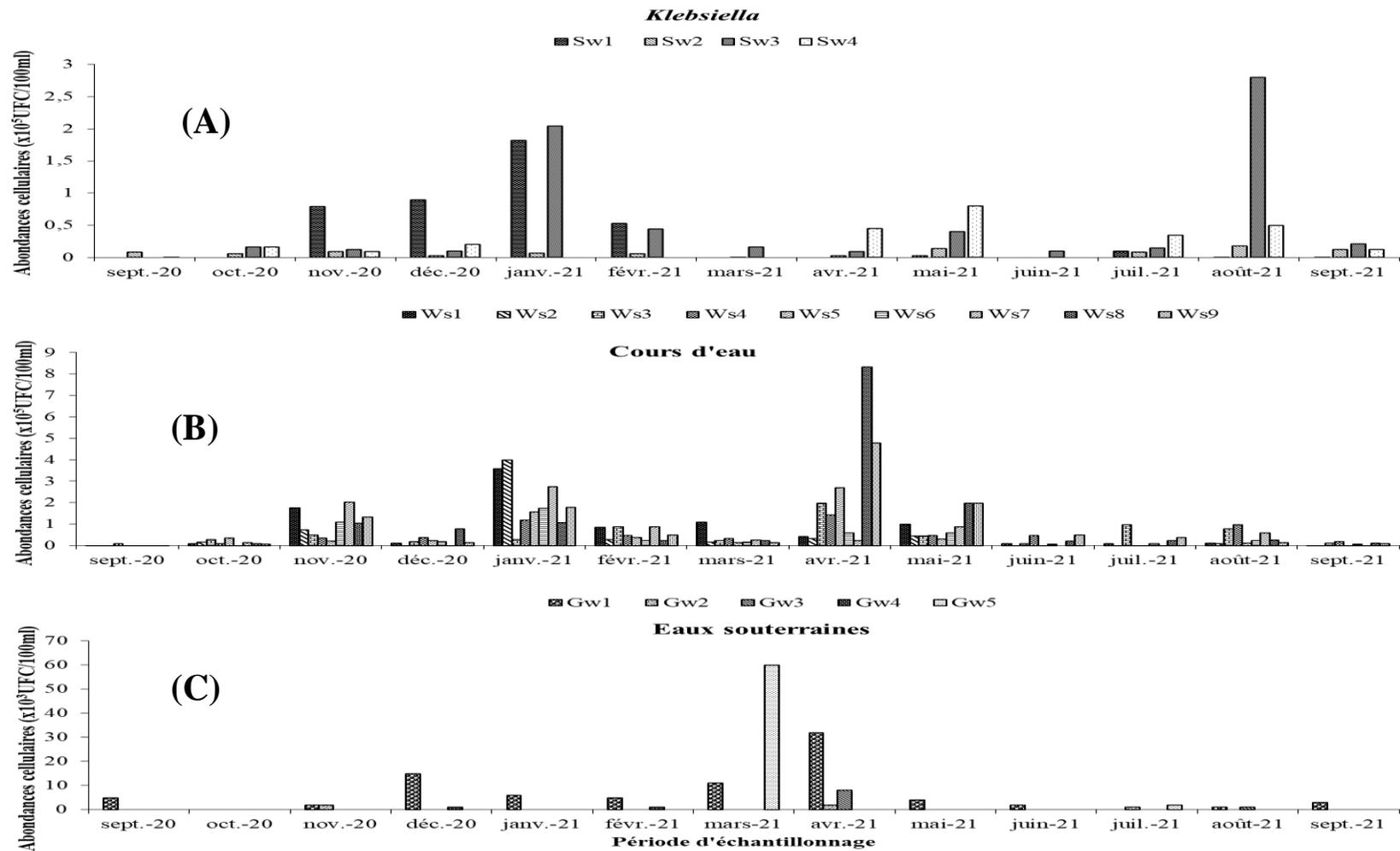
### III.1.1.2.2.4- Variation temporelle des abondances cellulaires du genre et des espèces de *Klebsiella*

#### III.1.1.2.2.4.1- Abondances cellulaires du genre *Klebsiella*

Les abondances cellulaires du genre *Klebsiella* ont été sujettes d'une variation spatio-temporelle telle qu'illustrée par la figure 26. Elles ont varié de 0 à  $280 \times 10^3$ , de 0 à  $83 \times 10^4$  et de 0 à  $32 \times 10^3$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Plusieurs stations ont présenté des valeurs nulles durant la période

d'échantillonnage ; tandis que les plus grandes valeurs ont été notées dans les stations Sw3 au mois d'août, Ws8 et Gw1 au mois d'avril. La charge bactérienne a été élevée lors des mois de janvier et d'août dans les eaux usées, durant les mois de novembre, janvier, avril et mai dans les cours d'eau et au cours des mois de décembre, de mars et d'avril dans les eaux souterraines.

Dans l'ensemble, le genre *Klebsiella* a été plus abondant dans les cours d'eau ( $65,06 \pm 8,07 \times 10^3$  UFC/100 mL) que dans les eaux usées ( $28,09 \pm 5,3 \times 10^3$  UFC/100 mL) et dans les eaux souterraines ( $1,692 \pm 1,3 \times 10^3$  UFC/100 mL) au vu de leur abondance moyenne.



**Figure 26 :** Variation temporelle des abondances cellulaires du genre *Klebsiella* dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C)

#### **III.1.1.2.4.2- Abondances cellulaires des espèces de *Klebsiella***

Les espèces de *Klebsiella* identifiées étaient : *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae* et *Klebsiella pneumoniae*. Leur répartition a différé d'une station à l'autre durant la période d'échantillonnage (Annexe 4).

##### **III.1.1.2.4.2.1- Distribution spatio-temporelle des abondances de *Klebsiella oxytoca***

Les abondances cellulaires de *Klebsiella oxytoca* ont varié entre 0 et  $180 \times 10^3$ , entre 0 et  $53 \times 10^4$  et entre 0 et  $20 \times 10^3$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, dans les cours d'eau et dans les eaux souterraines. La valeur nulle a été notée dans la majorité des stations à des périodes d'échantillonnage différentes, tandis que la valeur élevée a été notée dans les stations Sw3 en août, Ws8 et Gw1 en avril.

Les moyennes des abondances cellulaires présentées dans le tableau XIV, révèlent que la charge bactérienne a été plus élevée dans les stations Sw3, Ws8 et Gw1 et que les cours d'eau ont présenté une forte abondance de l'espèce *Klebsiella oxytoca* contrairement aux autres biotopes aquatiques.

##### **III.1.1.2.4.2.2- Distribution spatio-temporelle des abondances de *Klebsiella ozaenae***

En ce qui concerne *Klebsiella ozaenae*, les abondances cellulaires ont oscillé entre 0 et  $85 \times 10^3$ , entre 0 et  $236 \times 10^3$  et entre 0 et  $12 \times 10^3$  UFC/100 mL, respectivement dans les eaux usées, dans les cours d'eau et dans les eaux souterraines. La valeur nulle a été notée dans les différentes stations à différentes périodes d'échantillonnage, alors que la valeur élevée a été enregistrée dans les stations Sw3 au mois d'août, Ws8 et Gw1 au mois d'avril.

Il ressort du tableau XIV, présentant les moyennes des abondances cellulaires, que la charge bactérienne était élevée dans les stations Sw3, Ws8 et Gw1. Cependant, il a été souligné que les cours d'eau hébergeaient le plus d'espèce de *Klebsiella ozaenae*.

##### **III.1.1.2.4.2.3- Distribution spatio-temporelle des abondances de *Klebsiella pneumoniae***

Pour ce qui est de l'espèce *Klebsiella pneumoniae*, leurs abondances cellulaires ont fluctué entre 0 et  $20 \times 10^3$ , entre 0 et  $64 \times 10^3$  et entre 0 et  $1 \times 10^3$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, dans les cours d'eau et dans les eaux souterraines. Dans l'ensemble, la valeur nulle a été notée dans presque toutes les stations et à des périodes différentes d'échantillonnage. Tandis que la valeur élevée a été enregistrée dans les stations Sw3 au mois de janvier, Ws8 en avril et Gw1 en décembre. Les moyennes des abondances cellulaires,

inscrites dans le tableau XIV, ont montré que les stations Sw3, Ws8 et Gw1 présentait une charge bactérienne élevée et le biotope ayant une forte abondance était celui des cours d'eau.

Au regard du tableau des moyennes des abondances cellulaires des espèces du genre *Klebsiella*, il découle que *Klebsiella oxytoca* a été plus abondante dans toutes les stations par rapport aux autres espèces.

**Tableau XIV** : Moyennes des abondances cellulaires des espèces de *Klebsiella* dans les différentes stations des biotopes aquatiques

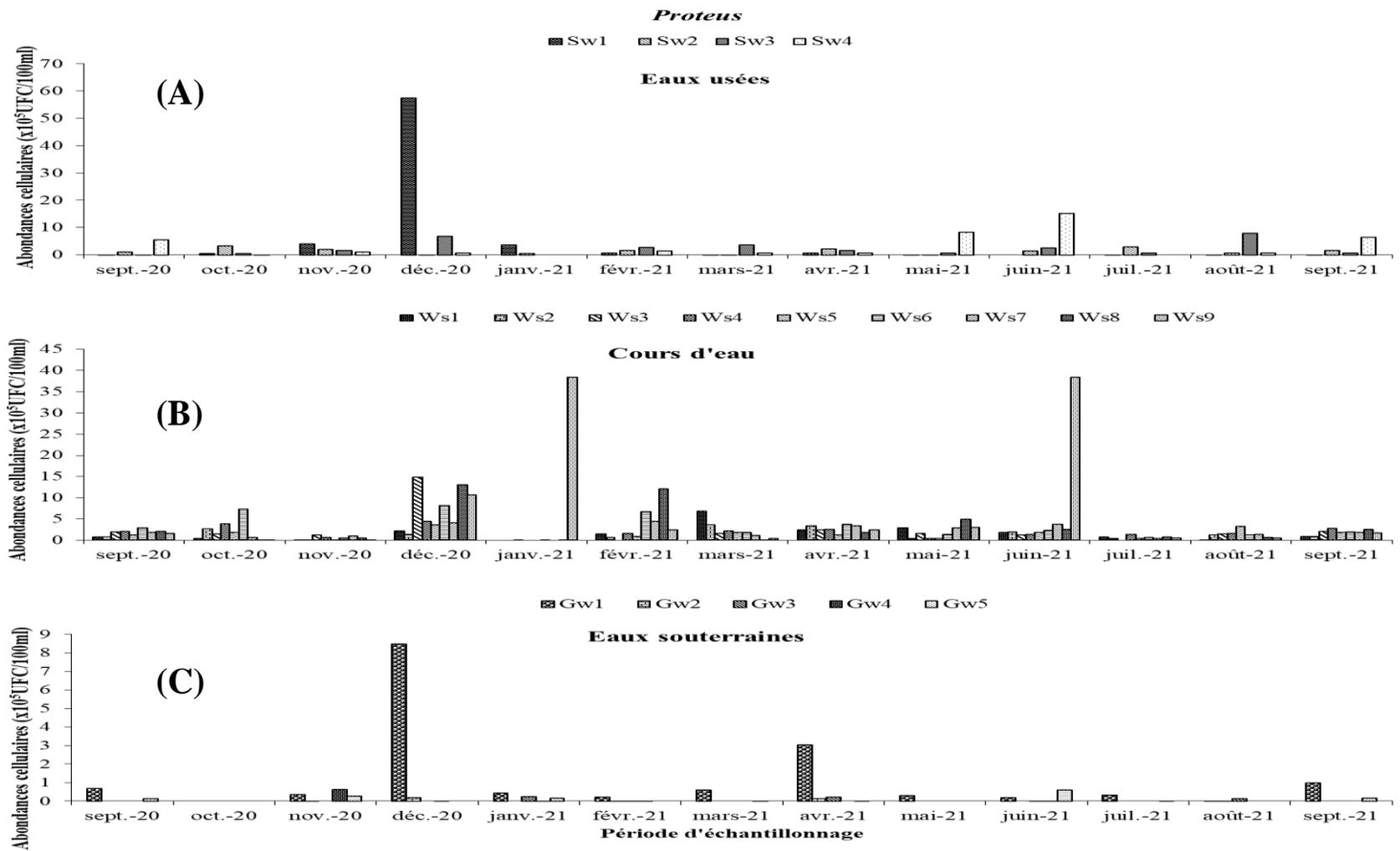
Biotopes	Stations	Moyennes des abondances cellulaires de <i>Klebsiella</i> (x10 <sup>3</sup> UFC/100 mL)		
		<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella ozaenae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Eaux usées	Sw1	19,69±4,44	9,30±3,05	3,23±1,79
	Sw2	4,85±2,20	1,92±1,39	0,53±0,73
	Sw3	35,54±5,70	15,54±3,94	3,92±1,98
	Sw4	13,23±3,64	5,62±2,37	2,31±1,52
Cours d'eau	Ws1	46,31±6,80	20,54±4,53	8,38±2,89
	Ws2	35±5,91	12,08±3,47	3,31±1,82
	Ws3	35,31±5,94	14,31±3,78	4,77±2,18
	Ws4	31,69±5,63	13,54±3,68	4,69±2,16
	Ws5	30,69±5,54	11,77±3,43	5,92±2,43
	Ws6	25,54±5,05	11,08±3,32	4,38±2,09
	Ws7	37,38±6,11	21,08±4,59	3,38±1,84
	Ws8	71,46±8,45	32,85±5,73	10,61±3,26
	Ws9	56,85±7,54	29,46±5,43	7,15±2,67
Eaux souterraines	Gw1	4,31±2,08	2,23±1,49	0,08±0,28
	Gw2	0,38±0,62	0	0
	Gw3	0,46±0,68	0,23±0,48	0
	Gw4	0,08±0,28	0,08±0,28	0
	Gw5	0,54±0,73	0,08±0,28	0

### **III.1.1.2.2.5- Variation temporelle des abondances cellulaires du genre et des espèces de *Proteus***

#### **III.1.1.2.2.5.1- Abondances cellulaires du genre *Proteus***

Ces abondances cellulaires ont varié de 0 à  $58 \times 10^5$ , de  $1 \times 10^3$  à  $38 \times 10^5$  et de 0 à  $85 \times 10^4$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Les fortes valeurs ont été enregistrées aux stations Sw1, Ws9 et Gw1 durant les mois de décembre et de juin ; cependant les valeurs nulles ont été enregistrées dans plusieurs stations à des mois différents. La charge bactérienne a été très élevée au mois de décembre dans les eaux usées, aux mois de décembre et de février dans les cours d'eau, et aux mois de décembre et d'avril dans les eaux souterraines (figure 27).

Dans ces 3 milieux aquatiques, les valeurs moyennes obtenues ont montré que le genre *Proteus* était très élevée dans les eaux usées ( $31,36 \pm 2,70 \times 10^4$  UFC/100 mL) que dans les cours d'eau ( $273,95 \pm 16,55 \times 10^3$  UFC/100 mL) et dans les eaux souterraines ( $28,98 \pm 5,38 \times 10^3$  UFC/100 mL). Ce qui révèle que les eaux usées représentaient le biotope hébergeant le plus de germe de *Proteus*.



**Figure 27** : Variation temporelle des abondances cellulaires du genre *Proteus* dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C)

### **III.1.1.2.5.2- Abondances cellulaires des espèces de *Proteus***

Les espèces de *Proteus* identifiées ont été : *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri* et *Proteus vulgaris*. Ces espèces ont été sujettes à une fluctuation spatio-temporelle (Annexe 5).

#### **III.1.1.2.5.2.1- Distribution spatio-temporelle des abondances de *Proteus mirabilis***

Les abondances cellulaires de l'espèce *Proteus mirabilis*, ont varié de 0 à  $150 \times 10^4$ , de 0 à  $90 \times 10^4$  et de 0 à  $100 \times 10^3$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, dans les cours d'eau et dans les eaux souterraines. La plus petite valeur a été enregistrée dans plusieurs stations pendant plusieurs mois durant la période d'échantillonnage, tandis que la valeur élevée a été notée dans les stations Sw1 en décembre, Ws9 en juin et Gw1 en décembre. Le tableau XV des moyennes des abondances cellulaires montre que les stations Sw1, Ws9 et Gw1 sont celles qui présentaient une forte charge bactérienne et que les cours d'eau ont été celles qui hébergent le plus de germes de *Proteus mirabilis*.

#### **III.1.1.2.5.2.2- Distribution spatio-temporelle des abondances de *Proteus rettgeri***

Les abondances cellulaires de l'espèce *Proteus rettgeri*, quant à elles, ont fluctué entre 0 et  $38 \times 10^5$ , entre 0 et  $26 \times 10^5$  et entre 0 et  $71 \times 10^4$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, dans les cours d'eau et dans les eaux souterraines avec les valeurs nulles notées dans la majorité des stations des différents biotopes durant la période d'échantillonnage. Les fortes abondances ont été enregistrées dans les stations Sw1, Gw1 en décembre, et Ws9 en janvier. S'agissant de la charge bactérienne, les moyennes des abondances cellulaires obtenues montrent qu'elle a été très élevée dans les stations Sw1, Ws9 et Gw1, contrairement aux autres stations (tableau XV) et que les cours d'eau sont celles qui enregistraient une forte abondance cellulaire de *Proteus rettgeri*.

#### **III.1.1.2.5.2.3- Distribution spatio-temporelle des abondances de *Proteus vulgaris***

Pour ce qui est de l'espèce *Proteus vulgaris*, leurs abondances ont oscillé entre 0 et  $50 \times 10^4$ , entre 0 et  $40 \times 10^4$  et entre 0 et  $40 \times 10^3$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, dans les cours d'eau et dans les eaux souterraines. Les valeurs nulles ont été notées, comme dans les cas précédents dans la majorité des stations tout au long de la période d'échantillonnage. Alors que la valeur élevée a été enregistrée dans les stations Sw1, Ws9 au mois de décembre, et dans Gw1 au mois de janvier. Les moyennes des abondances cellulaires inscrites dans le tableau XV, montrent que les stations Sw1, Ws9 et Gw1 enregistraient une

forte charge bactérienne et que les cours d'eau ont été celles qui hébergeaient le plus de germe.

Au vu des moyennes des abondances cellulaires des différentes espèces de *Proteus*, il se dégage que *Proteus rettgeri* a été plus abondante dans toutes les stations contrairement aux 2 autres espèces dans les différents biotopes.

**Tableau XV :** Moyennes des abondances cellulaires des espèces appartenant au genre *Proteus* dans les différentes stations des biotopes aquatiques

Biotopes	Stations	Moyennes des abondances cellulaires des <i>Proteus</i> (x10 <sup>4</sup> UFC/100 mL)		
		<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus rettgeri</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
Eaux usées	Sw1	14±1,62	35,23±2,71	4,08±1,71
	Sw2	4,38±1,51	10,31±1,21	2,08±1,88
	Sw3	6,54±1,65	16,77±1,60	2,85±1,22
	Sw4	7,31±1,50	22,85±1,96	3,23±1,50
Cours d'eau	Ws1	4,92±1,55	10,54±1,17	1,62±1,82
	Ws2	4±1,74	9,77±1,42	1,08±0,62
	Ws3	6,38±1,57	15,38±1,42	2,53±1,94
	Ws4	5±1,78	13,31±1,28	2,23±1,38
	Ws5	4,15±1,18	9±1,64	1,31±0,34
	Ws6	7,46±1,27	21,54±1,41	2,54±1,95
	Ws7	5,54±1,82	13,31±1,67	2,23±0,46
	Ws8	6,69±1,66	24,38±2,47	2,92±1,57
	Ws9	17,77±1,88	54,15±2,20	7,54±1,21
Eaux souterraines	Gw1	2,69±0,4	9,62±1,52	1,85±0,41
	Gw2	0,46±0,68	2,46±1,57	0,08±0,28
	Gw3	1,15±1,07	3,69±1,92	0,23±0,48
	Gw4	1,15±1,07	4,15±2,04	0,38±0,62
	Gw5	2,07±1,44	8,08±2,84	0,61±0,78

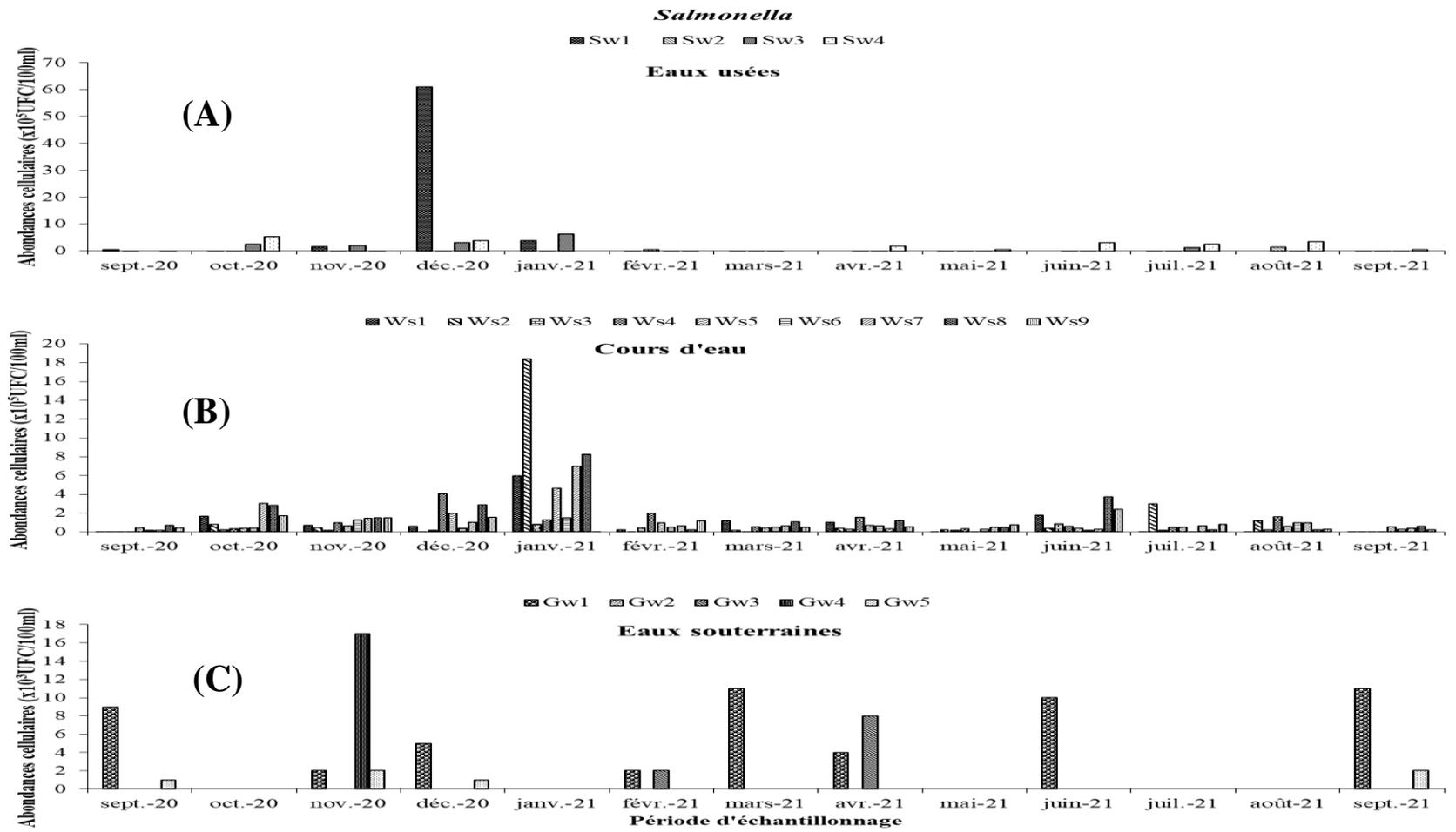
### III.1.1.2.2.6- Variation temporelle des abondances cellulaires du genre et de l'espèce *Salmonella*

#### III.1.1.2.2.6.1- Abondances cellulaires du genre *Salmonella*

Les abondances de *Salmonella* ont fluctué entre 0 et 61 x10<sup>5</sup>, entre 1 x10<sup>3</sup> et 184 x10<sup>4</sup> et entre 0 et 17 x10<sup>3</sup> UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Plusieurs stations ont présenté des valeurs nulles à des périodes différentes ; tandis que les valeurs élevées ont été notées dans les stations Sw1 au cours du mois de décembre, Ws2 en janvier et Gw4 en novembre (figure 28). S'agissant de la charge

bactérienne, elle a été très élevée aux mois de décembre dans les eaux usées, de janvier dans les cours d'eau, et de novembre dans les eaux souterraines.

Au regard des abondances cellulaires du genre *Salmonella* obtenues dans les différents biotopes aquatiques, les eaux usées ont enregistré la valeur la plus élevée contrairement aux cours d'eau et aux eaux souterraines. Les valeurs moyennes des abondances ont également révélé que le genre *Salmonella* a été très abondant dans les eaux usées ( $217,46 \pm 14,74 \times 10^3$  UFC/100 mL) bien qu'il était absent dans certaines stations de ce biotope, inversement dans les cours d'eau ( $111,06 \pm 10,53 \times 10^3$  UFC/100 mL) et dans les eaux souterraines ( $1,33 \pm 1,15 \times 10^3$  UFC/100 mL) où les abondances ont été enregistrées dans presque toutes les stations.



**Figure 28** : Variation temporelle des abondances cellulaires du genre *Salmonella* dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C)

### III.1.1.2.2.6.2- Abondances cellulaires de l'espèce *Salmonella typhi*

Les abondances de *Salmonella typhi* ont fluctué entre 0 et  $61 \times 10^5$ , entre  $1 \times 10^3$  et  $18 \times 10^5$  et entre 0 et  $17 \times 10^3$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, dans les cours d'eau et dans les eaux souterraines. La valeur élevée a été enregistrée dans les stations Sw1 au mois de décembre, Ws2 en janvier et Gw4 en novembre (Annexe 6). Les moyennes des abondances cellulaires, inscrites dans le tableau XVI, montrent que *Salmonella typhi* est plus abondante dans les eaux usées que dans les autres biotopes aquatiques.

**Tableau XVI :** Moyennes des abondances cellulaires de l'espèce *Salmonella typhi* dans les différentes stations

Biotopes	Stations	Moyennes des abondances cellulaires de <i>Salmonella typhi</i> ( $\times 10^4$ UFC/100 mL)
Eaux usées	Sw1	52,35±22,88
	Sw2	3,25±5,70
	Sw3	13,65±11,68
	Sw4	17,75±13,32
Cours d'eau	Ws1	10,44±10,22
	Ws2	19,53±13,97
	Ws3	3,0±5,48
	Ws4	10,74±10,36
	Ws5	9,57±9,78
	Ws6	5,61±7,49
	Ws7	13,24±11,50
	Ws8	18,56±13,62
	Ws9	9,29±9,64
Eaux souterraines	Gw1	2,15±2,04
	Gw2	0
	Gw3	0,77±0,88
	Gw4	1,30±1,14
	Gw5	0,46±0,68

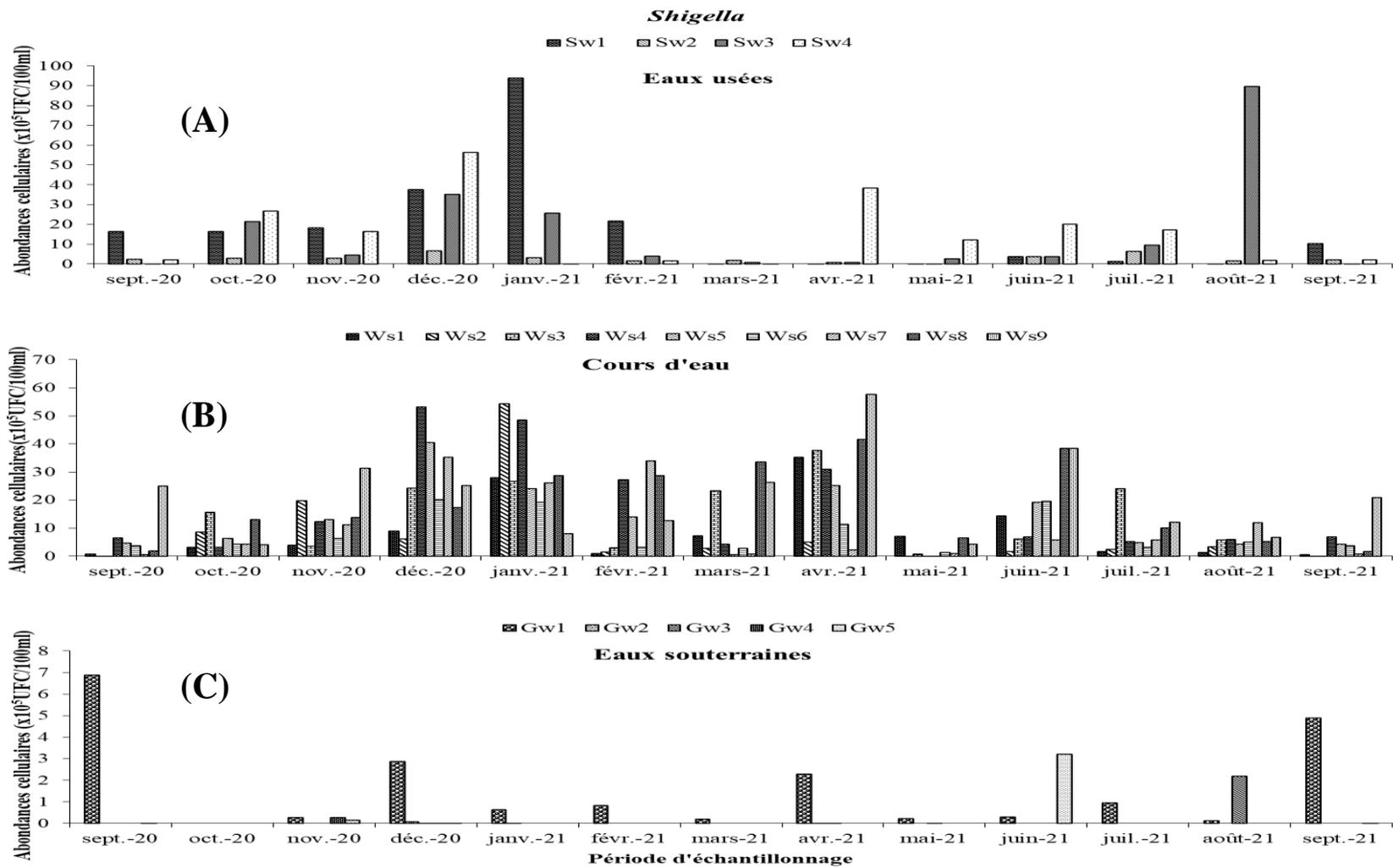
### III.1.1.2.2.7- Variation temporelle des abondances cellulaires du genre et des espèces de *Shigella*

#### III.1.1.2.2.7.1- Abondances cellulaires du genre *Shigella*

Les abondances cellulaires du genre *Shigella* isolées dans les différents biotopes ont été sujettes à une fluctuation spatio-temporelle comme illustrées par la figure 29. Ces abondances ont oscillé entre  $6 \times 10^3$  et  $94 \times 10^5$ , entre  $7 \times 10^3$  et  $58 \times 10^5$  et entre 0 et  $69 \times 10^4$  UFC/100 mL. Les plus petites abondances ont été notées dans les stations Sw1 au mois de mars, Ws2 au mois de septembre 2020, et dans les stations des eaux souterraines, certaines y ont enregistré

la valeur nulle durant la période d'échantillonnage. Tandis que les valeurs élevées dans les stations Sw1 au mois de janvier, Ws9 en avril et Gw1 en septembre 2020. S'agissant des charges bactériennes, elles ont été très élevées pendant les mois de décembre et de janvier dans les eaux usées, les mois de décembre, de janvier et d'avril dans les cours d'eau, et au mois de septembre 2020 dans les eaux souterraines.

Dans l'ensemble, les eaux usées ont enregistré la plus forte abondance cellulaire du genre *Shigella*, bien que certaines de ces stations aient présenté de faible abondance. Cependant, les valeurs moyennes des abondances ont révélé que les cours d'eau présentent une forte abondance cellulaire ( $130,54 \pm 4,04 \times 10^4$  UFC/100 mL) contrairement aux eaux usées ( $125,89 \pm 4,39 \times 10^4$  UFC/100 mL) et eaux souterraines ( $40,90 \pm 6,39 \times 10^3$  UFC/100 mL), indiquant ainsi que les eaux superficielles représentaient le biotope aquatique le plus abondant en *Shigella*.



**Figure 29** : Variation temporelle des abondances cellulaires du genre *Shigella* dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C)

### **III.1.1.2.7.2- Abondances cellulaires des espèces de *Shigella***

Les espèces de *Shigella* identifiées étaient : *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* et *Shigella sonnei*. Ces 4 espèces ont varié dans les différentes stations en fonction de la période d'échantillonnage (Annexe 7).

#### **III.1.1.2.7.2.1- Distribution spatio-temporelle des abondances de *Shigella boydii***

Les abondances cellulaires de l'espèce *Shigella boydii*, ont varié de  $1 \times 10^3$  à  $41 \times 10^5$ , de  $2 \times 10^3$  à  $22 \times 10^5$  et de 0 à  $208 \times 10^3$  UFC/100 mL, respectivement dans les eaux usées, dans les cours d'eau et dans les eaux souterraines. Les plus petites valeurs ont été enregistrées dans les stations Sw1 au mois de mars, Ws2 en janvier et dans plusieurs stations des eaux souterraines durant la période d'échantillonnage ; tandis que les valeurs élevées ont été notées dans les stations Sw1, Gw1 en janvier, et Ws4 en décembre.

Le tableau XXVII des moyennes des abondances cellulaires montre que les cours d'eau ont hébergé le plus de germes de *Shigella boydii*.

#### **III.1.1.2.7.2.2- Distribution spatio-temporelle des abondances de *Shigella dysenteriae***

Ces abondances ont varié de 0 à  $280 \times 10^3$  et de 0 à  $235 \times 10^3$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées et les cours d'eau. Aucune espèce de *Shigella dysenteriae* n'a été enregistrée dans les eaux souterraines. Cependant, dans les 2 autres biotopes aquatiques, la valeur nulle a été enregistrée dans plusieurs stations à des mois différents durant la période d'échantillonnage, tandis que la valeur élevée a été notée aux stations Sw1 et Ws4 en janvier.

Le tableau XXVII des moyennes des abondances cellulaires montre que les eaux usées ont été celles qui hébergeaient le plus de germes de *Shigella dysenteriae*.

#### **III.1.1.2.7.2.3- Distribution spatio-temporelle des abondances de *Shigella flexneri***

Les abondances cellulaires de l'espèce *Shigella flexneri* ont varié de 0 à  $50 \times 10^3$  et de 0 à  $65 \times 10^3$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées et dans les cours d'eau. Aucune espèce de *Shigella flexneri* n'a été enregistrée dans les eaux souterraines. Cependant, dans les 2 autres biotopes aquatiques, la valeur nulle a été enregistrée dans plusieurs stations à des mois différents durant la période d'échantillonnage, tandis que les valeurs élevées ont été notées dans les stations Sw4 aux mois de décembre et d'avril, et Ws4 en janvier.

Le tableau XXVII des moyennes des abondances cellulaires montre que les eaux usées hébergeraient le plus de germes de *Shigella flexneri*.

#### III.1.1.2.7.2.4- Distribution spatio-temporelle des abondances de *Shigella sonnei*

Les abondances cellulaires de l'espèce *Shigella sonnei* ont varié de  $5 \times 10^3$  à  $56 \times 10^5$ , de  $5 \times 10^3$  à  $37 \times 10^5$  et de 0 à  $48 \times 10^4$  UFC/100 mL respectivement dans les eaux usées, dans les cours d'eau et dans les eaux souterraines. Les plus petites valeurs ont été enregistrées dans les stations Sw1 en mars, Ws2 en janvier et la valeur nulle notée dans plusieurs stations des eaux souterraines durant la période d'échantillonnage. Les plus grandes valeurs quant à elles ont été notées dans les stations Sw3 en août, Ws9 en avril, et Gw1 en janvier.

Le tableau XXVII des moyennes des abondances cellulaires montre que les stations Sw1, Ws9 et Gw1 présentaient une forte charge bactérienne, et que les cours d'eau hébergeaient le plus grand nombre de germes de *Shigella sonnei*.

Au vu des moyennes des abondances cellulaires des différentes espèces de *Shigella*, il se dégage que l'espèce *Shigella sonnei* a été plus abondante dans toutes les stations, contrairement aux 2 autres espèces dans les différents biotopes.

**Tableau XVII :** Moyennes des abondances cellulaires des espèces de *Shigella* dans les différentes stations des biotopes aquatiques

Biotopes	Stations	Moyennes des abondances cellulaires des <i>Shigella</i> ( $\times 10^4$ UFC/100 mL)			
		<i>Shigella boydii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigella sonnei</i>
Eaux usées	Sw1	67,92±3,96	6,15±1,13	1,23±0,50	94±3,72
	Sw2	10,07±1,00	2,23±0,71	1,77±0,18	15,38±1,42
	Sw3	59,69±2,36	4,31±1,58	1,69±0,11	88,07±3,70
	Sw4	63,07±3,16	7,92±1,83	1,61±0,82	78,31±3,93
Cours d'eau	Ws1	32,61±2,88	4,23±1,26	1,07±0,46	49,46±2,19
	Ws2	32,61±2,76	3,61±1,62	1,85±0,20	46,92±2,54
	Ws3	52,30±2,79	5,77±1,05	1,85±0,14	73,30±3,08
	Ws4	64,46±3,20	7,07±1,31	1,15±0,48	90,46±3,04
	Ws5	51,69±22,62	4,69±6,22	1,38±0,72	68,23±3,18
	Ws6	32,61±2,93	3,38±0,51	1,54±0,56	44,92±2,02
	Ws7	42,23±2,47	4,46±1,95	1,61±0,76	61,23±2,68
	Ws8	76,23±3,53	5,53±1,18	1,46±0,23	103,92±3,11
	Ws9	80,85±3,24	5,07±1,00	1±0,46	123,15±4,16
Eaux souterraines	Gw1	5,92±1,13	0	0	10,46±1,32
	Gw2	0,15±0,38	0	0	1,15±1,07
	Gw3	3,15±1,77	0	0	1,46±0,80
	Gw4	0,31±0,56	0	0	2±1,41
	Gw5	1,07±1,84	0	0	2,84±1,22

### **III.1.2- Activités antimicrobiennes chez les entérobactéries isolées de différents biotopes aquatiques**

#### **III.1.2.1- Susceptibilité des entérobactéries aux antibiotiques**

La susceptibilité des entérobactéries aux antibiotiques appartenant aux familles des  $\beta$ -lactamines, des Quinolones, des Aminoglycosides, des Sulfamides et autres a varié selon le type de biotope où les espèces ont été isolées. Les résultats y relatifs ont été notés en fonction du pourcentage de résistance (tableaux XVIII, XIX et XX).

##### **III.1.2.1.1- Susceptibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées des eaux usées**

Les entérobactéries isolées dans les eaux usées ont présenté dans l'ensemble des résistances élevées à la majorité des antibiotiques en particulier aux  $\beta$ -lactamines, vis-à-vis desquels des prévalences de résistance moyennes ont atteint 98,18% (tableau XVIII). Les espèces telles que *Proteus mirabilis* et *Shigella flexneri* ont exprimé une résistance totale (100%) aux  $\beta$ -lactamines testés. Certains antibiotiques de cette famille notamment le Céfuroxime, la Ticarcilline et la Pipéracilline/Tazobactam n'ont eu aucun effet sur les entérobactéries.

La prévalence de résistance moyenne aux Quinolones a été de 96,99%. Environ sept espèces bactériennes ont exprimé une totorésistance à cette famille d'antibiotique, notamment *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae*, *Proteus mirabilis*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae* et *Shigella flexneri*. Le Quinolone vis-à-vis duquel toutes les espèces d'entérobactéries ont résisté entièrement était l'Ofloxacin.

S'agissant de la résistance aux Aminoglycosides, la prévalence moyenne a atteint 79,48%. *Proteus mirabilis* et *Shigella flexneri* ont résisté à tous les antibiotiques de cette famille. Cependant, la Gentamicine a montré une plus grande efficacité antibactérienne contre le genre *Enterobacter*.

En ce qui concerne la famille des Sulfamides et autres, le taux de résistance a été de 91,26%. *Shigella flexneri* a présenté 100% de résistance contre tous les antibiotiques de cette famille. *Salmonella typhi* a montré une sensibilité vis-à-vis du Triméthoprime/Sulfaméthoxazole avec un pourcentage de résistance de 42,3%.

De toutes ces familles d'antibiotiques, celle des Aminoglycosides a montré un faible pourcentage de résistance et l'antibiotique le plus sensible est la Gentamicine.

**Tableau XVIII : Pourcentage de susceptibilité aux antibiotiques chez les espèces d'entérobactéries isolées des eaux usées**

Espèces bactériennes	Antibiotiques (mcg)																			
	β- lactamines												Quinolones			Aminoglycosides		Sulfamides et autres		
	AC <sub>30</sub>	AX <sub>30</sub>	CA <sub>30</sub>	CR <sub>5</sub>	CX <sub>5</sub>	FE <sub>10</sub>	FO <sub>10</sub>	IM <sub>10</sub>	ME <sub>10</sub>	PR <sub>75</sub>	TC <sub>75</sub>	TZ <sub>40</sub>	CIP <sub>5</sub>	NR <sub>10</sub>	OF <sub>5</sub>	AK <sub>30</sub>	CN <sub>30</sub>	F <sub>300</sub>	FF <sub>30</sub>	ST <sub>25</sub>
<i>Citrobacter diversus</i>	92,3%	100%	100%	98,1%	100%	100%	98,1%	90,1%	100%	100%	100%	100%	98,1%	100%	100%	88,5%	50%	98,1%	86,5%	52,6%
<i>Citrobacter freundii</i>	96,2%	100%	98,1%	98,1%	100%	100%	98,1%	82,7%	98,1%	100%	100%	100%	98,1%	96,2%	100%	96,2%	88,5%	100%	94,2%	90,1%
<i>Enterobacter agglomerans</i>	98,1%	100%	98,1%	100%	100%	100%	100%	96,2%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	98,1%	9,61%	100%	98,1%	98,1%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	98,1%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	98,1%	100%	98,1%	100%	100%	98,1%	100%	100%	88,5%	9,61%	100%	98,1%	90,1%
<i>Enterobacter cloacae</i>	94,2%	98,1%	98,1%	100%	100%	100%	92,3%	94,2%	96,2%	100%	100%	100%	100%	96,2%	100%	94,2%	13,5%	100%	96,2%	86,5%
<i>Escherichia coli</i>	82,7%	94,2%	96,2%	100%	100%	98,1%	84,6%	71,2%	94,2%	98,1%	100%	100%	94,2%	98,1%	100%	71,2%	67,3%	96,2%	75%	67,3%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	80,8%	100%	100%	100%	100%	100%	94,2%	84,6%	98,1%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	82,7%	44,2%	100%	86,5%	73,1%
<i>Klebsiella ozaenae</i>	98,1%	100%	100%	100%	100%	100%	98,1%	98,1%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	98,1%	100%	100%	98,1%	96,2%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	96,2%	98,1%	98,1%	100%	100%	100%	96,2%	100%	98,1%	98,1%	100%	100%	100%	98,1%	100%	96,2%	100%	100%	98,1%	94,2%
<i>Proteus mirabilis</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	98,1%
<i>Proteus</i>	90,4%	100%	98,1%	100%	100%	100%	96,2%	98,1%	100%	100%	100%	100%	90,4%	100%	100%	80,8%	69,2%	100%	90,4%	61,5%

<i>rettgeri</i>																						
<i>Proteus</i>	94,2%	100%	98,1%	100%	100%	100%	96,2%	96,2%	96,2%	100%	100%	100%	100%	96,2%	100%	94,2%	94,2%	100%	98,1%	100%		
<i>vulgaris</i>																						
<i>Salmonella</i>	78,8%	98,1%	98,1%	100%	100%	100%	92,3%	86,5%	90,4%	100%	100%	100%	94,2%	94,2%	100%	59,6%	50%	100%	73,1%	42,3%		
<i>typhi</i>																						
<i>Shigella</i>	100%	100%	98,1%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	92,3%	100%	96,2%	82,7%		
<i>boydii</i>																						
<i>Shigella</i>	98,1%	98,1%	100%	100%	100%	100%	98,1%	98,1%	98,1%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	98,1%	96,2%	100%	100%	98,1%		
<i>dysenteriae</i>																						
<i>Shigella</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%		
<i>flexneri</i>																						
<i>Shigella</i>	94,2%	98,1%	98,1%	100%	100%	100%	96,2%	84,6%	94,2%	100%	100%	100%	94,2%	94,2%	100%	96,2%	75%	96,2%	84,6%	59,6%		
<i>sonnei</i>																						

AC : Amoxicilline+acide clavulanique ; AX : Amoxicilline ; CA : Ceftazidime ; CR : Ceftriaxone ; CXM : Céfuroxime ; FE : Céfépime ; FO : Céfoxitine ; IM : Imipénème ; ME : Méropénème ; PR : Pipéracilline ; TC : Ticarcilline ; TZ : Pipéracilline/Tazobactam ; CIP : Ciprofloxacine ; NR : Norfloxacine ; OF : Ofloxacine ; AK : Amikacine ; CN : Gentamicine ; F : Nitrofurantoïne ; FF : Fosfomycine ; ST : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole

### III.1.2.1.2- Susceptibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées des cours d'eau

Dans l'ensemble, les espèces d'entérobactéries isolées dans les cours d'eaux ont présenté un pourcentage de résistance très élevé dans les différentes familles d'antibiotiques (tableau XIX). Chez les  $\beta$ - lactamines, les espèces testées ont enregistrées un pourcentage de résistance de 98,48%. Les espèces *Shigella dysenteriae* et *Shigella flexneri* ont montré une entière résistance (100%) à tous les  $\beta$ - lactamines. L'antibiotique auquel toutes les entérobactéries isolées ont été à 100% résistantes était la Ticarcilline.

Dans la famille des Quinolones, le pourcentage de résistance a été de 98,48%. Les espèces présentant une résistance totale aux Quinolones testés étaient : *Klebsiella ozaenae*, *Proteus vulgaris*, *Shigella dysenteriae* et *Shigella flexneri*. Aucun antibiotique auquel toutes les espèces sont résistantes n'a été noté.

Concernant la famille des Aminoglycosides, les espèces d'entérobactéries ont présenté un pourcentage de résistance de 89,28%. *Shigella flexneri* a été l'unique espèce ayant enregistré 100% de résistance chez les 2 Aminoglycosides utilisés. Aucune espèce n'a présenté de sensibilité vis-à-vis des antibiotiques de cette famille.

Chez les Sulfamides et autres, le taux de résistance a atteint 94,49%. *Shigella dysenteriae* et *Shigella flexneri* ont été des espèces ayant été entièrement résistantes aux antibiotiques de cette famille. Aucune sensibilité n'a été enregistrée et aucun antibiotique auquel toutes les espèces étaient entièrement résistantes n'a été noté.

**Tableau XIX : Pourcentage de susceptibilité aux antibiotiques chez les espèces d'entérobactéries isolées des cours d'eau**

Espèces bactériennes	Antibiotiques (mcg)																			
	β- lactamines												Quinolones			Aminoglycosides		Sulfamides et autres		
	AC <sub>30</sub>	AX <sub>30</sub>	CA <sub>30</sub>	CR <sub>5</sub>	CXM <sub>5</sub>	FE <sub>10</sub>	FO <sub>10</sub>	IM <sub>10</sub>	ME <sub>10</sub>	PR <sub>75</sub>	TC <sub>75</sub>	TZ <sub>40</sub>	CIP <sub>5</sub>	NR <sub>10</sub>	OF <sub>5</sub>	AK <sub>30</sub>	CN <sub>30</sub>	F <sub>300</sub>	FF <sub>30</sub>	ST <sub>25</sub>
<i>Citrobacter diversus</i>	88,5%	100%	100%	100%	100%	100%	94,2%	73,1%	94,2%	100%	100%	100%	90,4%	100%	100%	75%	61,5%	100%	86,5%	84,5%
<i>Citrobacter freundii</i>	92,3%	100%	96,2%	100%	100%	98,1%	98,1%	78,8%	98,1%	100%	100%	100%	94,2%	98,1%	100%	96,2%	94,2%	100%	96,2%	93,2%
<i>Enterobacter agglomerans</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	99,1%	99,1%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	99,1%	98,3%	100%	99,1%	95,7%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	99,1%	100%	100%	100%	100%	100%	98,3%	94,9%	99,1%	100%	100%	100%	99,1%	99,1%	100%	98,3%	97,4%	100%	99,1%	100%
<i>Enterobacter cloacae</i>	98,3%	96,6%	99,1%	97,4%	100%	99,1%	97,4%	82,9%	99,1%	98,3%	100%	100%	98,3%	99,1%	100%	87,2%	79,5%	97,4%	91,5%	83,8%
<i>Escherichia coli</i>	94,9%	96,6%	98,3%	100%	99,1%	100%	94%	75,2%	85,5%	98,3%	100%	99,1%	88%	95,7%	100%	81,2%	69,2%	99,1%	83,8%	75,2%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	89,7%	98,3%	100%	100%	100%	100%	96,2%	89,7%	98,3%	99,1%	100%	100%	95,7%	99,1%	99,1%	94%	82,9%	99,1%	92,3%	78,6%
<i>Klebsiella ozaenae</i>	99,1%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	99,1%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	99,1%	100%	99,1%	98,3%
<i>Klebsiella pneumonia</i>	95,7%	100%	100%	100%	100%	100%	97,4%	97,4%	95,7%	100%	100%	100%	99,1%	98,3%	100%	94,9%	87,2%	100%	99,1%	99,1%
<i>Proteus mirabilis</i>	99,1%	100%	100%	100%	100%	99,1%	98,3%	99,1%	100%	100%	100%	100%	98,3%	100%	100%	90,6%	93,2%	100%	90,6%	93,2%
<i>Proteus</i>	94,9%	100%	99,1%	100%	100%	99,1%	97,4%	90,6%	100%	100%	100%	100%	90,6%	100%	100%	98,3%	77,8%	98,3%	97,4%	77,8%

<i>rettgeri</i>																						
<i>Proteus vulgaris</i>	99,1%	100%	99,1%	100%	100%	100%	99,1%	99,1%	98,3%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	95,7%	96,6%	100%	99,1%	96,6%		
<i>Salmonella typhi</i>	89,7%	100%	100%	99,1%	100%	100%	100%	93,2%	95,7%	100%	100%	100%	93,2%	96,6%	100%	79,5%	72,6%	99,1%	88,9%	80,3%		
<i>Shigella boydii</i>	93,2%	100%	100%	100%	100%	100%	99,1%	95,7%	99,1%	100%	100%	100%	95,7%	99,1%	100%	88,9%	91,5%	100%	89,7%	87,2%		
<i>Shigella dysenteriae</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	99,1%	100%	100%	100%		
<i>Shigella flexneri</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%		
<i>Shigella sonnei</i>	94,9%	99,1%	100%	100%	100%	100%	98,3%	95,7%	99,1%	100%	100%	100%	96,6%	99,1%	100%	77,8%	78,6%	99,1%	93,2%	77,8%		

AC : Amoxicilline+acide clavulanique ; AX : Amoxicilline ; CA : Ceftazidime ; CR : Ceftriaxone ; CXM : Céfuroxime ; FE : Céfépime ; FO : Céfoxitine ; IM : Imipénème ; ME : Méropénème ; PR : Pipéracilline ; TC : Ticarcilline ; TZ : Pipéracilline/Tazobactam ; CIP : Ciprofloxacine ; NR : Norfloxacine ; OF : Ofloxacine ; AK : Amikacine ; CN : Gentamicine ; F : Nitrofurantoïne ; FF : Fosfomycine ; ST : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole

### III.1.2.1.3- Susceptibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées des eaux souterraines

Les espèces d'entérobactéries isolées dans les eaux souterraines ont présenté un pourcentage de résistance très élevé dans les différentes familles d'antibiotiques (tableau XX). Dans la famille des  $\beta$ - lactamines, les espèces testées ont enregistrées un pourcentage de résistance de 93,12%. *Citrobacter diversus*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris* et *Shigella boydii* ont montré une entière résistance (100%) à tous les  $\beta$ - lactamines. Les antibiotiques auxquels toutes les espèces ont été totalement résistantes étaient : le Céfuroxime, le Céfépime, le Méropénème, la Pipéracilline, la Ticarcilline et la Pipéracilline/Tazobactam.

Chez les Quinolones, le pourcentage de résistance a atteint 93,08%. Les espèces présentant une résistance totale aux Quinolones testés étaient : *Citrobacter diversus*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella ozaenae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi* et *Shigella boydii*. L'Ofloxacin a été l'antibiotique auquel toutes les espèces ont été résistantes.

En ce qui concerne la famille des Aminoglycosides, les espèces d'entérobactéries ont présenté un pourcentage de résistance de 88,53%. *Enterobacter agglomerans*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* et *Shigella boydii* ont exprimé une résistance entière aux 2 Aminoglycosides utilisés. Aucune espèce n'a présenté de sensibilité vis-à-vis des antibiotiques de cette famille.

Chez les Sulfamides et autres, le taux de résistance a été de 91,76%. *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi* et *Shigella boydii* étaient des espèces ayant été entièrement résistantes aux antibiotiques de cette famille. La Fosfomycine a été l'antibiotique auquel toutes les espèces étaient entièrement résistantes.

**Tableau XX : Pourcentage de susceptibilité aux antibiotiques chez les espèces d'entérobactéries isolées des eaux souterraines**

Espèces bactériennes	Antibiotiques (mcg)																			
	AC <sub>30</sub>	AX <sub>30</sub>	CA <sub>30</sub>	CR <sub>5</sub>	CXM <sub>5</sub>	β- lactamines							Quinolones			Aminoglycosides		Sulfamides et autres		
						FE <sub>10</sub>	FO <sub>10</sub>	IM <sub>10</sub>	ME <sub>10</sub>	PR <sub>75</sub>	TC <sub>75</sub>	TZ <sub>40</sub>	CIP <sub>5</sub>	NR <sub>10</sub>	OF <sub>5</sub>	AK <sub>30</sub>	CN <sub>30</sub>	F <sub>300</sub>	FF <sub>30</sub>	ST <sub>25</sub>
<i>Citrobacter diversus</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	88,5%	90,4%	100%	100%	88,5%
<i>Citrobacter freundii</i>	100%	100%	100%	98,1%	100%	100%	94,2%	100%	100%	100%	100%	100%	98,1%	100%	100%	94,2%	94,2%	100%	100%	94,2%
<i>Enterobacter agglomerans</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	98,1%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	98,1%	100%	100%	100%	100%
<i>Enterobacter cloacae</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	98,1%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	96,2%	96,2%	100%	100%	96,2%
<i>Escherichia coli</i>	100%	100%	98,1%	100%	100%	100%	100%	98,1%	100%	100%	100%	100%	98,1%	100%	100%	92,3%	94,2%	100%	100%	88,5%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	96,2%	100%	100%	100%	100%	100%	98,1%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	98,1%	100%	92,3%	92,3%	100%	100%	88,5%
<i>Klebsiella ozaenae</i>	94,2%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	96,2%	94,2%	100%	100%	94,2%
<i>Proteus mirabilis</i>	100%	96,2%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	92,3%
<i>Proteus rettgeri</i>	100%	96,2%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	96,2%	92,3%	100%	100%	90,4%
<i>Proteus vulgaris</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
<i>Salmonella typhi</i>	98,1%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	86,5%	84,6%	100%	100%	100%
<i>Shigella boydii</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
<i>Shigella sonnei</i>	96,2%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	94,2%	100%	100%	88,5%	88,5%	100%	100%	98,1%

AC : Amoxicilline+acide clavulanique ; AX : Amoxicilline ; CA : Ceftazidime ; CR : Ceftriaxone ; CXM : Céfuroxime ; FE : Céfépime ; FO : Céfoxitine ; IM : Imipénème ; ME : Méropénème ; PR : Pipéracilline ; TC : Ticarcilline ; TZ : Pipéracilline/Tazobactam ; CIP : Ciprofloxacine ; NR : Norfloxacine ; OF : Ofloxacine ; AK : Amikacine ; CN : Gentamicine ; F : Nitrofurantoiné ; FF : Fosfomycine ; ST : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole

### **III.1.2.1.4- Multirésistance des entérobactéries dans les différents biotopes aquatiques**

#### **III.1.2.1.4.1- Fréquence des souches multirésistantes**

Les souches d'entérobactéries ayant présenté une multirésistance ont été détectées dans les différents biotopes aquatiques (tableau XXI). Sur les 3978 souches testées, la fréquence de souches multirésistantes a été de 91,65%, 88,05% et 77,77% respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Il a été constaté que les antibiotiques auxquels les souches isolées dans les eaux usées ont été toutes résistantes étaient : Céfuroxime, Pipéracilline/Tazobactam, Ticarcilline, Norfloxacin, Ofloxacin et Nitrofurantoin. S'agissant des souches isolées dans les cours d'eau, les antibiotiques auxquels ces souches ont présenté une entière résistance sont : Céfuroxime, Pipéracilline/Tazobactam, Ticarcilline et Norfloxacin. Cependant, aucun antibiotique auquel toutes les souches isolées des eaux souterraines sont résistantes n'a été enregistré.

**Tableau XXI** : Fréquence des souches d'*Enterobacteriaceae* multirésistantes isolées des eaux usées, des cours d'eau et des eaux souterraines

Familles des antibiotiques	Antibiotiques	Fréquence des souches résistantes aux antibiotiques		
		Souches isolées des eaux usées	Souches isolées des cours d'eau	Souches isolées des eaux souterraines
<b>β-lactamines</b>	Amoxicilline	98,3%	95,2%	87,5%
	Amoxicilline+acide clavulanique	90,8%	92%	82,9%
	Céfépime	82,6%	80,9%	75,6%
	Céfoxitine	90%	85,7%	70%
	Ceftazidime	95,1%	90,7%	60,3%
	Ceftriaxone	89%	86,8%	60,9%
	Céfuroxime	100%	100%	90,7%
	Imipénème	75,9%	70,8%	50,9%
	Méropénème	90,5%	87,1%	83,7%
	Pipéracilline	95,8%	90,8%	86,3%
	Pipéracilline/Tazobactam	100%	100%	96,2%
	Ticarcilline	100%	100%	98,5%
<b>Quinolones</b>	Ciprofloxacin	85,4%	82%	71,8%
	Norfloxacin	100%	100%	91,8%
	Ofloxacin	100%	97,1%	92%
<b>Aminoglycosides</b>	Amikacine	86,6%	67,3%	53,6%
	Gentamicine	90,7%	87,2%	81,9%
<b>Sulfamides et autres</b>	Fosfomycine	85,4%	80,9%	72,9%
	Nitrofurantoine	100%	97,6%	88,2%
	Triméthoprime/Sulfaméthoxazole	76,9%	68,8%	59,7%
<b>Total</b>		<b>91,65%</b>	<b>88,05%</b>	<b>77,77%</b>

### III.1.2.1.4.2- Index de la multirésistance aux antibiotiques des entérobactéries des différents biotopes aquatiques

L'index de la multirésistance aux antibiotiques (MRA) a été calculé dans chaque site afin d'évaluer leur niveau de résistance. Les résultats présentés dans le tableau XXII ont montré que cet index a varié de 0,91 à 0,95 dans les eaux usées ; de 0,65 à 0,92 dans les cours d'eau ; et de 0,65 à 0,81 dans les eaux souterraines. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées dans les eaux usées et plus particulièrement celles hospitalières (Sw1). Dans l'ensemble, les index obtenus sont très supérieurs à la valeur critique acceptable qui est de 0,5 témoignant le niveau élevé de résistance des entérobactéries isolées dans les différents biotopes aquatiques.

**Tableau XXII** : Répartition des index de la multirésistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries dans les différents biotopes aquatiques

	Eaux usées				Cours d'eau									Eaux souterraines				
Sites	Sw1	Sw2	Sw3	Sw4	Ws1	Ws2	Ws3	Ws4	Ws5	Ws6	Ws7	Ws8	Ws9	Gw1	Gw2	Gw3	Gw4	Gw5
Index MRA	0,95	0,91	0,9	0,93	0,87	0,90	0,92	0,83	0,89	0,65	0,77	0,7	0,82	0,81	0,65	0,8	0,55	0,75

### III.1.2.1.5- Fréquence de quelques phénotypes de résistance chez les entérobactéries

Sur 3978 souches d'entérobactéries testées, 3588 ont exprimé des phénotypes de résistance variés tels que des  $\beta$ -lactamases à Spectre Elargi (BLSE), des céphalosporinases et pénicillinases de haut et de bas niveau, des TEM Résistant aux Inhibiteurs (TRI). Ce sont des enzymes d'hydrolyse d'antibiotique qui confèrent aux bactéries les moyens d'éliminer efficacement les  $\beta$ -lactamines. Les plus représentées étaient les BLSE, les pénicillinases de bas niveau et les TRI (tableau XXIII).

**Tableau XXIII** : Répartition des souches d'entérobactéries selon les phénotypes de résistance

Phénotypes de résistance	Effectifs des souches	Pourcentage
$\beta$ -lactamase à Spectre Elargi (BLSE)	1241	31,2%
Pénicillinase de bas niveau (PBN)	915	23%
Pénicillinase de haut niveau (PHN)	92	2,3%
Céphalosporinase de haut niveau (CHN)	107	2,7%
Céphalosporinase de bas niveau (CBN)	199	5%
TEM Résistant aux Inhibiteurs (TRI)	1034	26%
<b>Sous-Total :</b>	<b>3588</b>	<b>90,2%</b>
<b>Phénotype sensible</b>	<b>390</b>	<b>9,8%</b>
<b>Total</b>	<b>3978</b>	<b>100%</b>

Dans les eaux usées, les espèces ayant le plus de souches productrices d'enzymes inhibitrices de  $\beta$ -lactamines ont été : *Shigella sonnei* (10,16%), *Proteus rettgeri* (9,92%), *Klebsiella oxytoca* (8,91%), *Escherichia coli* (8,86%), *Enterobacter agglomerans* (8,86%), *Salmonella typhi* (8,45%) et *Citrobacter diversus* (7,32%) (tableau XXIV). Le principal phénotype de résistance enregistré a été la BLSE.

En ce qui concerne les espèces isolées dans les cours d'eau, celles ayant enregistrées un grand nombre de souches productrices de  $\beta$ -lactamases étaient : *Shigella sonnei* (11,09%), *Proteus rettgeri* (10,28%), *Enterobacter agglomerans* (9,60%), *Escherichia coli* (9,46%), *Klebsiella oxytoca* (9,40%), *Salmonella typhi* (9,33%) et *Citrobacter diversus* (7,50%). Les principaux phénotypes produits ont été les BLSE, PBN et TRI (tableau XXV).

Parmi les espèces d'entérobactéries isolées dans les eaux souterraines, celles ayant enregistré un grand nombre de souches présentant les différents phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines sont : *Enterobacter agglomerans* (11,30%), *Shigella sonnei* (11,30%), *Klebsiella oxytoca* (10,58%), *Proteus rettgeri* (10,58%), *Salmonella typhi* (9,85%), *Escherichia coli* (9,13%) et *Citrobacter diversus* (8,65%). Les principaux phénotypes sont : les BLSE et TRI (tableau XXVI).

**Tableau XXIV : Répartition des souches d'entérobactéries isolées des eaux usées selon l'espèce et le phénotype de résistance**

Espèces	Phénotypes de résistance						Total
	BLSE	PHN	PBN	CHN	CBN	TRI	
<i>Citrobacter diversus</i>	42 (7,33%)	4 (8,69%)	31 (6,95%)	5 (9,43%)	7 (8,75%)	35 (7,07%)	<b>124 (7,32%)</b>
<i>Citrobacter freundii</i>	29 (5,06%)	2 (4,35%)	12 (2,69%)	2 (3,77%)	3 (3,75%)	17 (3,43%)	<b>66 (3,90%)</b>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	21 (3,66%)	1 (2,17%)	16 (3,59%)	1 (1,89%)	2 (2,5%)	20 (4,04%)	<b>61 (3,60%)</b>
<i>Enterobacter agglomerans</i>	47 (8,20%)	5 (10,86%)	40 (8,97%)	6 (11,32%)	8 (10%)	44 (8,89%)	<b>150 (8,86%)</b>
<i>Enterobacter cloacae</i>	34 (5,93%)	2 (4,35%)	26 (5,83%)	2 (3,77%)	3 (3,75%)	28 (5,66%)	<b>95 (5,61%)</b>
<i>Escherichia coli</i>	43 (7,50%)	4 (8,69%)	43 (9,64%)	5 (9,43%)	8 (10%)	47 (9,49%)	<b>150 (8,86%)</b>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	46 (8,03%)	5 (10,87%)	41 (9,19%)	6 (11,32%)	8 (10%)	45 (9,09%)	<b>151 (8,91%)</b>
<i>Klebsiella ozaenae</i>	30 (5,23%)	2 (4,35%)	15 (3,36%)	2 (3,77%)	3 (3,75%)	17 (3,43%)	<b>69 (4,07%)</b>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16 (2,79%)	0	11 (2,47%)	0	1 (1,25%)	13 (2,63%)	<b>41 (2,42%)</b>
<i>Proteus mirabilis</i>	29 (5,06%)	2 (4,35%)	14 (3,14%)	2 (3,77%)	3 (3,75%)	16 (3,23%)	<b>66 (3,90%)</b>
<i>Proteus rettgeri</i>	45 (7,85%)	6 (13,04%)	48 (10,76%)	7 (13,21%)	10 (12,5%)	52 (10,50%)	<b>168 (9,92%)</b>
<i>Proteus vulgaris</i>	20 (3,49%)	2 (4,35%)	10 (2,24%)	2 (3,77%)	3 (3,75%)	10 (2,02%)	<b>47 (2,78%)</b>
<i>Salmonella typhi</i>	39 (6,81%)	4 (8,69%)	42 (9,42%)	5 (9,43%)	7 (8,75%)	46 (9,29%)	<b>143 (8,45%)</b>
<i>Shigella boydii</i>	33 (5,76%)	2 (4,35%)	37 (8,29%)	2 (3,77%)	3 (3,75%)	40 (8,08%)	<b>117 (6,91%)</b>
<i>Shigella dysenteriae</i>	28 (4,89%)	0	4 (0,90%)	0	1 (1,25%)	4 (0,81%)	<b>37 (2,18%)</b>
<i>Shigella flexneri</i>	24 (4,19%)	0	5 (1,12%)	0	1 (1,25%)	6 (1,21%)	<b>36 (2,13%)</b>
<i>Shigella sonnei</i>	47 (8,20%)	5 (10,87%)	50 (11,21%)	6 (11,32%)	9 (11,25%)	55 (11,11%)	<b>172 (10,16%)</b>
<b>Total</b>	<b>573</b>	<b>46</b>	<b>446</b>	<b>53</b>	<b>80</b>	<b>495</b>	<b>1693</b>

BLSE :  $\beta$ -lactamases à Spectre Elargi ; PHN : Pénicillines de Haut Niveau ; PBN : Pénicillines de Bas Niveau ; CHN : Céphalosporines de Haut de Niveau ; CBN : Céphalosporine de Bas Niveau ; TRI : Témoneira Résistant aux Inhibiteurs

**Tableau XXV : Répartition des souches d'entérobactéries isolées des cours d'eau selon l'espèce et le phénotype de résistance**

Espèces	Phénotypes de résistance						Total
	BLSE	PHN	PBN	CHN	CBN	TRI	
<i>Citrobacter diversus</i>	41 (7,78%)	3 (8,82%)	27 (7,22%)	3 (7,69%)	5 (7,14%)	32 (7,36%)	<b>111 (7,50%)</b>
<i>Citrobacter freundii</i>	24 (4,55%)	0	7 (1,87%)	1 (2,56%)	1 (1,43%)	14 (3,22%)	<b>47 (3,18%)</b>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	16 (3,04%)	0	12 (3,21%)	1 (2,56%)	2 (2,86%)	16 (3,68%)	<b>47 (3,18%)</b>
<i>Enterobacter agglomerans</i>	47 (8,92%)	5 (14,70%)	36 (9,62%)	5 (12,82%)	9 (12,86%)	40 (9,19%)	<b>142 (9,60%)</b>
<i>Enterobacter cloacae</i>	31 (5,88%)	1 (2,94%)	22 (5,88%)	2 (5,13%)	2 (2,86%)	24 (5,52%)	<b>82 (5,54%)</b>
<i>Escherichia coli</i>	42 (7,97%)	4 (11,76%)	39 (10,42%)	4 (10,26%)	8 (11,43%)	43 (9,88%)	<b>140 (9,46%)</b>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	45 (8,54%)	4 (11,76%)	37 (9,89%)	4 (10,26%)	8 (11,43%)	41 (9,42%)	<b>139 (9,40%)</b>
<i>Klebsiella ozaenae</i>	25 (4,74%)	0	10 (2,67%)	1 (2,56%)	1 (1,43%)	14 (3,22%)	<b>51 (3,45%)</b>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12 (2,28%)	0	6 (1,60%)	0	0	10 (2,30%)	<b>28 (1,89%)</b>
<i>Proteus mirabilis</i>	23 (4,36%)	0	10 (2,67%)	1 (2,56%)	1 (1,43%)	13 (2,99%)	<b>48 (3,24%)</b>
<i>Proteus rettgeri</i>	45 (8,54%)	4 (11,76%)	44 (11,76%)	4 (10,26%)	7 (10%)	48 (11,03%)	<b>152 (10,28%)</b>
<i>Proteus vulgaris</i>	15 (2,85%)	0	5 (1,34%)	0	0	7 (1,61%)	<b>27 (1,82%)</b>
<i>Salmonella typhi</i>	38 (7,21%)	5 (14,70%)	38 (10,16%)	5 (12,82%)	10 (14,28%)	42 (9,65%)	<b>138 (9,33%)</b>
<i>Shigella boydii</i>	30 (5,69%)	3 (8,82%)	33 (8,82%)	3 (7,69%)	5 (7,14%)	36 (8,27%)	<b>110 (7,44%)</b>
<i>Shigella dysenteriae</i>	25 (4,74%)	0	1 (0,27%)	0	1 (1,43%)	1 (0,23%)	<b>28 (1,89%)</b>
<i>Shigella flexneri</i>	20 (3,79%)	0	1 (0,27%)	0	1 (1,43%)	3 (0,69%)	<b>25 (1,69%)</b>
<i>Shigella sonnei</i>	48 (9,11%)	5 (14,70%)	46 (12,30%)	5 (12,82%)	9 (12,86%)	51 (11,72%)	<b>164 (11,09%)</b>
<b>Total</b>	<b>527</b>	<b>34</b>	<b>374</b>	<b>39</b>	<b>70</b>	<b>435</b>	<b>1479</b>

BLSE :  $\beta$ -lactamases à Spectre Elargi ; PHN : Pénicillines de Haut Niveau ; PBN : Pénicillines de Bas Niveau ; CHN : Céphalosporines de Haut de Niveau ; CBN : Céphalosporine de Bas Niveau ; TRI : Témocilline Résistante aux Inhibiteurs

**Tableau XXVI : Répartition des souches d'entérobactéries isolées des eaux souterraines selon l'espèce et le phénotype de résistance**

Espèces	Phénotypes de résistances						Total
	BLSE	PHN	PBN	CHN	CBN	TRI	
<i>Citrobacter diversus</i>	10 (7,09%)	2 (16,67%)	8 (8,42%)	2 (13,33%)	5 (10,20%)	10 (9,61%)	<b>36 (8,65%)</b>
<i>Citrobacter freundii</i>	7 (4,96%)	0	3 (3,16%)	0	2 (4,08%)	4 (3,84%)	<b>16 (3,85%)</b>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	5 (3,55%)	0	3 (3,16%)	0	1 (2,04%)	2 (1,92%)	<b>11 (2,64%)</b>
<i>Enterobacter agglomerans</i>	13 (9,22%)	2 (16,67%)	11 (11,58%)	2 (13,33%)	6 (12,24%)	13 (12,5%)	<b>47 (11,30%)</b>
<i>Enterobacter cloacae</i>	9 (6,38%)	0	5 (5,26%)	0	1 (2,04%)	4 (3,85%)	<b>20 (4,81%)</b>
<i>Escherichia coli</i>	10 (7,09%)	2 (16,67%)	8 (8,42%)	2 (13,33%)	6 (12,24%)	11 (10,58%)	<b>38 (9,13%)</b>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	12 (8,51%)	1 (8,33%)	10 (10,53%)	2 (13,33%)	6 (12,24%)	13 (12,5%)	<b>44 (10,58%)</b>
<i>Klebsiella ozaenae</i>	8 (5,67%)	0	4 (4,21%)	0	1 (2,04%)	4 (3,84%)	<b>17 (4,09%)</b>
<i>Klebsiella pneumonia</i>	4 (2,84%)	0	2 (2,10%)	0	0	0	<b>6 (1,44%)</b>
<i>Proteus mirabilis</i>	6 (4,25%)	0	2 (2,10%)	0	0	0	<b>8 (1,92%)</b>
<i>Proteus rettgeri</i>	12 (8,51%)	2 (16,67%)	10 (10,53%)	2 (13,33%)	6 (12,24%)	12 (11,54%)	<b>44 (10,58%)</b>
<i>Proteus vulgaris</i>	4 (2,84%)	0	1 (1,05%)	0	0	0	<b>5 (1,20%)</b>
<i>Salmonella typhi</i>	11 (7,80%)	1 (8,33%)	9 (9,47%)	2 (13,33%)	6 (12,24%)	12 (11,54%)	<b>41 (9,85%)</b>
<i>Shigella boydii</i>	7 (4,96%)	0	5 (5,26%)	0	2 (4,08%)	6 (5,77%)	<b>21 (5,05%)</b>
<i>Shigella dysenteriae</i>	6 (4,25%)	0	2 (2,10%)	0	0	0	<b>8 (1,92%)</b>
<i>Shigella flexneri</i>	5 (3,55%)	0	2 (2,10%)	0	0	0	<b>7 (1,68%)</b>
<i>Shigella sonnei</i>	12 (8,51%)	2 (16,67%)	10 (10,53%)	3 (20%)	7 (14,28%)	13 (12,5%)	<b>47 (11,30%)</b>
<b>Total</b>	<b>141</b>	<b>12</b>	<b>95</b>	<b>15</b>	<b>49</b>	<b>104</b>	<b>416</b>

BLSE :  $\beta$ -lactamases à Spectre Elargi ; PHN : Pénicillines de Haut Niveau ; PBN : Pénicillines de Bas Niveau ; CHN : Céphalosporinases de Haut de Niveau ; CBN : Céphalosporinase de Bas Niveau ; TRI : Témoneira Résistant aux Inhibiteurs

### **III.1.2.2- Concentration Minimale Inhibitrice des antimicrobiens vis-à-vis des espèces d'entérobactéries des différents biotopes aquatiques**

Les espèces d'entérobactéries ayant présenté une résistance optimale (100% de taux de prévalence) à tous les antibiotiques durant la période d'échantillonnage et possédant divers phénotypes de résistances ont été soumis au test de microdilution afin de déterminer les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) des antimicrobiens (antibiotiques et flavonoïdes synthétisés) connus pour leur capacité d'inhiber les microorganismes. Parmi ces espèces, celles renfermant les mêmes caractéristiques de résistance aux antibiotiques dans les différents biotopes étaient : *Citrobacter diversus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus rettgeri*, *Salmonella typhi* et *Shigella sonnei*. Les antibiotiques choisis ont été : Amoxicilline+acide clavulanique, Ceftriaxone, Ciprofloxacine, Gentamicine, Norfloxacine et Triméthoprim/Sulfaméthoxazole correspondant à ceux dont les entérobactéries n'ont pas présenté une totorésistance. Quant aux flavonoïdes, ceux utilisés étaient : Bromo-Chloro-Flavone et Chloro-Flavone du fait de leur effet bactéricide efficace.

#### **III.1.2.2.1- Concentration minimale inhibitrice des antimicrobiens agissant sur les entérobactéries des eaux usées**

Dans l'ensemble, la CMI moyenne des antibiotiques testés sur les entérobactéries isolées dans les eaux usées a été de 39,06 µg/mL (tableau XXVII). La CMI du Ceftriaxone et du Triméthoprim/Sulfaméthoxazole a été observée chez *Enterobacter agglomerans*, tandis que celle de l'Amoxicilline+acide clavulanique a été obtenue chez *Enterobacter agglomerans*, *Escherichia coli*, et *Citrobacter diversus*. La CMI de la Ciprofloxacine a été enregistrée chez *Klebsiella oxytoca*, alors que celle de la Norfloxacine et de la Gentamicine a été notée chez *Enterobacter agglomerans*, *Proteus rettgeri*, *Klebsiella oxytoca* en plus de l'espèce *Citrobacter diversus* qui s'ajoute aux précédentes espèces qui ont agi face à la Gentamicine. Les espèces *Salmonella typhi* et *Shigella sonnei* ont présenté de forte valeur de CMI pour tous les antibiotiques. S'agissant de la CMI des flavonoïdes, elle a été de 125 µg/mL chez toutes les espèces testées. Il convient de souligner que les CMI obtenus ont été très supérieures à la valeur acceptable de chaque antimicrobien.

**Tableau XXVII :** Concentration minimale inhibitrice des antimicrobiens vis-à-vis des espèces isolées des eaux usées

Espèces bactériennes	Concentration minimale inhibitrice obtenues (µg/mL)							
	CRO	AMC	CIP	SXT	NOR	CN	BrClF	FCI
<i>Enterobacter agglomerans</i>	39,06	39,06	78,12	39,06	39,06	39,06	125	125
<i>Proteus rettgeri</i>	78,12	78,12	156,25	78,12	39,06	39,06	125	125
<i>Salmonella typhi</i>	156,25	78,12	156,25	156,25	312,5	78,12	125	125
<i>Escherichia coli</i>	156,25	39,06	78,12	78,12	78,12	78,12	125	125
<i>Shigella sonnei</i>	156,25	78,12	78,12	156,25	78,12	78,12	125	125
<i>Citrobacter diversus</i>	156,25	39,06	78,12	78,12	78,12	39,06	125	125
<i>Klebsiella oxytoca</i>	156,25	78,12	39,06	312,5	39,06	39,06	125	125
	Concentration minimale inhibitrice acceptable (µg/mL)							
	0,06	2 – 4	0,5 – 1	0,5/9,5	0,03 – 0,125	8		3,9

CRO : Ceftriaxone ; AMC : Amoxicilline+acide clavulanique ; CIP : Ciprofloxacine ; SXT : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole ; NOR : Norfloxacine ; CN : Gentamicine ; BrClF : Bromo-Chloro-Flavone ; FCI : Chloro-Flavone

### III.1.2.2.2- Concentration minimale inhibitrice des antibiotiques agissant sur les entérobactéries des cours d'eau

La concentration minimale inhibitrice des antibiotiques testés a été de 39,06 µg/mL chez certaines espèces bactériennes. Pour le cas du Ceftriaxone, cette CMI a été obtenue uniquement chez *Enterobacter agglomerans* et *Salmonella typhi*. Ces mêmes espèces en plus de *Klebsiella oxytoca* ont agi à la même CMI face à l'Amoxicilline+acide clavulanique. Pour ce qui est de la Ciprofloxacine, la CMI a été notée auprès des espèces *Salmonella typhi*, *Shigella sonnei* et *Klebsiella oxytoca*, tandis que celle du Triméthoprim/Sulfaméthoxazole a été notée chez *Enterobacter agglomerans* et *Proteus rettgeri*. Celle de la Norfloxacine a été enregistrée uniquement chez *Enterobacter agglomerans*, alors que celle de la Gentamicine a été notée chez *Proteus rettgeri* et *Salmonella typhi*. Les espèces *Citrobacter diversus* et *Escherichia coli* ont montré une résistance plus grande que les autres espèces au vu de la CMI des antibiotiques qui est plus élevée. S'agissant de la CMI des flavonoïdes, elle a été de 125µg/mL obtenue avec toutes les espèces testées. Au regard de la CMI des différents antimicrobiens testés, elle a été fortement supérieure à la valeur acceptable (tableau XXVIII).

**Tableau XXVIII** : Concentration minimale inhibitrice des antimicrobiens vis-à-vis des espèces isolées des cours d'eau

Espèces bactériennes	Concentration minimale inhibitrice obtenue (µg/mL)							
	CRO	AMC	CIP	SXT	NOR	CN	BrClF	FCI
<i>Enterobacter agglomerans</i>	39,06	39,06	78,12	39,06	39,06	78,12	125	125
<i>Proteus rettgeri</i>	78,12	78,12	78,12	39,06	312,5	39,06	125	125
<i>Salmonella typhi</i>	39,06	39,06	39,06	156,25	312,5	39,06	125	125
<i>Escherichia coli</i>	156,25	78,12	78,12	78,12	78,12	78,12	125	125
<i>Shigella sonnei</i>	78,12	156,25	39,06	156,25	156,25	78,12	125	125
<i>Citrobacter diversus</i>	78,12	78,12	78,12	78,12	78,12	78,12	125	125
<i>Klebsiella oxytoca</i>	78,12	39,06	39,06	312,5	156,25	156,25	125	125
	Concentration minimale inhibitrice acceptable (µg/mL)							
	0,06	2 - 4	0,5 - 1	0,5/9,5	0,03 - 0,125	8		3,9

CRO : Ceftriaxone ; AMC : Amoxicilline+acide clavulanique ; CIP : Ciprofloxacine ; SXT : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole ; NOR : Norfloxacine ; CN : Gentamicine ; BrClF : Bromo-Chloro-Flavone ; FCI : Chloro-Flavone

### III.1.2.2.3- Concentration minimale inhibitrice des antimicrobiens agissant sur les entérobactéries des eaux souterraines

La CMI obtenue sur les espèces d'entérobactéries isolées dans les eaux souterraines a varié d'un antibiotique à l'autre, selon l'espèce bactérienne. La plus petite CMI obtenue avec le Ceftriaxone et la Norfloxacinine a été de 2,44 µg/mL respectivement chez *Enterobacter agglomerans* et *Klebsiella oxytoca*. L'Amoxicilline+acide clavulanique, la Ciprofloxacine et la Gentamicine ont présenté une CMI de 9,76 µg/mL. La CMI de l'Amoxicilline+acide clavulanique a été notée chez *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Citrobacter diversus* et *Klebsiella oxytoca* ; celle de la Ciprofloxacine avec *Enterobacter agglomerans*, *Salmonella typhi* et *Klebsiella oxytoca* et celle de la Gentamicine avec toutes les espèces testées. Par contre chez la Triméthoprim/Sulfaméthoxazole, la CMI a été de 19,53 µg/mL, obtenue avec l'espèce *Enterobacter agglomerans*. S'agissant de la CMI des flavonoïdes, elle a été de 125 µg/mL avec toutes les espèces testées. Dans l'ensemble, les CMI obtenues ont été supérieures à la valeur acceptable de chaque antimicrobien (tableau XXIX).

**Tableau XXIX :** Concentration minimale inhibitrice moyenne des antimicrobiens vis-à-vis des espèces isolées dans les eaux souterraines

Espèces bactériennes	Concentration minimale inhibitrice obtenue (µg/mL)							
	CRO	AMC	CIP	SXT	NOR	CN	BrClF	FCI
<i>Enterobacter agglomerans</i>	2,44	19,53	9,76	19,53	4,88	9,76	125	125
<i>Proteus rettgeri</i>	19,53	39,06	19,53	78,12	9,76	9,76	125	125
<i>Salmonella typhi</i>	4,88	9,76	19,53	78,12	4,88	9,76	125	125
<i>Escherichia coli</i>	9,76	9,76	9,76	39,06	19,53	9,76	125	125
<i>Shigella sonnei</i>	39,06	39,06	39,06	78,12	78,12	9,76	125	125
<i>Citrobacter diversus</i>	9,76	9,76	78,12	78,12	9,76	9,76	125	125
<i>Klebsiella oxytoca</i>	19,53	9,76	9,76	39,06	2,44	9,76	125	125
	Concentration minimale inhibitrice acceptable (µg/mL)							
	0,06	2 - 4	0,5 - 1	0,5/9,5	0,03 – 0,125	8		3,9

CRO : Ceftriaxone ; AMC : Amoxicilline+acide clavulanique ; CIP : Ciprofloxacine ; SXT : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole ; NOR : Norfloxacine ; CN : Gentamicine ; BrClF : Bromo-Chloro-Flavone ; FCI : Chloro-Flavone

### III.1.2.3- Effet combiné des antimicrobiens sur les entérobactéries multirésistantes

Les antimicrobiens dont les concentrations minimales inhibitrices étaient connues ont été combinés afin d'évaluer l'effet synergique sur les espèces d'entérobactéries multirésistantes. La combinaison a été faite entre la Gentamicine et le Bromo-Chloro-Flavone (CN - BrCIF) et entre la Gentamicine et le Chloro-Flavone (CN – FCI).

#### III.1.2.3.1- Effet combiné de la Gentamicine et du Bromo-Chloro-Flavone

La détermination de l'effet combiné de la Gentamicine et du Bromo-Chloro-Flavone (CN - BrCIF) n'a montré aucune synergie avec les espèces *Citrobacter diversus*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus rettgeri*, *Salmonella typhi* et *Shigella sonnei* isolées des eaux usées, des cours d'eau et des eaux souterraines. La seule espèce dont la combinaison CN – BrCIF a eu un effet a été *Escherichia coli* isolée dans les eaux usées communautaires principalement dans la station d'épuration de Messa. Le tableau XXX ci-dessous met en évidence les concentrations minimales inhibitrices de ces 2 antimicrobiens ayant présenté un effet combiné.

**Tableau XXX :** Concentrations combinées de la Gentamicine et du Bromo-Chloro-Flavone

Antimicrobiens	Concentrations combinées des antimicrobiens (µg/mL)									
CN	39,06	39,06	39,06	39,06	39,06	<b>39,06*</b>	39,06	39,06	39,06	<b>39,06*</b>
BrCIF	125	62,5	31,25	15,62	7,81	<b>3,9*</b>	1,95	0,97	0,48	<b>0,24*</b>
CN	19,53	19,53	19,53	19,53	<b>19,53*</b>	19,53	<b>19,53*</b>	<b>19,53*</b>	<b>19,53*</b>	19,53
BrCIF	125	62,5	31,25	15,62	<b>7,81*</b>	3,9	<b>1,95*</b>	<b>0,97*</b>	<b>0,48*</b>	0,24
CN	9,76	9,76	9,76	<b>9,76*</b>	9,76	9,76	9,76	9,76	9,76	9,76
BrCIF	125	62,5	31,25	<b>15,62*</b>	7,81	3,9	1,95	0,97	0,48	0,24
CN	4,88	4,88	<b>4,88*</b>	4,88	4,88	4,88	4,88	4,88	4,88	4,88
BrCIF	125	62,5	<b>31,25*</b>	15,62	7,81	3,9	1,95	0,97	0,48	0,24
CN	2,44	<b>2,44*</b>	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44
BrCIF	125	<b>62,5*</b>	31,25	15,62	7,81	3,9	1,95	0,97	0,48	0,24
CN	1,22	<b>1,22*</b>	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22
BrCIF	125	<b>62,5*</b>	31,25	15,62	7,81	3,9	1,95	0,97	0,48	0,24
CN	0,61	<b>0,61*</b>	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61
BrCIF	125	<b>62,5*</b>	31,25	15,62	7,81	3,9	1,95	0,97	0,48	0,24
CN	0,305	<b>0,305*</b>	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305
BrCIF	125	<b>62,5*</b>	31,25	15,62	7,81	3,9	1,95	0,97	0,48	0,24

CN : Gentamicine ; BrCIF : Bromo-Chloro-Flavone ; \* : concentration minimale inhibitrice combiné avec effet

Les concentrations minimales inhibitrices combinées obtenues, ayant présenté un effet sur l'espèce *Escherichia coli*, ont permis de déterminer les concentrations fractionnelles inhibitrices (CFI) afin de rechercher l'effet synergique produit pour inhiber la bactérie suite à la combinaison des 2 antimicrobiens. Le tableau XXXI ci-dessous présente les différents types d'effets obtenus. La CFI montrant l'effet synergique a été de 0,37µg/mL, obtenue avec les concentrations combinées suivantes (9,76/15,62) et (4,88/31,25).

**Tableau XXXI : Concentration fractionnelle inhibitrice et effets produits**

CMIC	39,06	39,06	19,53	19,53	19,53	19,53	9,76	4,88	2,44	1,22	0,61	0,305
	3,9	0,24	7,8	1,95	0,97	0,48	15,62	31,25	62,5	62,5	62,5	62,5
CFI	1,03	1,00	0,56	0,52	0,51	0,50	<b>0,37*</b>	<b>0,37*</b>	0,56	0,53	0,50	0,51
Effets	Ind	Add	Add	Add	Add	Add	<b>Syn</b>	<b>Syn</b>	Add	Add	Add	Add

\* : synergie positive ; CMIC : Concentration minimale inhibitrice combinée, CFI : Concentration fractionnelle inhibitrice ; Add : additif (CFI≥0,5) ; Ind : indifférent (CFI>1) ; Syn : Synergique (CFI<0,5)

### III.1.2.3.2- Effet combiné de la Gentamicine et du Chloro-Flavone

L'effet combiné de la Gentamicine et du Chloro-Flavone (CN – FCI) a été évalué chez *Escherichia coli* et les résultats sont présentés dans le tableau XXXII. L'unique combinaison des concentrations minimales inhibitrices des 2 antimicrobiens ayant présenté un effet a été (19,53/3,9). Le calcul de la concentration fractionnelle inhibitrice a montré qu'aucune synergie n'a été produite pour inhiber la bactérie car la valeur obtenue a été de 0,53µg/mL correspondant plutôt à un effet additif. Par conséquent, la combinaison (CN – FCI) a été moins efficace pour éliminer les espèces d'entérobactéries.

**Tableau XXXII : Concentrations combinées de la Gentamicine et du Chloro-Flavone**

Antimicrobiens	Concentrations combinées des antimicrobiens (µg/mL)										
CN	39,06	39,06	39,06	39,06	39,06	39,06	39,06	39,06	39,06	39,06	39,06
FCI	125	62,5	31,25	15,62	7,81	3,9	1,95	0,97	0,48	0,24	
CN	19,53	19,53	19,53	19,53	19,53	<b>19,53*</b>	19,53	19,53	19,53	19,53	19,53
FCI	125	62,5	31,25	15,62	7,81	<b>3,9*</b>	1,95	0,97	0,48	0,24	
CN	9,76	9,76	9,76	9,76	9,76	9,76	9,76	9,76	9,76	9,76	9,76
FCI	125	62,5	31,25	15,62	7,81	3,9	1,95	0,97	0,48	0,24	
CN	4,88	4,88	4,88	4,88	4,88	4,88	4,88	4,88	4,88	4,88	4,88
FCI	125	62,5	31,25	15,62	7,81	3,9	1,95	0,97	0,48	0,24	
CN	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44
FCI	125	62,5	31,25	15,62	7,81	3,9	1,95	0,97	0,48	0,24	
CN	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22
FCI	125	62,5	31,25	15,62	7,81	3,9	1,95	0,97	0,48	0,24	
CN	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61
FCI	125	62,5	31,25	15,62	7,81	3,9	1,95	0,97	0,48	0,24	
CN	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305	0,305
FCI	125	62,5	31,25	15,62	7,81	3,9	1,95	0,97	0,48	0,24	

CN : Gentamicine ; FCI : Chloro-Flavone ; \* : concentration minimale inhibitrice combiné avec effet

### **III.1.3- Caractérisation des paramètres abiotiques et de leur influence sur les entérobactéries et les activités antimicrobiennes**

#### **III.1.3.1- Variation temporelle des paramètres physico-chimiques dans les biotopes aquatiques**

Les paramètres physico-chimiques mesurés durant la période d'échantillonnage ont varié d'un biotope aquatique à l'autre et d'une station à l'autre.

##### **III.1.3.1.1- Variation spatio-temporelle de la température**

Les valeurs de la température ont fluctué entre 18,8 et 29,9 ; entre 19 et 30,1 ; et entre 18,5 et 29,9°C respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Les valeurs faibles ont été relevées dans les stations Sw3, Ws6 et Gw3 au mois d'août ; tandis que les fortes valeurs ont été enregistrées dans les stations Sw2 en mai, Ws4 et Gw1 en avril. La valeur moyenne de la température des eaux usées a été de  $24,71 \pm 4,97^\circ\text{C}$  et était inférieure à la Norme Camerounaise (NC 207) qui est de  $30^\circ\text{C}$ , celle des cours d'eau a été de  $24,99 \pm 4,99^\circ\text{C}$  se trouvant en-dessous de la NC 207 qui est de  $27^\circ\text{C}$ , tandis que celle des eaux souterraines a été de  $24,48 \pm 4,95^\circ\text{C}$  et était proche de la NC 207 qui est de  $25^\circ\text{C}$  (figure 30). Les différentes valeurs moyennes ont montré que les cours d'eau ont eu une température plus élevée parmi les 3 biotopes aquatiques.

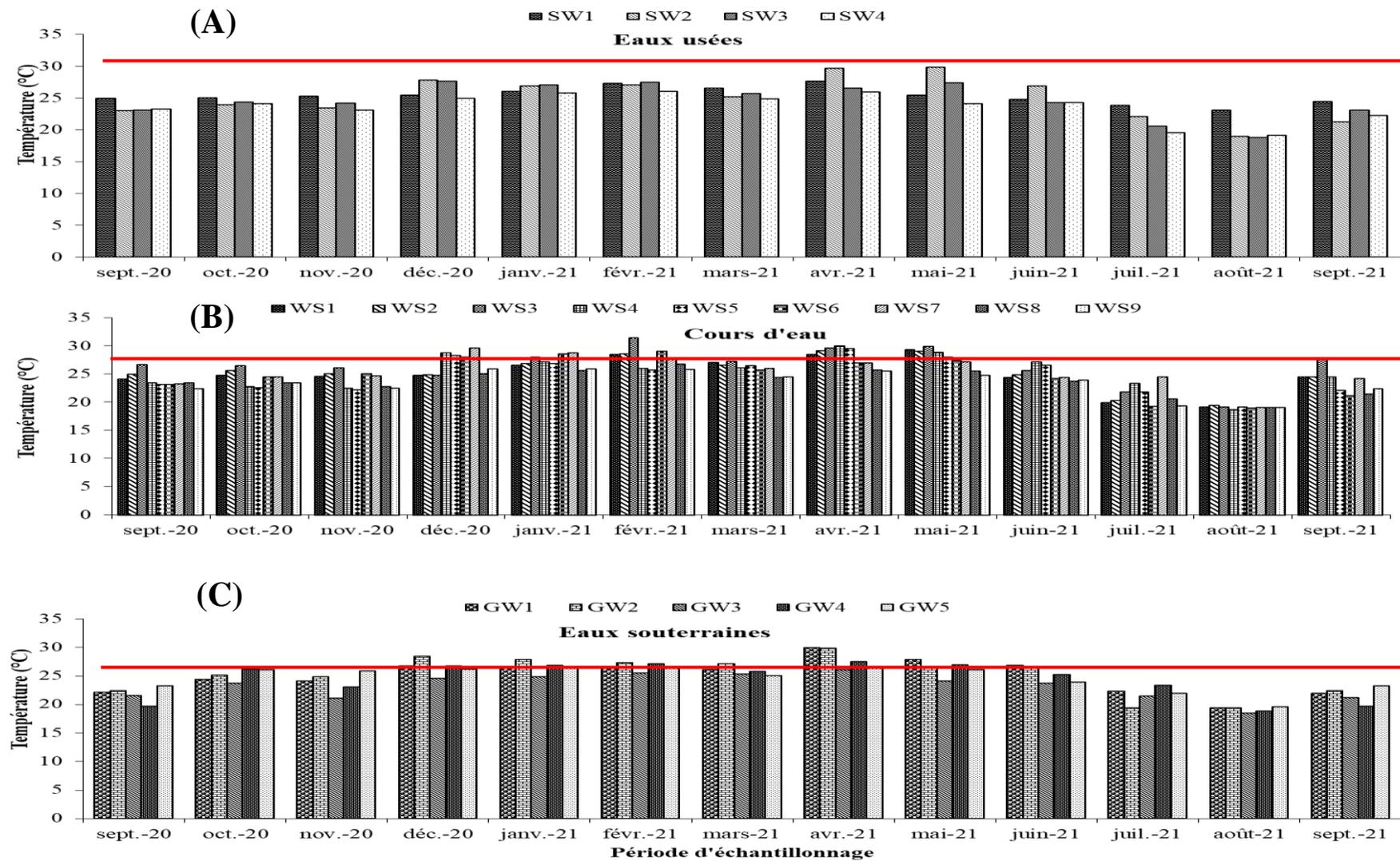


Figure 30 : Variation mensuelle de la Température des eaux usées (A), des cours d'eau (B) et des eaux souterraines (C)

### **III.1.3.1.2- Variation spatio-temporelle du pH**

Les valeurs du pH ont varié de 6,33 à 8,2 ; de 6,5 à 8,3 ; et de 5 à 7,84 U.C respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Les plus petites valeurs ont été enregistrées dans les stations Sw4 au mois de mai, Ws1 en août et Gw4 en septembre 2020 et 2021 ; tandis que les valeurs élevées ont été notées dans les stations Sw4 en novembre, Ws2 en septembre 2020 et 2021, et Gw1 en juin. La valeur moyenne du pH des eaux usées a été de  $7,33 \pm 2,71$  U.C et se situait dans l'intervalle de la NC 207 qui est comprise entre 5,5 et 8,5 U.C ; celle des cours d'eaux a été de  $7,43 \pm 2,72$  U.C se trouvant dans l'intervalle de la NC 207 qui est comprise entre 7 et 8 U.C bien que certaines stations ont enregistré des valeurs de pH se trouvant en-deçà de cette norme ; tandis que la moyenne du pH des eaux souterraines a été de  $6,31 \pm 2,51$  U.C et se situant dans l'intervalle de la NC 207 comprise entre 5,5 et 8 U.C (figure 31). Au regard des différentes valeurs moyennes, il ressort que les cours d'eau ont eu un pH plus élevé que celui des effluents et des eaux souterraines.

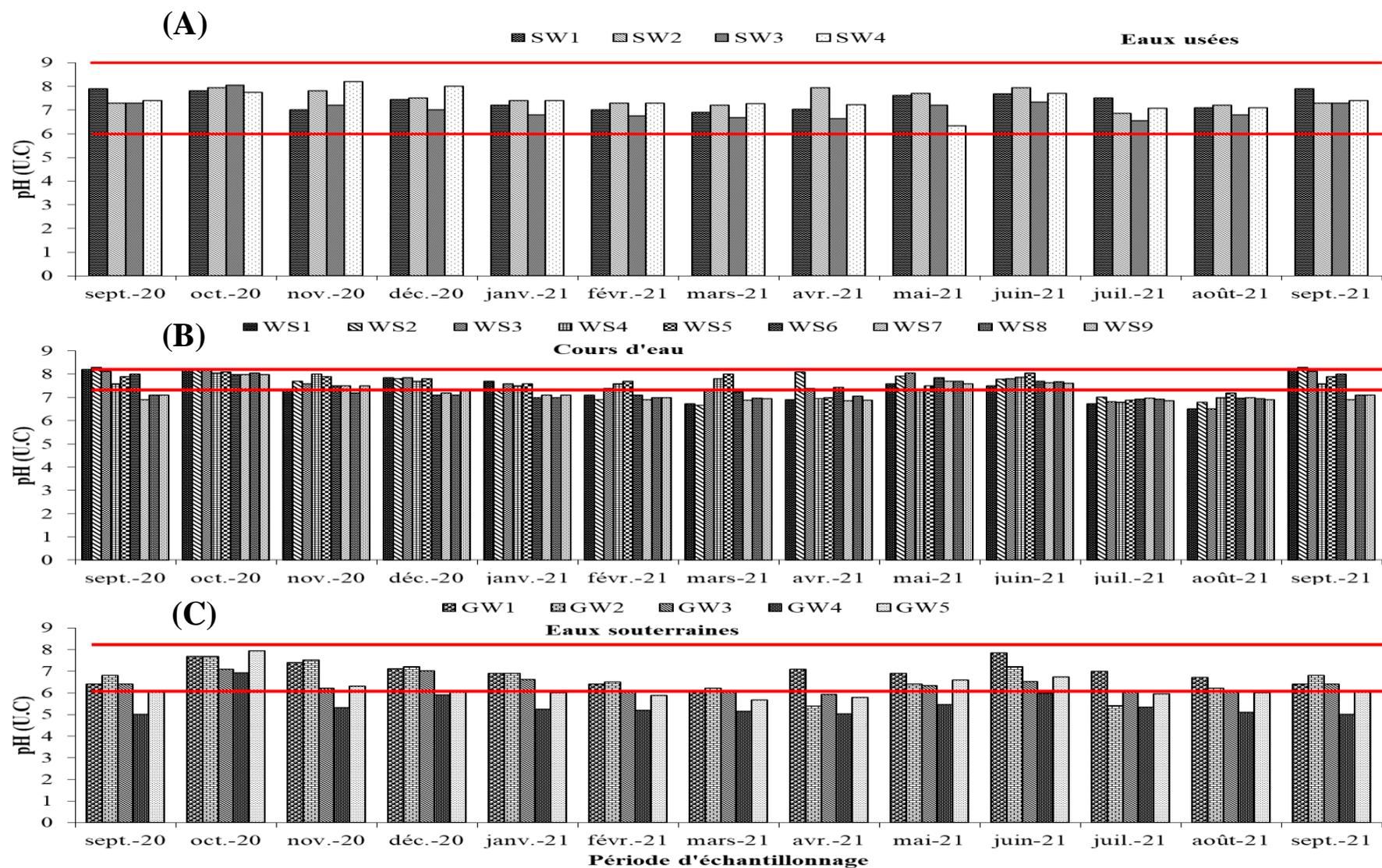
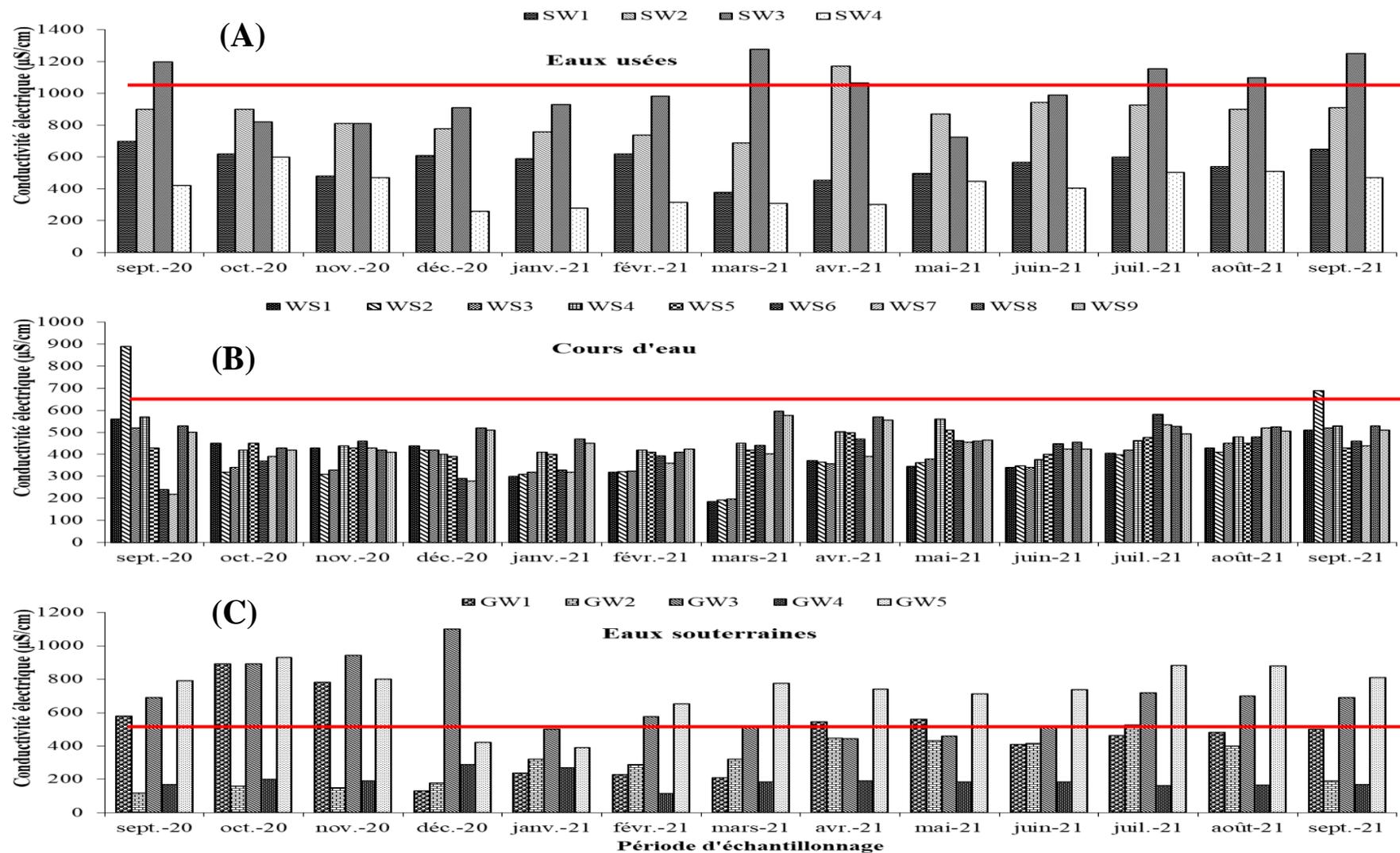


Figure 31 : Variation mensuelle du pH des eaux usées (A), des cours d'eau (B) et des eaux souterraines (C)

### **III.1.3.1.3- Variation spatio-temporelle de la conductivité électrique**

La conductivité électrique a varié entre 303 et 1277, entre 185 et 890, et entre 117 et 1100  $\mu\text{S}/\text{cm}$  respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Les valeurs faibles ont été enregistrées dans les stations Sw4 en avril, Ws1 en mars, et Gw4 en février ; tandis que les valeurs fortes ont été notées dans les stations Sw3 en mars, Ws2 en septembre 2020, et Gw3 en décembre. La valeur moyenne a été de  $713,92 \pm 26,72$   $\mu\text{S}/\text{cm}$  dans les eaux usées et se situait en dessous de la NC 207 qui est de 1000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  ; elle des cours d'eau a été de  $430,42 \pm 20,75$   $\mu\text{S}/\text{cm}$  se trouvant en-dessous de la NC 207 comprise entre 500 et 800  $\mu\text{S}/\text{cm}$  ; tandis que celle des eaux souterraines a été de  $472,35 \pm 73$   $\mu\text{S}/\text{cm}$  situant au-dessus de la NC 207 qui est de 400 $\mu\text{S}/\text{cm}$  (figure 32). Les différentes valeurs moyennes obtenues ont montré que la conductivité électrique a été très élevée dans les eaux usées.



**Figure 32:** Variation mensuelle de la Conductivité électrique des eaux usées (A), des cours d'eau (B) et des eaux souterraines (C)

#### **III.1.3.1.4- Variation spatio-temporelle des solides totaux dissous**

Les solides totaux dissous (TDS) ont fluctué entre 100 et 638, entre 150 et 324, et entre 62 à 490 mg/L respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Les valeurs faibles ont été enregistrées dans les stations Sw3 en septembre 2020, Ws1 en janvier et Gw4 en mars ; tandis que les fortes valeurs ont été notées dans les stations Sw4 en mars, Ws3 en février et Gw2 en novembre. La valeur moyenne dans les eaux usées a été de  $372,1 \pm 19,29$  mg/L et était élevée par rapport à la NC 207 qui est de 100 mg/L, celle des cours d'eau a été de  $225,18 \pm 15$  mg/L situant largement au-dessus de la NC 207 qui est de 50 mg/L, tandis que celle des eaux souterraines a été de  $278,63 \pm 16,69$  mg/L se trouvant très proche de la NC 207 qui doit être inférieure à 300 mg/L (figure 33). Au vu des différentes valeurs moyennes obtenues, il ressort que les eaux usées ont eu une forte valeur de TDS, contrairement aux autres biotopes aquatiques.

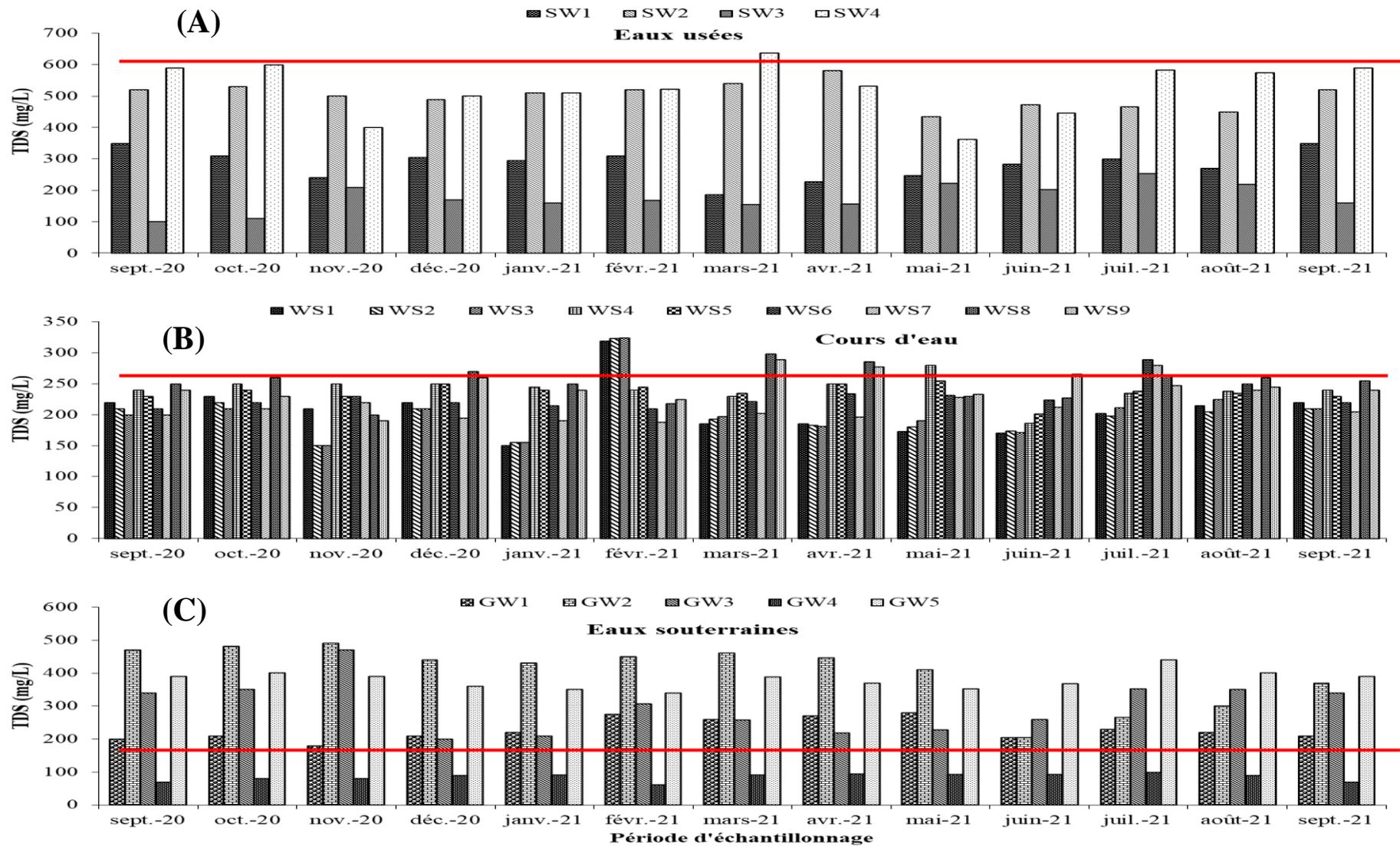
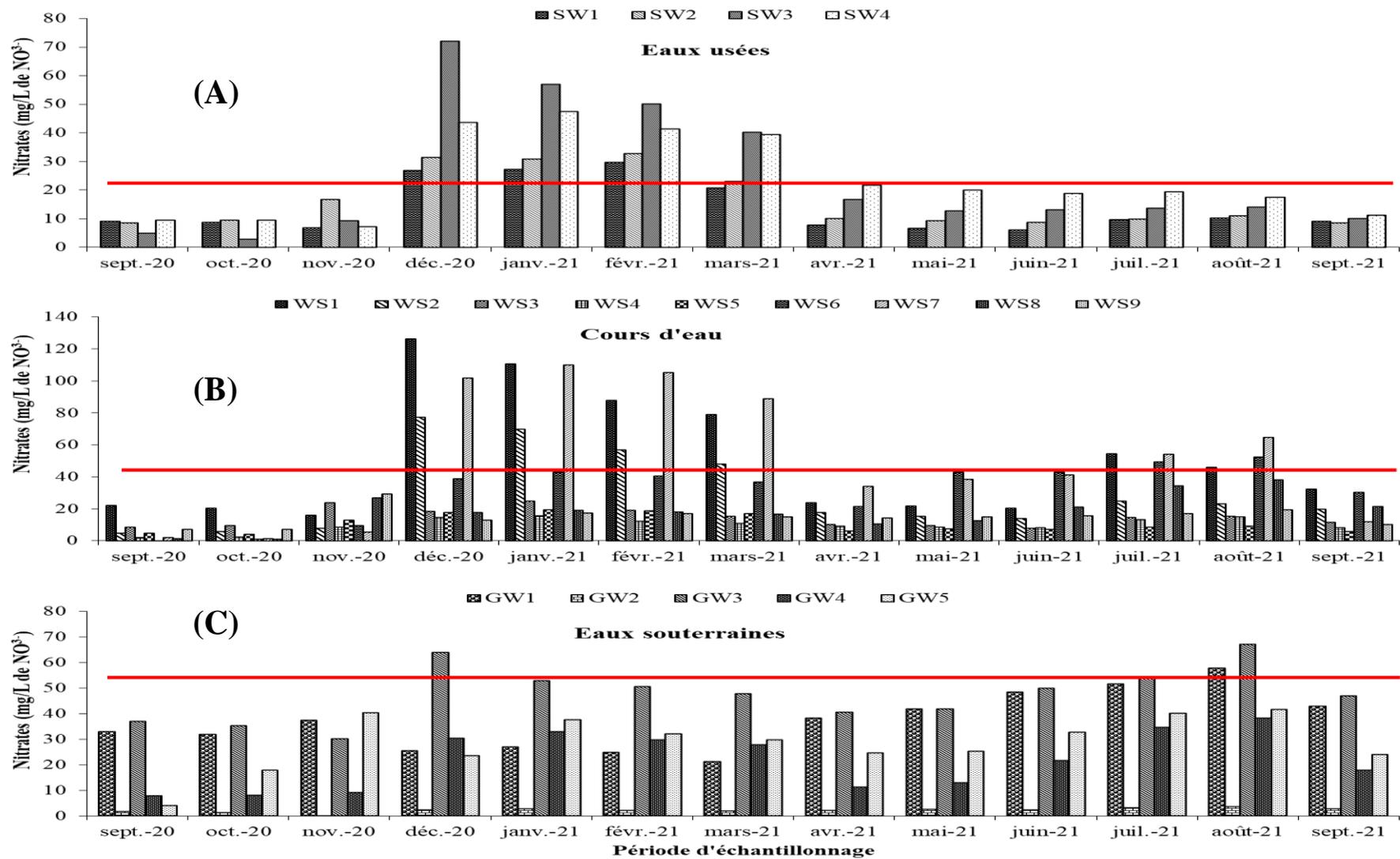


Figure 33 : Variation mensuelle des solides totaux dissous (TDS) dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C)

### **III.1.3.1.5- Variation spatio-temporelle des teneurs en Nitrates**

Les teneurs en nitrates ont oscillé entre 3 et 47,5 ; entre 0,4 et 126,5 ; et entre 0,3 et 67,3 mg/L dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Les faibles teneurs ont été notées dans les stations Sw3 en octobre, Ws6 en septembre 2020, et Gw2 en novembre ; tandis que les fortes teneurs ont été enregistrées dans les stations Sw4 en janvier, Ws1 en décembre, et Gw3 en août. La teneur moyenne dans les eaux usées a été de  $25,76 \pm 5,07$  mg/L se trouvant au-dessus de la NC 207 qui est de 15 mg/L, celle des cours d'eau a été de  $27,48 \pm 5,24$  mg/L se situant à proximité de la NC 207 qui est de 30 mg/L, tandis que celle des eaux souterraines a été de  $19,54 \pm 4,42$  mg/L et était très faible par rapport à la NC 207, qui est de 50 mg/L (figure 34). Les différentes valeurs moyennes obtenues ont montré que les cours d'eau ont eu une forte teneur en nitrates.



**Figure 34 :** Variation mensuelle des teneurs en Nitrates dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C)

### III.1.3.1.6- Variation spatio-temporelle des teneurs en Orthophosphates

Les teneurs en orthophosphates ont varié de 0,35 à 6,5 ; de 0,1 à 5,6 ; et de 0 à 4,86 mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$  respectivement dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Les petites teneurs ont été notées dans les stations Sw3 et Ws6 en octobre avec la valeur nulle enregistrée à Gw5 en septembre 2020 ; tandis que les fortes teneurs ont été obtenues dans les stations Sw1 en septembre 2021, Ws4 en août et Gw1 en novembre. La teneur moyenne a été de  $2,77 \pm 1,66$  mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$  se trouvant légèrement au-dessus de la NC 207 qui est de 2 mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$ , celle des cours d'eau a été de  $3,42 \pm 1,85$  mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$  et se situait largement au-dessus de la NC 207 qui est de 0,5 mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$ . Tandis que celle des eaux souterraines a été de  $1,55 \pm 1,24$  mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$  se trouvant au-dessus de la NC 207 qui doit être  $\leq 0,5$  mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$  (figure 35). Au vu des teneurs moyennes obtenues, il ressort que les cours d'eau ont eu une forte teneur en orthophosphates.

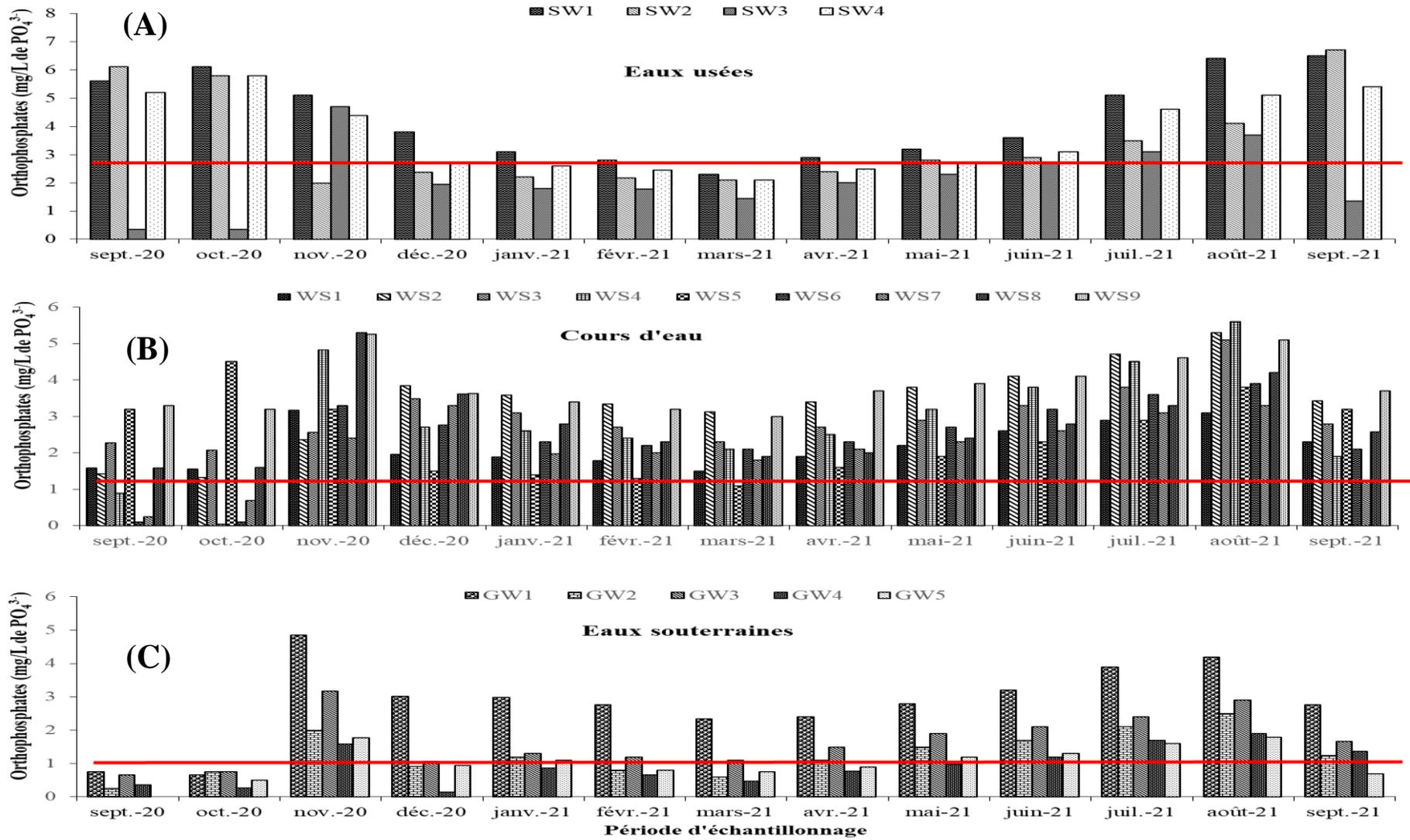


Figure 35 : Variation mensuelle des teneurs en Orthophosphates dans les eaux usées (A), les cours d'eau (B) et les eaux souterraines (C)

### III.1.3.2- Détermination de l'influence des paramètres physico-chimiques et bactériologiques

#### III.1.3.2.1- Comparaisons des facteurs abiotiques et biotiques entre les milieux aquatiques

La comparaison des variations des abondances des espèces d'entérobactéries et des paramètres physico-chimiques a été faite au moyen du test « *H* » de Kruskal-Wallis. Il ressort que la température et les teneurs en nitrates n'ont pas présenté de différence significative entre les différents biotopes aquatiques. Cette observation a permis d'effectuer le test « *U* » de Mann-Whitney dont les résultats sont présentés dans le tableau XXXIII.

Il a été noté une différence très significative ( $P < 0,01$ ) entre les eaux usées et les cours d'eau vis-à-vis de la conductivité électrique et des TDS ; et aucune face aux abondances bactériennes de ces 2 biotopes. S'agissant des eaux usées et des eaux souterraines, elles ont différencié très significativement ( $P < 0,01$ ) vis-à-vis des paramètres physicochimiques et bactériologiques ; tandis qu'entre les cours d'eau et les eaux souterraines, seule la conductivité électrique n'a présenté de différence significative.

**Tableau XXXIII** : Comparaison à partir du test « *U* » de Mann-Whitney entre les différents biotopes aquatiques

<b>Paramètres physicochimiques</b>	<b>Eaux usées et Cours d'eau</b>	<b>Eaux usées et eaux souterraines</b>	<b>Cours d'eau et eaux souterraines</b>
Conductivité électrique	0,001**	0,001**	0,191
pH	0,397	0,008**	0,003**
TDS	0,002**	0,005**	0,005**
Orthophosphates	0,174	0,002**	0,001**
<b>Espèces bactériennes</b>			
<i>Shigella sonnei</i>	0,778	0,003**	0,006**
<i>Shigella boydii</i>	0,739	0,001**	0,004**
<i>Shigella dysenteriae</i>	0,522	0,002**	0,001**
<i>Shigella flexneri</i>	0,457	0,005**	0,003**
<i>Proteus rettgeri</i>	0,701	0,005**	0,002**
<i>Proteus mirabilis</i>	0,457	0,002**	0,005**
<i>Proteus vulgaris</i>	0,817	0,004**	0,006**
<i>Citrobacter diversus</i>	0,489	0,008**	0,001**
<i>Citrobacter freundii</i>	0,369	0,001**	0,002**
<i>Escherichia coli</i>	0,626	0,002**	0,006**
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,095	0,001**	0,004**
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0,158	0,003**	0,005**
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0,144	0,001**	0,001**
<i>Salmonella typhi</i>	0,918	0,005**	0,003**
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0,118	0,004**	0,001**

<i>Klebsiella ozaenae</i>	0,124	0,001**	0,007**
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,106	0,001**	0,003**

\* : corrélation significative au niveau 0,05 (bilatéral) ; \*\* : corrélation significative au niveau 0,01 (bilatéral) ; pH : potentiel d'hydrogène ; TDS : Solides Totaux dissous

En réalisant les comparaisons entre les stations d'un biotope aquatique, il en ressort qu'il existe des différences significatives ( $P < 0,05$ ). Dans le cas des stations des eaux usées, il a été noté avec la conductivité électrique, le pH, les TDS et les orthophosphates, les espèces de *Citrobacter diversus* et d'*Escherichia coli*. Par contre, entre les stations des cours d'eau, des différences significatives ont été notées plutôt avec la conductivité électrique, les TDS, les teneurs en nitrates et orthophosphates, les abondances des espèces de *Shigella sonnei*, de *Shigella boydii* et de *Salmonella typhi*. Cependant, entre les stations des eaux souterraines, ces différences ont été notées avec plusieurs paramètres physico-chimiques et bactériologiques exceptées la température, les espèces de *Shigella dysenteriae*, de *Shigella flexneri* et de *Klebsiella pneumoniae*.

### III.1.3.2.2 - Corrélations entre les abondances cellulaires des espèces d'entérobactéries et les facteurs abiotiques

Le degré de liaison entre les variations des abondances des espèces d'entérobactéries et les fluctuations des paramètres physicochimiques a été recherché au moyen du test de corrélation «  $r$  » de Spearman. Les résultats sont présentés dans les tableaux XXXIV, XXXV et XXXVI. Il ressort que ces relations ont différé suivant les espèces, aussi bien dans les eaux usées que dans les cours d'eau et les eaux souterraines.

#### III.1.3.2.2.1- Corrélations entre les paramètres physico-chimiques et les abondances cellulaires des espèces d'entérobactéries dans les eaux usées

Dans l'ensemble, les abondances bactériennes ont montré des liaisons significatives avec la conductivité électrique, le pH et les nitrates. Aucune liaison n'a été notée avec la température, les TDS et les orthophosphates (tableau XXXIV).

Une corrélation très significative ( $P < 0,01$ ) et négative entre le pH et les abondances de *Citrobacter diversus* ( $r = - 0,413$ ), *Klebsiella oxytoca* ( $r = - 0,430$ ) et *Klebsiella ozaenae* ( $r = - 0,394$ ) a été notée. En outre, des corrélations significatives ( $P < 0,05$ ) et positives ont été enregistrées entre la conductivité électrique et les abondances d'*Enterobacter agglomerans* ( $r = 0,294$ ) ; et entre les teneurs en nitrates et les abondances de *Citrobacter diversus* ( $r = 0,337$ ) et *Citrobacter freundii* ( $r = 0,287$ ). Aussi, il a également été noté une liaison

significative ( $P < 0,05$ ) et négative entre le pH et les abondances de *Citrobacter freundii* ( $r = -0,339$ ) et *Klebsiella pneumonia* ( $r = -0,321$ ).

**Tableau XXXIV** : Coefficients de corrélation « r » de Spearman entre les paramètres physico-chimiques et les abondances cellulaires des espèces isolées des eaux usées

Espèces bactériennes	Paramètres physico-chimiques					
	T°	Cond élec	pH	TDS	Nitrates	Ortho
<i>Shigella sonnei</i>	-0,020	-0,048	0,052	-0,033	0,143	0,167
<i>Shigella boydii</i>	-0,038	-0,071	0,063	-0,016	0,139	0,168
<i>Shigella dysenteriae</i>	-0,061	-0,141	0,030	0,098	0,183	0,216
<i>Shigella flexneri</i>	-0,075	-0,094	0,031	0,002	0,090	0,199
<i>Proteus rettgeri</i>	-0,012	0,123	-0,102	0,052	0,167	-0,054
<i>Proteus mirabilis</i>	-0,095	0,193	-0,152	0,049	0,124	0,022
<i>Proteus vulgaris</i>	-0,092	0,204	-0,152	-0,014	0,136	-0,038
<i>Citrobacter diversus</i>	-0,152	-0,004	<b>-0,41**</b>	-0,072	<b>0,337*</b>	-0,037
<i>Citrobacter freundii</i>	-0,204	0,009	<b>-0,339*</b>	-0,078	<b>0,287*</b>	0,017
<i>Escherichia coli</i>	-0,068	0,221	-0,233	-0,095	0,234	-0,067
<i>Enterobacter cloacae</i>	-0,191	0,192	-0,174	-0,056	0,157	0,072
<i>Enterobacter agglomerans</i>	-0,249	<b>0,294*</b>	-0,266	-0,155	0,124	0,108
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-0,207	0,228	-0,229	-0,104	0,139	0,112
<i>Salmonella typhi</i>	-0,146	-0,021	-0,060	-0,074	0,214	0,094
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-0,142	0,172	<b>-0,43**</b>	-0,153	0,244	-0,032
<i>Klebsiella ozaenae</i>	-0,096	0,154	<b>-0,39**</b>	-0,223	0,273	-0,079
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-0,049	0,099	<b>-0,32*</b>	-0,192	0,260	-0,102

ddl : 13-1= 12, \*\*: corrélation significative au niveau 0,01 (bilatéral) ; \* : corrélation significative au niveau 0,05 (bilatéral) ; T° : Température ; Cond élec : Conductivité électrique ; TDS : Solides Totaux dissous ; Ortho : Orthophosphates.

### III.1.3.2.2.2- Corrélations entre les paramètres physico-chimiques et les abondances cellulaires des espèces d'entérobactéries dans les cours d'eau

Des liaisons significatives ont été enregistrées entre les abondances bactériennes et les paramètres physico-chimiques que sont la température, le pH, la conductivité électrique et les TDS, à l'exception des nitrates et des orthophosphates (Tableau XXXV). Des corrélations très significatives ( $P < 0,01$ ) et positives ont été notées entre la température et les abondances de *Citrobacter diversus* ( $r = 0,389$ ), de *Citrobacter freundii* ( $r = 0,332$ ), de *Klebsiella oxytoca* ( $r = 0,372$ ), de *Klebsiella ozaenae* ( $r = 0,460$ ) et de *Klebsiella pneumonia* ( $r = 0,438$ ) ; et entre les TDS et les abondances d'*Enterobacter agglomerans* ( $r = 0,254$ ). Par ailleurs, des corrélations très significatives ( $P < 0,01$ ) et négatives quant à elles ont été enregistrées entre le pH et les abondances d'*Escherichia coli* ( $r = -0,277$ ) et d'*Enterobacter agglomerans* ( $r = -0,354$ ) ; et entre la conductivité électrique et les abondances de *Shigella dysenteriae* ( $r = -0,245$ ).

Par ailleurs, il a été noté des corrélations significatives ( $P < 0,05$ ) et positives entre la température et les abondances de *Proteus vulgaris* ( $r = 0,213$ ) et d'*Enterobacter cloacae* ( $r = 0,195$ ) ; entre la conductivité électrique et les abondances d'*Enterobacter agglomerans* ( $r = 0,232$ ) ; et entre les TDS et les abondances d'*Escherichia coli* ( $r = 0,199$ ), d'*Enterobacter cloacae* ( $r = 0,235$ ), et d'*Enterobacter aerogenes* ( $r = 0,207$ ). En outre, des liaisons significatives ( $p < 0,05$ ) et négatives ont été notées entre le pH et les abondances de *Citrobacter diversus* ( $r = -0,219$ ), de *Citrobacter freundii* ( $r = -0,185$ ), d'*Enterobacter cloacae* ( $r = -0,223$ ), d'*Enterobacter aerogenes* ( $r = -0,233$ ), de *Klebsiella oxytoca* ( $r = -0,226$ ) et de *Klebsiella ozaenae* ( $r = -0,200$ ) ; et également entre la conductivité électrique et les abondances de *Shigella flexneri* ( $r = -0,210$ ) et de *Klebsiella pneumonia* ( $r = -0,203$ ).

**Tableau XXXV** : Coefficients de corrélation « r » de Spearman entre les paramètres physicochimiques et les abondances bactériennes des espèces isolées dans les cours d'eau

Espèces bactériennes	Paramètres physico-chimiques					
	T°	pH	Cond élec	TDS	Nitrates	Ortho
<i>Shigella sonnei</i>	0,141	-0,165	-0,126	0,078	0,034	0,093
<i>Shigella boydii</i>	0,109	-0,165	-0,115	0,097	0,051	0,113
<i>Shigella dysenteriae</i>	0,090	-0,104	<b>-0,245**</b>	-0,046	0,000	0,088
<i>Shigella flexneri</i>	0,043	-0,170	<b>-0,210*</b>	-0,005	0,045	0,130
<i>Proteus rettgeri</i>	0,169	0,053	-0,042	-0,031	-0,061	-0,135
<i>Proteus mirabilis</i>	0,160	0,061	-0,072	-0,024	-0,047	-0,102
<i>Proteus vulgaris</i>	<b>0,213*</b>	0,032	-0,071	-0,071	-0,058	-0,053
<i>Citrobacter diversus</i>	<b>0,389**</b>	<b>-0,219*</b>	-0,107	0,061	0,162	0,077
<i>Citrobacter freundii</i>	<b>0,322**</b>	<b>-0,185*</b>	-0,102	0,080	0,133	0,068
<i>Escherichia coli</i>	0,109	<b>-0,28**</b>	-0,017	<b>0,199*</b>	0,043	-0,111
<i>Enterobacter cloacae</i>	<b>0,195*</b>	<b>-0,223*</b>	0,120	<b>0,235*</b>	0,061	0,036
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0,025	<b>-0,35**</b>	<b>0,232*</b>	<b>0,254**</b>	0,040	0,060
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0,127	<b>-0,233*</b>	0,132	<b>0,207*</b>	0,053	0,073
<i>Salmonella typhi</i>	0,038	-0,077	-0,132	0,095	0,042	0,037
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<b>0,372**</b>	<b>-0,226*</b>	-0,117	0,044	0,156	0,086
<i>Klebsiella ozaenae</i>	<b>0,460**</b>	<b>-0,200*</b>	-0,160	0,036	0,174	0,047
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<b>0,438**</b>	-0,141	<b>-0,203*</b>	0,051	0,096	0,043

ddl : 13-1= 12, \*\*: corrélation significative au niveau 0,01 (bilatéral) ; \* : corrélation significative au niveau 0,05 (bilatéral) ; T° : Température ; Cond élec : Conductivité électrique ; TDS : Solides Totaux dissous ; Ortho : Orthophosphates.

### III.1.3.2.2.3- Corrélations entre les paramètres physico-chimiques et les abondances cellulaires des espèces d'entérobactéries dans les eaux souterraines

Les espèces d'entérobactéries isolées dans les eaux souterraines ont présenté des liaisons significatives avec la température, le pH, les teneurs en nitrates et en orthophosphates (tableau XXXVI).

Des corrélations très significatives ( $P < 0,01$ ) et positives ont été notées entre la température et les abondances de *Citrobacter diversus* ( $r = 0,391$ ) ; entre le pH et les abondances de *Shigella boydii* ( $r = 0,387$ ) ; et entre les teneurs en orthophosphates et les abondances de *Shigella sonnei* ( $r = 0,434$ ), de *Shigella boydii* ( $r = 0,522$ ), de *Proteus rettgeri* ( $r = 0,371$ ), de *Proteus mirabilis* ( $r = 0,447$ ), de *Proteus vulgaris* ( $r = 0,336$ ), d'*Escherichia coli* ( $r = 0,346$ ), d'*Enterobacter cloacae* ( $r = 0,365$ ) et de *Klebsiella oxytoca* ( $r = 0,451$ ).

Par ailleurs, des liaisons significatives ( $P < 0,05$ ) et positives ont été enregistrées entre la température et les abondances de *Citrobacter freundii* ( $r = 0,301$ ), d'*Escherichia coli* ( $r = 0,245$ ) et de *Klebsiella ozaenae* ( $r = 0,284$ ) ; entre le pH et les abondances de *Shigella sonnei* ( $r = 0,294$ ) ; entre les teneurs en nitrates et les abondances de *Shigella sonnei* ( $r = 0,249$ ) et de *Shigella boydii* ( $r = 0,283$ ) ; et entre les teneurs en orthophosphates et les abondances de *Citrobacter freundii* ( $r = 0,251$ ), d'*Enterobacter agglomerans* ( $r = 0,364$ ) et d'*Enterobacter aerogenes* ( $r = 0,266$ ).

**Tableau XXXVI :** Coefficients de corrélation « r » de Spearman entre les paramètres physico-chimiques et les abondances bactériennes des espèces isolées dans les eaux souterraines

Espèces bactériennes	Paramètres physico-chimiques					
	T°	pH	Cond élec	TDS	Nitrates	Ortho
<i>Shigella sonnei</i>	0,111	<b>0,294*</b>	0,076	-0,099	<b>0,249*</b>	<b>0,434**</b>
<i>Shigella boydii</i>	0,63	<b>0,387**</b>	0,056	-0,127	<b>0,283*</b>	<b>0,522**</b>
<i>Shigella dysenteriae</i>	0,123	0,234	0,098	0,007	0,120	0,001
<i>Shigella flexneri</i>	0,032	0,012	0,015	0,018	0,009	0,012
<i>Proteus rettgeri</i>	0,184	0,172	0,000	-0,106	0,208	<b>0,371**</b>
<i>Proteus mirabilis</i>	0,137	0,237	0,029	-0,107	0,244	<b>0,447**</b>
<i>Proteus vulgaris</i>	0,239	0,100	-0,033	-0,058	0,152	<b>0,336**</b>
<i>Citrobacter diversus</i>	<b>0,391**</b>	0,012	-0,118	-0,060	0,027	0,162
<i>Citrobacter freundii</i>	<b>0,301*</b>	0,103	-0,046	-0,059	0,108	<b>0,251*</b>
<i>Escherichia coli</i>	<b>0,245*</b>	0,139	-0,140	-0,068	0,019	<b>0,346**</b>
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,048	0,181	0,066	-0,038	0,135	<b>0,365**</b>
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0,141	0,142	0,008	-0,032	0,177	<b>0,364*</b>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0,148	0,146	0,017	-0,049	0,135	<b>0,266*</b>
<i>Salmonella typhi</i>	0,064	0,083	0,053	-0,139	0,130	0,240
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0,132	0,122	-0,022	-0,065	0,142	<b>0,451**</b>
<i>Klebsiella ozaenae</i>	<b>0,284*</b>	0,080	-0,082	-0,143	0,077	0,188
<i>Klebsiella pneumonia</i>	0,130	0,160	-0,200	-0,083	-0,027	0,180

ddl : 13-1 = 12, \*\*: corrélation significative au niveau 0,01 (bilatéral) ; \* : corrélation significative au niveau 0,05 (bilatéral) ; T° : Température ; Cond élec : Conductivité électrique ; TDS : Solides Totaux dissous ; Ortho : Orthophosphates.

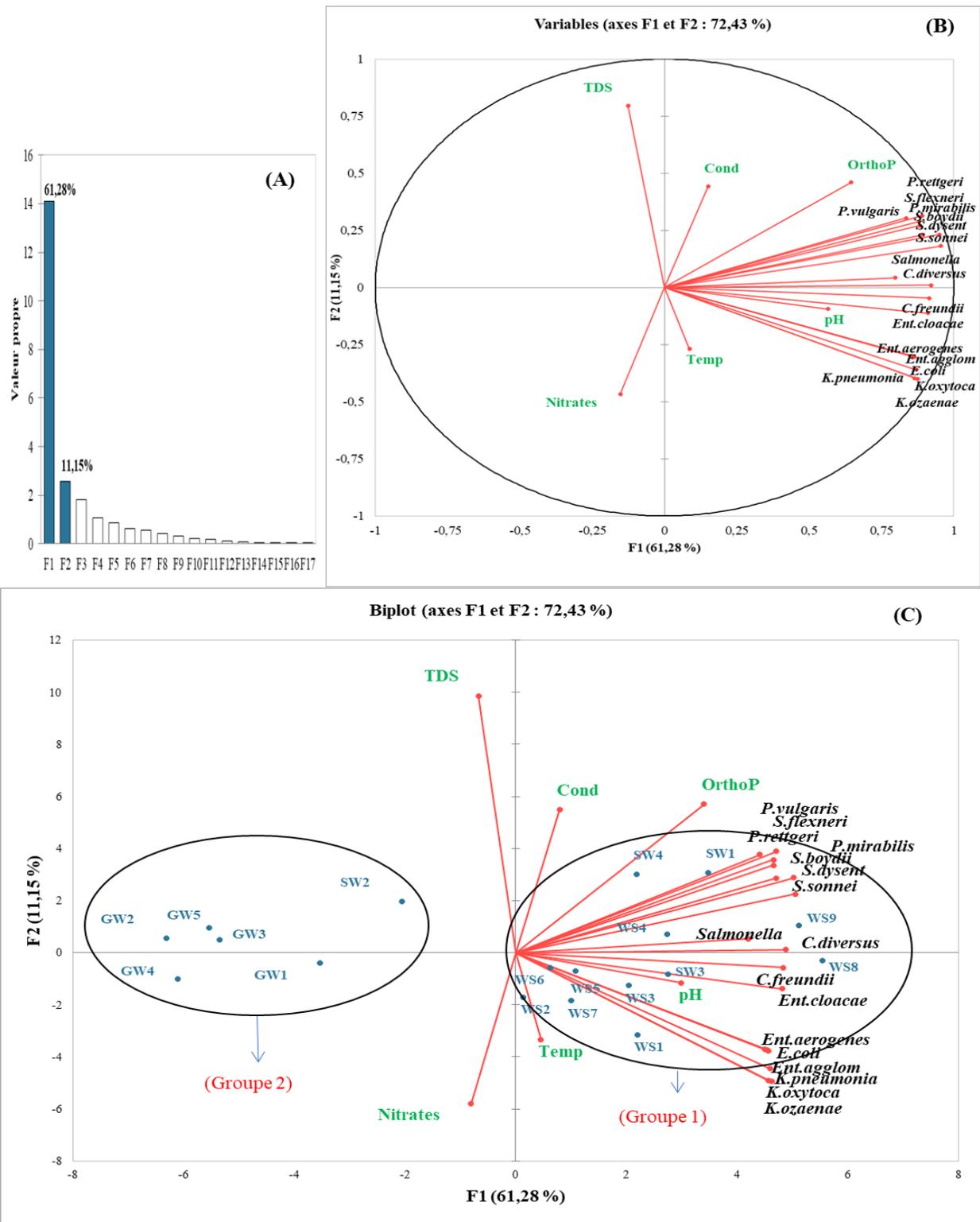
### III.1.3.2.3 - Analyses multivariées des paramètres physico-chimiques et bactériologiques

#### III.1.3.2.3.1- Analyse en Composantes Principales

D'après les résultats présentés à la figure 36 (A, B, C), les deux premiers axes factoriels F1 (61,28%) et F2 (11,15%) ont cumulé 72,43% d'expression des variables.

Le diagramme de dispersion des variables (figure 36B) quant à lui a montré que toutes les espèces d'entérobactéries ont été d'une part positivement liées entre elles, et d'autre part positivement corrélées à l'axe F2. Le pH et les espèces (*Salmonella typhi*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae* et *Klebsiella pneumoniae*) ont été positivement liés entre eux et à l'axe F2. Il est en de même avec les orthophosphates et les espèces (*Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri*, *Proteus vulgaris*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* et *Shigella sonnei*). Par contre, la température, la conductivité électrique, les nitrates et les TDS n'ont été pas significativement liés à l'axe F2. Cependant, les TDS et la conductivité électrique ont été positivement liés entre eux d'une part, et positivement corrélés à l'axe F1 ; tandis que les nitrates et la température étaient par contre positivement liés entre eux mais négativement corrélés à l'axe F1.

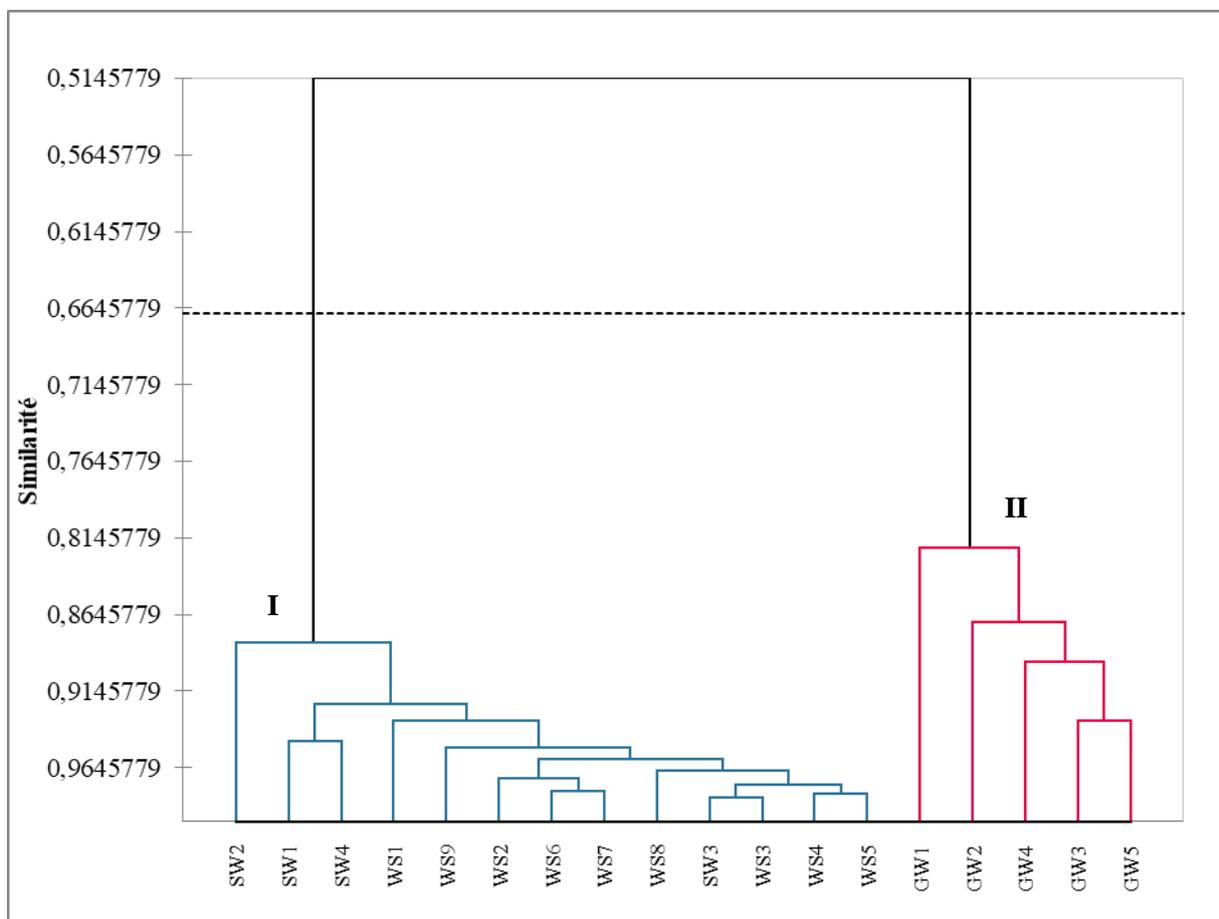
La carte factorielle (figure 36C) qui représente une distribution des 18 stations d'échantillonnage relativement à leurs caractéristiques physico-chimiques et bactériologiques a défini 2 grands groupes d'échantillons. Le groupe 1 a été formé de toutes les stations des cours d'eau (de Ws1 à Ws9), de la station d'eaux usées hospitalières (Sw1) et de 2 stations d'eaux usées communautaires (Sw3 et Sw4) qui hébergeaient une forte abondance de toutes les espèces d'entérobactéries isolées, et ont été caractérisées par des fortes teneurs en orthophosphates et des valeurs modérées de pH, de la conductivité électrique et de la température. Le groupe 2 quant à lui a été constitué de toutes les stations d'eaux souterraines (de Gw1 à Gw5) et une station d'eaux usées communautaires (Sw2) qui étaient caractérisées par une faible valeur des paramètres physicochimiques et bactériologiques.



**Figure 36 :** Analyse en Composantes Principales (ACP) des données physico-chimiques et bactériologiques mesurées dans les différentes stations : (A) Histogramme des valeurs propres, (B) Diagramme de dispersion des variables ; (C) Biplot montrant la distribution des paramètres dans le plan factoriel F1x F2.

### III.1.3.2.3.2- Analyse de Classification Hiérarchique (ACH)

Les résultats de l'ACH obtenus ont présenté 2 classes de stations (I et II) (figure 37). La classe I regroupait les associations des stations Sw2 (Sw1 et Sw4) et Ws1 ; Ws9 et Ws2 (Ws6 et Ws7) ; Ws8 (Sw3 et Ws3) et (Ws4 et Ws5) liées entre elles à plus de 87,45% de similarité. La classe II a été constituée des associations des stations Gw1 et Gw2 ; Gw2 et Gw4 (Gw3 et Gw5) liées entre elle à 82,45% de similarité. Les 2 classes ont présenté 66,46% de similarité entre elles. La classe I a formé le groupe des stations d'eaux usées et des cours d'eau caractérisées par des fortes abondances des espèces d'entérobactéries et des valeurs modérées de pH, de température et de la conductivité électrique. La classe II a formé le groupe des stations d'eaux souterraines caractérisées par des valeurs faibles des paramètres physico-chimiques et bactériologiques.



**Figure 37 :** Hiérarchisation des stations d'échantillonnage à partir des valeurs des paramètres physico-chimiques et bactériologiques

### **III.1.3.2.4- Relation entre les paramètres physico-chimiques et les diamètres d'inhibition des antibiotiques chez les entérobactéries**

Le degré de liaison entre les diamètres d'inhibition des antibiotiques et les facteurs abiotiques a été recherché au moyen du test « r » de Spearman. Les résultats, inscrits dans les tableaux XXXVII, XXXVIII et XXXIX ont montré que ces relations différaient suivant le paramètre physicochimique, le biotope et l'espèce bactérienne.

#### **III.1.3.2.4.1- Corrélations entre les paramètres physico-chimiques des eaux usées et les diamètres d'inhibition des antibiotiques chez les entérobactéries**

Des liaisons significatives et négatives d'une part, et positives d'autre part ont été notées entre les paramètres physicochimiques des eaux usées et les diamètres d'inhibition des antibiotiques (tableau XXXVII).

##### **III.1.3.2.4.1.1- Corrélations entre la température et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Il a été noté dans l'ensemble, que des corrélations entre la température et les diamètres d'inhibition ont été négatives avec les antibiotiques appartenant aux familles des  $\beta$ -lactamines notamment l'Amoxicilline+acide clavulanique ( $r = -0,29$  ;  $P < 0,05$ ), le Céfuroxime, l'Imipénème, le Céfoxitine, la Pipéracilline ( $r = -0,4$  ;  $P < 0,01$ ), le Méropénème ( $r = -0,5$  ;  $P < 0,05$ ), l'Amoxicilline et le Céfépime ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,05$ ) agissant majoritairement sur les espèces d'*Enterobacter*. Chez les Quinolones ces corrélations ont été notées avec la Ciprofloxacine, la Norfloxacine et l'Ofloxacine ( $r = -0,4$  ;  $P < 0,01$ ) agissant majoritairement chez les espèces de *Citrobacter*. Pour la famille des Aminoglycosides, des corrélations ont été enregistrées avec l'Amikacine et la Gentamicine ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,05$ ) particulièrement chez les *Citrobacter*. S'agissant des corrélations entre les diamètres d'inhibition des antibiotiques de la famille des sulfamides, elles ont été notées chez la Nitrofurantoïne, la Fosfomycine et le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole ( $r = -0,4$  ;  $P < 0,05$ ) vis-à-vis des espèces de *Proteus*.

##### **III.1.3.2.4.1.2- Corrélations entre le pH et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Des liaisons significatives et positives ont été observées entre le pH et les diamètres d'inhibition des antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines notamment le Méropénème, l'Amoxicilline+acide clavulanique ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,01$ ), le Ceftazidime, l'Imipénème et le Céfoxitine ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,05$ ) agissant particulièrement sur les espèces de *Salmonella* et *Shigella*. Dans la famille des Aminocyclitolides, des corrélations ont été notées avec les diamètres

d'inhibition de la Gentamicine et de l'Amikacine ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,05$ ) vis-à-vis d'*Escherichia* et de *Salmonella*.

#### **III.1.3.2.4.1.3- Corrélations entre la conductivité électrique et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Il a été noté des corrélations significatives et négatives d'une part, et positives d'autre part entre la conductivité électrique et les diamètres d'inhibition des antibiotiques appartenant aux familles des  $\beta$ - lactamines notamment l'Amoxicilline, la Ticarcilline, le Céfuroxime, le Céfépime ( $r = 0,4$  ;  $P < 0,01$ ), l'Amoxicilline+acide clavulanique, le Méropénème, le Ceftazidime et le Ceftriaxone ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,05$ ) agissant sur les *Enterobacter*. Les Quinolones tels que la Ciprofloxacine ( $r = -0,6$  ;  $P < 0,01$ ) et la Norfloxacine ( $r = 0,28$  ;  $P < 0,05$ ) vis-à-vis des espèces d'*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* et *Shigella*. Quant aux corrélations avec les diamètres d'inhibition des antibiotiques de la famille des Aminosides, elles ont été enregistrées chez l'Amikacine ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,05$ ) agissant sur les espèces de *Klebsiella*. S'agissant des Sulfamides, il a été noté une corrélation avec le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole ( $r = 0,34$  ;  $P < 0,05$ ) vis-à-vis des *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* et *Klebsiella*.

#### **III.1.3.2.4.1.4- Corrélations entre les TDS et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Des liaisons significativement positives d'une part, et négatives d'autre part ont été obtenues entre les TDS et les diamètres d'inhibition des antibiotiques appartenant aux familles des  $\beta$ - lactamines tels que la Ticarcilline ( $r = -0,4$ ;  $P < 0,01$ ), le Céfuroxime ( $r = -0,28$  ;  $P < 0,05$ ), le Céfépime et le Céfoxitine ( $r = 0,4$  ;  $P < 0,01$ ) agissant sur toutes les espèces à l'exception des *Enterobacter*. Pour ce qui est de la corrélation avec les Quinolones, elle a été notée chez la Ciprofloxacine ( $r = 0,4$  ;  $P < 0,01$ ) vis-à-vis des *Citrobacter* et *Shigella*. Avec les Aminosides, elle a été enregistrée avec la Gentamicine ( $r = 0,4$  ;  $P < 0,01$ ) agissant sur les *Salmonella* ; tandis qu'avec les Sulfamides, ces corrélations ont été notées avec la Fosfomycine et le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole ( $r = 0,31$  ;  $P < 0,05$ ) vis-à-vis des *Proteus* et *Salmonella*.

#### **III.1.3.2.4.1.5- Corrélations entre les nitrates et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Il a été noté dans l'ensemble des corrélations significatives et négatives entre les nitrates et les diamètres d'inhibition des antibiotiques appartenant aux familles des  $\beta$ - lactamines tels

que le Méropénème ( $r = -0,4$  ;  $P < 0,01$ ), le Ceftazidime, le Céfoxitine et la Pipéracilline ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,05$ ) ainsi que des Quinolones tel que la Ciprofloxacine ( $r = -0,28$  ;  $P < 0,05$ ) agissant majoritairement sur les espèces de *Proteus*. Les Aminosides notamment l'Amikacine et la Gentamicine (( $r = -0,4$  ;  $P < 0,01$ ) ; ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,05$ )) vis-à-vis de toutes les espèces ; et des Sulfamides et autres tels que la Nitrofurantoïne et le Triméthoprim/Sulfaméthoxazole ( $r = -0,4$  ;  $P < 0,01$ ) agissant sur *Escherichia* et *Shigella*.

#### **III.1.3.2.4.1.6- Corrélations entre les orthophosphates et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Dans l'ensemble, le degré de liaison a été significatif et positif entre les orthophosphates et les diamètres d'inhibition des antibiotiques appartenant à la famille des  $\beta$ - lactamines tels que le Méropénème, la Pipéracilline, le Ceftazidime, le Céfépime, le Céfoxitine, l'Amoxicilline+acide clavulanique, la Pipéracilline/Tazobactam, l'Amoxicilline, le Céfuroxime ( $r = 0,5$  ;  $P < 0,01$ ), le Ceftriaxone, l'Imipénème, et la Ticarcilline ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,05$ ) agissant sur les *Salmonella*. Ce degré de liaison a également été noté chez les Quinolones avec la Ciprofloxacine, l'Ofloxacine et la Norfloxacine ( $r = 0,4$  ;  $P < 0,05$ ) vis-à-vis des espèces d'*Enterobacter* et *Shigella*. Pour ce qui est des Aminosides, les corrélations ont été enregistrées chez l'Amikacine et la Gentamicine (( $r = 0,4$  ;  $P < 0,01$ ) ; ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,05$ )) agissant sur toutes les espèces ; tandis qu'avec les Sulfamides, ces corrélations ont été chez le Nitrofurantoïne, la Fosfomycine et le Triméthoprim/Sulfaméthoxazole (( $r = 0,3$  ;  $P < 0,01$  ;  $r = 0,29$  ;  $P < 0,05$ ) agissant sur toutes les espèces sauf les *Enterobacter*.

**Tableau XXXVII : Corrélations entre les paramètres physicochimiques et les diamètres d'inhibition des antibiotiques chez les entérobactéries isolées des eaux usées**

Paramètres abiotiques	Espèces bactériennes	β- lactamines												Quinolones			Aminosides		Sulfamides et autres		
		AC <sub>30</sub>	AX <sub>30</sub>	CA <sub>30</sub>	CR <sub>5</sub>	CXM <sub>5</sub>	FE <sub>10</sub>	FO <sub>10</sub>	IM <sub>10</sub>	ME <sub>10</sub>	PR <sub>75</sub>	TC <sub>75</sub>	TZ <sub>40</sub>	CIP <sub>5</sub>	NR <sub>10</sub>	OF <sub>5</sub>	AK <sub>30</sub>	CN <sub>30</sub>	F <sub>300</sub>	FF <sub>30</sub>	ST <sub>25</sub>
Température	<i>Citrobacter</i>	-0,10	<b>-0,3*</b>	-0,01	-0,13	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3*</b>	-0,17	-0,15	-0,15	-0,27	-0,07	-0,03	<b>-0,45**</b>	<b>-0,31*</b>	<b>-0,34*</b>	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3*</b>	-0,14	-0,18	<b>-0,5**</b>
	<i>Enterobacter</i>	-0,25	<b>-0,3*</b>	-0,19	-0,26	-0,25	<b>-0,3*</b>	-0,23	<b>-0,4**</b>	<b>-0,5**</b>	<b>-0,4**</b>	-0,20	-0,05	-0,6	<b>-0,5**</b>	-0,27	-0,22	-0,27	-0,13	-0,01	<b>-0,28*</b>
	<i>Escherichia</i>	<b>-0,29*</b>	<b>-0,3*</b>	-0,20	-0,15	-0,11	-0,26	<b>-0,4**</b>	-0,14	<b>-0,3*</b>	-0,23	-0,05	-0,03	-0,25	-0,07	<b>-0,29*</b>	-0,24	-0,25	<b>-0,3*</b>	-0,13	-0,21
	<i>Klebsiella</i>	-0,21	<b>-0,3*</b>	-0,25	-0,27	-0,24	-0,27	<b>-0,3*</b>	-0,26	-0,18	<b>-0,5**</b>	-0,9	-0,3	-0,17	-0,04	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3*</b>	-0,24	-0,25	<b>-0,4**</b>	<b>-0,4**</b>
	<i>Proteus</i>	<b>-0,4**</b>	-0,26	-0,26	-0,03	-0,72	-0,10	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3*</b>	-0,23	<b>-0,3*</b>	-0,08	0,07	-0,16	-0,17	<b>-0,4**</b>	-0,08	<b>-0,3*</b>	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,4**</b>
	<i>Salmonella</i>	-0,17	<b>-0,3*</b>	-0,23	-0,09	<b>-0,3*</b>	-0,09	-0,03	-0,21	-0,13	<b>-0,4**</b>	0,03	0,05	-0,20	-0,19	-0,11	-0,06	-0,12	-0,18	-0,05	<b>-0,4**</b>
	<i>Shigella</i>	-0,21	-0,08	-0,14	-0,15	-0,24	-0,27	<b>-0,4**</b>	-0,13	-0,26	-0,23	0,06	0,11	-0,04	-0,23	<b>-0,3*</b>	-0,12	-0,10	<b>-0,3*</b>	-0,17	<b>-0,5**</b>
pH	<i>Citrobacter</i>	-0,02	0,23	0,03	-0,05	0,04	0,03	0,14	0,06	0,08	0,04	0,21	0,21	0,08	-0,04	0,23	0,21	0,33	0,04	0,20	-0,99
	<i>Enterobacter</i>	0,24	-0,07	0,14	-0,11	-0,23	-0,07	0,06	0,16	0,15	0,13	0,02	-0,07	0,07	-0,05	0,25	0,13	0,24	-0,11	0,02	-0,01
	<i>Escherichia</i>	<b>0,29*</b>	0,17	0,14	0,05	-0,13	0,14	0,26	0,18	0,24	0,04	0,23	0,10	-0,02	0,21	0,23	<b>0,29*</b>	<b>0,4**</b>	0,10	0,11	-0,013
	<i>Klebsiella</i>	0,25	-0,10	0,01	-0,01	-0,04	-0,03	-0,03	0,04	0,12	0,08	-0,21	0,05	0,04	0,061	-0,06	0,13	0,11	-0,02	0,04	-0,10
	<i>Proteus</i>	0,18	-0,04	0,14	0,16	0,15	0,16	<b>0,3*</b>	0,04	0,10	0,10	0,15	0,21	0,03	0,05	0,15	<b>0,32*</b>	0,22	0,02	0,20	-0,13
	<i>Salmonella</i>	<b>0,3*</b>	0,15	<b>0,3*</b>	0,08	-0,03	0,05	0,10	0,10	<b>0,4**</b>	0,11	-0,07	0,11	0,09	0,09	0,17	<b>0,3*</b>	<b>0,4**</b>	0,13	-0,02	0,17
	<i>Shigella</i>	<b>0,3*</b>	0,14	0,05	-0,02	-0,02	0,02	<b>0,28*</b>	<b>0,3*</b>	0,21	0,18	0,24	0,09	0,19	0,05	0,15	0,19	<b>0,3*</b>	0,16	0,27	0,16
Conductivité électrique	<i>Citrobacter</i>	<b>0,28*</b>	-0,03	0,26	0,16	0,14	0,14	0,00	0,24	<b>0,32*</b>	0,19	0,09	0,07	-0,09	0,27	0,09	0,26	-0,12	0,17	0,16	<b>0,33*</b>
	<i>Enterobacter</i>	-0,11	<b>0,3*</b>	-0,02	<b>0,3*</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	0,20	0,08	0,10	0,18	<b>0,4**</b>	0,11	<b>0,35*</b>	0,093	-0,02	0,07	0,16	0,17	0,14	<b>0,28*</b>
	<i>Escherichia</i>	0,08	0,06	0,90	0,23	0,09	0,17	0,05	0,17	0,14	0,11	0,08	0,11	0,16	0,152	0,08	0,16	0,08	0,15	0,15	<b>0,34*</b>
	<i>Klebsiella</i>	0,12	<b>0,4**</b>	<b>0,31*</b>	0,25	<b>0,29*</b>	0,27	0,23	0,14	0,21	0,10	<b>0,4**</b>	0,12	<b>0,28*</b>	0,233	0,24	<b>0,3*</b>	0,12	0,27	0,22	<b>0,28*</b>
	<i>Proteus</i>	-0,07	<b>0,28*</b>	0,11	-0,05	0,19	-0,16	-0,13	0,09	0,07	-0,04	0,18	-0,02	-0,05	<b>0,28*</b>	-0,10	-0,18	-0,13	0,23	-0,16	0,21
	<i>Salmonella</i>	-0,10	0,11	-0,19	0,02	0,01	0,18	-0,22	-0,07	-0,11	-0,14	0,27	-0,14	0,001	0,26	0,01	-0,05	-0,06	0,11	0,19	-0,13
	<i>Shigella</i>	-0,27	0,23	-0,03	0,03	0,15	<b>0,4*</b>	-0,22	0,04	0,01	0,10	-0,20	-0,26	<b>-0,6**</b>	0,07	0,07	0,13	-0,15	-0,05	-0,19	-0,04
TDS	<i>Citrobacter</i>	-0,24	0,20	-0,05	0,26	0,11	<b>0,4**</b>	0,15	-0,07	-0,01	0,04	0,03	0,09	<b>0,33*</b>	-0,01	0,13	0,12	0,21	-0,14	0,09	-0,09
	<i>Enterobacter</i>	0,23	-0,11	0,11	-0,24	-0,18	-0,10	0,02	0,26	0,13	0,09	-0,13	-0,05	-0,16	0,07	0,06	0,18	0,11	-0,22	0,01	0,08
	<i>Escherichia</i>	0,15	0,08	-0,02	-0,16	<b>-0,28*</b>	-0,04	0,03	0,17	0,16	-0,13	-0,07	0,02	-0,05	-0,03	0,10	0,20	0,24	0,06	0,02	0,06
	<i>Klebsiella</i>	0,13	-0,16	0,07	-0,07	0,00	-0,02	0,02	-0,03	0,06	0,10	<b>-0,4**</b>	0,04	-0,12	-0,02	0,06	0,05	0,10	-0,22	-0,03	0,03
	<i>Proteus</i>	0,13	-0,10	0,20	0,16	0,07	0,05	<b>0,29*</b>	0,04	-0,08	-0,07	-0,16	0,02	0,13	-0,13	0,22	0,17	0,25	-0,08	<b>0,3*</b>	-0,01
	<i>Salmonella</i>	0,25	0,22	0,24	-0,03	0,11	-0,21	0,04	0,15	0,12	0,04	<b>-0,5**</b>	-0,20	0,20	-0,04	0,10	0,13	<b>0,4**</b>	-0,15	-0,03	<b>0,31*</b>

	<i>Shigella</i>	0,19	0,01	0,10	0,10	-0,07	0,14	<b>0,4**</b>	0,06	0,04	0,01	-0,23	-0,23	<b>0,4**</b>	0,13	0,01	0,06	0,20	0,11	0,26	-0,07
<b>Nitrates</b>	<i>Citrobacter</i>	0,004	-0,20	0,14	0,13	-0,01	0,21	0,00	-0,01	-0,18	-0,20	-0,26	-0,16	-0,12	0,02	-0,27	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3*</b>	-0,02	-0,05	-0,22
	<i>Enterobacter</i>	-0,12	-0,09	-0,03	-0,13	0,12	-0,12	-0,01	-0,12	<b>-0,4*</b>	-0,20	-0,01	0,02	-0,12	-0,07	-0,16	-0,13	<b>-0,3*</b>	-0,06	0,05	0,01
	<i>Escherichia</i>	<b>-0,3*</b>	-0,06	<b>-0,3*</b>	-0,14	-0,02	-0,22	<b>-0,3*</b>	-0,11	-0,25	-0,23	-0,20	-0,16	-0,05	-0,19	-0,12	<b>-0,32*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,4**</b>	-0,08	-0,05
	<i>Klebsiella</i>	-0,20	-0,12	-0,05	-0,09	0,04	-0,15	-0,16	-0,15	-0,10	-0,22	-0,08	-0,11	-0,02	-0,09	-0,11	<b>-0,3*</b>	-0,25	-0,15	-0,22	-0,20
	<i>Proteus</i>	-0,27	-0,16	-0,16	0,07	-0,10	-0,08	<b>-0,3*</b>	-0,6	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,28*</b>	-0,19	-0,20	<b>-0,4**</b>	<b>-0,4**</b>	-0,21	-0,02	-0,12
	<i>Salmonella</i>	-0,26	-0,14	-0,12	-0,16	-0,14	-0,18	-0,01	-0,7	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	-0,18	-0,19	-0,11	-0,18	-0,23	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3*</b>	-0,26	0,04	-0,15
	<i>Shigella</i>	-0,08	-0,17	0,02	0,14	0,01	-0,02	-0,13	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	-0,20	-0,20	-0,17	-0,24	-0,26	<b>-0,4**</b>	<b>-0,4**</b>	-0,20	-0,12	<b>-0,4**</b>
<b>Orthophosphates</b>	<i>Citrobacter</i>	-0,07	0,24	-0,04	0,17	0,25	<b>0,3*</b>	0,16	-0,02	-0,06	0,22	<b>0,32*</b>	0,26	<b>0,37**</b>	0,07	0,21	0,25	<b>0,3*</b>	-0,02	0,16	<b>0,29*</b>
	<i>Enterobacter</i>	<b>0,29*</b>	0,14	<b>0,29*</b>	0,14	0,07	0,22	0,09	<b>0,32*</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	-0,03	0,21	0,13	<b>0,31*</b>	<b>0,4**</b>	0,15	<b>0,4**</b>	0,23	0,12	-0,013
	<i>Escherichia</i>	<b>0,34*</b>	0,24	<b>0,4**</b>	<b>0,3*</b>	0,08	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	0,18	<b>0,31*</b>	0,27	0,21	<b>0,4**</b>	0,24	0,23	<b>0,3*</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,3*</b>	<b>0,4**</b>	0,21	0,23
	<i>Klebsiella</i>	<b>0,28*</b>	0,24	0,26	0,21	0,27	<b>0,3*</b>	0,26	<b>0,3*</b>	0,17	<b>0,5**</b>	0,12	0,23	0,12	0,19	<b>0,29*</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	0,21	<b>0,3*</b>	<b>0,29*</b>
	<i>Proteus</i>	<b>0,4**</b>	0,10	0,18	0,17	0,10	<b>0,3*</b>	<b>0,5**</b>	0,11	<b>0,4**</b>	<b>0,3*</b>	<b>0,3*</b>	<b>0,4**</b>	0,26	0,26	<b>0,4**</b>	<b>0,3*</b>	0,4**	0,21	<b>0,4**</b>	0,23
	<i>Salmonella</i>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,6**</b>	0,23	<b>0,5**</b>	0,20	<b>0,3*</b>	0,27	<b>0,4**</b>	<b>0,6**</b>	0,14	<b>0,4**</b>	0,23	0,21	0,17	<b>0,4**</b>	<b>0,6**</b>	<b>0,3*</b>	0,11	<b>0,63**</b>
	<i>Shigella</i>	<b>0,35*</b>	0,26	0,06	0,17	0,08	0,07	<b>0,4**</b>	0,17	<b>0,4**</b>	0,21	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,35*</b>	0,14	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	0,22	<b>0,3*</b>	<b>0,4**</b>

ddl : 13-1 = 12 ; \*\* : Corrélation significative au niveau 0,01 (bilatéral) ; \* : Corrélation significative au niveau 0,05 (bilatéral) ; AC : Amoxicilline+acide clavulanique ; AX : Amoxicilline ; CA : Ceftazidime ; CR : Ceftriaxone ; CXM : Céfuroxime ; FE : Céfépime ; FO : Céfoxitine ; IM : Imipénème ; ME : Méropénème ; PR : Pipéracilline ; TC : Ticarcilline ; TZ : Pipéracilline/Tazobactam ; CIP : Ciprofloxacine ; NR : Norfloxacine ; OF : Ofloxacine ; AK : Amikacine ; CN : Gentamicine ; F : Nitrofurantoïne ; FF : Fosfomycine ; ST : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole

#### **III.1.3.2.4.2- Corrélations entre les paramètres physico-chimiques des cours d'eau et les diamètres d'inhibition des antibiotiques chez les entérobactéries**

Des liaisons significatives et négatives d'une part, et positives d'autre part ont été notées entre les paramètres physicochimiques des cours d'eau et les diamètres d'inhibition des antibiotiques (tableau XXXVIII).

##### **III.1.3.2.4.2.1- Corrélations entre la température et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Il a été noté dans l'ensemble des corrélations significatives et négatives entre la température et les diamètres d'inhibition des antibiotiques appartenant à la famille des  $\beta$ -lactamines notamment la Ticarcilline, l'Amoxicilline+acide clavulanique, le Méropénème, le Céfuroxime, la Pipéracilline/Tazobactam, le Céfoxitine, le Ceftriaxone, la Pipéracilline, l'Amoxicilline, le Céfépime, l'Imipénème et le Ceftazidime (( $r = -0,4$  ;  $P < 0,01$ ) ; ( $r = -0,2$  ;  $P < 0,05$ )) agissant majoritairement sur les espèces d'*Escherichia*. Pour ce qui est des corrélations avec les Quinolones, elles ont été enregistrées chez la Ciprofloxacine, la Norfloxacine et l'Ofloxacine (( $r = -0,4$  ;  $P < 0,01$ ) ; ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,05$ )) vis-à-vis des *Proteus*. Concernant le degré de liaison avec les Aminoglycosides, il a été noté chez l'Amikacine et la Gentamicine (( $r = -0,3$  ;  $P < 0,01$ ) ; ( $r = -0,2$  ;  $P < 0,05$ )) agissant sur les espèces *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* et *Proteus*. Avec les Sulfamides, des corrélations ont été notées chez la Nitrofurantoïne, la Fosfomycine et le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (( $r = -0,4$  ;  $P < 0,01$ ) ; ( $r = -0,2$  ;  $P < 0,05$ )) vis-à-vis des espèces *Escherichia*, *Klebsiella* et *Proteus*.

##### **III.1.3.2.4.2.2- Corrélations entre le pH et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Le degré de liaison entre le pH et les diamètres d'inhibition a été significativement positif d'une part, et négatif d'autre part avec les antibiotiques appartenant à la famille des  $\beta$ -lactamines tels que l'Amoxicilline+acide clavulanique, le Céfoxitine, l'Imipénème, le Ceftriaxone ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,05$ ), la Pipéracilline/Tazobactam (( $r = -0,2$  ;  $P < 0,01$ ), le Céfuroxime ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,01$ ), le Méropénème ( $r = 0,2$  ;  $P < 0,01$ ), la Pipéracilline et le Céfépime (( $r = -0,3$  ;  $P < 0,01$ ) ; ( $r = -0,2$  ;  $P < 0,05$ )) agissant majoritairement sur *Escherichia*. Face aux Quinolones, les corrélations ont été notées chez la Ciprofloxacine ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,05$ ), la Norfloxacine et l'Ofloxacine ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,01$ ) vis-à-vis des *Citrobacter* et *Salmonella*. S'agissant des Aminoglycosides, l'Amikacine et la Gentamicine ( $r = 0,2$  ;  $P < 0,05$ ) ont agi significativement avec les espèces de *Klebsiella* ; tandis que chez les Sulfamides, la

corrélation a été notée avec la Nitrofurantoïne ( $r = -0,2$  et  $0,3$  ;  $P < 0,01$ ) agissant sur les *Citrobacter* et *Enterobacter*.

#### **III.1.3.2.4.2.3- Corrélations entre la conductivité électrique et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Dans l'ensemble, il a été enregistré des corrélations significatives et négatives d'une part, et positives d'autre part entre la conductivité électrique et les diamètres d'inhibition des antibiotiques appartenant à la famille des  $\beta$ - lactamines notamment l'Amoxicilline+acide clavulanique, l'Amoxicilline, la Pipéracilline/Tazobactam, le Ceftazidime, le Céfuroxime, la Pipéracilline, la Ticarcilline, le Ceftriaxone ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,01$ ), le Céfoxitine ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,01$ ), le Méropénème et le Céfépime ( $r = 0,4$  ;  $P < 0,05$ ) agissant majoritairement sur *Escherichia*. Avec les Quinolones, ces corrélations ont été notées chez la Ciprofloxacine ( $r = -0,6$  ;  $P < 0,01$ ), la Norfloxacine ( $r = -0,2$  ;  $P < 0,01$ ), et l'Ofloxacine ( $r = 0,2$  ;  $P < 0,05$ ) vis-à-vis des espèces *Escherichia* et *Salmonella*. Pour ce qui est de la liaison avec les Aminosides, elle a été enregistrée chez l'Amikacine et la Gentamicine ( $r = -0,2$  ;  $P < 0,01$ ) agissant sur *Salmonella* ; tandis qu'avec les Sulfamides, elles ont été notées chez la Fosfomycine, le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole ( $r = 0,2$  ;  $P < 0,01$ ) et la Nitrofurantoïne ( $r = 0,2$  ;  $P < 0,05$ ) vis-à-vis d'*Escherichia*.

#### **III.1.3.2.4.2.4- Corrélations entre les TDS et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Le degré de liaison obtenu entre les TDS et les diamètres d'inhibition a été significativement positif d'une part, et négatif d'autre part avec les antibiotiques appartenant de la famille des  $\beta$ - lactamines notamment l'Amoxicilline, le Céfuroxime, la Pipéracilline/Tazobactam, le Céfoxitine, l'Amoxicilline+acide clavulanique, le Ceftazidime, la Ticarcilline, l'Imipénème, le Ceftriaxone, le Méropénème ( $r = 0,3$  et  $-0,3$  ;  $P < 0,01$ ), la Pipéracilline ( $r = 0,2$  ;  $P < 0,05$ ) agissant sur *Escherichia*. Concernant la liaison avec les Quinolones, elle a été notée chez la Ciprofloxacine, la Norfloxacine ( $r = 0,4$  et  $-0,3$  ;  $P < 0,01$ ) et l'Ofloxacine ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,01$ ) vis-à-vis d'*Escherichia* et *Salmonella*. Avec les Aminosides, elle a été enregistrée chez la Gentamicine ( $r = 0,3$ ,  $P < 0,01$ ) et l'Amikacine ( $r = 0,2$ ,  $P < 0,05$ ) agissant sur *Salmonella* ; tandis qu'avec les Sulfamides et autres elle a été notée chez la Nitrofurantoïne, la Fosfomycine et le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,01$ ) vis-à-vis d'*Escherichia*.

#### **III.1.3.2.4.2.5- Corrélations entre les nitrates et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Il a également été noté des corrélations positives et négatives entre les nitrates et les diamètres d'inhibition des antibiotiques appartenant à la famille des  $\beta$ - lactamines notamment la Pipéracilline, l'Amoxicilline+acide clavulanique, le Ceftazidime, le Céfoxitine, l'Amoxicilline (( $r = -0,3 ; 0,3 ; P < 0,01$ ) ; ( $r = -0,2 ; P < 0,05$ )), le Céfuroxime, l'Imipénème, le Méropénème et la Ticarcilline ( $r = -0,2 ; P < 0,05$ ) agissant sur *Proteus*. Concernant les corrélations avec les Quinolones, elles ont été enregistrées chez la Norfloxaciné et l'Ofloxaciné ( $r = -0,3 ; P < 0,01$ ) vis-à-vis des *Klebsiella* et *Proteus* ; tandis qu'avec les Aminosités notamment l'Amikaciné et la Gentamiciné ( $r = -0,4 ; P < 0,01$ ) elles ont été notées chez toutes les espèces. Concernant les Sulfamidés et autres, des liaisons ont été notées chez la Fosfomiciné et le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole ( $r = -0,3 ; P < 0,01$ ) agissant sur les *Proteus*.

#### **III.1.3.2.4.2.6- Corrélations entre les orthophosphates et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Dans l'ensemble, il a été enregistré des liaisons positives et négatives entre les orthophosphates et les diamètres d'inhibition des antibiotiques appartenant aux familles des  $\beta$ - lactamines notamment l'Amoxicilline, la Pipéracilline/Tazobactam, le Ceftriaxoné le Céfoxitine, l'Imipénème, le Méropénème et la Ticarcilline ( $r = 0,4 ; P < 0,01$ ), l'Amoxicilline+acide clavulanique ( $r = 0,3 ; P < 0,05$ ) agissant sur *Shigella*. Pour ce qui est de la liaison avec les Quinolones, elle a été notée chez la Ciprofloxaciné, l'Ofloxaciné ( $r = 0,2 ; P < 0,01$ ) et la Norfloxaciné ( $r = 0,4 ; P < 0,05$ ) vis-à-vis d'*Escherichia* et de *Shigella*. S'agissant des corrélations avec les Aminosités notamment l'Amikaciné et la Gentamiciné ( $r = 0,4 ; P < 0,01$ ) elles ont été notées chez les *Shigella*; tandis qu'avec les Sulfamidés et autres tels que la Fosfomiciné et la Triméthoprime/Sulfaméthoxazole ( $r = 0,4 ; P < 0,01$ ) elles ont été enregistrées avec *Proteus* et *Shigella*.

**Tableau XXXVIII** : Corrélations entre les paramètres physicochimiques et les diamètres d'inhibition des antibiotiques chez les entérobactéries isolées des cours d'eau

Paramètres	Espèces	β- lactamines												Quinolones			Aminosides		Sulfamides et autres			
		AC <sub>30</sub>	AX <sub>30</sub>	CA <sub>30</sub>	CR <sub>5</sub>	CXM <sub>5</sub>	FE <sub>10</sub>	FO <sub>10</sub>	IM <sub>10</sub>	ME <sub>10</sub>	PR <sub>75</sub>	TC <sub>75</sub>	TZ <sub>40</sub>	CIP <sub>5</sub>	NR <sub>10</sub>	OF <sub>5</sub>	AK <sub>30</sub>	CN <sub>30</sub>	F <sub>300</sub>	FF <sub>30</sub>	ST <sub>25</sub>	
abiotiques	bactériennes																					
	<i>Citrobacter</i>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	-0,15	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2**</b>	-0,09	<b>-0,3**</b>	0,04	<b>-0,2*</b>	<b>-0,4**</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	-0,05	-0,10	
Température	<i>Enterobacter</i>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,4**</b>	-0,15	<b>-0,2**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,2**</b>	-0,16	<b>-0,4**</b>	-0,17	-0,15	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,3**</b>	-0,14	<b>-0,4**</b>	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	-0,13	
	<i>Escherichia</i>	<b>-0,2**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,4**</b>	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	-0,16	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2**</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,2*</b>	-0,09	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2*</b>	
	<i>Klebsiella</i>	<b>-0,3**</b>	-0,12	<b>-0,2**</b>	<b>-0,2*</b>	-0,17	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,3**</b>	0,05	-0,2	-0,02	-0,11	<b>-0,3**</b>	-0,01	<b>-0,2*</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,2*</b>	
	<i>Proteus</i>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2**</b>	-0,13	-0,16	<b>-0,3**</b>	<b>-0,7*</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,4**</b>	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,4**</b>	
	<i>Salmonella</i>	0,01	-0,02	<b>-0,2*</b>	-0,17	0,17	<b>-0,3**</b>	0,13	-0,16	-0,10	0,03	-0,12	-0,12	-0,07	0,00	<b>-0,3**</b>	-0,02	0,17	-0,15	-0,16	0,07	
	<i>Shigella</i>	-0,21	-0,08	-0,14	-0,15	-0,24	-0,27	<b>-0,4**</b>	0,13	-0,26	-0,23	0,06	0,11	-0,04	-0,23	<b>-0,3*</b>	-0,12	-0,09	<b>-0,3*</b>	-0,17	<b>-0,5**</b>	
pH	<i>Citrobacter</i>	0,15	-0,10	0,14	-0,11	<b>0,3**</b>	0,18	<b>0,23*</b>	0,02	0,18	<b>0,21*</b>	0,04	<b>0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	0,12	<b>0,3**</b>	0,4	<b>0,2*</b>	<b>0,3**</b>	-0,02	-0,09	
	<i>Enterobacter</i>	-0,03	-0,17	-0,13	0,09	-0,14	0,09	0,01	-0,07	-0,44	<b>-0,2*</b>	-0,13	<b>-0,2**</b>	-0,04	-0,02	0,12	0,13	0,10	<b>-0,2**</b>	-0,06	0,07	
	<i>Escherichia</i>	0,10	-0,11	-0,01	-0,09	<b>-0,3**</b>	-0,01	-0,20	0,02	0,10	<b>-0,3**</b>	-0,15	<b>-0,2*</b>	0,05	-0,03	-0,13	-0,12	-0,03	-0,13	-0,01	-0,09	
	<i>Klebsiella</i>	0,06	-0,12	0,02	-0,02	-0,10	<b>-0,3**</b>	0,12	0,12	0,04	<b>-0,2*</b>	-0,04	-0,12	0,09	0,13	0,006	<b>0,2*</b>	<b>0,4**</b>	0,02	-0,04	-0,08	
	<i>Proteus</i>	0,09	-0,08	0,008	-0,06	0,08	<b>0,2*</b>	0,14	0,08	0,03	-0,07	0,07	0,08	0,02	<b>0,2*</b>	0,14	<b>0,2*</b>	0,12	0,08	0,06	-0,05	
	<i>Salmonella</i>	-0,07	<b>0,2*</b>	-0,02	<b>0,2*</b>	-0,04	-0,02	<b>0,2*</b>	-0,05	<b>0,2**</b>	<b>-0,2*</b>	0,07	0,07	<b>0,2*</b>	<b>0,3**</b>	0,10	-0,02	0,02	0,03	-0,11	0,03	
	<i>Shigella</i>	<b>0,3*</b>	0,14	0,05	-0,02	-0,02	0,02	<b>0,3*</b>	<b>0,3*</b>	0,21	0,18	0,24	0,09	0,19	0,05	0,15	0,19	<b>0,3*</b>	0,16	0,27	0,16	
Conductivité électrique	<i>Citrobacter</i>	0,09	<b>0,3**</b>	-0,15	0,07	<b>-0,2*</b>	<b>-0,2*</b>	-0,03	-0,03	0,12	-0,17	0,13	-0,97	-0,06	-0,7	0,004	-0,07	0,02	0,02	0,11	0,02	
	<i>Enterobacter</i>	0,14	<b>0,22*</b>	0,06	<b>0,2*</b>	<b>0,2*</b>	-0,01	0,12	0,09	<b>0,22*</b>	0,11	0,14	<b>0,3**</b>	0,08	0,15	<b>0,2*</b>	<b>0,3**</b>	0,13	0,16	0,08	0,11	
	<i>Escherichia</i>	<b>0,3**</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,2**</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,2*</b>	0,06	0,07	-0,08	<b>0,2**</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,3**</b>	0,11	<b>0,3**</b>	<b>0,2*</b>	0,11	0,06	<b>0,2*</b>	<b>0,2*</b>	<b>0,2**</b>	
	<i>Klebsiella</i>	0,14	0,15	0,13	0,08	0,11	0,06	0,001	0,04	0,07	0,2*	0,01	0,16	-0,17	-0,06	0,17	-0,14	-0,3	<b>0,2*</b>	0,09	0,01	
	<i>Proteus</i>	0,12	<b>0,3**</b>	0,16	<b>0,2*</b>	0,15	-0,01	0,15	0,03	<b>0,2*</b>	0,17	0,10	0,15	<b>0,3**</b>	0,05	0,20	0,002	0,12	0,15	<b>0,2**</b>	<b>0,4**</b>	
	<i>Salmonella</i>	-0,11	-0,03	0,03	-0,03	<b>-0,4**</b>	0,14	<b>-0,3**</b>	-0,04	<b>-0,2*</b>	0,002	0,11	0,11	-0,11	<b>-0,2**</b>	<b>0,2*</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2**</b>	-0,07	0,11	<b>-0,2*</b>	
	<i>Shigella</i>	-0,3	0,23	-0,03	0,03	0,15	<b>0,4*</b>	-0,22	0,04	0,01	0,10	-0,20	-0,26	<b>-0,6**</b>	0,07	0,07	0,13	-0,15	-0,05	-0,19	-0,04	
TDS	<i>Citrobacter</i>	0,18	<b>0,4**</b>	0,17	0,08	<b>0,4**</b>	0,16	<b>0,3**</b>	0,05	0,13	0,15	0,06	<b>0,4**</b>	<b>-0,2*</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,3**</b>	0,04	<b>0,3**</b>	<b>0,3**</b>	0,03	-0,11	
	<i>Enterobacter</i>	<b>0,2**</b>	<b>0,3**</b>	0,07	<b>0,2*</b>	<b>0,22*</b>	0,01	0,16	<b>0,2*</b>	0,06	-0,05	<b>0,2**</b>	<b>0,3**</b>	0,06	0,08	<b>0,2*</b>	<b>0,2*</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,21*</b>	0,11	<b>0,2**</b>	
	<i>Escherichia</i>	0,17	<b>0,4**</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,21*</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	0,13	<b>0,2**</b>	0,05	<b>0,22*</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,4**</b>	0,08	<b>0,4**</b>	<b>0,21*</b>	<b>0,2*</b>	0,15	<b>0,2**</b>	<b>0,3**</b>	0,4**	
	<i>Klebsiella</i>	0,15	<b>0,2**</b>	0,12	0,10	<b>0,2*</b>	0,01	0,13	0,01	<b>0,2*</b>	<b>0,2*</b>	0,04	<b>0,2*</b>	-0,12	0,12	<b>0,3**</b>	-0,10	-0,01	<b>0,23*</b>	<b>0,3**</b>	0,10	
	<i>Proteus</i>	0,13	<b>0,2**</b>	<b>0,2*</b>	<b>0,3**</b>	0,15	-0,09	<b>0,2*</b>	0,004	<b>0,3**</b>	0,08	0,09	0,16	0,17	-0,15	0,08	0,10	<b>0,3**</b>	0,07	<b>0,2*</b>	<b>0,5**</b>	
	<i>Salmonella</i>	0,012	0,05	<b>-0,2*</b>	-0,04	0,17	<b>-0,3**</b>	0,13	-0,16	-0,17	<b>-0,3**</b>	0,04	0,04	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	-0,02	0,17	-0,07	-0,16	0,07	
	<i>Shigella</i>	0,19	0,01	0,10	0,10	-0,07	0,14	<b>0,4**</b>	0,06	0,04	0,01	-0,24	-0,23	<b>0,4**</b>	0,13	0,01	0,06	0,20	0,11	0,26	-0,07	

<b>Nitrates</b>	<i>Citrobacter</i>	-0,08	-0,10	0,04	-0,07	0,07	0,12	-0,17	-0,04	-0,17	<b>0,2*</b>	-0,14	-0,16	0,03	-0,10	-0,08	-0,10	-0,17	-0,05	-0,12	0,07
	<i>Enterobacter</i>	-0,18	-0,02	0,07	-0,06	-0,05	0,01	0,00	-0,17	-0,11	<b>0,3**</b>	-0,12	-0,05	0,12	-0,07	-0,17	<b>-0,2*</b>	-0,13	0,01	0,07	<b>-0,3**</b>
	<i>Escherichia</i>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2**</b>	<b>-0,3**</b>	-0,14	0,02	<b>-0,2*</b>	-0,04	<b>-0,2*</b>	-0,17	<b>0,3**</b>	-0,09	-0,07	-0,04	<b>-0,3**</b>	-0,11	<b>-0,3**</b>	<b>-0,4**</b>	-0,01	<b>-0,3**</b>	-0,13
	<i>Klebsiella</i>	<b>-0,2*</b>	-0,04	-0,13	-0,01	0,02	<b>0,2**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2*</b>	-0,2	0,13	-0,10	-0,11	-0,14	<b>-0,2*</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,2*</b>	-0,18	-0,07
	<i>Proteus</i>	-0,03	<b>-0,2*</b>	<b>-0,2*</b>	-0,14	-0,18	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	-0,10	<b>-0,2*</b>	<b>0,2*</b>	<b>-0,2*</b>	-0,16	-0,2	<b>-0,2*</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,4**</b>	-0,06	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3**</b>
	<i>Salmonella</i>	-0,12	<b>-0,3**</b>	0,03	-0,12	<b>-0,5**</b>	0,14	<b>-0,3**</b>	-0,04	-0,15	0,16	-0,11	-0,11	0,09	-0,14	<b>0,2*</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2**</b>	0,003	0,11	<b>-0,2*</b>
	<i>Shigella</i>	-0,08	-0,17	0,02	0,14	0,01	-0,02	-0,13	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	-0,20	-0,17	-0,24	-0,26	<b>-0,4**</b>	<b>-0,4**</b>	-0,20	-0,12	<b>-0,4**</b>
<b>Orthophosphates</b>	<i>Citrobacter</i>	0,05	-0,01	0,09	-0,08	0,00	0,17	<b>0,20*</b>	0,09	0,06	0,08	0,13	0,14	-0,09	0,02	<b>0,20*</b>	0,06	<b>0,21*</b>	0,14	0,01	-0,13
	<i>Enterobacter</i>	0,06	<b>0,3**</b>	0,16	0,06	0,15	0,09	-0,10	0,001	0,12	0,15	0,13	<b>0,3**</b>	0,14	<b>0,2*</b>	0,03	0,01	-0,01	0,05	0,11	-0,011
	<i>Escherichia</i>	-0,02	0,10	0,16	<b>0,2*</b>	0,12	0,16	0,07	-0,10	-0,01	-0,01	0,17	<b>0,2*</b>	0,08	<b>0,2*</b>	<b>0,2**</b>	0,04	0,05	0,16	<b>0,2*</b>	0,12
	<i>Klebsiella</i>	<b>0,21*</b>	0,16	0,07	0,10	0,04	0,12	-0,03	0,13	0,007	0,08	0,01	<b>0,3**</b>	-0,02	-0,10	0,05	-0,12	<b>-0,2**</b>	0,13	0,09	0,12
	<i>Proteus</i>	<b>0,2*</b>	0,02	0,17	<b>0,3**</b>	-0,06	0,18	0,09	<b>0,3**</b>	0,02	0,04	-0,11	-0,07	0,13	0,12	<b>0,2*</b>	0,10	0,12	0,07	<b>0,3**</b>	<b>0,21*</b>
	<i>Salmonella</i>	-0,07	0,04	-0,02	0,16	-0,04	-0,02	<b>0,2*</b>	-0,05	-0,05	0,01	0,05	0,05	0,12	-0,07	0,1	-0,02	0,02	0,06	-0,11	0,03
	<i>Shigella</i>	<b>0,3*</b>	0,26	0,06	0,17	0,08	0,07	<b>0,4**</b>	0,17	<b>0,4**</b>	0,21	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4*</b>	0,14	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	0,22	<b>0,3*</b>

ddl : 13-1 = 12 ; \*\* : Corrélation significative au niveau 0,01 (bilatéral) ; \* : Corrélation significative au niveau 0,05 (bilatéral) ; AC : Amoxicilline+acide clavulanique ; AX : Amoxicilline ; CA : Cefazidime ; CR : Ceftriaxone ; CXM : Céfuroxime ; FE : Céfépime ; FO : Céfoxitine ; IM : Imipénème ; ME : Méropénème ; PR : Pipéracilline ; TC : Ticarcilline ; TZ : Pipéracilline/Tazobactam ; CIP : Ciprofloxacine ; NR : Norfloxacine ; OF : Ofloxacine ; AK : Amikacine ; CN : Gentamicine ; F : Nitrofurantoïne ; FF : Fosfomicine ; ST : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole

#### **III.1.3.2.4.3- Corrélations entre les paramètres physico-chimiques des eaux souterraines et les diamètres d'inhibition des antibiotiques chez les entérobactéries**

Des corrélations significativement négatives et positives ont été notées entre les paramètres physicochimiques des eaux souterraines et les diamètres d'inhibition des antibiotiques (tableau XXXIV).

##### **III.1.3.2.4.3.1- Corrélations entre la température et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Il a été noté dans l'ensemble, que des corrélations entre la température et les diamètres d'inhibition ont été négatives avec les antibiotiques appartenant aux familles des  $\beta$ -lactamines notamment l'Amoxicilline+acide clavulanique, l'Amoxicilline, le Ceftriaxone, le Céfoxitine, le Méropénème, l'Imipénème, la Pipéracilline, le Ceftazidime ( $r = -0,4$  ;  $P < 0,01$ ), Céfépime, le Céfuroxime, la Ticarcilline et la Pipéracilline/Tazobactam ( $r = -0,2$  ;  $P < 0,05$ ) agissant avec les espèces de *Proteus* et *Salmonella*. Avec les Quinolones tels que la Ciprofloxacine, l'Ofloxacine ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,01$ ) et la Norfloxacine ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,05$ ), ces corrélations ont été notées sur les espèces *Enterobacter* et *Proteus* ; et pourtant avec les Aminoglycosides tels que l'Amikacine et la Gentamicine (( $r = -0,4$  ;  $P < 0,01$ ) ; ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,05$ )), elles ont été enregistrées avec les espèces *Enterobacter*, *Proteus* et *Salmonella*. S'agissant des Sulfamides et autres, les corrélations ont été notées avec la Nitrofurantoïne, le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole et la Fosfomycine (( $r = -0,3$  ;  $P < 0,01$ ) ; ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,05$ )) agissant sur les espèces *Proteus* et *Salmonella*.

##### **III.1.3.2.4.3.2- Corrélations entre le pH et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Le degré de liaison obtenu a été significativement positif entre le pH et les diamètres d'inhibition des antibiotiques appartenant aux familles des  $\beta$ -lactamines notamment le Céfépime, le Méropénème et la Pipéracilline ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,05$ ) agissant sur les espèces *Shigella* ; puis des Quinolones tels que la Norfloxacine et la Ciprofloxacine ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,05$ ) vis-à-vis des *Shigella* ; ensuite des Aminosides notamment l'Amikacine ( $r = 0,2$  ;  $P < 0,05$ ) agissant sur les *Proteus* ; et enfin des Sulfamides telle que la Nitrofurantoïne ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,05$ ) vis-à-vis des *Shigella*.

#### **III.1.3.2.4.3.3- Corrélations entre la conductivité électrique et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Dans l'ensemble, il a été enregistré des corrélations significatives et positives entre la conductivité électrique et les diamètres d'inhibition des antibiotiques appartenant aux familles des  $\beta$ - lactamines tels que l'Amoxicilline ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,01$ ), le Céfuroxime et le Méropénème ( $r = 0,2$  ;  $P < 0,05$ ) ; des Quinolones notamment la Ciprofloxacine ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,01$ ) ; et des Sulfamides et autres tels que la Fosfomycine ( $r = 0,2$  ;  $P < 0,01$ ) et le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole ( $r = 0,4$  ;  $P < 0,01$ ) agissant sur les espèces *Proteus*.

#### **III.1.3.2.4.3.4- Corrélations entre les TDS et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Il a été noté dans l'ensemble des liaisons significatives et positives entre les TDS et les diamètres d'inhibition des antibiotiques appartenant aux familles des  $\beta$ - lactamines notamment l'Amoxicilline, le Ceftriaxone, le Méropénème ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,01$ ), le Ceftazidime et le Céfoxitine ( $r = 0,2$  ;  $P < 0,05$ ) ; des Aminosides telle que la Gentamicine ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,01$ ) ; des Sulfamides et autres, notamment la Triméthoprime/Sulfaméthoxazole ( $r = 0,5$  ;  $P < 0,01$ ) et la Fosfomycine ( $r = 0,2$  ;  $P < 0,05$ ) vis-à-vis des *Proteus*.

#### **III.1.3.2.4.3.5- Corrélations entre les nitrates et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Des corrélations significativement positives et négatives ont été notées entre les nitrates et les diamètres d'inhibition des antibiotiques appartenant aux familles des  $\beta$ - lactamines notamment le Ceftriaxone, le Céfépime, le Céfoxitine ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,01$ ) ; ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,05$ )), la Pipéracilline, l'Amoxicilline+acide clavulanique, la Pipéracilline/Tazobactam, le Ceftazidime, le Méropénème et de la Ticarcilline ( $r = -0,2$  et  $0,3$  ;  $P < 0,05$ ) ; des Quinolones tels que l'Ofloxacine et la Norfloxacine ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,01$ ) ; des Aminosides notamment l'Amikacine et la Gentamicine ( $r = -0,4$  ;  $P < 0,01$ ) ; ( $r = 0,3$  ;  $P < 0,05$ )) ; et des Sulfamides et autres telles que la Fosfomycine et le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole ( $r = -0,3$  ;  $P < 0,01$ ) agissant sur les espèces de *Proteus*.

#### **III.1.3.2.4.3.6- Corrélations entre les orthophosphates et les diamètres d'inhibition des antibiotiques**

Il a été enregistré dans l'ensemble, des liaisons significatives et positives entre les orthophosphates et les diamètres d'inhibition de tous les antibiotiques testés appartenant aux familles des  $\beta$ - lactamines ; des Quinolones ; des Aminosides, et des Sulfamides et autres.

**Tableau XXXIX : Corrélation entre les paramètres physicochimiques et les diamètres d'inhibition des antibiotiques chez les entérobactéries isolées des eaux souterraines**

Paramètres	Espèces	β- lactamines												Quinolones			Aminosides		Sulfamides et autres			
		AC <sub>30</sub>	AX <sub>30</sub>	CA <sub>30</sub>	CR <sub>5</sub>	CXM <sub>5</sub>	FE <sub>10</sub>	FO <sub>10</sub>	IM <sub>10</sub>	ME <sub>10</sub>	PR <sub>75</sub>	TC <sub>75</sub>	TZ <sub>40</sub>	CIP <sub>5</sub>	NR <sub>10</sub>	OF <sub>5</sub>	AK <sub>30</sub>	CN <sub>30</sub>	F <sub>300</sub>	FF <sub>30</sub>	ST <sub>25</sub>	
abiotiques	bactériennes																					
	<i>Citrobacter</i>	-0,05	-0,04	-0,12	-0,08	0,04	-0,13	-0,05	0,04	-0,02	-0,03	-0,08	-0,04	-0,12	-0,02	-0,06	-0,04	-0,03	-0,14	-0,07	-0,16	
Température	<i>Enterobacter</i>	<b>-0,3*</b>	-0,20	-0,22	-0,22	-0,19	-0,20	-0,23	-0,23	-0,22	-0,23	-0,22	-0,21	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,3*</b>	-0,21	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	
	<i>Escherichia</i>	-0,24	-0,22	-0,20	-0,20	-0,18	<b>-0,3*</b>	-0,23	-0,16	-0,22	-0,16	-0,13	-0,15	-0,14	-0,20	-0,19	-0,20	-0,19	-0,19	-0,17	-0,17	
	<i>Klebsiella</i>	-0,16	-0,24	-0,15	-0,15	-0,12	-0,16	<b>-0,3*</b>	-0,19	-0,18	-0,16	-0,22	-0,23	-0,21	-0,13	-0,23	-0,24	-0,22	-0,16	-0,18	-0,06	
	<i>Proteus</i>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2**</b>	-0,13	-0,16	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,4**</b>	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,4**</b>	
	<i>Salmonella</i>	-0,24	-0,23	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,2*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	-0,23	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3*</b>	<b>-0,3**</b>	
	<i>Shigella</i>	<b>-0,3*</b>	-0,14	-0,12	-0,16	-0,12	-0,18	-0,19	-0,16	-0,13	-0,08	-0,10	-0,20	-0,10	-0,10	-0,23	-0,23	-0,23	-0,07	-0,24	-0,20	
pH	<i>Citrobacter</i>	0,02	-0,14	-0,06	0,04	-0,17	-0,21	0,02	-0,04	-0,05	0,03	-0,18	-0,12	0,05	0,04	0,004	0,02	0,02	0,03	-0,22	-0,11	
	<i>Enterobacter</i>	0,09	0,13	0,13	0,15	0,16	0,15	0,13	0,12	0,12	0,16	0,13	0,13	0,10	0,10	0,10	0,11	0,10	0,12	0,11	0,12	
	<i>Escherichia</i>	0,08	0,11	0,05	0,11	0,112	0,08	0,08	0,08	0,03	0,12	0,11	0,14	0,14	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,14	0,12	
	<i>Klebsiella</i>	0,03	-0,11	-0,03	-0,04	0,04	-0,03	-0,11	-0,02	-0,09	0,07	-0,07	-0,08	-0,10	-0,03	-0,11	-0,06	-0,04	-0,02	-0,16	0,01	
	<i>Proteus</i>	0,09	-0,08	0,01	-0,06	0,08	<b>0,2*</b>	0,14	0,08	0,03	-0,07	0,07	0,08	0,02	<b>0,2*</b>	0,14	<b>0,2*</b>	0,12	0,08	0,06	-0,05	
	<i>Salmonella</i>	0,06	0,05	-0,03	0,09	0,02	0,09	0,02	-0,06	-0,05	0,02	-0,01	0,02	-0,05	0,04	0,08	0,01	0,001	-0,06	0,02	-0,02	
	<i>Shigella</i>	0,13	0,15	0,21	0,24	0,14	0,17	0,15	0,10	<b>0,3*</b>	<b>0,25*</b>	0,14	0,09	<b>0,3*</b>	<b>0,25*</b>	0,13	0,16	0,12	<b>0,3*</b>	0,08	0,10	
Conductivité électrique	<i>Citrobacter</i>	-0,13	-0,12	-0,17	-0,06	-0,21	-0,05	-0,11	-0,23	-0,12	-0,21	-0,20	-0,10	-0,11	-0,19	-0,18	-0,08	-0,10	-0,15	-0,20	-0,12	
	<i>Enterobacter</i>	0,10	0,05	0,03	0,07	0,04	0,06	0,08	0,05	0,03	0,05	0,06	0,07	0,07	0,08	0,11	0,10	0,12	0,04	0,06	0,08	
	<i>Escherichia</i>	-0,13	-0,11	-0,13	-0,07	-0,06	-0,07	-0,08	-0,16	-0,12	-0,13	-0,11	-0,09	-0,10	-0,14	-0,15	-0,12	-0,10	-0,12	-0,11	-0,05	
	<i>Klebsiella</i>	-0,02	-0,04	-0,07	-0,05	-0,05	-0,03	0,03	-0,07	-0,10	0,01	-0,07	-0,05	-0,01	-0,08	0,02	-0,05	-0,03	-0,08	-0,05	-0,06	
	<i>Proteus</i>	0,12	<b>0,3**</b>	0,16	<b>0,21*</b>	0,15	-0,01	0,15	0,03	<b>0,2*</b>	0,17	0,10	0,15	<b>0,3**</b>	0,05	0,18	0,02	0,12	0,15	<b>0,2**</b>	<b>0,4**</b>	
	<i>Salmonella</i>	0,01	0,07	0,05	0,06	0,07	0,04	0,08	0,08	0,02	0,06	0,08	0,07	0,10	0,07	0,02	0,09	0,05	0,07	0,07	0,04	
	<i>Shigella</i>	0,10	0,03	0,05	0,11	0,06	0,01	0,07	0,06	0,03	0,05	0,003	0,07	-0,02	0,04	0,10	0,05	0,05	0,005	0,10	0,06	
TDS	<i>Citrobacter</i>	-0,12	0,02	-0,13	-0,04	-0,11	0,01	-0,15	-0,13	-0,06	-0,13	-0,15	-0,08	-0,12	-0,13	-0,21	-0,11	-0,20	-0,10	-0,06	-0,03	
	<i>Enterobacter</i>	0,04	0,03	-0,03	-0,02	-0,01	0,00	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,06	0,07	0,06	0,04	0,06	0,01	0,05	0,07	
	<i>Escherichia</i>	-0,10	-0,05	-0,11	-0,03	-0,07	-0,08	-0,07	-0,13	-0,12	-0,08	-0,11	-0,10	-0,07	-0,06	-0,11	-0,09	-0,10	-0,10	-0,07	-0,07	
	<i>Klebsiella</i>	-0,14	-0,02	-0,13	-0,13	-0,15	-0,12	-0,30	-0,14	-0,11	-0,10	-0,11	-0,12	-0,01	-0,12	-0,01	-0,12	-0,12	-0,12	-0,07	-0,17	
	<i>Proteus</i>	0,13	<b>0,2**</b>	<b>0,21*</b>	<b>0,3**</b>	0,15	-0,09	<b>0,2*</b>	0,004	<b>0,3**</b>	0,08	0,09	0,16	0,17	-0,02	0,08	0,10	<b>0,3**</b>	0,07	<b>0,2*</b>	<b>0,5**</b>	
	<i>Salmonella</i>	-0,14	-0,10	-0,12	-0,13	-0,11	-0,14	-0,06	-0,06	-0,11	-0,08	-0,09	-0,11	-0,06	-0,08	-0,15	-0,09	-0,08	-0,07	-0,09	-0,10	
<i>Shigella</i>	-0,08	-0,02	-0,07	-0,11	-0,10	-0,16	-0,13	-0,04	-0,04	-0,15	-0,09	-0,11	-0,11	-0,11	-0,03	-0,08	-0,10	-0,08	-0,08	-0,07		

<b>Nitrates</b>	<i>Citrobacter</i>	0,15	0,02	0,05	0,12	0,01	0,11	0,20	0,003	0,07	0,08	0,06	0,13	0,14	0,12	0,16	0,12	0,22	0,10	0,01	0,08
	<i>Enterobacter</i>	0,13	0,08	0,08	0,12	0,14	0,14	0,14	0,08	0,05	0,12	0,15	0,14	0,09	0,10	0,13	0,13	0,17	0,08	0,11	0,11
	<i>Escherichia</i>	0,13	0,10	0,12	0,13	0,19	0,20	0,13	0,09	0,08	0,11	0,17	0,17	0,14	0,05	0,10	0,11	0,15	0,11	0,12	0,20
	<i>Klebsiella</i>	0,18	0,03	0,09	0,14	0,15	0,14	0,12	0,12	0,08	0,20	0,14	0,15	0,05	0,05	0,09	0,07	0,12	0,13	0,06	0,15
	<i>Proteus</i>	-0,03	-0,17	<b>-0,2*</b>	-0,14	-0,18	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	-0,10	<b>-0,2*</b>	<b>0,2*</b>	<b>-0,2*</b>	-0,16	-0,18	<b>-0,2*</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,3**</b>	<b>-0,4**</b>	-0,06	<b>-0,4**</b>	<b>-0,3**</b>
	<i>Salmonella</i>	0,22	0,23	0,20	<b>0,3**</b>	0,24	0,24	0,24	0,18	0,19	0,21	0,21	0,24	0,22	0,18	0,23	0,23	<b>0,3*</b>	0,19	<b>0,3*</b>	0,21
	<i>Shigella</i>	<b>0,3*</b>	0,12	0,20	<b>0,3*</b>	0,21	<b>0,3*</b>	<b>0,3*</b>	0,14	0,18	<b>0,3*</b>	0,17	<b>0,3*</b>	0,17	0,20	0,22	<b>0,3*</b>	<b>0,3*</b>	0,20	<b>0,2*</b>	0,20
<b>Orthophosphates</b>	<i>Citrobacter</i>	<b>0,4**</b>	0,16	<b>0,3*</b>	<b>0,3**</b>	0,15	0,15	<b>0,4**</b>	0,22	0,20	<b>0,4**</b>	<b>0,26*</b>	<b>0,30*</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,3*</b>	0,10	<b>0,27*</b>
	<i>Enterobacter</i>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>
	<i>Escherichia</i>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,6**</b>	<b>0,6**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,6**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>
	<i>Klebsiella</i>	<b>0,5**</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,3*</b>	<b>0,4**</b>
	<i>Proteus</i>	<b>0,2*</b>	<b>0,22*</b>	0,17	<b>0,3**</b>	-0,06	0,18	0,09	<b>0,2**</b>	0,02	0,04	-0,11	-0,07	0,13	0,12	<b>0,2*</b>	0,10	0,12	0,07	<b>0,3**</b>	<b>0,21*</b>
	<i>Salmonella</i>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,3**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,42**</b>
	<i>Shigella</i>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,31*</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,5**</b>	<b>0,4**</b>	<b>0,4**</b>

ddl : 13-1 = 12 ; \*\* : Corrélation significative au niveau 0,01 (bilatéral) ; \* : Corrélation significative au niveau 0,05 (bilatéral) ; AC : Amoxicilline+acide clavulanique ; AX : Amoxicilline ; CA : Cefazidime ; CR : Ceftriaxone ; CXM : Céfuroxime ; FE : Céfépime ; FO : Céfoxitine ; IM : Imipénème ; ME : Méropénème ; PR : Pipéracilline ; TC : Ticarcilline ; TZ : Pipéracilline/Tazobactam ; CIP : Ciprofloxacine ; NR : Norfloxacine ; OF : Ofloxacine ; AK : Amikacine ; CN : Gentamicine ; F : Nitrofurantoïne ; FF : Fosfomycine ; ST : Triméthoprime/Sulfaméthoxazole

## III.2- Discussion

### III.2.1- Abondances cellulaires des germes bactériens des différents biotopes aquatiques

Les entérobactéries ont été retrouvées en abondance dans presque toutes les stations des différents biotopes aquatiques. Ces résultats rejoignent ceux de Mendaci et Mihoubi (2015), qui ont démontré que ces bactéries étaient très abondantes dans l'environnement aquatique. Les résultats similaires ont été obtenus par Njiné *et al.* (2001) qui ont montré que les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines de Yaoundé hébergeaient les entérobactéries. Etant connues comme indicateurs de contamination fécale (Bouteleux, 2005), leurs fortes abondances enregistrées dans les stations des eaux usées et des cours d'eau pourraient se justifier par la présence de matières fécales dans les rejets hospitaliers et communautaires qu'elles reçoivent. Selon Ameziane et Benaabidate (2014), Saab *et al.* (2007), les rejets hospitaliers et communautaires sont très chargés en matières fécales qui sont à l'origine de la prolifération des entérobactéries. Cependant, la présence de ces bactéries dans les eaux souterraines à des densités élevées pourraient s'expliquer par la proximité des stations d'échantillonnage aux diverses sources de pollution fécale que sont entre autres les latrines, les stations d'épuration d'eaux usées pouvant entraîner la contamination de la nappe phréatique par infiltration (Tabué *et al.*, 2009). D'après Franceys *et al.* (1995), les effluents des fosses contiennent des agents pathogènes tels que les bactéries et les virus susceptibles de contaminer les eaux souterraines par infiltration et qui persistent longtemps dans la nappe phréatique.

Les genres d'entérobactéries rencontrées étaient : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* et *Shigella*, se trouvant en proportions variables dans les différents biotopes aquatiques. Parmi ces genres, se trouvaient d'une part ceux de la flore fécale commensale (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, et *Proteus*) et d'autre part ceux pathogènes pour l'intestin (*Salmonella* et *Shigella*) d'après la subdivision faite par Avril *et al.* (2000) ; Joly et Reynaud (2007). Les genres appartenant à la flore fécale commensale ont été abondants dans les cours d'eau tandis que ceux pathogènes pour l'intestin étaient abondants dans les eaux usées. Ceci pourrait s'expliquer par la nature des effluents que recevaient chaque type de biotope. D'après Lalami *et al.* (2014), *Salmonella* et *Shigella* sont des germes bactériens qu'on rencontre dans les eaux usées hospitalières et communautaires contrairement aux germes de la flore fécale présents dans tout type de milieux notamment l'eau, le sol.

Dans l'ensemble, les abondances des différents genres d'entérobactéries ont été très élevées durant les mois de décembre et de janvier correspondant à la période de grande saison sèche. Comme l'a souligné Daniel *et al.* (2021), les germes bactériens notamment les entérobactéries prolifèrent plus durant cette période qui semblerait être favorable pour leur croissance. Ces résultats corroborent avec plusieurs travaux antérieurs montrant des fortes abondances des entérobactéries durant la saison sèche, et des abondances faibles durant la saison pluvieuse. Selon Moussa *et al.* (2010), les fluctuations temporelles auraient une influence sur la densité bactérienne en milieu aquatique.

Les espèces de *Citrobacter diversus* et *Citrobacter freundii* ont été présentes dans tous les biotopes aquatiques à des proportions variables bien qu'étant des agents pathogènes opportunistes rares (Ryan, 2004). D'après Julianne et Lory (2007), ces 2 espèces sont les plus fréquemment rencontrées en milieu aquatique contrairement aux autres espèces de *Citrobacter* du fait de leur capacité à mieux se développer dans l'environnement. Elles proviennent généralement de la matière fécale ce qui justifierait les fortes abondances de ces espèces obtenues dans les stations des eaux usées hospitalières (Sw1), des cours d'eau recueillies en amont du Mingoa (Ws8) et du puits (Gw1) qui sont des stations recevant de manière directe et indirecte la matière fécale. Ces espèces sont responsables de nombreuses infections aussi bien chez les nouveau-nés que chez les personnes âgées ou immunodéprimées. Bien que abondantes dans tous les types d'eau (en moyenne  $10^5$  UFC/100 mL dans chaque station), leur densité moyenne est inférieure à la dose infectieuse qui est d'environ  $10^7$  UFC/100 mL (Tennant *et al.*, 2008).

Les espèces d'*Enterobacter* rencontrées tout au long de l'étude dans les différents biotopes aquatiques étaient *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter aerogenes* et *Enterobacter cloacae*. Ces espèces sont fréquentes dans l'environnement et sont à l'origine de nombreux types d'infections (infection urinaire, infection intestinale, infection des plaies) (Farmer, 2007 ; Russo et Johnson, 2008). Les espèces *Enterobacter aerogenes* et *Enterobacter cloacae* sont des pathogènes opportunistes très abondantes dans les eaux usées (Pagatto *et al.*, 2003 ; Hart, 2006) ce qui expliquerait leur forte abondance enregistrée dans les stations d'eaux usées, et également dans certaines stations des cours d'eau et d'eaux souterraines recevant les rejets d'eaux usées. Ces eaux ont une charge bactérienne d'*Enterobacter* supérieure à la dose infectieuse (1000 cellules) évoqués par Iversen et Forsythe (2003) et par conséquent leur utilisation pourrait être à l'origine de nombreuses infections.

La présence d'*Escherichia coli* dans tous les biotopes aquatiques témoigne de la mauvaise qualité de l'eau car elle est un excellent indicateur de la pollution fécale. Leur forte abondance dans les eaux usées et les cours d'eau justifierait l'origine de ces eaux généralement chargées en matières fécales. Cependant, leur présence dans les eaux souterraines pourrait s'expliquer d'après Franceys *et al.* (1995) par l'infiltration des eaux usées dans la nappe phréatique. Connu comme pathogène opportuniste abondant dans l'eau, leur charge bactérienne obtenue dans l'ensemble des stations est élevée par rapport à la dose infectieuse et par conséquent l'utilisation de ces eaux causerait des problèmes de santé à l'instar des gastroentérites (Russo et Johnson, 2008).

S'agissant des espèces de *Klebsiella*, ceux rencontrées durant la période d'étude ont été : *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae* et *Klebsiella pneumoniae* qui seraient des espèces couramment retrouvées dans l'environnement (Janda et Abbott, 2006 ; Abbot, 2007). Parmi ces espèces, *Klebsiella pneumoniae* est l'espèce la plus pathogène chez l'homme suivi de *Klebsiella oxytoca*. Tout comme les espèces de *Citrobacter*, d'*Enterobacter* et d'*Escherichia coli*, les espèces de *Klebsiella* sont très abondantes dans les eaux recevant les rejets hospitaliers et communautaires ce qui expliquerait leur forte abondance dans les stations des eaux usées et des cours d'eau. Cependant, l'absence de l'espèce *Klebsiella pneumoniae* dans certaines stations des eaux souterraines (Gw2, Gw3, Gw4 et Gw5) pourrait se justifier par le fait que ces eaux seraient moins chargées en matière fécale car cette espèce prolifère plus dans les intestins des humains et des animaux et également dans les eaux usées (Janda et Abbott, 2006).

Les espèces *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri* et *Proteus vulgaris* ont été isolées dans les différents biotopes aquatiques et leur forte abondance se justifierait par la nature de leur lieu d'isolement. Selon Kim *et al.* (2003), ces 3 espèces sont les plus communément retrouvées dans l'environnement et pathogènes pour l'humain surtout l'espèce *Proteus mirabilis* qui est la plus souvent en cause en présence d'une infection. Cependant, la forte abondance de *Proteus rettgeri* enregistrée dans tous les types d'eau et pourtant est une espèce faiblement abondante dans l'environnement aquatique s'expliquerait pour une mutation et une modification des gènes qui favoriseraient leur prolifération dans tout type de milieu (Euzéby, 2010).

*Salmonella typhi* a été très abondante dans les stations d'eaux usées contrairement aux stations d'autres biotopes aquatiques ; et selon Ndiaye *et al.* (2010), ce type d'eau serait

favorable pour leur croissance. Leur présence dans les eaux souterraines constituerait un risque sanitaire pour les consommateurs car ce germe est responsable de la fièvre typhoïde (Su et Chiu, 2007).

Les espèces de *Shigella* ont été les plus abondantes de toutes les espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* isolées dans les différents biotopes. Ces résultats sont similaires à ceux de Goita (2014) montrant la distribution des différentes espèces d'entérobactéries en milieu aquatique. Parmi les espèces isolées (*Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* et *Shigella sonnei*), *Shigella sonnei* et *Shigella boydii* sont celles qui sont couramment rencontrées dans l'environnement aquatique et même dans les aliments (Touiri, 2020). Elles sont très connues pour leur caractère pathologique et leur présence dans les différents biotopes aquatiques représente un risque sanitaire pour les humains. Cependant, la présence des espèces de *Shigella dysenteriae* et de *Shigella flexneri* aussi bien dans les eaux usées que dans les cours d'eau témoigne de leur caractère résistant à vivre dans tout type de milieu (Talbi, 2008).

Le test de comparaison « *H* » de Kruskal-Wallis a montré des différences significatives entre les abondances de toutes les espèces d'entérobactéries isolées dans les différents biotopes aquatiques. Cependant, le test « *U* » a présenté des différences très significatives ( $P < 0,01$ ) entre les abondances de toutes les espèces isolées dans les eaux usées et les eaux souterraines ; et entre celles isolées dans les cours d'eau et les eaux souterraines et cela pourrait se justifier par la différence se situant entre les caractéristiques de chaque biotope pouvant influencer la croissance des bactéries. D'après Adjahouinou *et al.* (2014) et Maiwore *et al.* (2020), la nature de l'eau aurait un impact sur le taux de croissance des entérobactéries. Par ailleurs, aucune différence significative n'a été notée entre les abondances des entérobactéries isolées dans les eaux usées et celles des cours d'eau ce qui s'expliquerait par la similitude des effluents que ces eaux reçoivent. Cette similarité pourrait se justifier par les résultats de l'Analyse de Classification Hiérarchique (figure 27) qui ont montré que les eaux usées seraient similaires des cours d'eau avec un taux de similarité de 87,45%.

### **III.2.2- Susceptibilité des entérobactéries aux antimicrobiens**

Les espèces d'entérobactéries ont montré un pourcentage très élevé de résistance aux antibiotiques de différentes familles. Dans la famille des  $\beta$ - lactamines, les pourcentages de résistance aux antibiotiques ont été de 98,1% ; de 98,48% et de 93,12% respectivement chez les espèces isolées des eaux usées, des cours d'eau et des eaux souterraines. Ces pourcentages

très élevés chez les espèces provenant des différents biotopes aquatiques pourraient se justifier par le fait que les entérobactéries sont productrices de  $\beta$ - lactamases qui inhibent l'action des antibiotiques (Garneau et Labby, 2016). Selon Mendaci et Mihoubi (2015), certaines entérobactéries résistent naturellement aux  $\beta$ - lactamines (*Escherichia coli*, *Klebsiella*) et d'autres pas (*Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi* et les *Shigella*). Cette résistance enregistrée chez les espèces naturellement sensibles aux  $\beta$ - lactamines pourrait provenir soit d'une mutation chromosomique, soit de l'acquisition du matériel génétique, soit par les mécanismes biochimiques de résistances (Zogheib et Dupont, 2005 ; Doublet *et al.*, 2012).

Dans la famille des Quinolones, les pourcentages de résistance aux antibiotiques des espèces isolées dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines ont été de 96,99% ; de 98,48% et de 93,08% respectivement. Ces résultats sont similaires à ceux de Bouchakour (2010) ayant notée une résistance accrue des entérobactéries aux Quinolones. Les entérobactéries étant naturellement sensibles aux Quinolones car ces antibiotiques agissent lors de la réplication de l'ADN sur les enzymes cibles (l'ADN gyrase et la topoisomérase IV) qui régulent la topologie du gène afin de permettre la réplication (Soussy, 2006). Cette résistance observée serait en général le résultat d'une mutation chromosomique entraînant une altération des enzymes cibles bactériennes (Muylaert et Mainil, 2013). Cette résistance serait également due à l'acquisition des mécanismes de résistance parmi lesquelles la résistance plasmidique qui est le mécanisme le plus développé chez les entérobactéries vis-à-vis des Quinolones (Cattoir et Nordmann, 2009).

Dans la famille des Aminoglycosides, les entérobactéries ont enregistré des pourcentages de résistance de 79,48% ; de 89,28% et de 88,53% respectivement chez les espèces isolées dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. Ces résultats sont contraires de ceux obtenus par Fadil (2016) qui ont montré que les entérobactéries isolées en milieu extra-hospitalier sont sensibles aux Aminoglycosides. Cependant, la forte prévalence de résistance aux Aminoglycosides en milieu hospitalier pourrait conduire à la prolifération des bactéries résistantes dans l'environnement aquatique (Victoire *et al.*, 2018). La présence des souches résistantes notée dans le cadre de cette étude pourrait s'expliquer par l'origine des effluents que ces eaux reçoivent à savoir les rejets hospitaliers et communautaires hébergeant des bactéries ayant développé les mécanismes de résistance suite à la présence des antibiotiques dans l'environnement aquatique. Cette résistance serait due à l'acquisition des

mécanismes de résistance dont le plus développé chez les entérobactéries est les pompes à efflux (Muylaert et Mainil, 2012).

Dans la famille des Sulfamides et autres, les pourcentages de résistance aux antibiotiques ont été de 91,26% ; de 94,49% et de 91,76% respectivement chez les espèces d'entérobactéries isolées dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines. D'après Davies et Davies (2010) certaines espèces d'entérobactéries (*Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*) sont naturellement sensibles aux Sulfamides. Cependant, la résistance notée serait due à un mécanisme génétique de la résistance acquise avec la présence des intégrons de classe 1 (sul1) qui portent souvent des cassettes de résistance à la streptomycine et au Triméthoprim (Tani et Arlet 2014).

Il a été constaté dans l'ensemble que les espèces isolées dans les cours d'eau ont été plus résistantes à toutes les familles d'antibiotiques contrairement à celles isolées dans les eaux usées. Ces résultats sont contraires de ceux de Fadil (2016) qui a montré que la résistance aux antibiotiques est plus élevée chez les espèces isolées dans les eaux usées. La nature des effluents rejetés dans les cours d'eau serait à l'origine de cette forte résistance. La résistance notée chez les espèces isolées dans les eaux usées serait due à l'infiltration dans l'aquifère des effluents hospitaliers, communautaires contenant des gènes de résistance qui se sont développés suite à une consommation excessive des antibiotiques (Muhammad *et al.*, 2022).

Au regard des pourcentages de résistances aux différentes familles d'antibiotiques, il a été noté une multirésistance des espèces d'entérobactéries isolées aussi bien dans les eaux usées, les cours d'eau que les eaux souterraines. Ces résultats rejoignent ceux de Pantel (2015) qui ont montré que les entérobactéries isolées dans un milieu aquatique sont résistantes aux antibiotiques appartenant à plusieurs familles. La fréquence de souches multirésistantes a été de 91,65%, de 88,05% et de 77,77% respectivement dans les eaux usées, cours d'eau et eaux souterraines. Francis *et al.* (2022) ont obtenu des résultats similaires de multirésistance chez les bactéries isolées dans les eaux usées communautaires. Les fortes valeurs des fréquences de résistance témoigneraient le phénomène de multirésistance à travers l'augmentation des bactéries résistantes dans l'environnement qui constituent un grand fléau sanitaire mondial (Hayward *et al.*, 2020 ; Ebongue *et al.*, 2014). L'index de la multirésistance aux antibiotiques obtenu chez les espèces isolées dans les différents biotopes aquatiques a confirmé que le

niveau de résistance est très élevé surtout dans les eaux usées. Eheth (2021) a obtenu des résultats similaires avec l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*.

Les phénotypes de résistance recherchés ont été ceux des  $\beta$ - lactamines car le mécanisme de résistance est de nature enzymatique par production de  $\beta$ - lactamases. Les phénotypes obtenus dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines ont été similaires à ceux obtenus par Laurence et Vincent (2014) dans les effluents hospitaliers et les stations d'épuration. Les  $\beta$ - lactamases à Spectre Elargi (BLSE), les TEM Résistant aux Inhibiteurs (TRI) et les Pénicillinases de bas niveau (PBN) ont été les plus abondants (31,2%, 26% et 23% respectivement) cela pourrait se justifier par le pourcentage de résistance élevé aux Ceftriaxone, Céfépime, Amoxicilline+acide clavulanique et Ceftazidime enregistré chez les entérobactéries. Selon Ruppé (2010) et Elhani (2012), les souches de BLSE hydrolysent la majorité des  $\beta$ - lactamines et présentent un haut niveau de résistance à la Ceftazidime ; tandis que les souches de TRI sont résistantes à l'Amoxicilline, à la Ticarcilline et à l'Amoxicilline+acide clavulanique. Les souches de PBN qui sont généralement rares en milieu hospitalier (Rakotovao-Ravahatra *et al.*, 2017), ont été abondantes dans l'environnement aquatique et secrètent une pénicillinase plasmidique dénommée TEM1 qui est à l'origine de la résistance de bas niveau (Elhani, 2012). La présence des céphalosporinases de haut niveau et de bas niveau (CHN et CBN) témoignerait la haute résistance des entérobactéries aux céphalosporines (Céfoxitine) enregistrées. Quant aux souches de Pénicillinase de haut niveau (PHN) qui ont présenté un faible pourcentage (2,3%) ; leur présence a exprimé une haute résistance à l'Amoxicilline+acide clavulanique ; et d'après Kamga *et al.* (2014), cela résulterait d'une baisse de l'activité de l'inhibiteur des bêta-lactamases (acide clavulanique), provenant d'une hyperproduction de pénicillinase, ou de l'inactivation de l'inhibiteur lui-même.

Dans les différents biotopes aquatiques, les espèces ayant présenté un pourcentage élevé de tous les phénotypes de résistance obtenus ont été : *Citrobacter diversus*, *Enterobacter agglomerans*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus rettgeri*, *Salmonella typhi* et *Shigella sonnei*. D'après Kalambry *et al.* (2019), ces espèces sont généralement rencontrées chez les patients souffrant d'infection urinaire. Certaines de ces espèces productrices de  $\beta$ -lactamases (*Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*) ont été rencontrées dans les effluents hospitaliers et communautaires (Laurence et Vincent, 2014).

S'agissant des Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), tous les antibiotiques testés ont présenté une concentration de 39,06 µg/mL chez certaines espèces d'entérobactéries isolées des eaux usées et des cours d'eau. Cependant, la CMI obtenu chez les espèces isolées dans les eaux souterraines a varié d'un antibiotique à l'autre (2,44 µg/mL pour le Ceftriaxone ; 4,88 µg/mL pour la Norfloxacin ; 9,76 µg/mL pour l'Amoxicilline+acide clavulanique, la Ciprofloxacine et la Gentamicine ; et 19,53 µg/mL pour la Triméthoprime/Sulfaméthoxazole). Ces valeurs de CMI ont été très supérieures à la CMI acceptable, ce qui confirmerait l'hyper-résistance des souches enregistrées lors de la détermination du profil de résistance par antibiogramme. D'après Danner *et al.* (2019), les fortes valeurs de CMI seraient dues au développement des mécanismes de résistance notamment l'inactivation enzymatique, l'imperméabilité membranaire, le piégeage de l'antibiotique, la modification de la cible.

Pour ce qui est des flavonoïdes (Bromo-Chloro-Flavone et Chloro-Flavone), leur CMI a été de 125 µg/mL et est très supérieure à la concentration critique qui est de 3,9 µg/mL. Selon Bahrin *et al.* (2016), les flavonoïdes auxquels sont associés les halogènes (Br, Cl ou I) agissent sur l'activité des bactéries à Gram négatif en fragmentant l'ADN. Les valeurs élevées des CMI enregistrées justifieraient le caractère multirésistant des souches d'entérobactéries testées car les 2 flavonoïdes n'ont pas pu induire la fragmentation de l'ADN. Cependant, la combinaison du BrCIF avec la Gentamicine a permis d'obtenir un effet synergique avec une concentration fractionnelle inhibitrice de 0,37 µg/mL capable d'inhiber les entérobactéries. Par contre, la combinaison du FCl et la Gentamicine n'a produit aucun effet. La présence de la Gentamicine aurait facilité l'activité des BrCIF car, le mécanisme d'action de la Gentamicine est basé principalement sur l'inhibition de la synthèse des protéines, altérant la perméabilité de la membrane cellulaire et entraînant la rupture progressive de l'enveloppe cellulaire, puis éventuellement la mort de la cellule (Mainardi *et al.* 2015).

### **III.2.3- Impact des paramètres physico-chimiques sur les entérobactéries et l'activité antimicrobienne**

La température moyenne des eaux usées enregistrée dans les différentes stations a été de 24,71±4,97°C et se trouvait en-dessous de la Norme Camerounaise NC 207 (2014) qui est de 30°C. Ces résultats sont proches de ceux (Kengné, 2001 ; Mbog, 2013) qui ont montré que la température des eaux usées de Yaoundé répondait aux normes de rejet. Celle des cours d'eau se trouvait également en-dessous de la NC 207 (2014) et sont similaires aux résultats obtenus

par Emmanuel *et al.* (2014). Quant à la température des eaux souterraines ( $24,48 \pm 4,95^\circ\text{C}$ ) elle a été proche de la NC 207 (2014) qui est de  $25^\circ\text{C}$  et corrobore avec celle obtenue par Diane *et al.* (2020) dans les eaux souterraines de Yaoundé. Parmi ces valeurs de température, celle des cours d'eau a été plus élevée que celle des eaux usées ce qui pourrait se justifier par la variation de la température ambiante de l'environnement étant donné que les valeurs élevées ont été enregistrées durant les périodes de saison sèche. D'après Merhabi *et al.* (2019), la température des eaux de surface est affectée par la fluctuation des précipitations et des températures saisonnières. Le fait que la température des eaux usées hospitalières soit faible par rapport à celle des cours d'eau et pourtant exposées à l'ensoleillement car accumulées dans un collecteur pourrait se justifier par la période d'échantillonnage. Cependant, ces résultats ne correspondent pas au principe des milieux lenticulaires qui voudrait que les eaux se trouvant à la surface d'un plan d'eau soit plus chaude du fait de la faible turbulence ne permettant pas un mélange poussé de la colonne d'eau (Webb *et al.*, 2008). Ces valeurs de température enregistrées dans les différents biotopes aquatiques seraient favorables à la croissance des entérobactéries car se situant autour de la température ambiante (Bouteleux, 2005). La température de l'eau serait donc un facteur important des réactions physico-chimiques et biologiques.

Dans l'ensemble, les valeurs moyennes du pH étaient situées dans l'intervalle [5,5 – 8,5] fixé par la NC 207 (2014) durant toutes les saisons, montrant que ces valeurs correspondraient à la norme. Cependant il a été constaté que la quasi-totalité des stations d'échantillonnage des eaux usées et des cours d'eau ont eu un pH légèrement alcalin (7,9) et par contre dans les eaux souterraines, le pH a été légèrement acide (6,3). Ces résultats rejoignent ceux de Diane *et al.* (2020) et Mbog (2013) obtenus suite à leurs travaux sur les eaux usées, les eaux de surface et les eaux souterraines. D'après Nola *et al.* (2002), le pH de l'eau dépend de la nature du milieu ; ce qui expliquerait cette différence de valeur obtenue dans les différents biotopes aquatiques. Les valeurs de pH obtenues seraient idéales pour la croissance des entérobactéries car selon Noah *et al.* (2021), le pH situé entre 6 et 8,5 U.C serait favorable pour l'expression du potentiel biologique de plusieurs groupes de bactéries.

La valeur moyenne de la conductivité électrique dans les eaux usées ( $713,92 \pm 26,72$   $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) a été en dessous de la NC 207 (2014) qui est de  $1000$   $\mu\text{S}/\text{cm}$ , et est similaire à celle obtenue par Mbog (2013) et Ajeegah *et al.* (2018a) dans les eaux usées hospitalières et domestiques de Yaoundé. D'après Belghytl *et al.* (2009), les valeurs moyennes comprises entre 449,7 et 1037,3  $\mu\text{S}/\text{cm}$  indiquent une forte minéralisation des eaux usées. Dans les cours

d'eau, la valeur moyenne obtenue ( $430,42 \pm 20,75 \mu\text{S/cm}$ ) a été également très éloignée de la norme (NC 207 comprise entre 500 et 800  $\mu\text{S/cm}$ ) et indique que les eaux sont faiblement minéralisées. Ce degré de minéralisation obtenu est comparable à celui obtenu par Tuekam (2007) dans les cours d'eau de Yaoundé car ces eaux sont moins eutrophisées. Selon Ajeegah *et al.* (2018b), la conductivité électrique des eaux de surface serait influencée par le niveau de dégradation de la matière organique présent dans l'environnement et par conséquent reflèterait le niveau de pollution. Par contre dans les eaux souterraines, la conductivité électrique moyenne obtenue  $472,35 \pm 73 \mu\text{S/cm}$  est supérieure à la NC 207 ( $400 \mu\text{S/cm}$ ) montrant que la minéralisation est élevée, bien que certaines stations aient enregistré des valeurs très inférieures à la norme. D'après Mohamed *et al.* (2015), la forte minéralisation des eaux souterraines serait principalement due aux mouvements verticaux entraînant un apport de flux minéralisé des parties plus profondes.

Les valeurs moyennes des TDS dans les eaux usées ( $372,1 \pm 19,29 \text{ mg/L}$ ) et dans les cours d'eau ( $372,1 \pm 19,29 \text{ mg/L}$ ) ont été largement supérieures à la norme (100 mg/L et 50 mg/L respectivement) et par conséquent constituent un facteur de pollution de l'eau car sont des indicateurs des caractéristiques esthétiques et de la présence d'un large éventail de contaminants chimiques (Atekwanaa *et al.*, 2004). Ces résultats pourraient se justifier par la nature des rejets que ces eaux reçoivent qui sont généralement chargées des déchets hospitaliers et ceux d'activités anthropiques (Taffouo *et al.*, 2017). Par contre, celles des eaux souterraines ( $278,63 \pm 16,69 \text{ mg/L}$ ) ont été très proches de la NC 207 (300 mg/L) et décriraient la présence des sels inorganiques en solution dans l'eau (Matini *et al.*, 2009).

Dans les eaux usées, la teneur moyenne des nitrates obtenue a été de  $25,76 \pm 5,07 \text{ mg/L}$  et est supérieure à la norme (15 mg/L) ce qui s'expliquerait par la présence des fortes charges organiques provenant des rejets qu'elles reçoivent (Matini *et al.*, 2009). Il convient de souligner que les fortes teneurs en nitrates obtenues durant la période de la grande saison sèche pourraient se justifier par la concentration dans le milieu de la matière organique. Dans les cours d'eau, cette teneur a été proche ( $27,48 \pm 5,24 \text{ mg/L}$ ) de la NC 204 (30 mg/L) renseignant ainsi de la faible teneur en matière organique dans ces eaux. Par contre, dans les eaux souterraines, la teneur moyenne en nitrates ( $19,54 \pm 4,42 \text{ mg/L}$ ) a été très faible par rapport à la norme (50 mg/L). Dans certaines stations et sur plusieurs mois, la concentration en nitrates a été très élevée et cela supposerait qu'il y'a contamination de la nappe phréatique. En effet, la présence des activités anthropiques et des fosses septiques à proximité de ces stations pourrait expliquer cette forte concentration en nitrates (Atteia, 2005).

Dans l'ensemble des différents biotopes aquatiques, les teneurs moyennes en orthophosphates ( $2,77 \pm 1,66$  mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$  pour les eaux usées ;  $3,42 \pm 1,85$  mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$  pour les cours d'eau, et  $1,55 \pm 1,24$  mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$  pour les eaux souterraines) ont été très élevées par rapport à la NC 207 (2 ; 0,5 et  $\leq 0,5$  mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$  respectivement). Tout comme les nitrates, les fortes concentrations en orthophosphates qui sont des indicateurs de la pollution organique ne pourraient se justifier que par la présence des charges organiques très élevées provenant soient des rejets domestiques et/ou hospitaliers, soient des activités anthropiques autour de ces biotopes (Matini *et al.*, 2009).

En se référant à la Norme Camerounaise de l'ensemble des paramètres physicochimiques analysés, il ressort que les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines étudiés seraient de mauvaise qualité.

Le test de comparaison « *H* » de Kruskal-Wallis réalisé entre les paramètres physicochimiques a montré que la température et les nitrates n'auraient aucune différence significative entre les différents biotopes aquatiques. La similitude entre les eaux usées et les cours d'eau pourraient s'expliquer par leur exposition aux mêmes intempéries (ensoleillement, rejets organiques). Selon Merhabi *et al.* (2019), certains facteurs abiotiques pourraient se manifester de la même façon dans les 2 biotopes aquatiques. Par contre dans les eaux souterraines, il est difficile d'obtenir une similitude de la température et des nitrates avec les eaux usées et les cours d'eau car les eaux souterraines reçoivent des faibles rayons lumineux et leur teneur en nitrates généralement plus élevée (Kanohin *et al.*, 2017). Ces résultats pourraient être dus aux perturbations climatiques ayant une influence sur les périodes de stratification ou de circulation des couches d'eau (Webb *et al.*, 2008).

Cependant, le test « *U* » de Mann-Whitney a montré des différences très significatives ( $P < 0,01$ ) entre la conductivité électrique des eaux usées et celle des cours d'eau ; et entre celle des eaux usées et des eaux souterraines. Ces différences seraient dues à la quantité de sels inorganiques dans chaque biotope (Ajeegah *et al.*, 2018b). Ces différences ont été également notées entre le pH et les orthophosphates des eaux usées et ceux des eaux souterraines ; et entre ceux des cours d'eau et des eaux souterraines montrant que le pH dépendrait de la nature de l'eau (Nola *et al.*, 2002) et les orthophosphates de la teneur en matière organique (Matini *et al.*, 2009). Par ailleurs, ces différences ont été obtenues entre les TDS de tous les couples de biotopes justifiant ainsi la variation des matières dissoutes dans les différents milieux.

Le test de corrélation « r » de Spearman établi entre les abondances des espèces d'entérobactéries et les paramètres physico-chimiques des différents biotopes aquatiques a montré des liaisons significatives positives ou négatives ( $P < 0,05$ ). Dans les eaux usées, les paramètres comme la température, les TDS et les orthophosphates n'ont pas eu d'influence sur la croissance des différentes espèces isolées car aucune liaison significative n'a été notée entre eux. Ces résultats sont contraires de ceux obtenus par Manizan *et al.* (2010) qui ont montré que ces facteurs abiotiques à l'instar de la température et des orthophosphates agissent sur la croissance des entérobactéries. Cependant, la conductivité électrique a significativement corrélié ( $P < 0,05$ ) avec l'espèce *Enterobacter agglomerans*. Il en est de même des nitrates qui ont significativement corréliés avec les espèces de *Citrobacter (diversus et freundii)*. D'après Manizan *et al.* (2010), ces facteurs constitueraient des éléments de maintien pour certaines bactéries dans le milieu aquatique. Par contre, le pH a plutôt montré une corrélation significative et négative avec les espèces de *Citrobacter (diversus et freundii)* et celles de *Klebsiella (oxytoca, ozaenae et pneumoniae)* ce qui voudrait dire que le pH agirait inversement sur leur croissance. Ces résultats montrent que le métabolisme des bactéries a été modifié ceci selon le type d'ion présent dans le milieu (Chenel, 2011).

Dans les cours d'eau, les nitrates et les orthophosphates n'ont présenté aucune liaison significative avec les espèces isolées. Par contre, la température a corrélié significativement avec les espèces de *Proteus vulgaris*, *Citrobacter (diversus et freundii)*, d'*Enterobacter* et des *Klebsiella (oxytoca, ozaenae et pneumonia)*. Il en est de même des TDS qui ont présenté des liaisons significatives avec les espèces d'*Escherichia coli* et des *Enterobacter (aerogenes, agglomerans et cloacae)* montrant qu'ils auraient agi parallèlement sur la croissance de ces espèces. Selon Merhabi *et al.* (2019), la température et les TDS impactent positivement sur la croissance des entérobactéries. Le pH quant à lui a agi inversement sur la croissance des espèces de *Citrobacter (diversus et freundii)*, d'*Escherichia coli*, d'*Enterobacter (aerogenes, agglomerans et cloacae)* et de *Klebsiella (oxytoca et ozaenae)* car la liaison obtenue a été significative et négative. Le pH enregistré étant légèrement basique, devrait plutôt accroître la croissance des entérobactéries car se trouvant dans l'intervalle favorable de croissance des bactéries ( $6 < \text{pH} < 9$ ). Ce résultat pourrait s'expliquer d'après Alonso *et al.* (2022) par la modification de la membrane cytoplasmique des espèces bactériennes ne pouvant plus assurer la régulation des ions  $\text{H}^+$ . Par contre, la conductivité électrique aurait agi inversement sur les espèces de *Shigella (dysenteriae et flexneri)* et de *Klebsiella pneumoniae* ; et parallèlement

sur l'espèce d'*Enterobacter agglomerans*. Ce qui voudrait dire que la conductivité électrique n'agirait pas de la même façon sur la croissance des espèces d'entérobactéries.

Dans les eaux souterraines, plusieurs paramètres auraient agi parallèlement sur les espèces d'entérobactéries à savoir la température sur *Citrobacter (diversus et freundii)*, *Escherichia coli* et *Klebsiella ozaenae* ; le pH et les nitrates sur *Shigella (boydii et sonnei)* ; et les orthophosphates sur *Shigella (boydii et sonnei)*, *Proteus (mirabilis, rettgeri et vulgaris)*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Enterobacter (aerogenes, agglomerans et cloacae)* et *Klebsiella oxytoca*. D'après Alonso *et al.* (2022), ces paramètres joueraient un rôle important et seraient sélectifs dans la croissance des bactéries car conditionneraient la prolifération exclusive de certaines espèces dans un biotope donné. Contrairement au pH des eaux usées et des cours d'eau qui aurait agi inversement sur les espèces, celui des eaux souterraines aurait influencé parallèlement mais sur des espèces différentes.

Ces liaisons significatives obtenues par le test de corrélation « r » de Spearman, ont été confirmées par l'Analyse en Composantes Principales (ACP) qui ont également montré que certains paramètres physico-chimiques et espèces d'entérobactéries seraient soit positivement, soit négativement liés entre eux ; tandis que d'autres ne présentaient aucune liaison significative. D'après Tamsa *et al.* (2021), l'ACP permet de présenter certains résultats potentiellement informatifs pour mieux comprendre le mécanisme de la qualité de l'eau.

Le test de corrélation « r » de Spearman a présenté des liaisons significatives entre les paramètres physico-chimiques des différents biotopes aquatiques et les diamètres d'inhibition des antibiotiques face à certaines espèces montrant ainsi l'impact des facteurs abiotiques sur le mécanisme d'action des antibiotiques. D'après Wellington *et al.* (2013), les facteurs environnementaux joueraient un rôle dans l'émergence de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries.

Les températures des eaux usées, des cours d'eau et des eaux souterraines ont corrélé significativement ( $P < 0,05$ ) et négativement avec les diamètres d'inhibition de certains antibiotiques de toutes les familles. L'augmentation de la température entraînerait la diminution du diamètre d'inhibition et par conséquent la résistance des espèces d'entérobactéries aux antibiotiques. Ces résultats sont similaires de ceux obtenus par Signe *et al.* (2015) et Eheth (2021) sur la relation entre la température et la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries isolées des cours d'eau et eaux souterraines. Cette corrélation justifierait l'impact de la température sur le mécanisme d'action des antibiotiques ; et selon

Kindrachuk *et al.* (2011), la température modifierait la configuration spatiale des protéines et entraîne l'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Fabienne (2018) a montré que la température favoriserait le transfert des plasmides susceptible de se propager à de multiples souches bactériennes si les antibiotiques sont présents dans l'environnement.

S'agissant du pH, il a été noté une corrélation significative ( $P < 0,05$ ) et positive entre les diamètres d'inhibition de quelques antibiotiques de l'ensemble des familles considérées et le pH des eaux usées d'une part et celui des eaux souterraines d'autre part. Eheth *et al.* (2019) ont montré que le pH était parallèlement lié à la susceptibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les eaux souterraines. Par contre avec le pH des cours d'eau, des corrélations significatives et positives d'une part, et d'autre part significatives et négatives ont été notées avec les diamètres d'inhibition des  $\beta$ - lactamines, des Quinolones et des Sulfamides. Selon Signe *et al.* (2015), le pH agirait inversement sur les diamètres d'inhibition des antibiotiques de la famille des Sulfamides et des  $\beta$ - lactamines. Le pH aurait donc un rôle activateur du mécanisme d'action de certains antibiotiques et d'inhibiteur chez d'autres antibiotiques. Avec les diamètres d'inhibition des Aminoglycosides, il a été uniquement noté une liaison significative et positive. Selon Moriarty *et al.* (2007), le transport membranaire des Aminoglycosides est fonction de la différence transmembranaire des ions  $H^+$  expliquant l'impact que pourrait avoir le pH sur la résistance des bactéries aux Aminoglycosides.

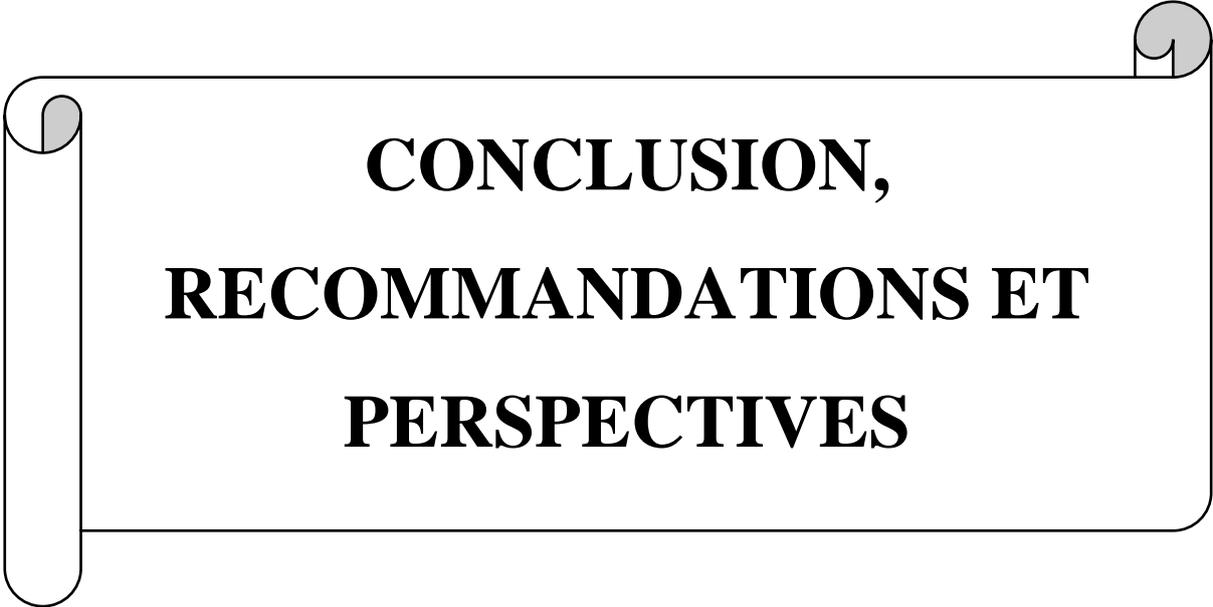
La conductivité électrique des eaux usées a corrélé significativement ( $P < 0,05$ ) et positivement avec les diamètres d'inhibition de quelques antibiotiques de toutes les familles. Avec la conductivité électrique des eaux superficielles, il a été noté une corrélation significative et positive avec les diamètres d'inhibition de certains antibiotiques, et négativement avec d'autres. La conductivité aurait donc agi différemment sur la susceptibilité des entérobactéries aux antibiotiques. Selon Belghytl *et al.* (2009), la minéralisation de l'eau impacterait sur l'activité bactérienne et par conséquent sur le comportement des bactéries vis-à-vis des antibiotiques. Cependant, avec la conductivité électrique des eaux souterraines, des liaisons significatives et positives ont été notées entre elle et les diamètres d'inhibition des  $\beta$ - lactamines, des Quinolones et des Sulfamides. Aucune liaison n'a été enregistrée avec les diamètres d'inhibition des antibiotiques de la famille des Aminoglycosides montrant que la conductivité électrique n'aurait eu aucun effet sur leur mécanisme d'action.

Concernant les TDS, des liaisons significatives positives et négatives ont été enregistrées entre les diamètres d'inhibition des antibiotiques de la famille des  $\beta$ - lactamines

et les TDS des eaux usées ; mais avec les antibiotiques des Quinolones, des Aminoglycosides et des Sulfamides, la corrélation notée a été uniquement significative et positive. Les TDS des cours d'eau ont présenté des corrélations significatives négatives et positives avec les diamètres d'inhibition des antibiotiques des  $\beta$ - lactamines et des Quinolones ; mais avec les Aminoglycosides et les Sulfamides, des corrélations ont été uniquement significatives et positives. Avec les TDS des eaux souterraines, des corrélations significatives et positives ont été obtenues avec les diamètres d'inhibition des antibiotiques des  $\beta$ - lactamines, des Aminoglycosides et des Sulfamides ; mais avec les Quinolones, aucune corrélation n'a été notée. Etant donné que les TDS renseignent sur la présence des sels inorganiques dans l'eau (Atekwanaa *et al.*, 2004), la variation de leur taux dans le milieu induirait à un stress chimique qui agirait sur les mécanismes de résistances des différentes familles d'antibiotiques (Johnson *et al.*, 2012).

Les nitrates des eaux usées ont montré des liaisons significatives et négatives avec les diamètres d'inhibition de quelques antibiotiques de toutes les familles. Avec les nitrates des cours d'eau, des corrélations significativement positives et négatives ont été enregistrées avec les diamètres d'inhibition des antibiotiques des familles des  $\beta$ - lactamines et des Quinolones. Par contre, entre les nitrates et les diamètres d'inhibition des antibiotiques des familles des Aminoglycosides et des Sulfamides, les corrélations notées ont été négatives. De même avec les nitrates des eaux souterraines, il a été enregistré des corrélations positivement et négativement significatives avec les diamètres d'inhibition de certains antibiotiques des familles des  $\beta$ - lactamines, des Aminoglycosides et des Sulfamides. Avec les diamètres d'inhibition des Quinolones, les corrélations notées ont été significativement négatives. Les nitrates représentent un paramètre qui informe sur la charge organique, et par conséquent sur le stress nutritif. Selon Nguyen *et al.* (2011), la limitation en nutriments organiques impacte la résistance aux antibiotiques en activant la réponse dite rigoureuse au stress. Ce qui expliquerait les liaisons significatives et négatives enregistrées.

En ce qui concerne les orthophosphates, il a été obtenu des corrélations significatives et positives entre les diamètres d'inhibition des antibiotiques de l'ensemble des familles considérées et les orthophosphates des eaux usées, des cours d'eau et des eaux souterraines. Les orthophosphates joueraient donc un rôle sur la sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques. D'après Manizan *et al.* (2010), les orthophosphates influenceraient la croissance des entérobactéries et également le mécanisme de résistance aux antibiotiques.



**CONCLUSION,  
RECOMMENDATIONS ET  
PERSPECTIVES**

## CONCLUSION

Au regard des risques sanitaires que causent les entérobactéries et de l'augmentation des bactéries résistantes dans l'environnement, il était question de déterminer la variation des abondances de ces bactéries dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines ; leur susceptibilité aux antibiotiques couramment utilisées dans le traitement de diverses maladies ; ainsi que l'influence des facteurs abiotiques sur l'émergence des souches résistantes dans ces biotopes aquatiques.

Il ressort que les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines hébergent les entérobactéries aux abondances cellulaires variables dans le temps. Ces abondances ont été très élevées dans les eaux usées et les cours d'eau que dans les eaux souterraines. Les différents biotopes aquatiques ont présenté une diversité d'espèces d'entérobactéries (*Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* et *Shigella sonnei*) et dont la plus abondante a été *Shigella sonnei*. La présence de ces diverses espèces dans les différents biotopes a témoigné de leur mauvaise qualité bactériologique. L'analyse de Classification Hiérarchique a montré qu'il existe une similarité entre les abondances des espèces d'entérobactéries isolées dans les eaux usées et les cours d'eau.

Les souches des espèces d'entérobactéries isolées dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines ont exprimé des résistances acquises vis-à-vis des antibiotiques auxquelles elles sont naturellement sensibles comme les Aminoglycosides. Les résistances aux antibiotiques des différentes familles ont été très élevées chez les souches d'entérobactéries qu'elles aient été isolées dans les eaux usées, les cours d'eau ou les eaux souterraines. Toutes ces souches ont été multirésistantes et la fréquence ainsi que l'index de multirésistance ont été très élevés dans les eaux usées à raison de la forte prévalence des antibiotiques provenant des effluents hospitaliers et communautaires, entraînant de ce fait l'émergence des souches résistantes et leur dissémination dans l'environnement et notamment dans les eaux souterraines.

Les phénotypes de résistances aux antibiotiques notamment ceux des  $\beta$ - lactamines (Les  $\beta$ - lactamases à Spectre Elargi (BLSE), les TEM Résistant aux Inhibiteurs (TRI), les céphalosporinases de haut niveau et de bas niveau (CHN et CBN) les Pénicillinases de haut

niveau et de bas niveau (PHN et PBN) ont été développés chez la majorité des souches d'entérobactéries justifiant ainsi leur résistance aux  $\beta$ - lactamines. Le phénotype de résistance le plus dominant est celui des  $\beta$ - lactamases à Spectre Elargi (BLSE).

Les concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques et des flavonoïdes obtenues étaient très élevées par rapport aux concentrations critiques acceptables prouvant que les bactéries ont développé des mécanismes de résistance comme l'imperméabilité membranaire, l'inactivation enzymatique ou encore la modification des gènes (transduction, transformation, conjugaison). Toutefois, la combinaison du Bromo-Chloro-Flavone et de la Gentamicine a produit un effet synergique et pourrait donc être un bon inhibiteur des entérobactéries résistantes.

La caractérisation physicochimique de ces différents plans d'eaux a confirmé qu'ils sont de mauvaise qualité et constituent un risque sanitaire pour les populations surtout dans certains ménages qui utilisent les eaux souterraines pour leur besoin domestique (lessive, vaisselles). Les corrélations significatives parfois positives ou négatives ont été notées entre les paramètres physicochimiques et les abondances des entérobactéries, confirmant ainsi l'influence des facteurs abiotiques sur la croissance bactérienne. Ces mêmes types de corrélations (parfois positives ou négatives) ont été notées entre les paramètres physicochimiques et les diamètres d'inhibition des antibiotiques obtenus chez les espèces d'entérobactéries isolées dans les différents plans d'eau, confirmant ainsi l'influence des facteurs abiotiques sur la susceptibilité des espèces d'entérobactéries aux antibiotiques. Certains paramètres comme la température agirait le plus sur la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées dans tous les biotopes aquatiques ; tandis que les orthophosphates quant à eux favoriseraient plutôt sur la sensibilité de ces espèces aux antibiotiques. Les autres paramètres comme le pH, la conductivité électrique, les TDS et les nitrates auraient un impact faible sur la résistance des espèces d'entérobactéries du fait des multiples variations des diamètres d'inhibition des antibiotiques.

## RECOMMANDATIONS

La présence des souches multirésistantes des entérobactéries dans les eaux usées, les cours d'eau et les eaux souterraines pourrait causer des maladies hydriques résistantes à l'antibiothérapie, et entraîner l'augmentation du taux de morbidité chez les sujets infectés. Les solutions pour pallier à la dissémination des bactéries multirésistantes dans l'environnement ne résideront pas uniquement dans la recherche des nouvelles molécules d'antibiotiques actives sur ces bactéries, mais dans la prévention contre la diffusion de ces pathogènes résistants dans les eaux naturelles. De ce fait :

- les **pouvoirs publics** pourraient apporter un appui à l'amélioration l'antibiothérapie dans les institutions sanitaires, étendre le réseau d'adduction en eau potable afin de réduire l'utilisation des eaux de qualité douteuse par la population, multiplier les ouvrages d'assainissement pour une meilleure protection de l'environnement ;

- les **établissements sanitaires et des firmes pharmaceutiques** devraient renforcer le système de gestion des déchets hospitaliers ainsi que les ouvrages d'assainissement des eaux usées afin de réduire la prolifération des souches résistantes ainsi que des antibiotiques dans l'environnement aquatique ;

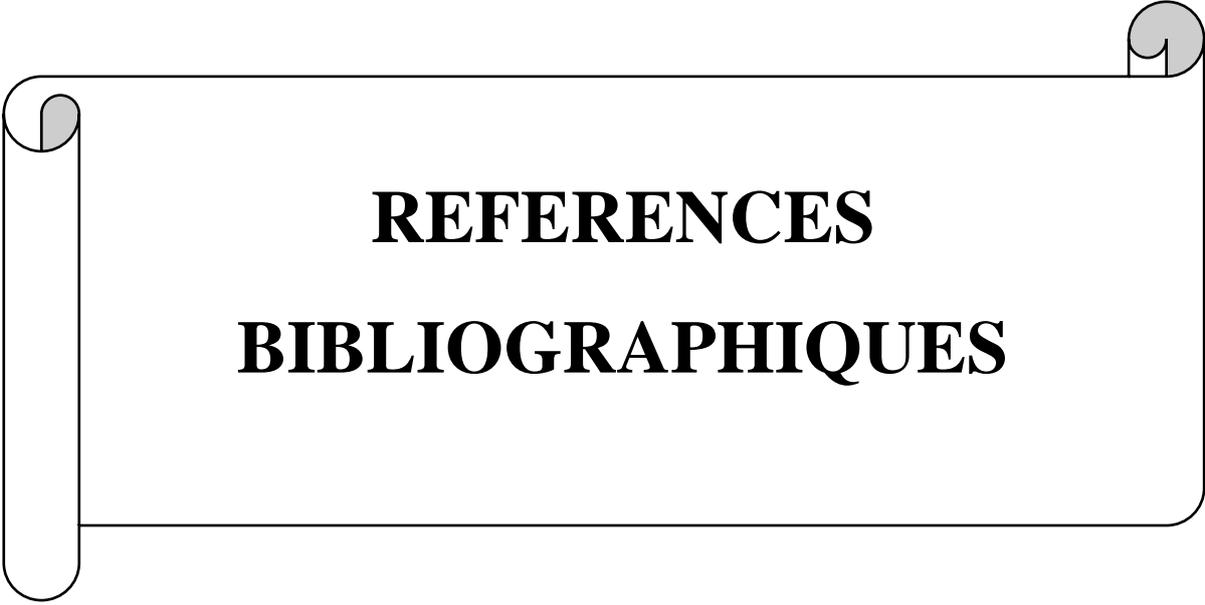
- les **institutions de recherche scientifiques** pourraient approfondir les recherches sur les mécanismes de résistance développés par les bactéries, et vulgariser les études faites afin de trouver des solutions palliatives ;

- les **populations** devraient respecter les mesures de protection autour des eaux souterraines et procéder à leur traitement avant utilisation, éviter l'utilisation des eaux superficielles ainsi que tout contact avec les rejets provenant des effluents hospitaliers et communautaires, limiter l'automédication aux antibiotiques qui parfois source de l'antibiorésistance microbienne.

## PERSPECTIVES

Afin d'approfondir les connaissances sur la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries, il serait judicieux :

- de recourir à la biologie moléculaire afin de rechercher les gènes de résistance chez les espèces d'entérobactéries isolées;
- de réaliser les expériences *in vitro* afin de définir avec précision les ordres de grandeur des facteurs abiotiques susceptibles d'influencer la sensibilité des pathogènes aux antibiotiques ;
- d'étendre l'étude sur d'autres dérivées de flavonoïdes en combinaison avec les antibiotiques et sur d'autres espèces bactériennes.



**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- Abbott S.L. (2007). *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae*. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9<sup>th</sup> ed.) pp. 698-711. Washington, USA: ASM Press.
- Adjahouinou D.C., Yehouenou B., Liady M.N.D. & Fiogbe E.D. (2014). Caractérisation bactériologique des eaux résiduaires brutes de la ville de Cotonou (Benin). *Journal of Applied Biosciences*, 78: 6705-6713.
- AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2010). Avis du 27 mai 2010 relatif à la pertinence d'une révision de la définition des STEC pathogènes, précisée par l'avis Afssa du 15 juillet 2008. Maisons-Alfort : Afssa 19 p.
- Agregé S., Belguith J. & Hadji R. (2015). Généralités sur les Anti-infectieux, en médecine vétérinaire. Ecole Nationale de médecine vétérinaire Sidi thabet. pp 13-14.
- Ajeagah G.A., Mbondo S.B. & Kapso M.T. (2018a). Dynamique des formes de résistance des amibes entéropathogènes en milieu aquatique pollué (Yaoundé, Cameroun). *Revue d'Ecologie, Terre et Vie, Société nationale de protection de la nature*, 73(3): 242-254.
- Ajeagah A., Mbainissem M., Njawouo P. & Ngakomo A. (2018b). Physico-chemical and biological characterisation in peri-urban areas in Equatorial Africa: case of Ngoumou in the Center of Cameroon. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 23(1): 33-43.
- Alekshun M.N. & Levy S.B. (2007). The mar regulon: multiple resistance to antibiotics and other toxic chemicals. *Trends in microbiology*, 7(10): 410-413.
- Allen G.H & Pavelsky T.M (2018). Global extent of rivers and streams. *Science*, 361(6402) : 585-588.
- Alonso J.M., Bejot J. & Forterre P. « BACTÉRIES », *Encyclopædia Universalis* [en ligne], consulté le 24 mai 2022. URL : <https://www.universalis.fr/encyclopedie/bacteries/>
- Ameziane N.E & Benaabidate L. (2014). Caractérisation microbiologique des effluents de l'hôpital Mohamed V de Meknès et étude de leur impact sur l'environnement. *Revue Nature & Technologie*, 10 : 31-38.
- Atekwanaa E.A., Atekwanaa E.A., Roweb R.S., Werkema J.D., Dale D., Legalld & Franklyn D. (2004). La relation des mesures de solides dissous totaux à la conductivité électrique en vrac dans un aquifère contaminé par des hydrocarbures. *Journal of Applied Geophysics*, 56(4): 281-294.
- Atteia O. (2005). Chimie et pollution des eaux souterraines. Edition Lavoisier, TEC&DOC, 398 p.
- APHA: American Public Health Association (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20<sup>th</sup> edition /American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- Avril J.L., Dabernat H., Denis F. & Monteil H. (2000). Bactériologie clinique, Ellipses 2<sup>ième</sup> édition, Paris, France, 602 p.
- Bahrin L.G., Henning H., Peter G.J., Sarbu L.G., Babii C., Mihai A.C., Stefan M. & Birsa L.M. (2016). Antibacterial structure–activity relationship studies of several tricyclic sulfur-containing flavonoids. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 12: 1065–1071.
- Bakhom I. (2004). Contrôle de qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne. Thèse de doctorat en Médecine, Faculté de Médecine, de

- Pharmacie et d'Ondontostomatologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal, 113 p.
- Banton O. & Bangoy L.M. (1997). Hydrogéologie, multiscience environnementale des eaux souterraines, Sainte-Foy : PUQ/AUPELF. Ed. Québec 460 p.
- Belghyti D., El Guamri Y., Ztit G., Ouahidi L., Joti B., Harchrass A., Amghar H., Bouchouata O., El Kharrim K. & Bounouira H. (2009). Caractérisation physico-chimique des eaux usées d'abattoir en vue de la mise en œuvre d'un traitement adéquat : cas de Kénitra au Maroc. *Afrique Science*, 05(2): 199-216.
- Bennett P.M. (2008). Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British journal of pharmacology*, 153(1): S347-S357.
- Bertrand X. (2013). Les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques dans les réseaux d'eaux usées : Évaluation du rôle de la filière " eaux usées " dans l'épidémiologie de *Escherichia coli* producteur de BLSE. *Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail*, pp.28-29.
- Billing J. & Sherman P. (1998). Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. *The Quarterly Review of Biology*, 73 (1): 3-49.
- Blair J.M., Webber M.A., Baylay A.J., Ogbolu D.O. & Piddock L.J. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1): 42–51.
- Boone D.R., Castenholz R.W. & Garrity G. (2001). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria*. 2<sup>nd</sup> Edition. 721 p.
- Boualam M., Mathiew L., Fass S., Cavard J. & Gatel D. (2002). Relationship between coliform culturability and organic matter in low nutritive. *Water Resources*, 36 : 2618-2626.
- Bouchakour A. (2010). Evolution du profil de résistance des entérobactéries aux quinolones à l'hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V à Rabat. Thèse en Pharmacie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V-Rabat, Maroc, 147 p.
- Bousseboua H. (2005). *Elément de microbiologie*. Edition Campus-Club. 2<sup>ème</sup> Edition. 304 p.
- Bouteleux C., Saby S., Tozza D., Cavard J., Lahoussine V., Hartemann P. & Mathiew L. (2005). *Escherichia coli* behavior in the presence of organic matter released by algae exposed to water treatment chemicals. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 734-740.
- Bouteleux C. (2005). Survie d'entérobactéries dans les eaux de distribution : rôle de la matière organique d'origine algale. Thèse en Chimie et Microbiologie de l'eau, Faculté de Microbiologie et de Parasitologie, Université Henri-Poincaré-Nancy I, France, 275 p.
- Brauner A., Fridman O., Gefen O. & Balaban N.Q. (2016). Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nature Reviews Microbiology*, 14(15): 320–330.
- Cabral J.P.S. (2010). Water Microbiology: Bacterial pathogens and water. *International Journal Environmental Research and Public Health*. 7(10): 3657-3703.

- CA-SFM / EUCAST (2020). Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie/ European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Recommandations sur la pratique de l'antibiogramme.
- Cameroun • Fiche pays • PopulationData.net » [archive], sur *PopulationData.net* (consulté le 30 octobre 2021).
- Canler J.P., Canler J.P., Perret J.M., Duchène P., Cotteux É., & Cotteux E. (2011). *Aide au diagnostic des stations d'épuration par l'observation microscopique des boues activées*. Editions Quae
- Cattoir V. & Nordmann P. (2009). Plasmid-mediated quinolone resistance in gram-negative bacterial species: an update. *Current Medicinal Chemistry*, 16: 1028-1046.
- Cécile E.O., Tsiazok M.D., Mefo'o J.P.N., Ngaba G.P., Beyiha G. & Adiogo D. (2015). Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. *Pan African Medical Journal*, 20(1): 227-237.
- Chatterji D. & Ojha A.K. (2001). Revisiting the stringent response, ppGpp and starvation signaling. *Current Opinion in Microbiology*, 4(2): 160–165.
- Chaudhary D.S., Vigneswara S., Ngo H.-H., Shim W.G. and Moon H. (2003). Biofilter in water and wastewater treatment. *The Korean Journal of Chemical Engineering*. 20 (6).
- Chelkia H. & Gueriani A. (2019). Abiotic factors and bacterial sensitivity/resistance to antibiotics: impact of pH and salinity. Master in Biological Sciences, Faculty of biology, AkliMohand Oulhadj-Bouira University, Algérie, 70 p.
- Chenel J.P. (2011). Production de protéases thermostables par des bactéries thermophiles en utilisant des boues d'épuration municipale comme substrat. Thèse en Sciences de l'eau, Institut National de la Recherche Scientifique Eau-Terre-Environnement, Université du Québec, Canada. 159 p.
- Chopra I., O'Neill A.J. & Miller K. (2003). The role of mutators in the emergence of antibiotic-resistant bacteria. *Drug Resistance Updates*, 6(3) : 137-145.
- Courvalin P., Denis F., Ploy M.C., Garilhe M.P.D., Trieu-Culot P. et Universalis. (2001). « Antibiotiques ». Retrieved 24 mai, 2013, from <http://www.universalisedu.com/encyclopedie/antibiotiques/>.
- Cowan M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 564-582.
- CPEPESC : Commission de Protection des Eaux (2017). Les différents paramètres physiques et chimiques des eaux et commentaires. <https://www.cpepesc.org/Les-principaux-parametres.html> (consulté le juin 14, 2021).
- Cristian C. (2008). Microbiologie Hygiène Base Microbiologique de la diététique. Edition TEC et DOC Lavoisier, Paris, pp 76-86.
- Cushnie T.P., Hamilthoh V.E.S. & Lamb A.J. (2003). Assessment of the antimicrobial activity of selected flavonoïds and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiology Research*, 158 (4): 281-289.
- Cygler C. (2008). Traitement des eaux usées. Prêts pour le recyclage? *Hydroplus*, pp. 36-42.
- D'Costa V.M., King C.E., Kalan L., Morar M., Sung W.W.L, Schwarz C., Froese D., Zazula G., Calmels F., Debruyne R., Golding G.B., Poinar H.N. & Wright G.D. (2011). Antibiotic resistance is ancient. *Nature*, 477(7365): 457-461.

- Da Costa P.M., Vaz-Pires P. & Bernardo F. (2008). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated in wastewater and sludge from poultry slaughterhouse wastewater plants. *Journal of Environmental Health*, 70: 40-45.
- Daniel A.D., Moussa D. & Eric M.B.F. (2021). Diversité des mouches synanthropes et leur potentiel de transmission des maladies diarrhéiques à Maroua (Extrême Nord, Cameroun). *Pan African Medical Journal*, 38(410): 1-5.
- Danner M.C., Robertson A., Behrends V. & Reiss J. (2019). Antibiotic pollution in surface fresh waters: Occurrence and effects. *Science of The Total Environment*. 664: 793-804.
- Darsy C., Lescure I., Payot V. & Rouland G. (2002). Effluents des établissements hospitaliers: teneur en microorganismes pathogènes, risques sanitaires, procédures particulières d'épuration et de gestion des boues. Office International de l'Eau, <http://www.oieau.org>.
- Davies J. & Davies D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(3): 417-433.
- DE : (Dictionnaire Environnement). (2010). [https://www.dictionnaire-environnement.com/eau\\_usee\\_non\\_traitee\\_ID5307.html](https://www.dictionnaire-environnement.com/eau_usee_non_traitee_ID5307.html) (consulté le juin 14, 2020).
- De Villers J., Squilbin M. & Yourassowsky C. (2005). Qualité physico-chimique et chimique des eaux de surface : cadre général. Institut Bruxellois pour la Gestion de l'Environnement / Observatoire des Données de l'Environnement, 16 p.
- Delarras C. (2007). Microbiologie Pratique Pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle Sanitaire. Edition technique et documentation Lavoisier, Paris. pp 128-129.
- Delihis N. & Forst S. (2001). MicF: an antisense RNA gene involved in response of *Escherichia coli* to global stress factors. *Journal of molecular biology*, 313(1): 1-12.
- Diane A.M.Y., Ange A.T., Bertrand Z.Z., Line T., Aboubakar A., Nzeket A.B., Fokouong T.B.H., & Mewouo Y.C.M. (2020). Qualité physico-chimique et bactériologique des eaux souterraines et risques sanitaires dans quelques quartiers de Yaoundé VII, Cameroun. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(5): 1902-1920.
- Djermakoyé M.M.H. (2005). Les eaux résiduaires des tanneries et des teintureries : caractéristiques physico-chimiques, bactériologiques et impacts sur les eaux de surface et les eaux souterraines. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Faculté de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako, Mali, 135 p.
- Doublet B., Bousquet-Mélou A. & Madec J.Y. (2012). Le concept «One Health» en antibiorésistance et les flux de gènes. *Innovation Agronomiques*, 24 : 79-90.
- Drame B. (2001). Microméthode d'identification et d'étude de la sensibilité des Entérobactéries : Intérêts thérapeutiques. Thèse de Doctorat en Biologie, Faculté de Biologie, Université de Dakar, Sénégal, 126 p.
- Dyar O.H.N.Q., Trung N.W., Phuc H.D., Hoa N.Q., Larsson M., Chuc N.T.K. & Lundborg C.S. (2012). High prevalence of antibiotic resistance in commensal *Escherichia coli* among children in rural Vietnam. *BMC Infectious Diseases*, 12(92): 92-99.
- Ebongue C.O., Tsiyok M.D., Mefo'o J.P., Ngaba G.P., Beyiha G. & Adiego D. (2014). Sensibilité et évolution de la résistance aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolés à l'Hôpital Général de Douala. *Revue de Médecine et de Pharmacie*, 4(1): 393-399.

- Eheth J.S., Lontsi D.C., Nana P.A, Tamsa A.A., Noah O.V.E., MOUNGANG L.M., BRICHEUX G., SIME-NGANDO T. & NOLA M. (2019). Less effect of well physicochemical properties on the antimicrobial susceptibility *Pseudomonas aeruginosa* isolated in equatorial region of Central Africa. *Applied Water Science*, 9(2): 30-38.
- Eheth J.S. (2021). Antibiorésistance et risque sanitaire lié à la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* isolée de quelques systèmes aquatiques dans les villes de Douala et Yaoundé (Cameroun). Thèse de Doctorat en Hydrobiologie et Environnement, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, Cameroun. 165 p.
- Elhani D. (2012). Les bêta-lactamases à spectre étendu: le défi s'accroît. *Annales de Biologie Clinique*, 70(2): 117-140.
- Euzéby J.P. (2010). List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47(2): 590-592.
- Fabienne P. (2018). L'antibiorésistance dans les environnements aquatiques: une problématique d'écologie microbienne et de santé publique. *Environnement, Risques & Santé*, 17: 40-46.
- Fadil I. (2016). Profil de résistance des entérobactéries aux antibiotiques en milieu extra-hospitalier dans la ville d'El Jadida. Thèse en Pharmacie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V – Rabat, Maroc, 144 p.
- Farah A., Boutefnouchet N., Dekhil M. & Bouzena N. (2007). *Klebsiella pneumoniae* productrices de Bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) isolées dans les hôpitaux de la ville de ANNABA, Algérie. *Scientific Study & Research*, 3(2) : 199-214.
- Farmer J.J., Boatwright K.D. & Janda J.M. (2007). Enterobacteriaceae: Introduction and identification. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical microbiology* (9th edition, pp. 649-669). Washington, DC, USA: ASM press.
- Fauchère J.L. & Avril J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Edition Ellipses. Paris. 365-367: 520 p.
- Faure S. (2009). Transfert d'un gène de résistance aux bêta-lactamines bla CTX- M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine: influence d'un traitement antibiotique. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Faculté des Sciences du Vivant, Université de Rennes, France, 191 p.
- Favier A. (2003). Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité Chimique*, pp. 108-117.
- Fetter C.W. (2008). Applied Hydrogeology. Columbus, OH: Merrill Publishing Company, 4<sup>th</sup> Edition, 624 p.
- Fluit A.C. & Schmitz F.J. (2004). Resistance integrons and super- integrons. *Clinical Microbiology and Infection*, 10(4): 272-288.
- Franceys R., Pickford J. & Reed R. (1995). Zone de pollution d'une latrine à fosse. Guide de l'assainissement individuel, Organisation mondiale de la Santé, 258 p.
- Francis R.C., Jit X.L., Hongjie C., Shin G.G. & Karina Y.G. (2022). Prevalence and characterization of antibiotic resistant bacteria in raw community sewage from diverse urban communities. *Science of The Total Environment*, 825:153926.

- Freeze R.A. & Cherry J.A. (2012). Groundwater. Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice Hall, Inc., Vol. 7632, 604 p.
- Galvin S., Boyle F., Hickey P., Vellinga A., Moris D. & Cormican M. (2010). Enumeration and characterization of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* bacteria in effluent from municipal, hospital, and secondary treatment facility sources. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(14): 4772-4779.
- Gao P., Mao D., Luo Y., Wang L., Xu B. & Xu, L. (2012). Occurrence of sulfonamide and tetracycline-resistant bacteria and resistance genes in aquaculture environment. *Water Research*, 46: 2355–2364.
- Garcia-Armisen T., Vercammen K., Passerat J., Triest D., Servais P. & Cornelis P. (2011). Antimicrobial resistance of heterotrophic bacteria in sewage contaminated rivers. *Water Research*. 45(2): 788-796.
- Garcia-Armisen T., Anzil A., Cornelis P., Chevreuil M. & Servais P. (2013). Identification of antimicrobial resistant bacteria in rivers: insights into the cultivation bias. *Water Research*, 47(14): 4938-4947.
- Gaudy C. (2005). Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutiques. Elsevier, Amesterdam. 269 p.
- Garneau-Tsodikova S. & Labby K.J. (2016). Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics : overview and perspectives. *Medicinal Chemistry Communications*, 7: 11-27.
- Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapy Research*, 3: 162-169.
- Gniadkowski M. (2008). Evolution of extended-spectrum beta-lactamases by mutation. *Clinical Microbiology and Infectious*, 14(1): 11-32.
- Goita A. (2014). Les bactéries pathogènes d'origine hydrique de l'épidémiologie à la prévention. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat, Université Mohammed V-Souissi, Maroc, 171 p.
- Goodarzi M.T., Zal F., Malakooti M., Safari M.R. & Sadeghian S. (2006). Inhibitory activity of flavonoids on the lens aldose reductase of healthy and diabetic rats. *Acta Medica Iranica*, 44(1): 41-45.
- Grandjean D. (2004). Survie d'*Escherichia coli* dans les eaux potables : rôle de l'équilibre calco-carbonique et du fer ferrique. Thèse Doctorat en Biologie, Santé, Environnement, Faculté de Chimie et Microbiologie de l'eau, Université Henri-poincarré Nancy I, France, 171 p.
- Grosclaude G. (1999). L'eau : Tome 2 : Usages et polluants. 208 p.
- Guardabassi L. & Courvalin P. (2019). Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. *American Society of Microbiology*, pp:1-18.
- Guisbert E., Yura T., Rhodius V.A. & Gross C.A. (2008). Convergence of molecular, modeling, and systems approaches for an understanding of the *Escherichia coli* heat shock response. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 72(3): 545–554.

- Hart C.A. (2006). *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* and *Serratia* spp. In S. H. Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), Principles and practice of Clinical Bacteriology (2nd edition, 377- 386). England, UK: John Wiley and Sons Ltd.
- Harris S., Morris C., Morris D., Cormican M. & Cummins E. (2014). Antimicrobial resistant *Escherichia coli* in the municipal wastewater system: Effect of hospital effluent and environmental fate. *Science of the Total Environment*, 469(0): 1078-1085.
- Haouachi R. (2018). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif productrices de  $\beta$ -lactamases à Spectre Etendu ou Elargi au niveau du CHU-BENBADIS Constantine. Master en Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Frères Mentouri Constantine 1, Algérie, 122 p.
- Hayward C., Ross K.E., Brown M.H. & Whiley H. (2020). Water as a source of antimicrobial resistance and healthcare-associated infections. *Pathogens*. 9(8): 667.
- Heim E.K., Tagliaferro A.R. & Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584.
- Hendrich A.B. (2006). Flavonoid-membrane interactions: possible consequence for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta pharmacologica Sinica*, 27: 27-40.
- Hieng I.O. (2003). Study of Geotechnical Parameters of the Soils in Cameroon. CLE (edition), Yaounde, Cameroon, 119 p.
- Hodek P., Trefil P. & Stiborova M. (2002) Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*, 139: 1-21.
- 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 and Wilkins, edition. Philadelphia, 524 p.
- Hooper D.C. (2002). Fluoroquinolone resistance among GRAM -positive cocci. *The Lancet Infectious Diseases*, 2(9): 530-538.
- Igbinsola O.E., Odjadjare E.E., Igbinsola I.H., Orhue P.O., Omoigberale M.N.O. & Amhanre N.I. (2012). Antibiotic synergy interaction against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from an abattoir effluent environment. *The Scientific World Journal*, 308034.
- Igesobta (2015). L'Intégration de la Gestion des Eaux Souterraines pour les Organismes de Bassins Transfrontaliers en Afrique. Les eaux souterraines et l'environnement-un manuel de formation produit par AGW-Net, BGR, IWMI, CapNet, RAOB, et IGRAC.
- INS : Institut National de la Statistique. (2013). Qualité des eaux de surface et souterraines dans la ville de Yaoundé et son impact sanitaire. Publication du Département des Statistiques Démographiques et Sociales.
- Iversen C. & Forsythe S. (2003). Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula. *Trends in Food Science and Technology*, 14(11): 443-454.
- Jacques B. (2007). L'eau dans son environnement rural : hydraulique et cycle de l'eau, l'alimentation en eau potable, l'assainissement des agglomérations. Edition Johanet (ISBN : 978-2-900086-71-1).

- Janda J.M. & Abbott S.L. (2006). The Genera *Klebsiella* and *Raoultella*. The Enterobacteria (2nd ed., pp. 115-129). Washington, USA: ASM Press.
- Johnson L., Mulcahy H., Kanevets U., Shi Y. & Lewenza S. (2012). Surface localized spermidine protects the *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane from antibiotic treatment and oxidative stress. *Journal of Bacteriology*, 194(4): 813–826.
- Joly B. & Reynaud A. (2003). Entérobactéries : systématiques et méthodes de diagnostic. TEC & DOC (Ed), Lavoisier, Paris, 356 p.
- Joly B. & Reynaud A. (2007). Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation, Paris, 182 p.
- Julianne V.K. & Lori L.B. (2007). Infections due to *Citrobacter* and *Enterobacter*. in xPharm: *The Comprehensive Pharmacology Reference*.
- Kalambry A.C., Gaudré N., Dramé B.S.I., Poudiougou A., Kassogué A., Koné H. & Diarra A. (2019). Profil de résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries isolées des prélèvements urinaires à l'Hôpital du Mali. *Revue Malienne d'Infectiologie et de Microbiologie*, 14(2): 6-13.
- Kamga H.G., Nzenang R., Toukam M., Sando Z. & Koulla S.S. (2014). Phénotypes de résistance des souches d'*Escherichia coli* responsables des infections urinaires communautaires dans la ville de Yaoundé (Cameroun). *American Journal of Preventive Medicine*, 3: 1–4.
- Kanohin F.O., Yapo O.B., Dibi B. & Bonny A.C. (2017). Caractérisation physico-chimique et bactériologique des eaux souterraines de Bingerville. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(5): 2495-2509.
- Kassama M. & Hamadi S. (2013). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à l'établissement hospitalier spécialisé de Constantine. Master en Microbiologie et Hygiène hospitalière : Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université des Frères Mentouri, constantine1, Algérie, 62 p.
- Kengné I.M., Endamana D., Soh L. & Nya J. (2001). Assainissement des eaux usées domestiques par lagunage à macrophytes : cas du lotissement SIC – MAETUR de Biyem Assi II à Yaoundé (Cameroun). Acte du séminaire international de Gorée (Dakar au Sénégal). Faculté des sciences agronomiques de Gembloux, Université Abdou Moumouni de Niamey (Niger), Aquadev, Dakar, 3 p.
- Kim B.N., Kim N.J., Kim M.N., Kim Y.S., Woo J.H. & Ryu J. (2003). Bacteraemia due to tribe Proteaeae: a review of 132 cases during a decade (1991-2000). *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 35(2): 98-103.
- Kindrachuk K.N., Fernandez L., Bains M. & Hancock R.E. (2011). Involvement of an ATP-dependent protease, PA0779/AsrA, in inducing heat shock in response to tobramycin in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(5): 1874-1882.
- Krishna D., Chaluvadi M., Raj N. & Sripal R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacological*, 33: 2-16.
- Kulkarni H.M., Nagaraj R. & Jagannadham M.V. (2015). Protective role of *E. coli* outer membrane vesicles against antibiotics. *Microbiology Research*, 181: 1-7.

- Kumar A. & Schweizer H.P. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(10): 1486-1513
- Kunz A.N. & Brook I. (2010). Emerging resistant Gram-negative aerobic bacilli in hospital acquired infections. *Chemotherapy*, 56: 492–500.
- Lalami El.O., Zanibou A., Bekhti K., Zerrouq F. & Merzouki M. (2014). Contrôle de la qualité microbiologique des eaux usées domestiques et industrielles de la ville de Fès au Maroc. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5 (S1): 2325-2332.
- Lalaoui R.S. (2016). Profil bactériologique des pneumopathies nosocomiales de l'adulte et état de résistance aux antibiotiques. Thèse doctorat en médecine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Cadi Ayyad Marrakech, Maroc, 117 p.
- Laurence D.R. & Vincent J. (2014). Bactéries multirésistantes dans l'eau : modèles des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu. *Revue Francophone des Laboratoires*, (460): 75-79
- Lecour A. (2017). Détection des carbapénèmases chez les entérobactéries. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Faculté de Biologie Médicale, Université de Toulouse, France, 141 p.
- Li X.Z. & Nikaido H. (2004). Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, 64 : 159-204.
- Li X.Z., Plesiat P. & Nikaido H. (2015). The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram negative bacteria, *Clinical Microbiology Reviews*, 28(2): 337-418.
- Li J., Xie S., Ahmed S., Wang F., Gu Y., Zhang C., Chai X., Wu Y., Cai J., & Cheng G. (2017). Antimicrobial activity and resistance: Influencing factors. *Frontiers in Pharmacology*, 8: 364-372.
- Loukiadis E. (2007). Facteurs de virulence et dissémination dans l'environnement via les effluents d'abattoirs d'animaux de boucherie d'*Escherichia coli* entéropathogène (EHEC). Thèse de Doctorat en microbiologie, Faculté de Microbiologie, Université Toulouse III – Paul Sabatier, France, 225 p.
- MacDonald A.M., Davies J. & Dochartaigh B.É. (2002). Simple methods for assessing groundwater sources in low permeability areas of Africa. British Geological Survey Commissioned Report, CR/01/168N. 71 p.
- Macdonald I.A. & Kuehn M.J. (2013). Stress-induced outer membrane vesicle production by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 195(13): 2971–2981.
- Macfarlane E.L., Kwasnicka A. & Hancock R.E. (2000). Role of *Pseudomonas aeruginosa* PhoP–PhoQ in resistance to antimicrobial cationic peptides and aminoglycosides. *Microbiology*, 146(10): 2543–2554.
- Machado E., Coque T.M., Cantón R., Sousa J.C. & Peixe L. (2013). Commensal *Enterobacteriaceae* as reservoirs of extended spectrum bêta-lactamases, integrons, and sulgenes in Portugal. *Antimicrobials Resistance and Chemotherapy*, 4(80): 1-7.
- Madigan M. & Martinko J. (2007). Biologie des microorganismes 11ème édition. PEARSON Education, France, pp 354-355.
- Magana-Arachchi D.N. & Wanigatunge R.P. (2020). Ubiquitous waterborne pathogens. *Waterborne Pathogens*, 15-42.

- Mainardi J.L. (2015). Mécanismes d'action et de résistance aux antibiotiques/ Session interactive autour de l'antibiogramme. Thèse de Doctorat en Microbiologie Clinique, Faculté de Microbiologie, Université Paris René Descartes, France, 112 p.
- Mainil J. (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*Escherichia* : franchissement des muqueuses et propriétés invasives. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 14(7) :105-126.
- Maïwore J., Adamou M., Djaouda M., Baane M.P., Amale Y., Youssouf D. & Ngoune L.T. (2020). Influence de quelques sources bactériologiques de contamination sur la qualité de la laitue consommée à Maroua (Cameroun), identification des entérobactéries. *Journal of Applied Biosciences*, 154: 15926 – 15939.
- Male\_Év D.É. & Kunti V. (2007). Investigation of metal--flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal--flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72: 921-939.
- Mandell G.L., Banett J.E., Dolin R. & Mandell D.B. (2009). Principales and parctice of infectious diseases. 6th edition, *Elsevier, Churchill, Livingstone éditeurs*, USA. Edition en ligne. <http://www.ppidon-line.com>.
- Manizan N.P., Ouattara A., Gourene G. & Dosso M. (2010). Influence des caractéristiques physico-chimiques sur la distribution spatio-temporelle des densités bactériennes dans le système fluvio-lacustre de la bia, sud-est de la côte d'ivoire. *Revue Ivoirienne de Sciences et Technologies*, 15: 201 – 210
- Martinez J.L. (2009). The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1667) : 2521-2530.
- Martini A., Katerere D.R. & Eloff J.N. (2004). Seven flavonoïds with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 93 (2-3): 207-212.
- Matini L., Moutou J.M. & Kongo-Mantono M. (2009). Evaluation hydro-chimique des eaux souterraines en milieu urbain au Sud-Ouest de Brazzaville, Congo. *Afrique Science* 05(1) : 82 - 98
- Mbog M.S. (2012). Evaluation de la gestion des déchets liquides hospitaliers : cas des eaux usées du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Yaoundé. Master Professionnelle en Sciences de l'Environnement, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, Cameroun. 80 p.
- Mendaci A. & Mihoubi S. (2015). Profil de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries uropathogènes (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*). Master en Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie, 88 p.
- Merhabi F., Amine H. & Halwani J. (2019). Evaluation de la qualité des eaux de surface de la rivière Kadicha. *Journal Scientifique Libanais*, 20(1): 10-34.
- Messai A. (2006). Analyse Critique des Pratiques de L'antibiothérapie en Elevages Avicoles. Master en Médecine Vétérinaire, Faculté des Sciences, Université des Frères Mentouri, Constantine, Algeria, 133 p.

- Mohamed G.Z., Taupin J.D., Ranaivoarisoa A. & Robison L.R. (2015). Caractérisation géochimique et bactériologique des nappes d'une région à climat tropical sec au centre Sud de Madagascar. *Hydrological Sciences Journal*, 60(4) : 746-759.
- Momento Degremont de Suez. Eaux de surface. <http://www.suezwaterhaandbook.fr> consulté le 26/10/21.
- Moriarty T.F., Elborn J.S. & Tunney M.M. (2007). Effect of pH on the antimicrobial susceptibility of planktonic and biofilm-grown clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *British Journal of Biomedical Science* 64:101–104.
- Moussa D., Nola M., Zebaze T.S.H., Nougang M.E., Michel D. & Njiné T. (2010). Modifications des propriétés d'abondances bactériennes des eaux souterraines en réponse à une longue durée de stockage dans les récipients à domicile à Yaoundé (Cameroun). *European Journal of Water Quality* 41(2):131-143.
- Muhammad J., Syeda M.Z., Nan X., Mamona S. & Jun W. (2022). Antibiotics and antibiotic resistant genes in urban aquifers. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 26:100324.
- Muylaert A. & Mainil J.G. (2013). Résistances aux fluoroquinolones : la situation actuelle. *Annales de Médecine Vétérinaire*. 157(1):15-26.
- Muylaert A. & Mainil J.G. (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » : *Annales de Médecine Vétérinaires*, 156: 109-123.
- Naamane S., Rais Z. & Taleb M. (2013). Influence de l'ajout de la boue obtenue après épuration des eaux usées sur les caractéristiques physico-chimiques des ciments. *Matériaux & Techniques*, 101(7) : 703.
- Nauciel C. & Vildé J.L. (2005). Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action. Edition : Masson. Paris. pp 49-56.
- Narten M., Rosin N., Schobert M., & Tielen P. (2012). Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract isolates and influence of urinary tract conditions on antibiotic tolerance. *Current Microbiology*, 64(1): 7–16.
- NC (Norme Camerounaise). (2014). Norme pour l'eau destinée à la consommation humaine. ANOR.
- Ndiaye A. (2005). Les entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre élargie. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie, Université Cheikh Anta diop de Dakar, Sénégal. 65 p.
- Ndiaye M.L., Pfeifer H.R., Niang S., Dieng Y., Tonolla M. & Peduzzi R. (2010). Impacts de l'utilisation des eaux polluées en agriculture urbaine sur la qualité de la nappe de Dakar (Sénégal). *La revue électronique en sciences de l'environnement*, 10(2) : 1-14.
- Nguyen D., Joshi-Datar A., Lepine F., Bauerle E., Olakanmi O., Beer K., McKay G., Siehnel R., Schafhauser J., Wang Y., Britigan B.E. & Singh P.K. (2011). Active starvation responses mediate antibiotic tolerance in biofilms and nutrient-limited bacteria. *Science*, 334(6058): 982–986.
- Njiné T., Monkiédjé A., Nola M. & Foko V.S. (2001). Evaluation de la charge polluante et de la charge bactérienne des rejets des stations d'épuration à boues activées à Yaoundé (Cameroun). *Cahiers d'études et de recherches francophones / Santé*, 11(2) : 78-84.

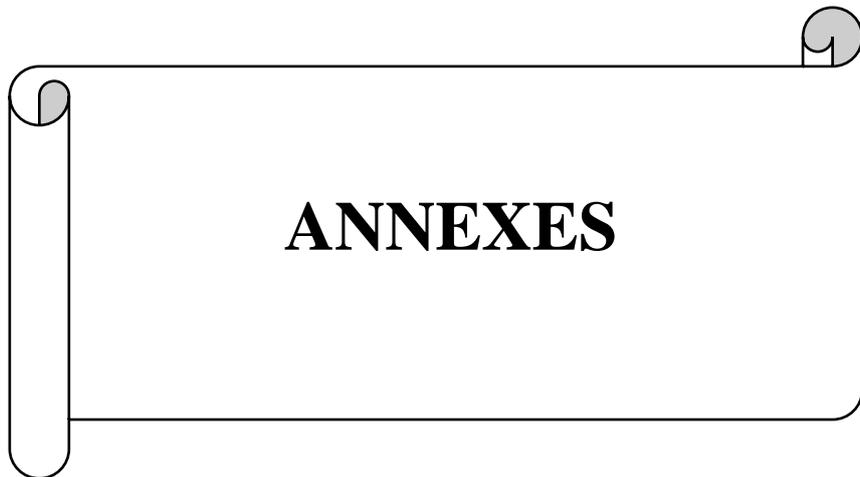
- Nijveldt R.J., van Nood E., van Hoorn D.E., Boelens P.G., van Norren K. & van Leeuwen P.A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74: 418-425.
- Noah O.V.E., Tamsa A.A., Baleng S.D., Mougang L.M., Metsopkeng C.S., Tuekam Kayo R.P., Poutom Y.Y., Ebang M.D & Nola M. (2021). Microbiological and physicochemical quality of some water points in the Nkolafamba Subdivision (Center Region, Cameroon). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(2): 816-834.
- Nola M., Njiné T., Djuikom E. & Sikati F. (2002). Faecal coliforms and fecal streptococci community in the underground water in an equatorial area in Cameroon (Central Africa: the importance of some environmental chemical factors. *Water Research*. 36: 3289-3297.
- OMS (2014). Premier rapport de l’OMS sur la résistance aux antibiotiques : une menace grave d’ampleur mondiale 2014. Disponible sur : (<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/fr/>).
- OMS (2015). Résistance aux antibiotiques. Novembre. Disponible sur : (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/fr/>).
- Ouali K., Trea F., Toumi L., Bairi A., Maurel D. & Guellati M.A. (2007). L'héspéridine, un antioxydant flavonoïde qui diminue le stress oxydatif et prévient les malformations fœtales au cours du diabète gestationnel expérimental. *Phytothérapie*, 5 (4): 204-209.
- Pagotto F.J., Nazarowec-White M., Bidawid S. & Farber J.M. (2003). *Enterobacter sakazakii*: infectivity and enterotoxin production in vitro and in vivo. *Journal of Food Protection*, 66(3) : 370-375.
- Pantel A. (2015). Multirésistance des entérobactéries aux antibiotiques et modulation de l’influx et de l’efflux membranaires chez *Escherichia coli* ST131. Médecine humaine et pathologie. Université Mont-pellier, Français. NNT : MONTT038. tel-01346531
- Patrice B. (2006). Contribution à la maîtrise de l’hygiène et de l’assainissement dans les établissements classés de Yaoundé. Master en Biologie et Médecine, 2ie de Ouagadougou, Togo, 67 p.
- Peyrou M. (2001). Antibiorésistance des souches bactériennes d’origine équine : étude bibliographique et exemple de l’hôpital vétérinaire de St-Hyacinthe. Thèse d’exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 88 p.
- Philippon A. & Arlet G. (2006). Béta-Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel. *Annales de Biologie Clinique*, 64(1) : 37-51.
- Pietta P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63: 1035-1042.
- Piquemal G. (2008). Les flavonoïdes (en ligne) : [http://www.detoursante.com/index.php ? Op-tion=com\\_content&view=article&id=166&Itemid=15](http://www.detoursante.com/index.php?Op-tion=com_content&view=article&id=166&Itemid=15).
- Poole K. (2001). Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Current Opinion in Microbiology* 4 : 500-508.
- Poole K. (2012). Stress responses as determinants of antimicrobial resistance in Gram negative bacteria. *Trends Microbiology*, 20: 227-234.
- Rakotovao-Ravahatra Z.D., Randriatsarafara F.M., Rasoanandrasana S., Raverohanta L. & Rakotovao A.L. (2017). Phénotypes de résistance des souches d’*Escherichia coli*

- responsables d'infection urinaire au laboratoire du Centre Hospitalo-Universitaire de Befelatanana Antananarivo. *Pan African Medical Journal*. 26: 166.
- Ramalho R., Afonso A., Cunha J., Teixeira P. & Gibbs P.A. (2001). Survival characteristics of pathogens inoculated into bottled mineral water. *Food Control*. 12 : 311-316.
- Regnault J.P. (2002). *Elément de Microbiologie et d'immunologie*, CANADA, Décarié. 601 p.
- Rejsek F. (2002). *Analyse des eaux: aspects réglementaires et techniques*. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine.
- Roberts S. & Zembower T. (2021). Global increases in antibiotic consumption: a concerning trend for WHO targets. *Lancet Infectious Diseases*, 21(1): 10-11.
- Robicsek A., Jacoby G.A. & Hooper D.C. (2006). The worldwide emergence of plasmid mediated quinolone resistance. *Lancet Infectious Diseases*, 6 : 629-640.
- Rodier J., Legube B., Marlet N. & Brunet R. (2009). *L'analyse de l'eau*. 9<sup>e</sup> édition, Dunod, Paris, France, 1579 p.
- Ruppé E. (2010). Epidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi - L'avènement des CTX-M. *Antibiotiques*. 12(1): 3-16.
- Russo T.A. & Johnson J.R. (2008). Diseases Caused by Gram-Negative Enteric Bacilli. In A. S. Fauci, & A. Fauci (Eds.), *Harrison's principles of internal medicine* (17th edition). New York: McGraw-Hill Medical Pub. Division. Retrieved from [online.statref.com/document.aspx?FxId=55&DocID=1&grpalias=](http://online.statref.com/document.aspx?FxId=55&DocID=1&grpalias=)
- Ryan K.J. (2004). Enterobacteriaceae. In K. J. Ryan, & C. G. Ray (Eds.), *Sherris Medical Microbiology : An Introduction to Infectious diseases* ( 4th edition, pp. 343-371). USA : McGraw-Hill,.
- Saab H.B., Nassif N., El Samrani A.G., Daoud R., Medawar S. & Ouaini N. (2007). Suivi de la qualité bactériologique des eaux de surface (rivière Nahr Ibrahim, Liban). *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 20(4) : 341-352.
- Sadikalay S. (2018). Influence des rejets humains et animaux sur la diffusion de l'antibiorésistance à l'homme, aux animaux et à l'environnement, en Guadeloupe. Thèse de Doctorat Physiologie et Biologie des Organismes, Faculté de Microbiologie, Université des Antilles, France, 202 p.
- Salah D.F.A.E. (2015). Détermination de gènes de résistance codant pour les Bêta-Lactamases à Spectre Elargie (BLSE) chez les Entérobactéries à Lomé, TOGO. Master en Biologie Moléculaire et Génétique Moléculaire Appliquées, Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre, Université de Ouagadougou, Togo. 70 p.
- Savadago M & Boubkeri Y. (2016). Isolement et Etude de quelques Entérobactéries pathogènes dans les eaux usées d'Oued Boumerzoug à Constantine. Master en Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie, 96 p.
- Savin M., Alexander J., Bierbaum G., Hammerl J.A., Hembach N., Schwartz T., Schmithausen R.M., Sib E., Voigt A., Kreyenschmidt J. (2021). Antibiotic-resistant bacteria, antibiotic resistance genes, and antibiotic residues in wastewater

- from a poultry slaughterhouse after conventional and advanced treatments. *Scientific Reports*, 11(1): 16622.
- Saxena G., Bharagava R.N., Kaithwas G. & Raj A. (2015). Microbial indicators, pathogens and methods for their monitoring in water environment. *Journal of Water and Health*, 13(2): 319-339.
- Schoeller H.J. (2011). Pollution des Eaux Souterraines. Actes du Colloque de Moscou, IAHS-AISH Publ. No. 103.
- Sharma U.K. & Chatterji D. (2010). Transcriptional switching in *Escherichia coli* during stress and starvation by modulation of sigma activity. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(5): 646–657.
- Sibille I., Sime-Ngando T., Mathiew L. & Block J.C. (1998). Protozoan bacterivory and *Escherichia coli* survival in drinking water distribution systems. *Applied of Environmental Microbiology Journal*, 64(1): 197-202.
- Sidrach-Cardona R. & Bécares E. (2013). Fecal indicator bacteria resistance to antibiotics in experimental constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 50: 107-111.
- Signe J.M., Lonsi C.D., Njoya A.M., Eheth J.S., Tchakounté S., Tamsa A.A., Ateba B.H., Bricheux G., Nola M. & Sime-Ngando T. (2015). Assessment of the potential effect of some streams properties on the isolated *Aeromonas hydrophila* strains susceptibility against some  $\beta$ -Lactams and Sulfamids. *Research Biotechnology*, 6: 33-44.
- Singleton P. (2005). Bactériologie pour la médecine, la biologie et la bactériologie. Edition : Durot, Paris, pp 100-102.
- Sophie Z. (2014). La résistance bactérienne aux antibiotiques : apparition et stratégies de lutte. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Faculté de Pharmacie, Université de Limoges, France, 151 p.
- Sougakoff W. & Trystram D. (2003). Résistances aux  $\beta$ -lactamines. Master en Médecine, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie, pp 31-46.
- Su L.H. & Chiu C.H. (2007). Salmonella: clinical importance and evolution of nomenclature. *Chang Gung Medical Journal*, 30(3) : 210-219.
- Sylvie C. (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*, 42 : 6-21.
- Tabué Y.J.G., Ntamack D., Feumba R., Ngnikam E., Wéthé J. & Tanawa É. (2009). Vulnérabilité des eaux souterraines et périmètres de protection dans le bassin versant de la Mingoa (Yaoundé, Cameroun). *Revue de l'Université de Moncton*, 40(2) : 71–96.
- Taffouo V.D., Rai S., Mbeng L.O. & Eyango M.T. (2017). Impacts of the physico-chemical characteristics of water on the distribution of phytoplankton and macrophytes in the Nkam River (Cameroon). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(4):1766.
- Talbi K. (2008). Recherche et identification de Shigella dans les eaux usées. Thèse en Sciences Biologiques, Centre d'Etudes Doctorales, Université Hassan II – Casablanca, Maroc. 92 p.
- Tamminen M., Karkman A., Löhmus A. & Muziasari W.I. (2011). Tetracycline resistance genes persist at aquaculture farms in the absence of selection pressure. *Environmental Sciences and Technology*, 45: 386–391.

- Tamsa A.A., Onana F.M., Koji E., Mounngang M.L., Noah O.V.E, Tchumaleu E.J.B., Tchakounté S., Manouore N.A., Sime-Ngando T. & Nola M. (2021). Using Principal Component Analysis to Assess Water Quality from the Landing Stages in Coastal region. *American Journal of Water Ressources*, 9(1): 23-31.
- Tani Z.B.A. & Arlet G. (2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries à gram négatif en Algérie. *Pathologie Biologie*, 62(3) : 169-178.
- Tebib F. (2020). Evaluation des performances épuratoires de la STEP de Groupement Reggane Nord GRN. Master en Sciences de la matière, Faculté des Sciences et de la Technologie, Université Ahmed Draïa Adrar, Algerie, 118 p.
- Tekam D.D., Vogue N., Nkfusai C.N., Ela M.E. & Cumber S.N. (2019). Accès à l'eau potable et à l'assainissement: cas de la commune d'arrondissement de Douala V (Cameroun). *Pan African Medical Journal*, 33: 244.
- Tennant S.M., Hartland E.L., Phumoonna T., Lyras D., Rood, J.I., Robins-Browne R.M., & Van Driel I.R. (2008). Influence of Gastric Acid on Susceptibility to Infection with Ingested Bacterial Pathogens. *Infection and Immunity*, 76(2): 639-645.
- Tigaud S. (2000). Mécanismes de résistance aux antibiotiques. [http://Lyon-Sud.univLyon1.fr/bacterio.Collège/olrbo.html](http://Lyon-Sud.univLyon1.fr/bacterio/Collège/olrbo.html).
- Touiri H. (2020). Les infections alimentaires à Shigelles. Thèse de Doctorat en Médecine ; Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat, Université Mohammed V-Rabat, Maroc, 178 p.
- Toukam M., Lyonga E.E., Assoumou M.C.O. & Fokunang C. (2010). Quinolone and fluoroquinolone resistance in *Enterobacteriaceae* isolated from hospitalised and community patients in Cameroon. *Journal of Medicine and Medical Sciences*, 1(10): 490-494.
- Trystram D. (2003). Bacteriologie. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Université PARIS-VI Pierre et Marie Curie, pp 61-72.
- Tu Y.C., Lian T.W., Yen J.H., Chen Z.T. & Wu M.J. (2007) Antiatherogenic effects of kaempferol and rhamnocitrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(24) : 9969-9976.
- Tuekam K. (2007). Stygofaune de deux bassins versants souterrains contigus dans la région de Yaoundé : influence de la pression anthropique. Master en Biologie Animale, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, Cameroun, 62 p.
- Vander S., Elseviers R.H., Ferech M.M., Blot M. & Goossens H. (2006). Hospital consumption of antibiotics in 15 European countries: results of the ESAC Retrospective Data Collection (1997-2002). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58: 159–167.
- Victoire G., Guessennnd N.K., Abale A.T., Diene S.M., Rolain J.M., Djaman J.A. & Dosso M. (2018). First Detection of Aminoglycosides Resistance Genes *AAC(6)-IB*, *ANT(2'')-I* and *AAD* in *Enterobacteriaceae* Producing Extended-Spectrum Beta-Lactamases in Abidjan (Côte d'Ivoire). *International Journal of Microbiology Research*, 10(5): 1171-1174.
- Vincent W.U., Jaclyn A.B., William W.D., Dennis B.W. & Christopher C.S. (2009). Exploitation des eaux souterraines. Baltimore, MD: Catholic Relief Services. [www.crsprogramquality.org](http://www.crsprogramquality.org).

- Walsh T.R. (2006). Combinatorial genetic evolution of multiresistance. *Current opinion in microbiology*, 9(5): 476-482.
- Wang M., Quo Q., Xu X., Wang X., Ye X., Wu S. & Hooper D.C. (2009). New plasmid mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53: 1892-1897.
- Wareham D.W. & Wilson P. (2002). Chloramphénicol in 21<sup>st</sup> century. *Hospital Medecine*, 63(3):157-161.
- Webb B.W., Hannah M.D., Moore D.R., Brown L.E. & Nobilis F. (2008). Recent advances in stream and river temperature research. *Hydrological Processes*, 22(7): 902-918.
- Wéthé J. (1999). Urbanisation et protection de la ressource en eau : une approche par les Systèmes d'Information Géographique appliqué à Yaoundé - Cameroun. Mémoire de fin d'étude de DEPA, Département de gestion de l'environnement, Université de Senghor, Alexandrie, Egypte, 104 p.
- Wéthé J., Radoux M. & Tanawa E. (2003). Assainissement des eaux usées et risques socio – sanitaires et environnementaux en zones d’habitat planifié de Yaoundé (Cameroun) », *Vertigo - la revue électronique en sciences de l'environnement* [En ligne], 4(1) : 1-11, mis en ligne le 01 mai 2003, consulté le 30 octobre 2021.
- World Health Organization (WHO) (2021). Global water, sanitation and hygiene: annual report 2018 [Internet]. 2019 License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO [cited 2021 June 15].
- Wintersdorff V.C.J., Penders J., Niekerk J.M. & Mills N.D. (2016). Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Frontiers in Microbiology*, 7 : 1–10.
- Yala D., Merad A.S., Mohamedi D. & Ouar Korich M.N. (2001). Classification et mode d’action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91(1) : 5-12.
- Yao L.H., Jiang Y.M., Shi J., Tomas-Barberan F.A., Datta N., Singanusong R. & Chen S. (2004). Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant Food Human Nutrition*, 59: 113-122.
- Yogo S. (2005). Contribution à la maîtrise de la gestion des boues de vidange dans la ville de Yaoundé. Mémoire de fin d'étude d'ingénierie des industries agricoles et agroalimentaire, ENSAI, Université de Ngaoundéré (Cameroun), 54 p.
- Youmbi T.J.G., Feumba R., Njitat T.V., De Marsily G. & Ekodeck G.E. (2013). Water pollution and health risks at Yaounde, Cameroon. *Comptes Rendus Biologies*, 336: 310–316.
- Zogheib E. & Dupot H. (2005). Entérobactéries multirésistance. Conférence d’actualisation. Elsevier SAS. pp.153-165.



**Annexe 1 : Abondances cellulaires minimales et maximales des espèces de *Citrobacter***

Types d'eau	<i>Citrobacter diversus</i>			<i>Citrobacter freundii</i>		
	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100 ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage
Eaux usées	Min : 0	Sw1	mars	0	+++	+++
	Max : 6000	Sw1	février	2240	Sw1	février
Eaux superficielles	Min : 2	Ws4, Ws5	juillet	0	+++	+++
	Max : 4100	Ws1	avril	2300	Ws1	avril
Eaux souterraines	Min : 0	+++	+++	0	+++	+++
	Max : 264	Gw1	septembre 2021	144	Gw1	septembre 2020

**Annexe 2 : Abondances cellulaires minimales et maximales des espèces d'*Enterobacter***

Types d'eau	<i>Enterobacter aerogenes</i>			<i>Enterobacter agglomerans</i>			<i>Enterobacter cloacae</i>		
	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage
Eaux usées	Min : 0	+++	+++	0	+++	+++	0	+++	+++
	Max : 30	Sw1	janvier	27	Sw1	janvier	70	Sw1	janvier

Eaux superficielles	Min : 0 Max : 40	+++ Ws8	+++ avril	0 60	+++ Ws8	+++ avril	0 80	+++ Ws8	+++ avril
Eaux souterraines	Min : 0 Max : 5	+++ Gw1	+++ décembre, avril	0 7	+++ Gw1	+++ avril	0 16	+++ Gw1	+++ décembre

**Annexe 3 : Abondances cellulaires minimales et maximales des espèces d'*Escherichia coli***

<i>Escherichia coli</i>			
Types d'eau	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage
Eaux usées	Min : 0 Max : 3680	+++ Sw3	+++ janvier
Eaux superficielles	Min : 0 Max : 5536	+++ Ws1	+++ avril
Eaux souterraines	Min : 0 Max : 70	+++ Gw1	+++ avril

**Annexe 4 : Abondances cellulaires minimales et maximales des espèces de *Klebsiella***

Types d'eau	<i>Klebsiella oxytoca</i>			<i>Klebsiella ozaenae</i>			<i>Klebsiella pneumonia</i>		
	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage
Eaux usées	Min : 0	+++	+++	0	+++	+++	0	+++	+++
	Max : 180	Sw3	août	85	Sw1	août	20	Sw3	janvier
Eaux superficielles	Min : 0	+++	+++	0	+++	+++	0	+++	+++
	Max : 532	Ws8	avril	236	Ws8	avril	64	Ws8	avril
Eaux souterraines	Min : 0	+++	+++	0	+++	+++	0	+++	+++
	Max : 20	Gw1	avril	12	Gw1	avril	1	Gw1	décembre

**Annexe 5 : Abondances cellulaires minimales et maximales des espèces de *Proteus***

Types d'eau	<i>Proteus mirabilis</i>			<i>Proteus rettgeri</i>			<i>Proteus vulgaris</i>		
	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage
Eaux usées	Min : 0	+++	+++	0	+++	+++	0	+++	+++
	Max : 1500	Sw1	décembre	3755	Sw1	décembre	500	Sw1	décembre
Eaux superficielles	Min : 0	+++	+++	0	+++	+++	0	+++	+++
	Max : 900	Ws9	juin	2640	Ws9	janvier	400	Ws9	décembre

Eaux souterraines	Min : 0 Max : 100	+++ Gw1	+++ décembre	0 708	+++ Gw1	+++ décembre	0 40	+++ Gw1	+++ janvier
----------------------	----------------------	------------	-----------------	----------	------------	-----------------	---------	------------	----------------

**Annexe 6 :** Abondances cellulaires minimales et maximales de l'espèce *Salmonella typhi*

<i>Salmonella typhi</i>			
Types d'eau	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage
Eaux usées	Min : 0	+++	+++
	Max : 6112	Sw1	décembre
Eaux superficielles	Min : 1	+++	+++
	Max : 1840	Ws2	janvier
Eaux souterraines	Min : 0	+++	+++
	Max : 17	Gw4	novembre

### Annexe 7 : Abondances cellulaires minimales et maximales des espèces de *Shigella*

Types d'eau	<i>Shigella boydii</i>			<i>Shigella dysenteriae</i>			<i>Shigella flexneri</i>			<i>Shigella sonnei</i>		
	Abondances (x10 <sup>3</sup> UFC/100ml)	Stations	Périodes d'échantillonnage									
Eaux usées	Min : 1	Sw1	mars	0	+++	+++	0	+++	+++	5	Sw1	mars
	Max : 4080	Sw1	janvier	280	Sw1	janvier	50	Sw4	décembre, avril	5640	Sw3	août
Eaux superficielles	Min : 2	Ws2	janvier	0	+++	+++	0	+++	+++	5	Ws2	janvier
	Max : 2200	Ws4	décembre	235	Ws4	janvier	65	Ws4	janvier	3700	Ws9	avril
Eaux souterraines	Min : 0	+++	+++	0			0			0	+++	+++
	Max : 208	Gw1	janvier	0	Toutes	/	0	Toutes	/	480	Gw1	janvier

## PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE

**Awawou Manouore Njoya** ; Jean Samuel Eheth ; Yves Poutoum Yogne ; Claire Stéphane Metsopkeng ; Cristina-Veronica Moldovan ; Sylvie Chinche Belengfe ; Laure Ngando ; Marguerite Kamdem Simo ; Paul Alain Nana ; Edith Brunelle Mouafo Tamnou ; Estelle Masseret ; Téléphore Sime-Ngando and Moïse Nola. Proteus bacteria species from hospital sewage and Mfoundi River in Yaounde (Cameroon, Central Africa): Comparison of the diversity, abundance and susceptibility against some  $\beta$ -lactams, Quinolones and Aminoglycosides antibiotics (2022). *Journal of Advances in Microbiology Research*, 3(2): 34-46.

**Awawou Manouore Njoya**, Yves Poutoum Yogne, Jean Samuel Eheth, Edith Brunelle Mouafo Tamnou, Claire Stéphane Metsopkeng, Olive Vivien Noah Ewoti, Antoine Tamsa Arfao, Luciane Marlyse MOUNGANG, Paul Alain Nana, Sylvie Chinche Belengfe, Estelle Masseret, Téléphore Sime-Ngando and Moïse Nola (2021). Antibiotic susceptibility of four Enterobacteriaceae strains (*Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella typhi* and *Shigella sonnei*) isolated from wastewater, surface water and groundwater in the equatorial zone of Cameroon (Central Africa). *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 11(01): 120–137.

## COMMUNICATION SCIENTIFIQUE ISSUE DES TRAVAUX DE LA THESE

**Awawou Manouore Njoya** (2021). Antibiorésistance des *Enterobacteriaceae* isolées des eaux usées hospitalières et communautaires dans la ville de Yaoundé (Cameroun) et importance des facteurs abiotiques. **Echange scientifique**. Septembre 2021, à l'Université Alexandru Ioan Cuza de Iasi (Roumanie).

## Antibiotic susceptibility of four Enterobacteriaceae strains (*Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella typhi* and *Shigella sonnei*) isolated from wastewater, surface water and groundwater in the equatorial zone of Cameroon (Central Africa)

Awawou Manouore Njoya <sup>1</sup>, Yves Poutoum Yogne <sup>1</sup>, Jean Samuel Eheth <sup>1</sup>, Edith Brunelle Mouafo Tamnou <sup>1</sup>, Claire Stéphane Metsopkeng <sup>1</sup>, Olive Vivien Noah Ewoti <sup>1</sup>, Antoine Tamsa Arfao <sup>1</sup>, Luciane Marlyse MOUNGANG <sup>1</sup>, Paul Alain Nana <sup>2</sup>, Sylvie Chinche Belengfe <sup>3</sup>, Estelle Masseret <sup>4</sup>, Téléphore Sime-Ngando <sup>5</sup> and Moïse Nola <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> University of Yaounde I, Faculty of Sciences, Laboratory of Hydrobiology and Environment, P.O. Box 812 Yaounde, Cameroon.

<sup>2</sup> Department of Oceanography and Limnology, Institute of Fisheries and Aquatic Sciences, University of Douala, P.O. Box 7236, Douala, Cameroon.

<sup>3</sup> Department of Fisheries and Aquatic Resources Management, Faculty of Agriculture and Veterinary Medicine, University of Buea, Cameroon.

<sup>4</sup> MARBEC, University of Montpellier, IRD, Ifremer, CNRS, Montpellier, France.

<sup>5</sup> Laboratory « Microorganisms : Genome and Environment (LMGE) », University of Clermont Auvergne, Aubière Cedex, France.

World Journal of Advanced Research and Reviews, 2021, 11(01), 120–137

Publication history: Received on 26 May 2021; revised on 10 July 2021; accepted on 13 July 2021

Article DOI: <https://doi.org/10.30574/wjarr.2021.11.1.0303>

### Abstract

The health problems caused waterborne pathogens bacteria belonging to the Enterobacteriaceae family are aggravated by the rise of antimicrobial resistant bacteria phenomenon. This has been identified as one of the biggest global health challenges. The present study aims to make a comparative approach of the sensitivity/resistance to antibiotics of 4 Enterobacteriaceae *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella typhi* and *Shigella sonnei* isolated from wastewater, streams and groundwater in Yaounde town (Cameroon, Central Africa). Bacteria were isolated using standard methods their identification using the API 20E systems. The antibiogram tests were carried out using the Müller-Hinton antibiotic disc diffusion method. Results showed that inhibition diameters of antibiotic varied ( $P < 0.05$ ) with respect to the bacterial species on one hand, and with respect to the type of water harbored cells on the other hand. The proportion of bacterial strains of each isolated species, and which were sensitive or resistant varied from one antibiotic to another within the same antibiotics family. For  $\beta$ -lactams tested, no *E. cloacae* strain has been sensitive. The proportion of sensitive strains of other species varied between 5.88% and 23.53%. For the 2 aminoglycosides tested, 5.88% of the strains of each isolated species were resistant to gentamycin. Of the 3 quinolones tested, all strains of *E. cloacae* and *C. freundii* isolated were fully resistant to Norfloxacin and of Ofloxacin. For the 3 Sulfonamides+trimethoprim, all strains of *C. freundii* and *S. typhi* isolated were resistant to Nurofurantoin and Fosfomycin. Most of bacteria strains isolated in wastewater and surface water were resistant to all the antibiotics tested. Many bacterial strains tested were multi-resistant. This multidrug resistance was more marked in *E. cloacae* and *C. freundii* species isolated from wastewater and surface water. This represents a health risk for humans and the aquatic environment.

**Keywords:** Water system; Cell's abundance; Enterobacteriaceae species; Antibiotic susceptibility; Abiotic factor

\* Corresponding author: Moïse Nola

University of Yaounde I, Faculty of Sciences, Laboratory of Hydrobiology and Environment, P.O. Box 812 Yaounde, Cameroon.

## 1. Introduction

A significant proportion of bacteria isolated in freshwater are of the Enterobacteriaceae family. Their abundance in the intestine, their mobility and the frequent acquisition of antibiotic resistance mechanisms explain why they are the most involved bacteria in human infectious pathology [1]. Most effluents from municipal, industrial, veterinary activities, hospital and secondary treatment sources harbored enterobacteria [2, 3]. These discharges often lead to the contamination of natural aquatic environments [4, 5]. In addition, antibiotics and their metabolites released have a direct impact on microorganisms in the environment [6-8].

Antibiotics can be classified on the basis of their mechanisms of action and the mechanisms of antimicrobial resistance, although the resistance mechanism of individual antibiotics has been indicated [9-11]. Based on the mechanisms of their action, they can be grouped into antibiotics targeting cell wall, inhibitors of protein biosynthesis, inhibitors of DNA replication and folic acid metabolism inhibitors. Based on the mechanisms of antimicrobial resistance, there are two main ways: the antibiotic inactivation and the prevention of accumulation of antimicrobials either by decreasing uptake or increasing efflux of the antimicrobial from the cell i.e., changes in outer membrane permeability.

According to Li et al. [12], the efficacy of antimicrobials in general is influenced by many factors including: a)-the bacterial status (susceptibility and resistance, tolerance, persistence, biofilm) and inoculum size; b)-the antimicrobial concentrations [mutant selection window and sub-inhibitory concentration]; c)-the host factors. Bacterial status is one of the determinants for antimicrobial activity. The bacterial phenotypes are different under antibiotic exposure, such as susceptibility, resistance, tolerance, and persistence [13]. Antibiotic resistance happens when germs develop the ability to defeat the drugs designed to kill them. This does not mean the body is becoming resistant to antibiotics; it is that bacteria have become resistant to the antibiotics. The germs are not killed and continue to grow. This phenomenon has the potential to affect people at any stage of life, making it one of the world's most urgent public health problems [14]. Several works conducted on the resistant profile of bacteria isolated from hospital environments and belonging to the Enterobacteriaceae family are resistant to different families of antibiotics [15].

The origins of antibiotic resistance could be the result of genetic juggling during which random mutations of the genes encoding the enzymes can give rise to modified catalysts with increasingly extended spectra of resistance and intrinsic resistance which refers to the existence of genes in bacterial genomes that could generate a resistance phenotype [16, 17]. Other origin is from resistosome. This refers to all the antibiotic resistance genes in communities of both pathogenic and non-pathogenic bacteria or all of the resistance genes in an organism, how they are inherited, and how their transcription levels vary to defend against pathogens like viruses and bacteria [18-20]. For this, bacterial strains resistant to antibiotics can be isolated by plating environmental bacteria on antibiotic-containing media since most possess genes encoding resistance to the compounds that they produce [21]. Bacteria can thus be naturally resistant to particular antibiotics; others, however, develop resistance through genetic mutations induced via exposure to antibiotics. Antibiotic resistance also has the opportunity to spread, given the ease of exchanging the material relating to resistance between bacterial species [22]. Antibiotic resistance genes isolated are usually not present in pathogenic bacteria, nor do they appear in the antibiotic era, but rather originate from antibiotic-producing microbes or those that cohabit with them in the environment [23].

Enterobacteriaceae are enzyme producers and possess other mechanisms of resistance to many antibiotics [24, 25]. The high concentration of these germs in the gastrointestinal tract favours the exchange and dissemination of resistant genes in the environment [26, 27], particularly in domestic and hospital wastewater, and sometimes even in groundwater and surface water. In these different water systems, antibiotic susceptibility of bacteria can be impacted by many environmental factors [28, 29].

Each year, waterborne diseases afflict hundreds of millions of people, primarily those living without safe, accessible water in developing countries. Waterborne diseases are illnesses caused by microscopic organisms that are ingested through contaminated water or by coming in contact with feces, with diarrhea as the central symptom [30]. Some of the waterborne pathogens are ubiquitous [31]. Most of the concerned bacteria belongs to the Enterobacteriaceae family [32, 33]. The situation is aggravated by the rise of antimicrobial resistant bacteria which has been identified as one of the biggest global health challenges [34].

Few studies have been done on the antibiotic susceptibility profile of Enterobacteriaceae species from different types of hydrosystems in the same geographical area. The present study aims to make a comparative approach of the sensitivity/resistance to antibiotics of 4 Enterobacteriaceae *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella typhi* and *Shigella sonnei* isolated from wastewater, streams and groundwater of Yaounde town (Cameroon, Central Africa).

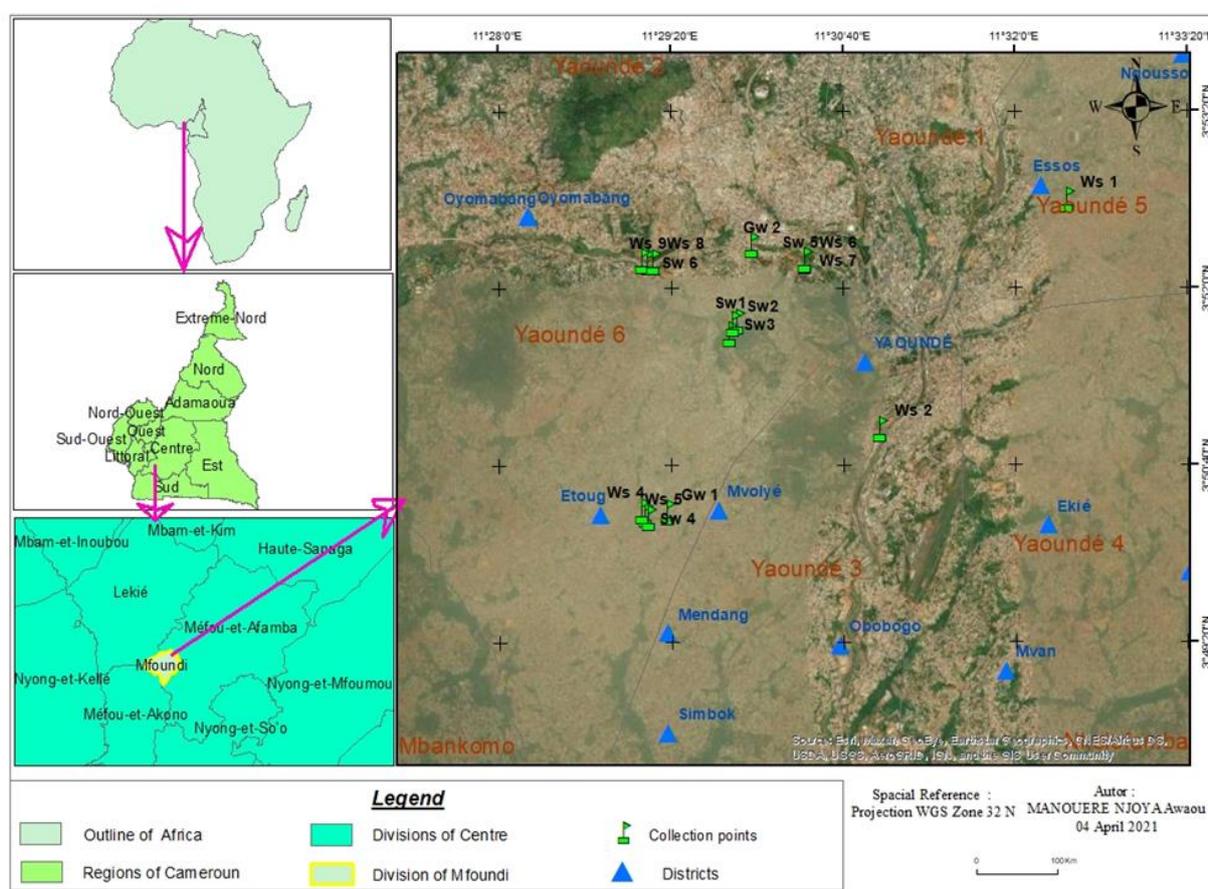
## 2. Material and methods

### 2.1. Study area

Yaounde which is the capital of Cameroon. It is located 300 km from the Atlantic coast, between 3°5' North latitude and 11°31' East longitude [35]. The climate is equatorial, characterised by the alternation of two dry seasons and two rainy seasons: a long dry season from December to mid-March, a short rainy season from mid-March to June, a short dry season from July to August and a long rainy season from September to November. The annual average temperature is 23.5°C, varying between 16 and 31°C depending on the season, and 1650 mm of water per year. The city's hydrographic network is very dense and essentially composed of the Mfoundi river and its tributaries. Some districts and hospitals in Yaounde are equipped with wastewater treatment plants. The study was conducted in November 2020 (during the long rainy season).

### 2.2. Sampling sites and water sampling

Four kinds of sampling sites have been chosen: wastewater of the University Hospital Centre (UHC), wastewater from residential quarters, surface water, and groundwater. The wastewater of the UHC included wastewater collector of the UHC laundry room coded Sw1, wastewater collector of the surgical room of the UHC coded Sw2, and wastewater from the laundry and the surgery room of the UHC coded Sw3.



**Figure 1** Geographical location of the study area and representation of the sampling points Sampling

(Source: [https://d-maps.com/pays.php?num\\_pay=16&lang=fr](https://d-maps.com/pays.php?num_pay=16&lang=fr))

The wastewater from residential quarters included that from Biyem-Assi quarter wastewater treatment plant coded Sw4, that from Massa quarter wastewater treatment plant coded Sw5, and that from Cité Verte quarter wastewater treatment plant coded Sw6. The three wastewater treatment plants are waste stabilization ponds. The surface water included 9 sampling points: upstream, landing and downstream of the Mfoundi river coded Ws1, Ws2 and Ws3 respectively.

**Table 1** Characteristics of sampling points

Hydro-systems	Sampling station	Geographical coordinates		Description
		Latitude (N)	Longitude (E)	
Hospital waste-water (Sw)	Sw1	3°86'25,82"	11°49'74,88"	Waste water collector of the UHC laundry room
	Sw2	3°86'22,25"	11°49'69,86"	Wastewater collector of the surgical room of the University Hospital
	Sw3	3°86'09,47"	11°49'49,6"	Collector receiving wastewater from the laundry and the surgery room of the University Hospital
Domestic waste-water (Sw)	Sw4	3°83'83,33"	11°48'56,23"	Wastewater discharge point of the Biyem-Assi wastewater treatment plant
	Sw5	3°87'02,12"	11°50'63,2"	Wastewater discharge point of the Messa wastewater treatment plant
	Sw6	3°87'00,3"	11°48'59,16"	Wastewater discharge point of the Cité Verte wastewater treatment plant
Surface water (Ws)	Ws1	3°87'77,22"	11°54'01,3"	Upstream of the Mfoundi river, close to houses and where domestic waste is dumped
	Ws2	3°84'90,11"	11°51'59,68"	Landing on the Mfoundi river, receiving domestic waste
	Ws3	3°80'36,78"	11°50'93,25"	Downstream of the Mfoundi river, near a brewery company
	Ws4	3°83'87,69"	11°48'50,98"	Upstream of the Biyeme tributary which receives wastewater from the Biyem-Assi wastewater treatment plant
	Ws5	3°83'78,86"	11°48'60,18"	Downstream of the Biyeme tributary which receives wastewater from the Biyem-Assi wastewater treatment plant
	Ws6	3°87'02,55"	11°50'62,68"	Upstream of the Mingoa tributary which receives wastewater from the Messa wastewater treatment plant
	Ws7	3°87'01,94"	11°50'63,4"	Downstream of the Mingoa tributary which receives wastewater from the Messa wastewater treatment plant
	Ws8	3°87'00,83"	11°48'66,31"	Upstream of the Abiergué tributary which receives wastewater from the Cité Verte plant
	Ws9	3°87'01,42"	11°48'52,98"	Downstream of the Abiergué tributary which receives wastewater from the Cité Verte plant
Ground-water (Gw)	Gw1	3°83'85,53"	11°48'85,19"	Covered well located near the Biyem-Assi wastewater treatment plant and houses
	Gw2	3°87'20,89"	11°49'94,01"	Developed spring located upstream of the Mingoa tributary

The Biyeme tributary upstream coded Ws4 and downstream coded Ws5, the Mingoa tributary upstream coded Ws6 and downstream coded Ws7, and the Abiergue tributary upstream coded Ws8 and downstream coded Ws9 were also

included. The groundwater sampling points included one wells coded Gw1 and one springs coded Gw2. In total, 17 sampling sites were chosen for this study. They are presented in Figure 1 and their characteristics and geographic coordinates are indicated in Table 1.

Water sampling was performed according to the method of Rodier et al. [36]. For the physicochemical analyses, the samples were collected in 1000 mL polyethylene bottles previously rinsed with the sample water; while the samples for bacteriological analyses, around 300 mL were collected in 500 mL sterile glass bottles. The samples were then brought back to the laboratory in a refrigerated chamber (4°C) for analysis.

### 2.3. Physicochemical analysis

Physicochemical parameters were analyzed according to the techniques recommended by Rodier et al. [36] and APHA [37]. The parameters considered for this study were: temperature, pH, electrical conductivity, nitrates and orthophosphates. Temperature, pH and electrical conductivity were measured in the field using a HANNA/HI 9829 multimeter; while nitrates and orthophosphates were measured in the laboratory using a DR/2000 HACH spectrophotometer.

### 2.4. Bacteriological analysis

#### 2.4.1. Isolation of Heterotrophic aerobic bacteria (HAB) and Enterobacteriaceae

Heterotrophic aerobic bacteria (HAB) were isolated on standard plate count agar. The isolation and counting of the total Enterobacteriaceae were performed on *Drigalski* Lactose agar culture medium [38]. The agar culture medium Methylene Blue Eosin (EMB) (Biokar) was used for the isolation of *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii* [39, 40] and the agar culture medium Salmonella-Shigella (SS) (Biokar) was used for the isolation of *Salmonella typhi* and *Shigella sonnei* [41-43]. Plate count technique was used. A volume of 0.1 mL of each sample or after dilution was taken with a micropipette and plated on the surface of the agar contained in Petri dishes. Incubation was done at laboratory temperature (25°C ± 2°C) for 5 days HAB, and at 37°C for 24 hours for others [36, 43]. All the analyses were done in triplicate.

#### 2.4.2. Macroscopic examination and identification of Enterobacteriaceae species

After the incubation period, colonies were counted in the different Petri dishes based on their characteristics. On EMB culture medium, *Enterobacter* will appear pink-colored colonies without a sheen whereas *Citrobacter* will appear brown colored colonies without any metallic sheen [39, 40]. On the SS culture medium *Salmonella* will not ferment lactose, but produce hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) gas, and their colonies will appear colorless with black centers, whereas *Shigella* do not ferment lactose or produce hydrogen sulfide gas, and their colonies will be colorless [41-43]. After enumeration of the colony forming units based on the cultural characteristics of the bacteria, the cells of each colony were recultured on standard (non-selective) agar, this agar having been solidified in the sloping test tubes. After Gram coloration, biochemical tests were then performed using the API 20 E systems (Biomerieux) [44].

#### 2.4.3. Antibigram tests

The antibiogram tests were done by the diffusion method of antibiotic discs on Muller Hinton medium according to the recommendations of the "Antibiogram Committee of the French Microbiology Society" (AC-FMS) [45]. Antibiotic molecules were chosen according to their sensitivity and/or resistance to Enterobacteriaceae, but also according to their availability in the market.

A total of 20 antibiotic molecules belonging to four families were used in the susceptibility testing galleries. The family of β-lactams (Amoxicillin; Amoxicillin + Clavulanic acid; Imipenem; Meropenem; Ticarcillin; Piperacillin; Piperacillin/tazobactam; Ceftriaxon; Cefepim; Cefuroxim; Cefoxitim; Ceftazidim), the family of Quinolones (Ciprofloxacin; Norfloxacin; Ofloxacin), the family of Aminoglycosides (Amikacin; Gentamycin), and the family of Sulfonamides+Trimethoprim and others (Trimethoprim/Sulfamethoxazole; Nurofurantoin; Fosfomycin).

Inhibition diameters were measured using the caliper and the results were scored as either resistant, sensitive or intermediate according to the interpretation of CA-SFM [46, 47].

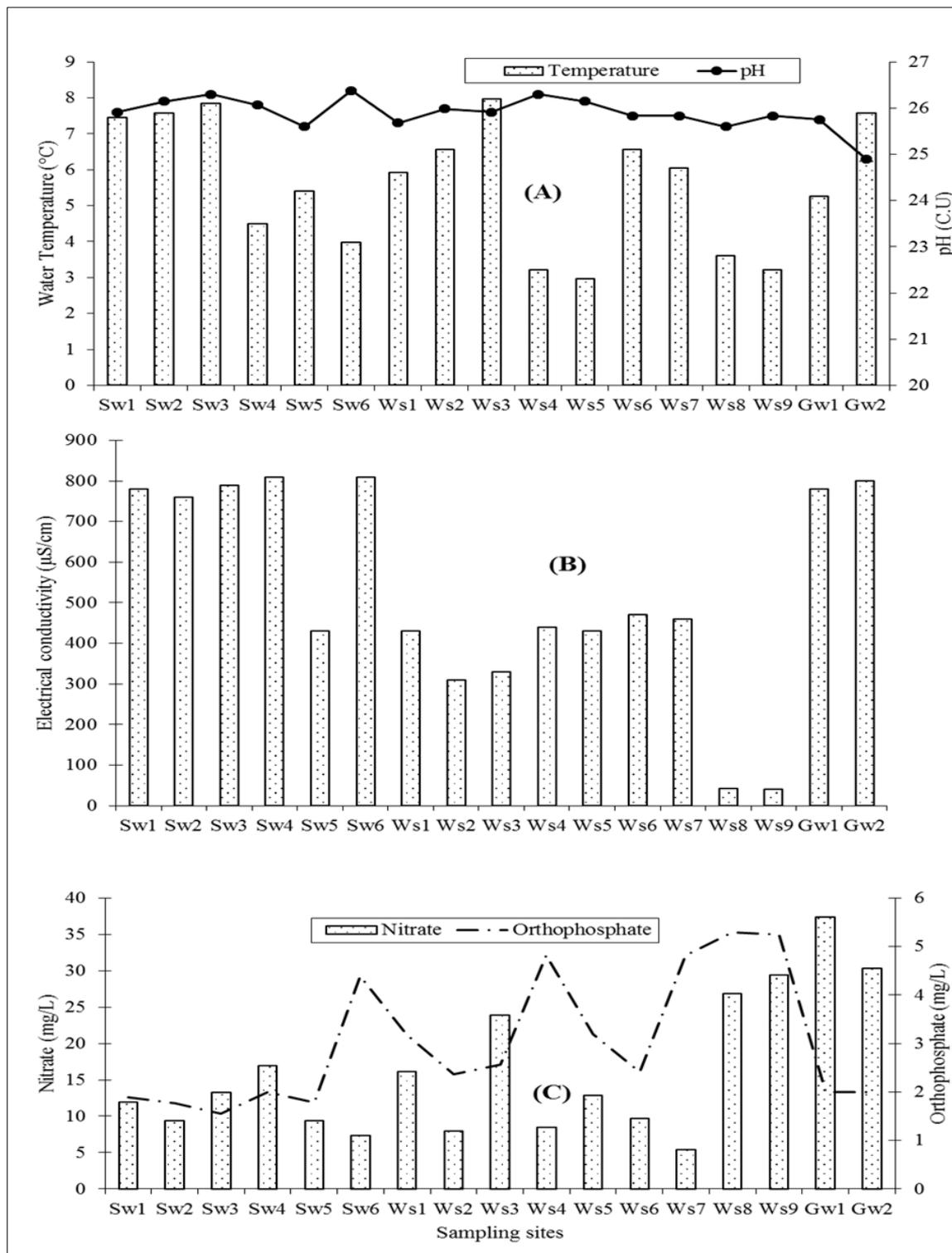
### 2.5. Data analysis

The abundances of the bacteria isolated were expressed per volume of 100 ml of water. The values of physicochemical parameters and those of bacterial abundances were illustrated by histograms plotted using Excel 2016 software. The

Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests were carried out using SPSS software version 25.0 to compare the inhibition diameters of antibiotic against bacterial species in each types of water.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Physicochemical parameters



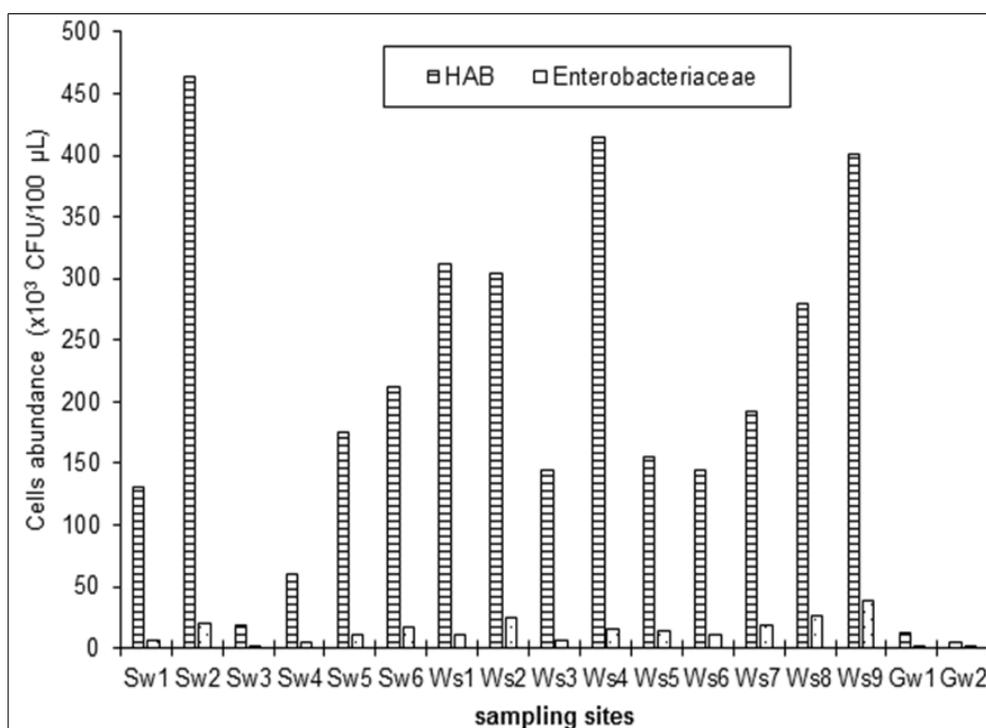
**Figure 2** Variation of physicochemical parameters in the different sampling points (A: variation of temperature and pH; B: variation of electrical conductivity; C: variation of the concentration in nitrates and orthophosphates)

The mean values of the physicochemical parameters are represented on Fig.2. It appears that these parameters values varied from one point to another. The temperature values varied between 22.8 and 26.2°C, with the lowest value recorded at the surface water station Ws5 and the highest value at station Ws3 (Fig. 2A). This variation is much more pronounced in surface water than in wastewater and groundwater and this could be explained by variations in the ambient temperature of the environment. According to Merhabi et al. [48], the temperature of surface water is affected by fluctuations in precipitation and seasonal temperatures. Wastewater temperature depends on organic load while groundwater temperature depends on latitude and altitude. Water temperature is an important factor as it governs almost all physicochemical and biological reactions. An abrupt change in this parameter leads to the disturbance of the water ecosystem balance [49]. The pH values ranged from 6.3 to 8.2 C.U. with the lowest value recorded in springs Gw2 and the highest wastewater station Sw6 (Fig. 2A). It is observed that pH of the sampled groundwater is slightly acidic while that of the wastewater and surface water is slightly basic. This has also been noted by Diane et al. [50]. According to Noah et al. [51], pH between 6.0 and 8.5 U.C. is favorable for the expression of biological potentials of several groups.

Electrical conductivity fluctuated between 41 and 810  $\mu\text{S}/\text{cm}$  with the lowest value recorded at the surface water station Ws9 and the highest at stations Sw4 and Sw6 (Fig. 2B). The nitrate content fluctuated from point to point between 5.4 and 37.4 mg/L. The lowest value was recorded at station Ws7 while the highest is recorded in wells Gw1 (Fig. 2C). Regarding orthophosphate content, the values varied between 1.56 and 5.29 mg/L with the lowest value recorded at wastewater station Sw3 and the highest at surface water station Ws8 (Fig. 2C). According to Rodier et al. [36], the presence of phosphates in natural waters is linked to the nature of the terrain crossed, the decomposition of organic matter and the use of detergents. As organic pollution is noticeable when the orthophosphate content is higher than 0.5 mg/L, these waters are polluted [36].

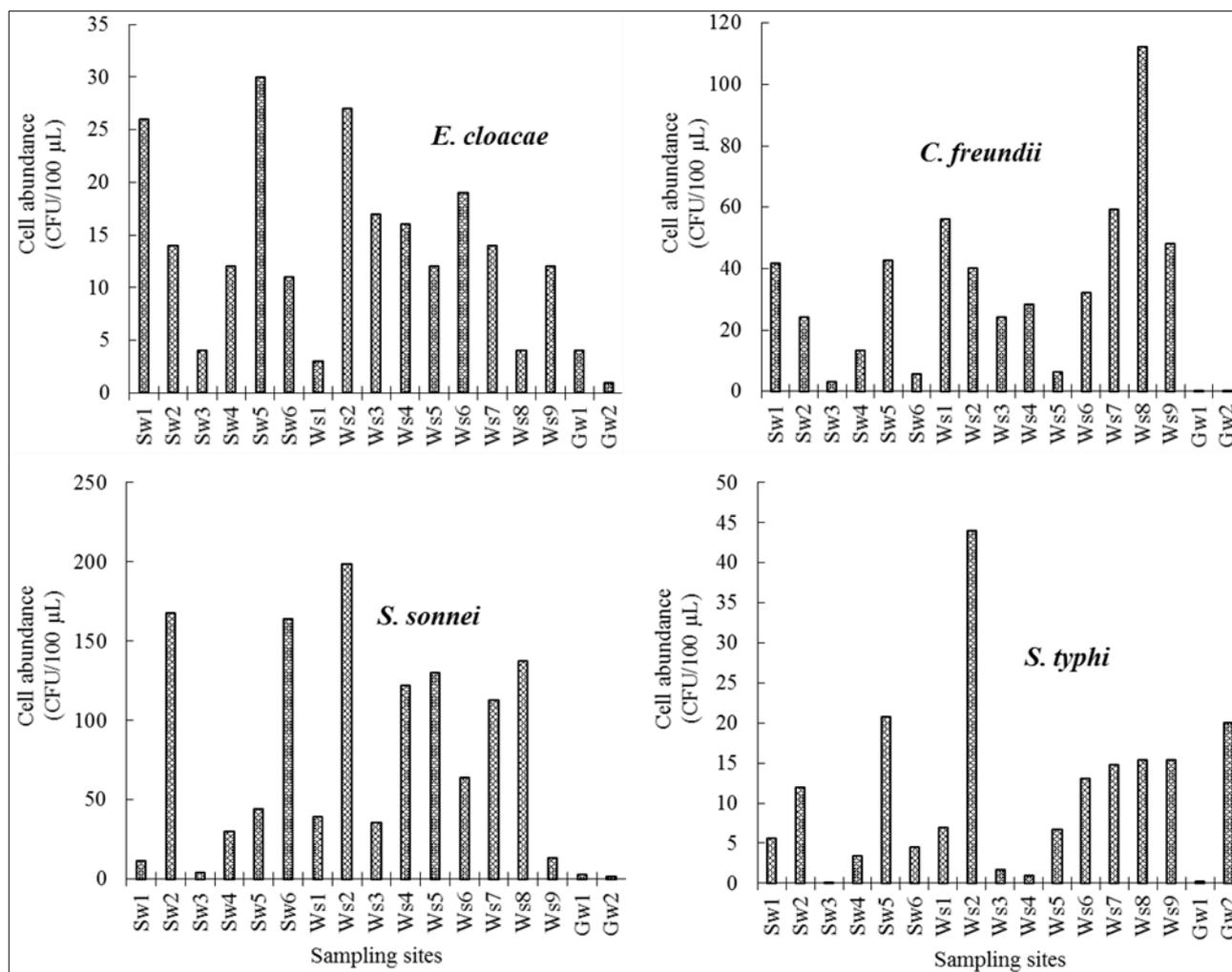
### 3.2. Bacterial abundance

The variation in the abundance of heterotrophic aerobe bacteria (HAB) and Enterobacteriaceae is presented in Fig. 3. In wastewaters samples from the University Hospital Centre (UHC), the abundance of heterotrophic aerobe bacteria (HAB) varied from  $18.4 \times 10^3$  to  $463 \times 10^3$  CFU/100  $\mu\text{L}$  and that of Enterobacteriaceae varied from  $0.95 \times 10^3$  to  $20.8 \times 10^3$  CFU/100  $\mu\text{L}$ . For the wastewaters from the residential quarters, the abundance of heterotrophic aerobe bacteria (HAB) varied from  $60.4 \times 10^3$  to  $212 \times 10^3$  CFU/100  $\mu\text{L}$  and that of Enterobacteriaceae varied from  $0.5 \times 10^3$  to  $17.8 \times 10^3$  CFU/100  $\mu\text{L}$ . In the surface waters, they varied from  $144 \times 10^3$  to  $401 \times 10^3$  CFU/100  $\mu\text{L}$  for HAB and from  $6.5 \times 10^3$  to  $38 \times 10^3$  CFU/100  $\mu\text{L}$  for Enterobacteriaceae. In groundwater sampled, abundance of HAB varied from  $4.7 \times 10^3$  to  $12 \times 10^3$  CFU/100  $\mu\text{L}$  for HAE and from  $0.3 \times 10^3$  to  $0.6 \times 10^3$  for the Enterobacteriaceae (Fig. 3).



**Figure 3** Variation with respect to the sampling sites of the abundance of the total heterotrophic aerobe bacteria (HAB) and Enterobacteriaceae

The mean values of the abundance of cells species are presented on Fig. 4. It is noted *E. cloacae* abundance fluctuated between 1 CFU/100  $\mu$ L and 30 CFU/100  $\mu$ L. The lowest value recorded in springs Gw2 and the highest at wastewater station Sw5 (Fig. 4). For *C. freundii*, its abundance varied between 1 CFU/100  $\mu$ L and 112 CFU/100  $\mu$ L. The lowest value was recorded in springs Gw2 and the highest at surface water station Ws8 (Fig. 4). The abundance of *S. sonnei* ranged from 2 CFU/100  $\mu$ L to 198 CFU/100  $\mu$ L. The lowest value was recorded in the springs Gw2 and the highest value at the surface water station Ws2 (Fig. 4). For *S. typhi*, the abundance ranged from 1 CFU/100  $\mu$ L to 44 CFU/100  $\mu$ L. The lowest value was recorded in GW1 and wastewater station Sw3 and the highest at station Sw5 (Fig. 4).



**Figure 4** Abundance of Enterobacteriaceae species (*E. cloacae*, *C. freundii*, *S. sonnei* and *S. typhi*) isolated in the different sampling points

The presence of these Enterobacteriaceae in the different sampling stations indicate faecal pollution as these species are generally isolated in the stools and urine of people with severe pathologies. The composition of these ecosystems reflects the characteristics of bacteria released by humans, mainly in faeces [52]. Among the isolated Enterobacteriaceae, the species *S. sonnei* had the highest abundance (198 CFU/100  $\mu$ L) amongst all type of water sampled. This may be related to their ability to multiply more rapidly on one hand, and to the presence of environmental factors favourable to their growth on the other hand. According to Chloé [53], the *Shigella* species are of higher relative frequency in the environment than in human faeces and urine.

### 3.3. Antibiotic susceptibility to the considered Enterobacteriaceae

#### 3.3.1. Inhibition diameters

The diameters of inhibition of the antibiotics varied according to the tested bacterial species and the type of water where it was isolated (Table 2). No inhibition diameter was observed against Ciprofloxacin, Ticarcillin, Piperacillin/tazobactam, Norfloxacin, Fosfomycin, Gentamycin, Ofloxacin, Amoxicillin+clavulanic acid and

Sulphamethazole/trimethoprim in the presence of *E. cloacae* species isolated from groundwater. Ticarcillin does not show any inhibition diameter against *C. freundii* species isolated in surface water. However, when this species was isolated in groundwater, the same result was noted in the presence of Amoxicillin, Ticarcillin, Piperacillin/tazobactam, Cefepim, Fosfomycin, Cefuroxim and Sulphamethazole/trimethoprim (Table 2). For *S. sonnei* isolated from groundwater, no inhibition diameter was noted in the presence of Sulphamethazole/trimethoprim, Cefuroxim, Amoxicillin+clavulanic acid, Ofloxacin, Gentamycin, Fosfomycin, Ticarcillin and Piperacillin/tazobactam (Table 2). The same was noted for *S. typhi* isolated from surface water in the presence of Ticarcillin and Piperacillin/tazobactam, and also from groundwater in the presence of Piperacillin/tazobactam, Piperacillin, Fosfomycin, Gentamycin, Cefoxitim, Cefuroxim and Sulphamethazole/trimethoprim (Table 2).

However, it should be noted that some antibiotics have presented the greatest diameters of inhibition to bacterial species depending on the type of water where they are isolated. Against the species isolated in wastewater, the antibiotics with a larger diameter of inhibition are: Imipenem (14.33 mm) in the presence of *E. cloacae*; Sulphamethazole/trimethoprim (19.7 mm) in the presence of *S. sonnei*; and Gentamycin (17.17 mm) in the presence of *S. typhi* (Table 2). For species isolated from groundwater, there are Ceftriaxon (24.50 mm), Gentamycin (23 mm) and Amikacin (22 mm) in the presence of *C. freundii*; and Imipenem (16.50 mm) in the presence of *S. sonnei* (Table 2). With respect to the cells species isolated from surface water, there are Imipenem (18.78 mm) in the presence of *C. freundii*; and Amikacin (17.67 mm) in the presence of *S. sonnei* (Table 2).

**Table 2** Different inhibition diameters of each antibiotic with the different types of water for each bacterial species (resistance (R), intermediate (I) and sensitive (S))

(A) Antibiotics (mcg)	Type of water sampled, bacterial species tested and inhibition diameters (mm)					
	<i>E. cloacae</i>			<i>C. freundii</i>		
	Surface water	Waste- water	Ground- water	Surface water	Waste- water	Ground- water
<b>β-lactams</b>						
AX (30)	6.02±3.3 <sup>R</sup>	8.83±3.13 <sup>R</sup>	10.00±1.4 <sup>R</sup>	7.11±5.64 <sup>R</sup>	7.50±4.4 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>
MEM (10)	7.23±5.35 <sup>R</sup>	10.00±2.1 <sup>R</sup>	10.00±1.4 <sup>R</sup>	15.11±4.6 <sup>R</sup>	10.50±3.7 <sup>R</sup>	10.50±4.9 <sup>R</sup>
TIC (75)	1.66±2.5 <sup>R</sup>	4.67±5.28 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	4.17±5.0 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>
TPZ (40)	2.33±1.9 <sup>R</sup>	3.67±4.59 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	2.56±3.17 <sup>R</sup>	3.00±4.8 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>
PRL (75)	7.21±4.1 <sup>R</sup>	11.33±4.5 <sup>R</sup>	10.50±0.7 <sup>R</sup>	10.00±6.1 <sup>R</sup>	9.17±5.0 <sup>R</sup>	9.50±2.21 <sup>R</sup>
FEP (10)	5.40±2.6 <sup>R</sup>	4.67±5.28 <sup>R</sup>	8.50±0.71 <sup>R</sup>	5.89±7.36 <sup>R</sup>	8.17±4.1 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>
FOX (10)	6.37±4.4 <sup>R</sup>	9.50±1.87 <sup>R</sup>	11.50±0.7 <sup>R</sup>	9.22±5.43 <sup>R</sup>	7.83±1.7 <sup>R</sup>	15.00±0.0 <sup>R</sup>
AMC (30)	4.25±5.2 <sup>R</sup>	10.67±1.5 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	11.11±2.2 <sup>R</sup>	10.33±2.5 <sup>R</sup>	7.50±2.1 <sup>R</sup>
CXM (5)	5.91±3.0 <sup>R</sup>	6.83±3.97 <sup>R</sup>	8.50±0.71 <sup>R</sup>	8.44±7.02 <sup>R</sup>	6.83±3.8 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>
CAZ (30)	6.22±4.2 <sup>R</sup>	10.83±2.6 <sup>R</sup>	9.50±3.54 <sup>R</sup>	9.56±1.24 <sup>R</sup>	10.00±5.6 <sup>R</sup>	13.00±2.83 <sup>R</sup>
IMI (10)	8.22±6.9 <sup>R</sup>	14.33±4.84 <sup>R</sup>	7.50±0.71 <sup>R</sup>	18.78±3.1 <sup>R</sup>	15.67±3.5 <sup>R</sup>	12.50±7.78 <sup>R</sup>
CRO (5)	5.62±3.98 <sup>R</sup>	9.67±1.51 <sup>R</sup>	9.00±0.00 <sup>R</sup>	6.89±6.68 <sup>R</sup>	8.17±1.83 <sup>R</sup>	24.50±0.71 <sup>S</sup>
<b>Quinolones</b>						
OFX (5)	4.61±3.84 <sup>R</sup>	5.67±5.24 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	9.22±7.43 <sup>R</sup>	12.00±2.1 <sup>R</sup>	13.00±5.66 <sup>R</sup>
NOR (10)	5.64±4.51 <sup>R</sup>	9.83±6.52 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	9.22±8.26 <sup>R</sup>	12.00±5.8 <sup>R</sup>	15.50±4.95 <sup>R</sup>
CIP (5)	5.09±4.3 <sup>R</sup>	7.50±5.28 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	7.11±10.6 <sup>R</sup>	9.83±7.44 <sup>R</sup>	19.00±0.00 <sup>R</sup>
<b>Aminoglycosides</b>						
AK (30)	6.65±3.64 <sup>R</sup>	10.00±5.4 <sup>R</sup>	9.00±0.00 <sup>R</sup>	8.56±6.91 <sup>R</sup>	11.67±4.93 <sup>R</sup>	22.00±4.24 <sup>S</sup>
CN (30)	6.14±5.11 <sup>R</sup>	12.50±7.9 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	7.00±9.43 <sup>R</sup>	13.17±5.64 <sup>R</sup>	23.00±4.24 <sup>S</sup>

<b>Sulfonamides+trimethoprim</b>						
FF (30)	3.71±3.15 <sup>R</sup>	7.83±3.92 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	4.78±5.72 <sup>R</sup>	7.50±4.23 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>
F (300)	6.37±4.08 <sup>R</sup>	11.00±2.6 <sup>R</sup>	9.50±0.71 <sup>R</sup>	8.78±5.54 <sup>R</sup>	10.67±2.5 <sup>R</sup>	9.50±3.54 <sup>R</sup>
SXT (25)	5.70±4.43 <sup>R</sup>	9.33±8.38 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	8.00±8.47 <sup>R</sup>	12.00±3.79 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>

Table 2 (continue)

(B) Antibiotics (mcg)	Type of water sampled; bacterial species tested and inhibition diameters (mm)					
	<i>S. sonnei</i>			<i>S. typhi</i>		
	Surface water	Waste-water	Ground-water	Surface water	Waste-water	Ground-water
<b>β-lactams</b>						
AX (30)	6.11±4.01 <sup>R</sup>	11.00±1.55 <sup>R</sup>	10.00±0.0 <sup>R</sup>	4.00±6.06 <sup>R</sup>	7.83±4.71 <sup>R</sup>	10.00±4.2 <sup>R</sup>
MEM (10)	14.44±4.3 <sup>R</sup>	10.33±1.63 <sup>R</sup>	12.00±2.8 <sup>R</sup>	10.22±7.6 <sup>R</sup>	10.83±5.4 <sup>R</sup>	4.50±6.36 <sup>R</sup>
TIC (75)	2.78±5.52 <sup>R</sup>	3.00±3.69 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	1.00±2.45 <sup>R</sup>	5.50±7.78 <sup>R</sup>
TPZ (40)	1.56±3.09 <sup>R</sup>	2.33±4.08 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	3.00±4.65 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>
PRL (75)	12.11±3.89 <sup>R</sup>	10.17±2.14 <sup>R</sup>	7.00±9.90 <sup>R</sup>	4.56±4.56 <sup>R</sup>	8.67±5.13 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>
FEP (10)	5.89±6.37 <sup>R</sup>	9.67±2.28 <sup>R</sup>	3.00±4.24 <sup>R</sup>	4.78±5.93 <sup>R</sup>	6.33±3.44 <sup>R</sup>	6.50±9.19 <sup>R</sup>
IMI (10)	13.67±2.69 <sup>R</sup>	14.83±5.08 <sup>R</sup>	16.50±0.7 <sup>R</sup>	11.11±6.74 <sup>R</sup>	11.17±4.1 <sup>R</sup>	13.50±2.1 <sup>R</sup>
FOX (10)	5.67±4.58 <sup>R</sup>	8.33±4.84 <sup>R</sup>	3.50±4.95 <sup>R</sup>	3.22±4.84 <sup>R</sup>	6.67±3.67 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>
CRO (5)	9.67±4.75 <sup>R</sup>	9.50±2.26 <sup>R</sup>	5.00±7.07 <sup>R</sup>	6.44±7.28 <sup>R</sup>	7.00±4.00 <sup>R</sup>	5.00±7.07 <sup>R</sup>
AMC (30)	10.78±2.3 <sup>R</sup>	8.50±4.89 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	8.22±5.59 <sup>R</sup>	8.33±2.25 <sup>R</sup>	6.50±9.19 <sup>R</sup>
CXM (5)	3.67±4.47 <sup>R</sup>	9.33±3.14 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	1.89±3.95 <sup>R</sup>	6.83±4.88 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>
CAZ (30)	10.11±4.46 <sup>R</sup>	18.33±5.4 <sup>R</sup>	9.50±2.12 <sup>R</sup>	7.89±4.81 <sup>R</sup>	16.17±8.0 <sup>R</sup>	10.00±1.4 <sup>R</sup>
<b>Aminoglycosides</b>						
CIP (5)	15.11±11.0 <sup>R</sup>	8.33±6.74 <sup>R</sup>	9.00±12.7 <sup>R</sup>	12.33±10.1 <sup>R</sup>	8.67±6.28 <sup>R</sup>	4.50±6.3 <sup>R</sup>
OFX (5)	11.89±3.22 <sup>R</sup>	10.50±4.4 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	5.11±8.58 <sup>R</sup>	7.83±4.58 <sup>R</sup>	7.50±10.6 <sup>R</sup>
NOR (10)	16.22±6.28 <sup>R</sup>	8.50±4.32 <sup>R</sup>	7.50±10.6 <sup>R</sup>	9.00±9.33 <sup>R</sup>	9.83±6.85 <sup>R</sup>	13.00±2.8 <sup>R</sup>
<b>Quinolones</b>						
AK (30)	17.67±2.24 <sup>S</sup>	13.50±4.89 <sup>R</sup>	2.50±3.54 <sup>R</sup>	10.00±6.48 <sup>R</sup>	17.00±4.34 <sup>S</sup>	12.50±2.12 <sup>R</sup>
CN (30)	16.11±9.16 <sup>S</sup>	15.17±8.28 <sup>S</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	6.00±9.17 <sup>R</sup>	17.17±8.57 <sup>S</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>
<b>Sulfonamides+trimethoprim</b>						
F (300)	9.89±1.83 <sup>R</sup>	11.33±3.14 <sup>R</sup>	5.00±7.07 <sup>R</sup>	8.00±4.74 <sup>R</sup>	8.83±1.47 <sup>R</sup>	6.00±8.49 <sup>R</sup>
FF (30)	8.00±2.06 <sup>R</sup>	15.33±8.29 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	14.33±27.58 <sup>R</sup>	8.67±2.50 <sup>R</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>
SXT (25)	6.33±7.65 <sup>R</sup>	19.17±5.49 <sup>S</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>	7.00±10.50 <sup>R</sup>	15.67±8.21 <sup>S</sup>	0.00±0.00 <sup>R</sup>

Values represent mean value ±standard deviation of inhibition diameter of each antibiotic used (mm) for *E. cloacae* and *C. freundii* (A); and for *S. sonnei* and *S. typhi* (B). R: Resistant; S: sensitive; AX: Amoxicillin; MEM: Meropenem; CIP: Ciprofloxacin; TIC: Ticarcillin; TPZ: Piperacillin/Tazobactam; F: Nurofurantoin; CRO: Ceftriaxon; NOR: Norfloxacin; PRL: Piperacillin; FEP: Cefepim; FF: Fosfomycin; CN: Gentamycin; FOX: Cefoxitim; OFX: Ofloxacin; AMC: Amoxicillin+clavulanic acid; AK: Amikacin; CXM: Cefuroxim; CAZ: Ceftazidim; IMI: Imipenem; SXT: Sulfamethazole/trimethoprim

All the cells tests were harvest from the stationary growth phase. The differences noted in the inhibition diameters could not be linked to specific the metabolism to the strain of each bacterial species. Main relation exists between the bacterial metabolism and the antibiotic activity. Stokes et al. [54] describe three postulates that collectively define antibiotic efficacy in the context of bacterial metabolism: a)-antibiotics alter the metabolic state of bacteria, which contributes to the resulting death or stasis; b)-the metabolic state of bacteria influences their susceptibility to antibiotics; and c)-antibiotic efficacy can be enhanced by altering the metabolic state of bacteria.

The bacterium strains *C. cloacae* isolated from the groundwater is the only which appeared sensitive against 3 of the antibiotics tested, including one  $\beta$ -Lactam (Ceftriaxon) and 2 quinolones (Amikacin and Gentamycin). All the bacteria strains isolated in wastewater and surface water were resistant to all the antibiotics tested (Table 2). Environment is a vast source of new and emerging resistance genes, due to the links sometimes between the environment and gene mobilization [55, 56]. The acquisition of genes in water habitats and the development of antibiotic resistances can occur. According to Lupo et al. [57], the acquisition of heterologous genes by lateral transfer largely facilitates the adaptive evolution of bacteria, especially under strong selective pressures. This transfer of exogenous DNA in bacteria may be mediated by plasmids, phages, transposons, genomic islands, or captation of free DNA by transformation [57]. Sengelov and Sorensen [58] indicated that in many kinds of water, plasmid transfer from a donor to a recipient cell occur, even at a low frequency, and several factors could, not only influence, but also promote gene transfer among bacteria in water environment [59].

### 3.3.2. Percentage of cells inhibition

Antimicrobial susceptibility testing showed high resistance (74.51%) of isolated Enterobacteriaceae (*E. cloacae*, *C. freundii*, *S. sonnei* and *S. typhi*) against several antibiotics that have been used. This resistance varied from one antibiotic family to another and this was observed through the percentages of inhibition (Table 3). According to Pierre [60], Enterobacteriaceae are the bacteria that are multi-resistant to antibiotics.

In the  $\beta$ -lactam family which represents 60% of antibiotics used in medicine [61] all strains of isolated *E. cloacae* at the 17 sites were fully resistant to 8 antibiotics. The *C. freundii* strains were fully resistant to 8 antibiotics tested and sensitive to one (Ceftriaxon). *S. sonnei* were fully resistant to 8 antibiotics and sensitive to one (Ceftazidim). With *S. typhi*, isolated strains were fully resistant to 6 antibiotics and sensitive to two (Meropenem and Ceftazidim) (Table 3).

The low toxicity of  $\beta$ -lactams and the broad spectrum of action of some of them make  $\beta$ -lactams the most prescribed antibiotic drug class and propagation of resistance constitutes therefore a major clinical concern. It has been indicated that the bacterial resistance against  $\beta$ -lactams is related to the usage of the drug in clinics, both because of selection of resistant bacteria and by promoting the mobilization of the genes responsible for such resistances [62]. Similarly, the presence of antibiotics in some water environments could promote the selection of antibiotic resistant strains [63].

According to Sophie [64], Enterobacteriaceae are naturally resistant to  $\beta$ -lactam antibiotics because they produce  $\beta$ -lactamases to inhibit antibiotic; this would explain the high percentage of resistance obtained. The sensitivity rate recorded with Ceftazidim and Cefuroxim antibiotics (32% and 17.8%) would be due to the fact that the resistance mechanism of *S. typhi* and *S. sonnei* is acquired and therefore these species inhibit the antibiotics very little.

For the 2 aminoglycosids tested, 5.88% of the strains of each isolated species were resistant to gentamycin. 88.24% of *E. cloacae* and *S. sonnei* strains, 94.12% of *C. freundii* and *S. typhi* were sensitive to this antibiotic. The proportion of sensitive and resistant strains towards the Amikacin also varied (Table 3). The aminoglycosides primarily act by binding to the aminoacyl site of 16S ribosomal RNA within the 30S ribosomal subunit, leading to misreading of the genetic code and inhibition of translocation. They inhibit protein synthesis and contain as a portion of the molecule an amino-modified glycoside [11, 65]. The aminoglycoside modifying enzymes produced by the bacteria would have reduced affinity of aminoglycoside molecule, impede binding to the 30S ribosomal subunit, and provide extended spectrum resistance to aminoglycosides [11, 66]. Aminoglycosides are antibiotics that are naturally sensitive to Enterobacteriaceae [60], which explains the high sensitivity rate obtained.

Of the 3 quinolones tested, all strains of *E. cloacae* and *C. freundii* isolated from the 17 sites were fully resistant to Norfloxacin and of Ofloxacin. The proportion of strains of the 4 isolated species and which were sensitive to quinolones varied between 5.88 and 24.54% (Tables 3). The antibiotic that showed slight sensitivity in all species was Ciprofloxacin. Gaudreau et al. [67] showed that Enterobacteriaceae, specifically *Shigella* develop resistance to quinolones. Rodriguez-Martinez et al. [68] indicated that one of the fluoroquinolones resistance genes are of the *qnr* family. *qnr* genes encode proteins binding the bacterial DNA gyrase, thus preventing the interaction of the antibiotic with its target. Generally, the presence of these acquired genes does not confer a high level of fluoroquinolones resistance, but provides a selective

advantage in the presence of these drugs, even at low concentrations [68]. Another acquired fluoroquinolones resistance mechanism is represented by efflux mechanisms in which the *qepA* gene, encodes efflux pump [25, 69]. It has been recovered from the metagenome of river sediments impacted by wastewaters [70]. According to Sophie [64], the decrease in susceptibility is due to the decrease in permeability and enzymatic inactivation; this could explain the low rate of susceptibility to quinolones observed.

**Table 3** Percentage of cells resistance (R), intermediate (I) and sensitive (S) by antibiotics tested

Antibiotics family (mcg)	Percentage of inhibition of antibiotics (%) and bacterial species tested											
	<i>E. cloacae</i>			<i>C. freundii</i>			<i>S. sonnei</i>			<i>S. typhi</i>		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
	<b>β-lactams</b>											
AX (30)	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
MEM (10)	100	0	0	82.23	17.77	0	94.12	5.88	0	88.23	5.88	5.88
TIC (75)	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
PRL (75)	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
TPZ (40)	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
CRO (5)	100	0	0	94.11	0	5.89	100	0	0	94.11	5.89	0
FEP (10)	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
CXM (5)	94.11	5.89	0	100	0	0	100	0	0	88.23	11.77	0
FOX (10)	88.24	11.76	0	100	0	0	100	0	0	94.11	5.89	0
CAZ (30)	100	0	0	100	0	0	76.47	0	23.53	76.47	0	23.53
IMI (10)	82.35	17.65	0	88.24	11.76	0	94.11	5.89	0	100	0	0
<b>Aminoglycosides</b>												
CN (30)	5.88	5.88	88.24	5.88	0	94.12	5.88	5.88	88.24	5.88	0	94.12
AK (30)	58.88	5.88	35.29	52.94	0	47.06	35.29	11.76	52.94	41.17	5.88	52.94
<b>Quinolones</b>												
CIP (5)	88.24	0	11.76	76.47	5.88	17.65	58.82	17.64	24.54	76.47	17.65	5.88
NOR (10)	100	0	0	100	0	0	94.11	0	5.89	88.24	0	11.76
OFX (5)	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
<b>Sulfonamides+Trimethoprim and others</b>												
F (300)	88.24	0	11.76	100	0	0	94.11	0	5.89	100	0	0
FF (30)	88.24	0	11.76	100	0	0	82.35	0	17.65	100	0	0
SXT (25)	70.58	4.88	23.54	70.58	11.76	17.64	70.58	11.76	17.64	76.47	11.76	11.76

AX: Amoxicillin; MEM: Meropenem; CIP: Ciprofloxacin; TIC: Ticarcillin; TPZ: Piperacillin/Tazobactam; F: Nurofurantoin; CRO: Ceftriaxone; NOR: Norfloxacin; PRL: Piperacillin; FEP: Cefepim; FF: Fosfomycin; CN: Gentamycin; FOX: Cefoxitim; OFX: Ofloxacin; AMC: Amoxicillin+clavulanic acid; AK: Amikacin; CXM: Cefuroxim; CAZ: Ceftazidim; IMI: Imipenem; SXT: Sulfamethazole/trimethoprim

For the 3 Sulfonamides+Trimethoprim tested, all strains of *C. freundii* and *S. typhi* isolated were resistant to Nurofurantoin and Fosfomycin. The proportion of resistant *E. cloacae* and *S. sonnei* strains was 88.24% and 94.11 respectively against Nurofurantoin, and 88.24 and 82.35% against Fosfomycin (Table 3). The proportion of strains sensitive to one of the 3 antibiotics of this family varied from 11.76 to 23.54% for *E. cloacae*, from 0 to 17.64% for *C. freundii*, from 5.89 to 17.65% for *S. sonnei* and from 0 to 11.76% for *S. typhi* (Table 3). Sensitivity was noted in Sulfamethazole/trimethoprim against all species (Table 3). Sulfonamides are the antibiotics to which bacteria are generally sensitive; however, in this study there was a high level of resistance. The target of sulfonamides in bacteria is

the enzyme dihydropteroate synthase. It is involved in the bacterial synthesis of the vital coenzyme, folic acid. Sulphonamides compete with the normal substrate of the enzyme, *p*-aminobenzoic acid, at the formation of dihydropteroate, which after the addition of glutamic acid gives folic acid [71]. The decrease in membrane permeability or to the acquisition of resistant plasmids or transposons could contribute to the loss of sensitivity [28].

Many mechanisms that bacteria exhibit to protect themselves from antibiotics can be classified into four basic types [56, 57, 72]: a)-the antibiotic modification, b)-the protection of the target of antibiotic action by preventing the antibiotic from entering the cell or pumping it out faster than it can flow in, c)-the alterations in the primary site of action, and d)-the production of an alternative target (usually an enzyme) that is resistant to inhibition by the antibiotic.

Multidrug-resistance has been noted in this study (Tables 2 and 3). It is known that environmental microorganisms can become multidrug-resistant. Bacteria are unique in that they acquire genes from the parent microorganism during division (vertical gene transfer), but can also acquire genes from the community at large (horizontal gene transfer) [73, 74].

### 3.3.3. Comparison of the inhibition diameters of antibiotics

The Kruskal-Wallis test was performed to compare inhibition diameters of each antibiotic of the bacterial species isolated in all the considered types of water.

**Table 4** P-values of the Kruskal-Wallis test comparing the antibiotics inhibition diameters amongst bacterial species isolated in all the types of water sampled

Antibiotics (mcg)	Bacterial species			
	<i>E. cloacae</i>	<i>C. freundii</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>S. typhi</i>
AX (30)	0.263	0.224	0.027*	0.295
MEM (10)	0.199	0.141	0.161	0.441
CIP (5)	0.173	0.267	0.392	0.559
TIC (75)	0.281	0.045*	0.506	0.118
TPZ (40)	0.488	0.575	0.647	0.141
F (300)	0.385	0.953	0.296	0.877
CRO (5)	0.261	0.078	0.641	0.979
NOR (10)	0.189	0.497	0.113	0.821
PRL (75)	0.951	0.648	0.679	0.128
FEP (10)	0.909	0.283	0.178	0.910
FF (30)	0.098	0.260	0.019*	0.123
CN (30)	0.151	0.100	0.122	0.045*
FOX (10)	0.655	0.030*	0.310	0.205
OFX (5)	0.101	0.863	0.053	0.555
AMC (30)	0.032*	0.227	0.071	0.994
AK (30)	0.333	0.078	0.100	0.078
CXM (5)	0.255	0.221	0.025*	0.052
CAZ (30)	0.713	0.172	0.021*	0.276
IMI (10)	0.021*	0.098	0.675	0.709
SXT (25)	0.250	0.151	0.008**	0.203

\*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; AX: Amoxicillin; MEM: Meropenem; CIP: Ciprofloxacin; TIC: Ticarcillin; TPZ: Piperacillin/Tazobactam; F: Nurofurantoin; CRO: Ceftriaxon; NOR: Norfloxacin; PRL: Piperacillin; FEP: Cefepim; FF: Fosfomycin; CN: Gentamycin; FOX: Cefoxitim; OFX: Ofloxacin; AMC: Amoxicillin+clavulanic acid; AK: Amikacin; CXM: Cefuroxim; CAZ: Ceftazidim; IMI: Imipenem; SXT: Sulfamethazole/trimethoprim

It is noted a significant difference ( $P < 0.05$ ) of the inhibition diameters of the antibiotics Imipenem and Amoxicillin+clavulanic acid for *E. cloacae*, Ticarcillin and Cefoxitim for *C. freundii*, Amoxicillin, Fosfomycin, Cefuroxim, Ceftazidim and Sulfamethazole/trimethoprim for *S. sonnei*, and Gentamycin for *S. typhi* (Table 4).

The U test of Mann-Whitney was performed to compare the antibiotic inhibition diameters of bacterial species isolated between different types of water taken 2 by two, against the 9 antibiotics that stood out from the Kruskal test. The result is presented in Table 5. It is noted a significant difference ( $P < 0.05$ ) between the inhibition diameters of Imipenem for *E. cloacae* isolated in surface water and groundwater on one hand, and in wastewater and groundwater on the other hand. The same observation was also made between the inhibition diameters of Amoxicillin+acid clavulanic for this bacterium when isolated in wastewater and groundwater (Table 5). A difference in the behavior of *C. freundii* strains isolated from wastewater and groundwater, as well as from surface water and wastewater, was observed with respect to Ticarcillin and Cefoxitin, respectively (Table 5). Likewise, a difference in susceptibility of the *S. sonnei* and *S. typhi* strains depending on the biotopes is also noted with respect to Amoxicillin, Fosfomycin, Cefuroxim, Cefotaxim and Sulfamethoxazole/trimethoprim on the one hand, and Gentamycin on the other hand (Table 5).

Significant differences ( $P < 0.05$ ) in the antibiotics susceptibility appeared for 7 antibiotics between bacterial strains isolated from wastewater and those from groundwater, for 6 antibiotics between bacterial strains isolated from surface water and those from wastewater, and for 3 antibiotics between bacterial strains isolated from surface water and those from groundwater (Table 5). Most strains isolated from groundwater respond to antibiotics differently from those isolated from wastewater. The difference observed in the bacterial susceptibility against antibiotics with respect to the type of water could be linked to the abiotic properties of the water medium. Signe et al. [75] noted some significant correlations between some physico-chemical characteristics of water and the inhibition diameters of antibiotics. Esh et al. [29] noted that the pH of the water medium harboring bacterial cell significantly impacts on their antimicrobial susceptibility. It has thus been suggested that the regulation of some bacterial genes would be regulated by complex mechanisms including interactions of some abiotic water characteristics [29, 75].

**Table 5** P-values of the Mann-Whitney test comparing the antibiotic inhibition diameters of bacterial species isolated between different types of water taken 2 by two

Antibiotics (mcg)	Types of water taken 2 by two and bacterial species considered		
	Surface water and Wastewater	Wastewater and Groundwater	Surface water and Groundwater
<b><i>E. cloacae</i></b>			
IMI (10)	0.070	0.044*	0.030*
AMC (30)	0.067	0.042*	0.083
<b><i>C. freundii</i></b>			
TIC (75)	0.023*	0.252	1.000
FOX (10)	0.120	0.038*	0.032*
<b><i>S. sonnei</i></b>			
AX (30)	0.040*	0.042*	0.134
FF (30)	0.057	0.042*	0.032*
CXM (5)	0.025*	0.039*	0.275
CAZ (30)	0.010*	0.064	0.632
SXT (25)	0.006**	0.044*	0.273
<b><i>S. typhi</i></b>			
CN (30)	0.034*	0.317	0.367

\*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; IMI: Imipenem; AMC: Amoxicillin+ clavulanic acid; TIC: Ticarcillin; FOX: Cefoxitin; AX: Amoxicillin; FF: Fosfomycin; CXM: Cefuroxim; CAZ: Cefotaxim; SXT: Sulfamethoxazole/trimethoprim; CN: Gentamycin

In addition, the astounding number of bacterial cells in the water systems provide an immense genetic variability, and opportunities for mutations, rearrangements and horizontal gene transfer. Thus, new resistance factors likely appear regularly. Resistance factors are generally associated with some fitness cost. This cost may be particularly large for genes providing novel resistance functions for a bacterium, as their expression may not be sufficiently fine-tuned and

their products may interfere with other cellular functions. Thus, novel resistance genes will be selected against unless there is a relatively strong selection pressure to maintain them [76, 77].

---

#### 4. Conclusion

The Enterobacteriaceae *E. cloacae*, *C. freundii*, *S. sonnei* and *S. typhi* isolated from waster, surface water and groundwater in the Yaounde town are resistant to  $\beta$ -lactams, quinolones and sulfonamides, and sensitive to aminoglycosides. The inhibition diameters of antibiotic and the bacterial susceptibility against antibiotics with respect to the type of water. The susceptibility to antibiotics of Enterobacteriaceae may be linked to a complex mechanism and would be impacted by many factors. This may include the cells intrinsic properties as well as the characteristics of the environment harboring them. The regulation of some bacterial genes acting against antibiotics would be controlled by complex mechanisms including interactions of some abiotic water characteristics. It appears that the multiple uses of antibiotics in hospitals and probably in human communities can cause multidrug resistance for bacteria. This represents a health risk for humans and the aquatic environment. A control should be established in their use in hospitals and in homes, as well as tertiary treatment at the outlet of wastewater treatment plants.

---

#### Compliance with ethical standards

##### *Acknowledgments*

A Manouore Njoya, Y Poutoum and EB Mouafo Tamnou carried out the water sampling in the field. CS Metsopkeng, JS Heth, OV Noah Ewoti, A Tamsa Arfao and LM MOUNGANG carried out physicochemical and bacteriological analysis as well as data analysis. S Chinche Belengfe improved the english language of the manuscript. PA Nana, E Masseret and T Sime-Ngando supplied some reagents and laboratory equipment and were also involved in the manuscript writing. All the study was supervised by M Nola.

##### *Disclosure of conflict of interest*

None conflict of interest to declare. The manuscript has not been previously submitted or published in other journal and is not being considered for publication elsewhere.

---

#### References

- [1] Savadago M, Boubkeri Y. Isolation and study of some pathogenic enterobacteria in the wastewater of Oued Boumerzoug in Constantine. [Master in General Microbiology and Molecular Biology of Microorganisms]. ALGERIE: University of Mentouri Brothers Constantine. 2016.
- [2] Galvin S, Boyle F, Hickey P, et al. Enumeration and characterization of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* bacteria in effluent from municipal, hospital, and secondary treatment facility sources. *Applied and Environmental Microbiology*. 2010; 76(14): 4772-4779.
- [3] Harris S, Morris C, Morris D, et al. Antimicrobial resistant *Escherichia coli* in the municipal wastewater system: Effect of hospital effluent and environmental fate. *Science of the Total Environment*. 2014; 468 à 469(0): 1078-1085.
- [4] Garcia-Armisen T, Vercammen K, Passerat J, et al. Antimicrobial resistance of heterotrophic bacteria in sewage contaminated rivers. *Water Research*. 2011; 45(2): 788-796.
- [5] Garcia-Armisen T, Anzil A, Cornelis P, et al. Identification of antimicrobial resistant bacteria in rivers: insights into the cultivation bias. *Water Research*. 2013; 47(14): 4938-4947.
- [6] Sidrach-Cardona R, Hijosa-Valsero M, Marti E, et al. Prevalence of antibiotic-resistant fecal bacteria in a river impacted by both an antibiotic production plant and urban treated discharges. *Science of the Total Environment*. 2014; 488–489: 220-227.
- [7] Hijosa-Valsero M, Fink G, Schlusener MP, et al. Removal of antibiotics from urban wastewater by constructed wetland optimization. *Chemosphere*. 2011; 83(5): 713-719.
- [8] Sidrach-Cardona R, Bécares E. Fecal indicator bacteria resistance to antibiotics in experimental constructed wetlands. *Ecological Engineering*. 2013; 50: 107-111.

- [9] Kahne D, Leimkuhler C, Lu W, et al. Glycopeptide and lipoglycopeptide antibiotics. *Chemical Reviews*. 2005; 105(2): 425-448.
- [10] Yoneyama H, Katsumata R. Antibiotic resistance in bacteria and its future for novel antibiotic development. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2006; 70(5): 1060-1075.
- [11] Kapoor G, Saigal S, Elongavan A. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for Clinicians. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*. 2017; 33(3): 300-305.
- [12] Li J, Xie S, Ahmed S, et al. Antimicrobial activity and resistance: Influencing factors. *Frontiers in Pharmacology*. 2017; 8: 364-372.
- [13] Brauner A, Fridman O, Gefen O, et al. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nature Reviews Microbiology*. 2016; 14(15): 320–330.
- [14] CDC (Centers for diseases Control and prevention). About antibiotic resistance [Internet]. 2021 [Cited 2021 May 19].
- [15] Toukam M, Lyonga EE, Assoumou MCO, et al. Quinolone and fluoroquinolone resistance in *Enterobacteriaceae* isolated from hospitalised and community patients in Cameroon. *Journal of Medicine and Medical Sciences*. 2010; 1(10): 490-494.
- [16] Gniadkowski M. Evolution of extended-spectrum beta-lactamases by mutation. *Clinical Microbiology and Infectious*. 2008; 14(1): 11-32.
- [17] Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2010; 74(3): 417-433.
- [18] Marathe R, Guan Z, Anandalakshmi R, et al. Study of *Arabidopsis thaliana* resistome in response to cucumber mosaic virus infection using whole genome microarray. *Plant Molecular Biology*. 2004; 55(4): 501-520.
- [19] Beutler B, Crozat K, Koziol JA, et al. Genetic dissection of innate immunity to infection: the mouse cytomegalovirus model. *Current Opinion in Immunology*. 2005; 17(1): 36-43.
- [20] Wright Gerard D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nature Reviews Microbiology*. 2007; 5(3): 175-186.
- [21] Ogawara HN, Kawamura T, Kudo KI, et al. Distribution of  $\beta$ -lactamases in Actinomycetes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1999; 435(12): 3014-3017.
- [22] Roberts S, Zembower T. Global increases in antibiotic consumption: a concerning trend for WHO targets. *Lancet Infectious Diseases*. 2021; 21(1): 10-11.
- [23] D'Costa VM, King CE, Kalan L, et al. Antibiotic resistance is ancient. *Nature*. 2011; 477(7365): 457-461.
- [24] Kulkarni HM, Nagaraj R, Jagannadham MV. Protective role of *E. coli* outer membrane vesicles against antibiotics. *Microbiology Research*. 2015; 181: 1-7.
- [25] Li XZ, Plesiat P, Nikaido H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram negative bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*. 2015; 28(2): 337-418.
- [26] Dyar OHNQ, Trung NW, Phuc HD, et al. High prevalence of antibiotic resistance in commensal *Escherichia coli* among children in rural Vietnam. *BMC Infectious Diseases*. 2012; 12(92): 92-99.
- [27] Machado E, Coque TM, Cantón R, et al. Commensal *Enterobacteriaceae* as reservoirs of extended spectrum  $\beta$ -lactamases, integrons, and sulgenes in Portugal. *Antimicrobials Resistance and Chemotherapy*. 2013; 4(80): 1-7.
- [28] Chelkia H, Gueriani A. Abiotic factors and bacterial sensitivity/resistance to antibiotics: impact of pH and salinity. [Master in Biological Sciences]. Bouira : AkliMohand Oulhadj-Bouira University. 2019.
- [29] Eheth JS, Lontsi DC, Nana PA, et al. Less effect of well physicochemical properties on the antimicrobial susceptibility *Pseudomonas aeruginosa* isolated in equatorial region of Central Africa. *Applied Water Science*. 2019; 9: 30-38.
- [30] WHO (World Health Organization). Global water, sanitation and hygiene: annual report 2018 [Internet]. 2019 License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO [cited 2021 June 15].
- [31] Magana-Arachchi DN, Wanigatunge RP. Ubiquitous waterborne pathogens. *Waterborne Pathogens*. 2020; 15-42.

- [32] Cabral JPS. Water Microbiology: Bacterial pathogens and water. *International Journal Environmental Research and Public Health*. 2010; 7(10): 3657–3703.
- [33] Saxena G, Bharagava RN, Kaithwas G, et al. Microbial indicators, pathogens and methods for their monitoring in water environment. *Journal of Water and Health*. 2015; 13(2): 319-339.
- [34] Hayward C, Ross KE, Brown MH, et al. Water as a source of antimicrobial resistance and healthcare-associated infections. *Pathogens*. 2020; 9(8): 667.
- [35] Ouguéné ELM. The city of Yaounde: an active linguistic volcano. *Sens-Dessous*. 2018; 1(21): 91-103.
- [36] Rodier J, Legube B, Merlet N, et al. Water analysis: natural water, waste water, sea water. 9<sup>th</sup> ed. Paris: Technical and engineering, Dunod. 2009.
- [37] APHA (American Public Health Association). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22<sup>th</sup> ed. Washington, DC. 2012.
- [38] Grohs P, Tillecovidin B, Caumont-Prim A, et al. Comparison of five media for detection of extended-spectrum Beta-Lactamase by use of the wasp instrument for automated specimen processing. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013; 51(8): 2713-2716.
- [39] Adam Salim WI. Contamination of drinking water by coliform bacteria in Kassala City-Sudan. [Master Science in Microbiology]. Khartoum: University of Khartoum. 2002.
- [40] Sereia MJ, Perdoncini MRFG, Março PH, et al. Techniques for the evaluation of microbiological quality in honey: Honey Analysis, Vagner de Alencar Arnaut de Toledo, IntechOpen [Internet]. 2017.
- [41] Chouhan S. Recovery of *Salmonella* and *Shigella* isolates from drinking water. *European Journal of Experimental Biology*. 2015; 5(7): 49-61.
- [42] Mahagamage MGYL, Pathirage MVSC, Manage PM. Contamination status of *Salmonella* spp., *Shigella* spp. and *Campylobacter* spp. in surface and groundwater of the Kelani river basin, Sri Lanka. *Water*. 2020; 12(8): 2187.
- [43] Kaiser G. Isolation and Identification of Enterobacteriaceae and *Pseudomonas*, Part 1 [Internet]. 2021 [cited 2021 May 24].
- [44] Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, et al. Bergey's Manual of determinative bacteriology. 9<sup>th</sup> ed. Lippincott: Williams and Wilkins. 2000.
- [45] Soussy CJ, Bonnet R, Caron F, et al. Antibigram Committee of the French Microbiology Society [Internet]. 2012 [cited 2021 March 25].
- [46] Abulhamd A. Genetic diversity and antimicrobial susceptibility of motile aquatic Aeromonads. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 2010; 1(1): 90-95.
- [47] Jean-Pierre B, Caron F, Cattoen C, et al. Antibigram Committee of the French Microbiology Society [Internet]. 2020 [cited 2021 April 21st].
- [48] Merhabi F, Amine H, Halwani J. Assessment of the surface water quality of the Kadicha River. *Journal of Librarianship and Information Science*. 2019; 20(1): 10-34.
- [49] Balloy MP, Katond JP, Hanocq P. Assessment of the physico-chemical and bacteriological quality of well water in the informal settlement of Luwuwoshi (DR Congo). *Tropicicultura*. 2019; 37(2): 627-641.
- [50] Diane AMY, Ange AT, Bertrand ZZ, et al. Evaluation of the physico-chemical and bacteriological quality of groundwater and health risks in some districts of Yaounde VII, Cameroon. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 2020; 14(5): 1902-1920.
- [51] Noah OVE, Mougang LM, Djeala RM, et al. An evaluation of the abundance dynamics of some sporulating bacteria in the rainwater of the city of Yaounde (Central Africa). *Cameroun Journal of Biology and Biochemical Sciences*. 2021; 29(2): 1-15.
- [52] Bertrand X. Multi-antibiotic resistant bacteria in wastewater systems: evaluation of the role of the wastewater system in the epidemiology of ESBL producing *Escherichia coli*. ANSES – Research Papers. Health, Environment, Work, ANSES 2018. HAL Id: anses-01692101.
- [53] Chloé B. Shigellosis: a new STI? [Doctorate in Medicine]. France: University of Bordeaux. 2019.
- [54] Stokes JM, Lopatkin AJ, Lobritz MA, et al. Bacterial metabolism and antibiotic efficacy. *Cell Metabolism*. 2019; 30(2): 251-259.

- [55] Perron GG, Whyte L, Turnbaugh PJ, et al. Functional characterization of bacteria isolated from ancient arctic soil exposes diverse resistance mechanisms to modern antibiotics. *PLoS ONE*. 2015; 10(3): 533-547.
- [56] Perry J, Waglechner N, Wright G. The prehistory of antibiotic resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2021; 6(6): 197-208.
- [57] Lupo A, Coyne S, Berendonk TU. Origin and evolution of antibiotic resistance: the common mechanisms of emergence and spread in water bodies. *Frontiers in Microbiology*. 2012; 3(18): 1-13.
- [58] Sengelov G, Sorensen SJ. Methods for detection of conjugative plasmid transfer in aquatic environments. *Current Microbiology*. 1998; 37(4): 274-280.
- [59] Taylor NG, Verner-Jeffreys DW, Baker-Austin C. Aquatic systems: maintaining, mixing and mobilizing antimicrobial resistance? *Trends in Ecology and Evolution*. 2011; 26(6): 278-284.
- [60] Pierre P. Multiresistant bacteria in the environment: research in the effluents of the city of Toulouse. [Doctorate in Pharmacy]. France: University of Limoges. 2011.
- [61] Ayad QMA. Antibiotic resistance in pre-hospital urban water considered in a hydrological continuum. [Dissertation in waterborne pathogens -Health and Environment]. France: University of Montpellier. 2017.
- [62] Bush K, Fisher JF. Epidemiological expansion, structural studies, and clinical challenges of new beta-lactamases from gram- negative bacteria. *Annual Review of Microbiology*. 2011; 65: 455-478.
- [63] Pérez-Parada A, Aguera A, Gomez-Ramos Mdel M, et al. Behavior of amoxicillin in wastewater and river water: identification of its main transformation products by liquid chromatography/electrospray quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2011; 25(6): 731-742.
- [64] Sophie Z. Bacterial resistance to antibiotics: occurrence and control strategies. [Doctorate in Pharmacy]. France: University of Limoges. 2014.
- [65] Mingeot-Leclercq MP, Glupczynski Y, Tulkens PM. Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1999; 43(4): 727-737.
- [66] Strateva T, Yordanov D. *Pseudomonas aeruginosa* - A phenomenon of bacterial resistance. *Journal of Medical Microbiology*. 2009; 58(9): 1133-1148.
- [67] Gaudreau C, Pilon PA, Cornut G, et al. *Shigella flexneri* with Ciprofloxacin resistance and reduced Azithromycin susceptibility. *Emerging Infectious Diseases*. 2016; 22(11): 2016-2018.
- [68] Rodriguez-Martinez JM, Cano ME, Velasco C, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2011; 17(2): 149-182.
- [69] Perichon B, Courvalin P, Galimand M. Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2007; 51(7): 2464-2469.
- [70] Cummings DE, Archer KF, Arriola DJ, et al. Broad dissemination of plasmid-mediated quinolone resistance genes in sediments of two urban coastal wetlands. *Environmental Science and Technology*. 2011; 45(2): 447-454.
- [71] Ola Sköld. Sulfonamides and trimethoprim. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2010; 8(1): 1-6.
- [72] Hawkey PM. The origins and molecular basis of antibiotic resistance. *BMJ*. 1998; 317(7159): 657-660.
- [73] Aminov RI. Horizontal gene exchange in environmental microbiota. *Frontiers in Microbiology*. 2011; 2: 158-177.
- [74] Skippington E, Ragan MA. Lateral genetic transfer and the construction of genetic exchange communities. *FEMS Microbiology Reviews*. 2011; 35(5): 707-735.
- [75] Signe JM, Lontsi CD, Njoya AM, et al. Assessment of the potential effect of some streams properties on the isolated *Aeromonas hydrophila* strains susceptibility against some  $\beta$ -Lactams and Sulfamids. *Research in Biotechnology*. 2015; 6(5): 33-44.
- [76] Kallmeyer J, Pockalny R, Adhikari RR. Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*. 2012; 109(40): 16213-16216.
- [77] Bengtsson-Palme J, Kristiansson E, Larsson DGJ. Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*. 2018; 42(1): 68-80.

# Journal of Advances in Microbiology Research



E-ISSN: 2709-944X  
P-ISSN: 2709-9431  
JRM 2022; 3(2): 34-46  
© 2022 JAMR  
[www.microbiojournal.com](http://www.microbiojournal.com)  
Received: 26-05-2022  
Accepted: 29-06-2022

**Awawou Manouore Njoya**  
University of Yaounde 1, Faculty of  
Sciences, Laboratory of Hydrobiology and  
Environment, P.O. Box 812 Yaounde,  
Cameroon

**Jean Samuel Eheth**  
University of Yaounde 1, Faculty of  
Sciences, Laboratory of Hydrobiology and  
Environment, P.O. Box 812 Yaounde,  
Cameroon

**Yves Poutoum Yogne**  
University of Yaounde 1, Faculty of  
Sciences, Laboratory of Hydrobiology and  
Environment, P.O. Box 812 Yaounde,  
Cameroon

**Claire Stéphane Metsopkeng**  
University of Yaounde 1, Faculty of  
Sciences, Laboratory of Hydrobiology and  
Environment, P.O. Box 812 Yaounde,  
Cameroon

**Cristina-Veronica Moldovan**  
Department of Biology, Alexandru Ioan  
Cuza University of Iasi, 11 Carol I  
Boulevard, RO, Iasi, Romania.

**Sylvie Chinche Belengfe**  
Department of Fisheries and Aquatic  
Resources Management, Faculty of  
Agriculture and Veterinary Medicine,  
University of Buea, Cameroon.

**Laure Ngando**  
Laboratory of Bacteriology, Centre Pasteur  
of Cameroon, P.O. Box 1274 Yaounde,  
Cameroon.

**Marguerite Kamdem Simo**  
Laboratory of Microbiology of Department  
of Biological Sciences, Faculty of Science,  
University of Maroua, P.O. Box 814 Maroua,  
Cameroon.

**Paul Alain Nana**  
Department of Oceanography and  
Limnology, Institute of Fisheries and  
Aquatic Sciences, University of Douala, P.O.  
Box 7236, Douala, Cameroon

**Edith Brunelle Mouafo Tamnou**  
University of Yaounde 1, Faculty of  
Sciences, Laboratory of Hydrobiology and  
Environment, P.O. Box 812 Yaounde,  
Cameroon

**Estelle Masseret**  
MARBEC, University of Montpellier, IRD,  
Ifremer, CNRS, Montpellier, France

**Télesphore Sime-Ngando**  
Laboratory « Microorganisms: Genome and  
Environment (LMGE) », University of  
Clermont Auvergne, Aubière Cedex, France

**Moïse Nola**  
University of Yaounde 1, Faculty of  
Sciences, Laboratory of Hydrobiology and  
Environment, P.O. Box 812 Yaounde,  
Cameroon

**Correspondence**  
**Moïse Nola**  
University of Yaounde 1, Faculty of  
Sciences, Laboratory of Hydrobiology and  
Environment, P.O. Box 812  
Yaounde, Cameroon

## Proteus bacteria species from hospital sewage and Mfoundi River in Yaounde (Cameroon, Central Africa): Comparison of the diversity, abundance and susceptibility against some $\beta$ -lactams, Quinolones and Aminoglycosides antibiotics

**Awawou Manouore Njoya, Jean Samuel Eheth, Yves Poutoum Yogne, Claire Stéphane Metsopkeng, Cristina-Veronica Moldovan, Sylvie Chinche Belengfe, Laure Ngando, Marguerite Kamdem Simo, Paul Alain Nana, Edith Brunelle Mouafo Tamnou, Estelle Masseret, Télesphore Sime-Ngando and Moïse Nola**

DOI: <https://doi.org/10.22271/micro.2022.v3.i2a.47>

### Abstract

Species of the genus *Proteus* are the cause of several infections and represent one of the microorganisms commonly involved in hospital infections. These infections are sometime difficult to treat because the antibiotic resistance phenomenon, which represents one of the greatest health challenges today. This study aimed at comparing the diversity, abundance and antimicrobial susceptibility of *Proteus* species isolated from hospital wastewater and Mfoundi River in Yaounde (Cameroon, Central Africa). The physicochemical parameters were measured using appropriate techniques while bacteria were isolated using standard methods and identified using the API 20E systems. The antibiogram tests were carried out using the Müller-Hinton antibiotic disc diffusion method. Antibiotics used belonged to the  $\beta$ -lactam, Quinolones and Aminoglycoside groups. The results obtained show that these waters are slightly alkaline (pH>7.5) and contain dissolved ions (electrical conductivity>600 $\mu$ S/cm; TDS>120mg/L). These waters host various *Proteus* species such as *P. mirabilis*, *P. penneri* and *P. vulgaris*, which were mostly represented in hospital wastewater. The prevalence of antimicrobial resistance varied with respect to the *Proteus* species and antibiotic groups. All *Proteus* strains were resistant to  $\beta$ -lactams and Quinolones. Besides, 41.8% of strains of isolated species were resistant to Gentamycin and 87.5% were sensitive to Amikacin. Most of the bacteria strains isolated in wastewater and surface water were resistant to all the antibiotics tested. Many bacterial strains tested were multi-resistant (82.76%). This multidrug resistance was more expressed in *P. mirabilis* and *P. vulgaris* species isolated from wastewater and upstream river. This represents a health risk for humans and the aquatic environment.

**Keywords:** Abiotic factor, antibiotic susceptibility, cells abundance, *Proteus* bacteria species, river, waste water

### Introduction

Species of the genus *Proteus* are members of the *Morganellaceae* family but, according to Dai *et al.* [1], this genus belongs to *Enterobacteriaceae* family. All of the species are motile, lactose-negative, urease-producing, Gram-negative, rod-shaped bacteria capable of differentiating from typical enterobacterial bacilli into highly elongated rods covered with thousands of flagella, producing swarming colonies [2, 3, 4]. They are widespread in nature and are isolated in surface water, wastewater, soil, on vegetables and, in the putrefactive flora of animal organic matter. They vegetate as saprotrophes on the skin and mucous membranes, and are the usual hosts of the digestive tract of humans and animals [5].

The genus *Proteus* includes several species, namely: *Proteus alimentorum*, *Proteus cibarius*, *Proteus columbae*, *Proteus faecis*, *Proteus hauseri*, *Proteus mirabilis*, *Proteus penneri*, *Proteus terrae*, and *Proteus vulgaris* [1]. Although there are many species of the genus *Proteus*, the majority of clinical strains isolated are *Proteus mirabilis* and *Proteus vulgaris* [2]. The abundance and diversity of species of the genus *Proteus* varies according to their

environment.

According to Bawa *et al.* [6], botanical gardens harbour a high diversity of *Proteus* species (*Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*, *Proteus spp.*) with low bacterial abundance; whereas in urine, *Proteus* species are diverse and highly abundant [7]. The same applies to wastewater and surface water, where there is a high diversity and abundance of *Proteus*.

Species of the genus *Proteus* are often involved in urinary tract infections and come third after *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* [8, 9]. They also cause wound infections, superinfection of various respiratory tract tumours [5]. Indeed, these infections constitute a real public health problem and are second only to respiratory infections [10].

The bacterial epidemiology of urinary tract, wound and lung infections has changed significantly over the last 20 years [11]. The bacteria involved are increasingly varied and, above all, have become more resistant to antibiotics [12, 13]. No bacterial species, among those found in human pathology, and no antibiotic, even among the most recent, escapes the phenomenon of resistance today, especially in urinary infectious pathology [14, 15, 16], which in some cases results in therapeutic failure. These cases of therapeutic failure are due to the fact that bacteria develop various resistant mechanisms including the secretion of enzymes such as  $\beta$ -lactamases in order to survive in the environment.

Previous studies have confirmed that  $\beta$ -lactam resistance is currently emerging in bacteria of the genus *Proteus* [17] as they secrete  $\beta$ -lactamases to inhibit the action of antibiotics. Esmail *et al.* [18] pointed out in their work that *Proteus* isolates are 100% resistant to Sulphamethoxazol + Trimethoprim, Cefotaxin, Amikacin and Ceftazidim and 75% to Tobramycin, Amoxicillin + Clavulanic acid, Nitrofurans, Cefalotin and Amoxicillin. However, this genus is full susceptibility to Ceftriaxon, Nalidixic acid, Ciprofloxacin. Abbott *et al.* [19] have shown that *Proteus* species are generally susceptible to Cephalosporins, Aminoglycosides and broad spectrum Imipenem. These antibiotics to which the bacteria are resistant are those most commonly used in therapy.

Many studies of antibiotic resistance in *Proteus* species

have been conducted on clinical cases. Few studies have focused on *Proteus* species isolated from aquatic environments. Yet these environments contribute to the spread of antibiotic resistance in bacteria. According to Souna [11], regular monitoring of the susceptibility of the predominant bacterial species to the various antibiotics in common use is essential. The present work aims to make a comparative study of the diversity and abundance of bacterial species of the genus *Proteus* isolated from hospital wastewater and the Mfoundi River of the city of Yaounde (Cameroon - Central Africa) and their susceptibility to some antibiotics belonging to the  $\beta$ -lactams, Quinolones and Aminoglycosides families.

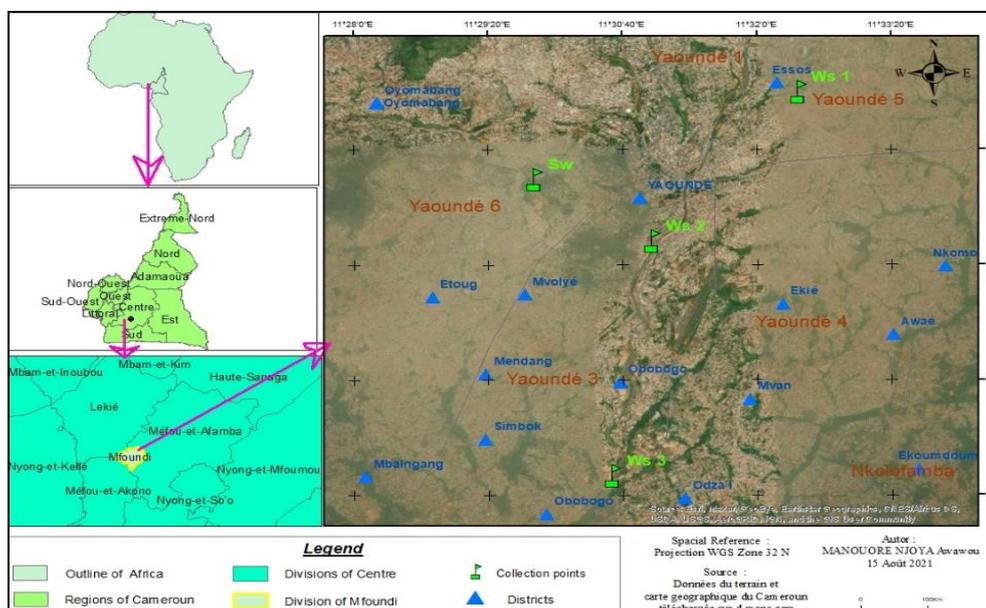
## 2. Material and methods

### 2.1. Study area

This study was carried out in Yaounde, the capital of Cameroon, located 300 km from the Atlantic coast, between 3°5' North latitude and 11°31' East longitude [20]. The climate is equatorial, characterised by the alternation of two dry seasons and two rainy seasons: a long dry season from December to mid-March, a short rainy season from mid-March to June, a short dry season from July to August and a long rainy season from September to November. The annual average temperature is 23.5 °C, varying between 16 and 31 °C depending on the season, and 1650 mm of water per year. The city's hydrographic network is very dense and essentially composed of the Mfoundi River and its tributaries. Some districts and hospitals in Yaounde are equipped with wastewater treatment plants.

### 2.2. Sampling sites and water sampling

Two kinds of sampling sites were chosen for this study: wastewater of the University Teaching Hospital (UTH) and surface water (Mfoundi River). The wastewater from the laundry and the surgery room of the UTH was coded Sw. The surface water included 3 sampling points: upstream, landing, and downstream coded Ws1, Ws2 and Ws3 respectively. A total of 4 sampling sites were chosen. They are presented in Figure 1 and their characteristics and geographic coordinates are indicated in Table 1.



**Fig 1:** Geographical location of the study area and representation of the sampling points (Source: [https://d-maps.com/pays.php?num\\_pay=16&lang=fr](https://d-maps.com/pays.php?num_pay=16&lang=fr)/consulted 25<sup>th</sup> August 2021)

**Table 1:** Characteristics of sampling points

Hydro-systems	Sampling points	Geographical coordinates		Description
		Latitude (N)	Longitude (E)	
Hospital wastewater (Sw)	Sw	3°86'09,47''	11°496'49,6''	Collector receiving wastewater from the laundry and the surgery room of the University Teaching Hospital
Surface water (Ws)	Ws1	3°87'77,22''	11°54'01,3''	Upstream of the Mfoundi river, close to houses and where domestic waste is dumped
	Ws2	3°84'90,11''	11°51'59,68''	Landing on the Mfoundi river, receiving domestic waste
	Ws3	3°80'36,78''	11°50'93,25''	Downstream of the Mfoundi river, near a brewery company

Water sampling was done according to Rodier *et al.* [21]. For the bacteriological analyses, around 300 mL of water were collected in 500 mL sterile glass bottles. The samples were then brought back to the laboratory in a refrigerated chamber (4 °C) for analysis. Sampling was done monthly during 12 months from September 2020 to August 2021.

### 2.3. Physicochemical analysis

Physicochemical parameters were analyzed according to Rodier *et al.* [21] and APHA [22]. The parameters considered were: temperature, pH, electrical conductivity, and Total Dissolved Solids. They were measured in the field using a HANNA/HI 9829 multimeter.

### 2.4. Bacteriological analysis

#### 2.4.1. Isolation of Heterotrophic Aerobe Bacteria (HAB) and *Proteus* species

Heterotrophic Aerobe Bacteria (HAB) were isolated in plate count agar medium at 25°C±2°C during 5 days incubation. The isolation and counting of *Proteus* species were performed on MacConkey Agar culture medium using plate count technic method. A volume of 0.1 mL of raw/diluted water of each sample was placed on the agar surface in Petri dishes. Incubation was done at 37°C for 24 hours for *Proteus* [21, 23]. All the analyses were done in triplicate.

#### 2.4.2. Macroscopic examination and identification of *Proteus* species

After the incubation period, colonies were counted in different Petri dishes based on their characteristics. *Proteus* colonies have colorless to beige, with filamentous forms of different sizes [23, 24, 25]. After counting the colony forming units based on the cultural characteristics of the bacteria, the cells of colony with different characteristics were recultured on standard (non-selective) agar, and then in the sloping test tubes. After Gram coloration, biochemical tests were performed using the API 20E systems (Biomérieux) [26].

#### 2.4.3. Antibiogram tests

Antimicrobial susceptibility testing was done using disc diffusion method according to the recommendations of the "Antibiogram Committee of the French Microbiology Society" (AC-FMS) [27]. Antibiotic molecules were chosen according to the AC-FMS recommendations for *Proteus* antimicrobial susceptibility testing, but also to their availability in the laboratory.

A total of 17 antibiotic belonging to three main families were used.  $\beta$ -lactams were the most represented family with

Amoxicillin; Amoxicillin + Clavulanic acid; Imipenem; Meropenem; Ticarcillin; Piperacillin; Piperacillin + Tazobactam; Ceftriaxon; Cefepim; Cefuroxim; Cefoxitin and Ceftazidim. The family of Quinolones was represented by Ciprofloxacin; Norfloxacin and Ofloxacin; and the family of Aminoglycosides included Amikacin and Gentamycin. Inhibition diameters were measured using the caliper and the results were scored as either resistant, sensitive or intermediate according to the CA-SFM recommendations [28, 29].

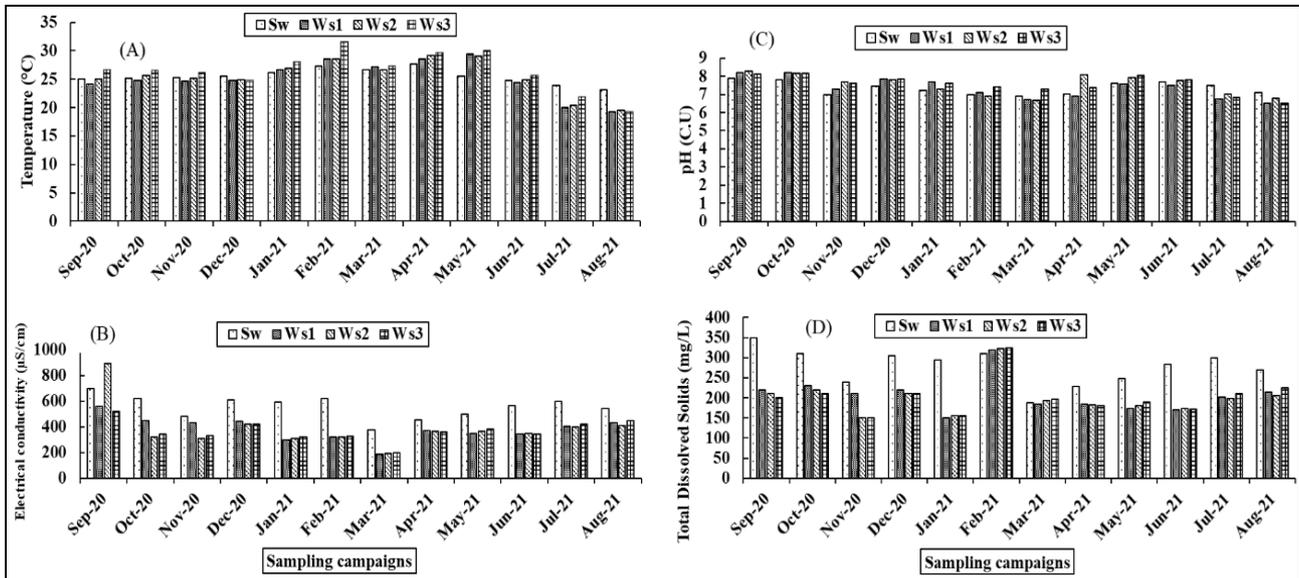
### 2.5. Data analysis

The abundances of isolated bacteria were expressed as CFU/100mL. The values of physicochemical parameters and bacterial abundances were illustrated by histograms plotted using Excel 2016 software. The Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests were carried out to compare inhibition diameters of antibiotic tested between the 4 sampling sites. The Spearman correlation test was achieved to assess the possible relations between abiotic parameters and bacterial abundances on one hand, and between inhibition diameters of antibiotic and abiotic parameters in the other hand. Statistical analyses were performed using SPSS software version 25.0. A *p* value < 0.05 was assumed to be significant.

## 3. Results

### 3.1. Physicochemical parameters

The physico-chemical parameters undergo spatiotemporal fluctuations. The figure 2 shows that the temperature varied between 19.2 and 31.5 °C with the lowest value recorded in stations Ws1 and Ws3 during the August campaign, while the highest value was recorded in station Ws3 during the February campaign, which corresponds to the dry season (Figure 2-A). The electrical conductivity fluctuated between 193 and 890  $\mu$ S/cm. The lowest value was noted at station Ws2 during the March campaign, and the highest value at station Ws2 during the September campaign (Figure 2-B). The pH values varied between 6.5 and 8.21 C.U. The lowest value was recorded at stations Ws1 and Ws3 during the August campaign, and the highest value at station Ws1 during the September and October campaigns (Figure 2-C). TDS values fluctuated between 150 and 350 mg/L with the lowest value recorded at stations Ws3 and Ws1 during the November and June surveys respectively. The highest value was recorded in station Sw during the September campaign (Figure 2-D).



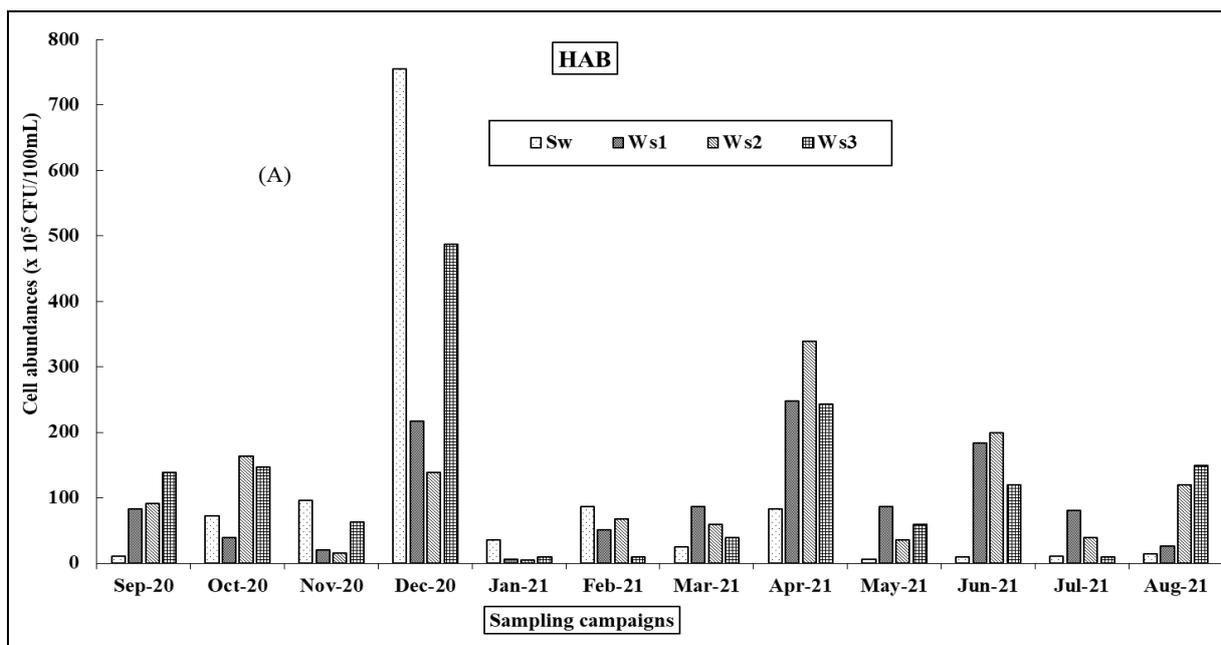
**Fig 2:** Variation of physicochemical parameters with respect to the different sampling sites and campaigns (A: variation of temperature; B: variation of electrical conductivity; C: variation of pH; D: variation of Total Dissolved Solid).

**3.2. Bacteriological parameters**

**3.2.1. Bacterial abundance**

The abundances of aerobic mesophilic heterotrophic bacteria (HAB) and *Proteaeae* are shown in Figure 3. These abundances varied according to the campaigns and sampling station. In hospital wastewater, the abundance of HABs varied from 7 to 750 x 10<sup>5</sup> CFU/100mL with the lowest value recorded in the May survey, and the highest value in the December survey. While the abundance of *Proteaeae* varied from 0 to 580 x 10<sup>4</sup> CFU/100mL with the lowest value recorded in the June survey and the highest in the

December survey. On the other hand, in the water of the Mfoundi River, the abundance of HABs varied from 6 to 340 x 10<sup>5</sup> CFU/100mL, with the lowest and highest values recorded in station Ws2 during the January and April campaigns respectively. The abundance of *Proteaeae* varied from 0 to 149 x 10<sup>4</sup> CFU/100mL. There were no bacteria recorded during the January campaigns in stations Ws1 and Ws2, and during the February and July campaigns in station Ws3; while the highest abundances was recorded during the December campaign in station Ws3 (Figure 3).



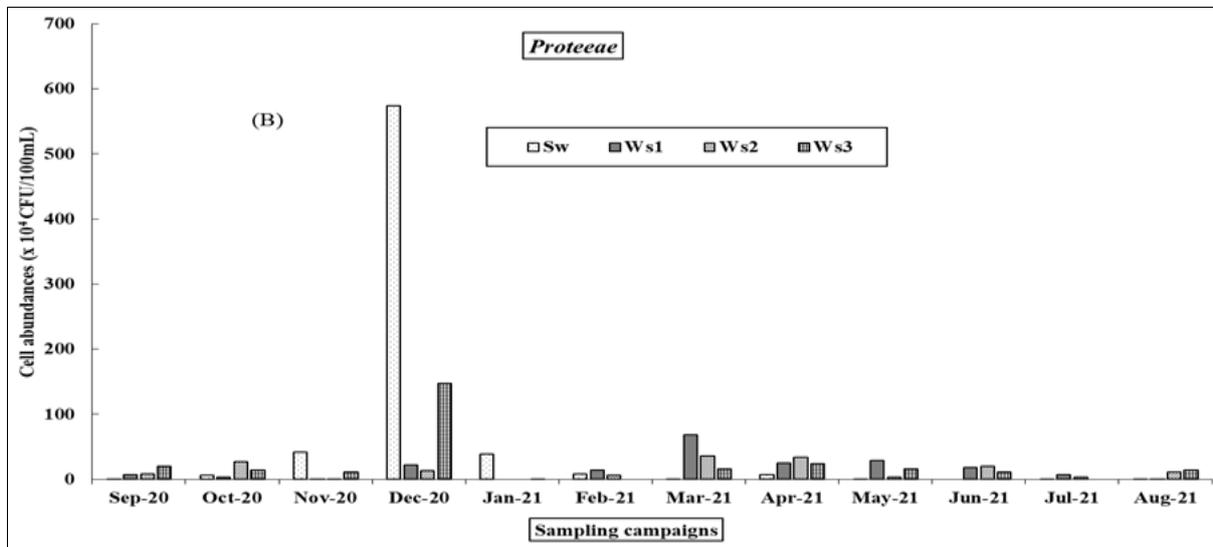


Fig 3: Variation of the abundances of total Heterotrophic Aerobe Bacteria (HAB) and *Proteeae* in the sampling sites

**3.2.2. Diversity and abundance of *Proteus* species**  
**Diversity of *Proteus* species**

The *Proteus* species isolated from the different stations during the different sampling campaigns were *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*), *Proteus penneri* (*P. penneri*) and *Proteus vulgaris* (*P. vulgaris*). This diversity varied according to the sampling site and the values of the Shannon and Weaver diversity index ( $H'$ ) showed that station Sw was the most diversified ( $H' = 1.009$ ) and station Ws2 was the least diversified ( $H' = 0.802$ ) (Table 2).

Table 2: Shannon and weaver diversity index

Sampling sites	Sw	Ws1	Ws2	Ws3
Index $H'$	1,009	0,847	0,802	0,988

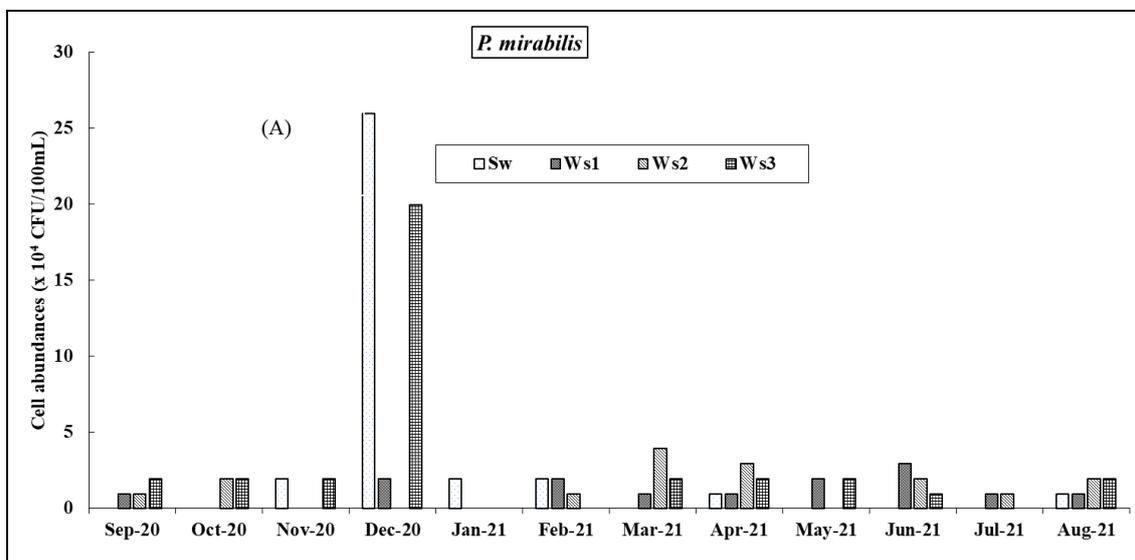
**Abundance of *Proteus* species**

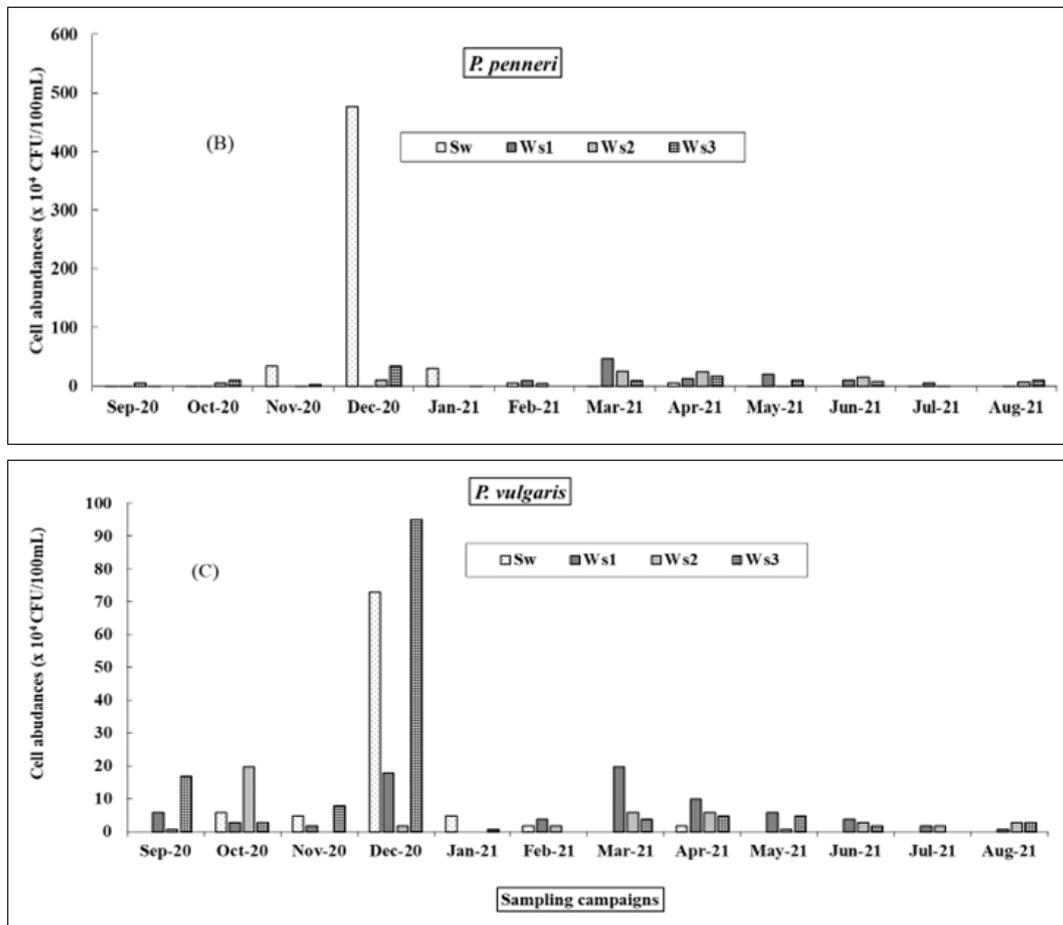
The abundance of the *Proteus* species isolated varied with respect to the sampling station and campaign. Abundance of *P. mirabilis* fluctuated between 0 and 26; 0 and 3; 0 and 4; 0 and 20 x 10<sup>4</sup> CFU/100mL at stations Sw, Ws1, Ws2 and Ws3 respectively. The lowest values were recorded in station Sw at the June campaign, in stations Ws1

and Ws2 at the January campaign, and in station Ws3 at the February and July campaigns. The highest values were recorded at the December survey in stations Sw and Ws3, and at the July and March surveys in stations Ws1 and Ws2 respectively (Figure 4-A).

Abundance of *P. penneri* ranged from 0 to 477; 0 to 48; 0 to 260; 0 to 35 x 10<sup>4</sup> CFU/100mL in stations Sw, Ws1, Ws2 and Ws3 respectively. The smallest values were recorded in June in station Sw, in January in stations Ws1 and Ws2 and during the February and July campaigns in station Ws3. The largest values were recorded in December in stations Sw and Ws3; and in March in stations Ws1 and Ws2 (Figure 4-B). *P. penneri* was the most represented species.

The isolated *P. vulgaris* species had abundance that varied between 0 and 73; 0 and 20; 0 and 20; 0 and 95 x 10<sup>4</sup> CFU/100mL in stations Sw, Ws1, Ws2 and Ws3 respectively. The smallest values were recorded in station Sw during the June campaign, in stations Ws1 and Ws2 during the January campaign, and in station Ws3 during the February and July campaigns. Large values were recorded at station Sw and Ws3 in the December survey; in March at station Ws1 and in October at station Ws2 (Figure 4-C).





**Fig 4:** Abundance of *Proteus* species (*P. mirabilis*, *P. penneri*, *P. vulgaris*) isolated from different sampling points with respect to the sampling campaigns

### 3.2.3. Antibiotic susceptibility of *Proteus* species

#### 3.2.3.1. Prevalence of resistance

The result of the antibiotic susceptibility testing showed that *Proteus* species isolated were resistant to almost all of the antibiotics tested. The prevalence of resistance represented in figure 5 varied according to the species and antibiotic families.

With the *Proteus* species isolated in Sw, it was observed that all *P. mirabilis* strains (100%) resisted to 10  $\beta$ -lactam antibiotics (Amoxicillin, Ticarcillin, Piperacillin, Piperacillin+ Tazobactam, Ceftriaxon, Cefepim, Cefuroxim, Amoxicillin + Clavulanic acid, Imipenem and Ceftazidim) and they were slightly sensitive to 2  $\beta$ -lactam antibiotics (Meropenem (25%) and Cefoxitin (15%)). *P. penneri* strains were all resistant (100%) to the 12  $\beta$ -lactams tested while *P. vulgaris* strains resisted to 11  $\beta$ -lactam including Amoxicillin, Ticarcillin, Piperacillin, Piperacillin + Tazobactam, Ceftriaxon, Cefepim, Cefuroxim, Amoxicillin + Clavulanic acid, Imipenem, Cefoxitin and Ceftazidim. The resistance against Aminoglycoside family showed that there was high resistance rate against Gentamicin (90%, 100% and 75% respectively for *P. mirabilis*, *P. penneri* and *P. vulgaris* strains) and high sensitivity prevalence to Amikacin (100% for *P. mirabilis* strains and 50% for *P. penneri* and *P. vulgaris* strains). With the Quinolone family, the strains of the 3 *Proteus* species isolated were entirely resistant against Ciprofloxacin and Ofloxacin. However, there was a slight sensitivity of *P. mirabilis* and *P. vulgaris* strains to Norfloxacin (40%) and full resistance of *P. penneri* strains to this antibiotic.

In station Ws1, all *P. mirabilis*, *P. penneri* and *P. vulgaris*

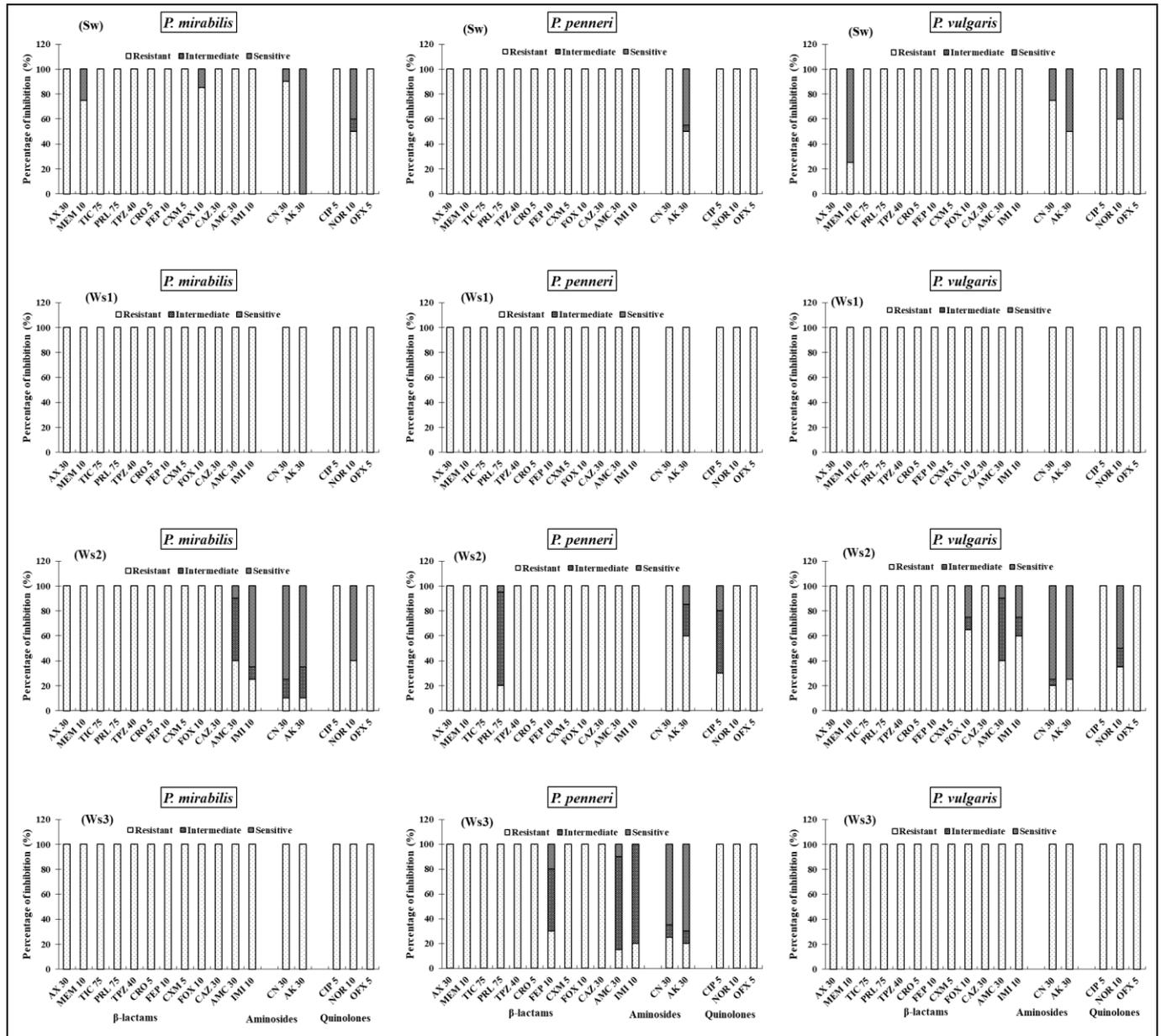
strains were resistant to the 3 antibiotic families considered ( $\beta$ -lactam, Aminoglycosides and Quinolones).

Concerning the *Proteus* species isolated in station Ws2, it was noted that all *P. mirabilis* strains (100%) resisted to 10  $\beta$ -lactam antibiotics (Amoxicillin, Meropenem, Ticarcillin, Piperacillin, Piperacillin + Tazobactam, Ceftriaxon, Cefepim, Cefuroxim, Cefoxitin and Ceftazidim) and highly sensitive to Imipenem (65%). *P. penneri* strains resisted to 11  $\beta$ -lactam antibiotics including Amoxicillin, Meropenem, Ticarcillin, Piperacillin + Tazobactam, Ceftriaxon, Cefepim, Cefuroxim, Cefoxitin, Ceftazidim, Amoxicillin + Clavulanic acid and Imipenem. While *P. vulgaris* strains (100%) resisted to 9  $\beta$ -lactam (Amoxicillin, Meropenem, Ticarcillin, Piperacillin, Piperacillin + Tazobactam, Ceftriaxon, Cefepim, Cefuroxim, and Ceftazidim); and slightly sensitive to Cefoxitin and Imipenem (25%). The resistance against Aminoglycoside family showed that *P. mirabilis* and *P. vulgaris* strains are highly susceptible to Gentamycin and Amikacin (75%). While, all *P. penneri* strains (100%) resisted to Gentamycin but to Amikacin, 60% of *P. penneri* strains were susceptible. With the Quinolone family, *P. mirabilis* and *P. vulgaris* strains (100%) resisted to Ciprofloxacin and Ofloxacin; but to Norfloxacin, 60% of strains of both species were susceptible. On the other hand, *P. penneri* strains are rather resisted (100%) to Norfloxacin and Ofloxacin.

In station Ws3, it was observed that all *P. mirabilis* and *P. vulgaris* strains (100%) were resistant to the 3 antibiotic families considered. However, the resistance against Quinolone family showed that 100% of *P. penneri* strains were resistant to 3 antibiotics tested; whereas face to

Aminoglycosides family, *P. penneri* strains are highly sensitive to Gentamycin (65%) and Amikacin (75%). With the  $\beta$ -lactam family, all *P. penneri* strains (100%) resisted to 9  $\beta$ -lactam antibiotics (Amoxicillin, Meropenem,

Ticarcillin, Piperacillin, Piperacillin + Tazobactam, Ceftriaxon, Cefuroxim, Cefoxitin and Ceftazidim), and they were slightly sensitive to 2  $\beta$ -lactam antibiotics (Cefepim (20%) and Amoxicillin + Clavulanic acid (10%)).



**Fig 5:** Prevalence of resistance of *Proteus* species against antibiotic tested AX: Amoxicillin; MEM: Meropenem; CIP: Ciprofloxacin; TIC: Ticarcillin; TPZ: Piperacillin + Tazobactam; CRO: Ceftriaxon; NOR: Norfloxacin; PRL: Piperacillin; FEP: Cefepim; CN: Gentamycin; FOX: Cefoxitin; OFX: Ofloxacin; AMC: Amoxicillin + Clavulanic acid; AK: Amikacin; CXM: Cefuroxim; CAZ: Ceftazidim; IMI: Imipenem.

**3.2.4.3. Comparison tests**

The Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests were performed to compare the antibiotic inhibition diameters of *Proteus* species isolated, between the different sampling sites taken two by two. The results are presented in Table 3. A high significant difference ( $p < 0.01$ ) was noted between hospital wastewater and upstream river regarding the inhibition diameters of Meropenem, Cefoxitin, Imipenem, Gentamycin, Amikacin, Norfloxacin and Ofloxacin tested against *P. mirabilis* strains. The same observation was noted between hospital wastewater and landing of river; hospital wastewater and downstream river; upstream river and landing river; and between upstream and downstream river respectively for Meropenem, Imipenem, Amikacin and

Norfloxacin; for Amikacin and Ceftriaxon; and for Cefuroxim, Cefoxitin and Norfloxacin. A significant difference ( $p < 0.05$ ) was observed between hospital wastewater and upstream river; upstream and landing river; and between landing and downstream river regarding respectively the inhibition diameters of Ceftriaxon and Cefuroxim; of Ceftriaxon, of Cefoxitin and Gentamycin; and finally for Norfloxacin against *P. mirabilis* strains isolated (Table 3). In addition, a high significant difference ( $p < 0.01$ ) was noted between hospital wastewater and upstream river regarding the inhibition diameters of Cefuroxim, Ceftazidim, Imipenem, Amoxicillin + Clavulanic acid, Gentamycin, Amikacin, Norfloxacin and Ofloxacin tested against *P.*

*penneri* strains. The same observation was also made between hospital wastewater and landing river; hospital wastewater and downstream river; upstream and landing river; upstream and downstream river; and between landing and downstream river respectively for Meropenem and Ticarcillin; for Piperacillin, Amikacin and Norfloxacin; for Ticarcillin; for Piperacillin, Ceftriaxon and Amoxicillin + Clavulanic acid; and finally for Piperacillin. A significant difference ( $p < 0.05$ ) was also noted between hospital wastewater and upstream river; hospital wastewater and landing river; hospital wastewater and downstream river; upstream and landing river; upstream and downstream river; and between landing and downstream river regarding the inhibition diameters respectively of Meropenem and Ceftriaxon; of Cefuroxim and Norfloxacin, of Meropenem and Ticarcillin; of Ofloxacin; of Gentamycin; and finally of Ceftriaxon tested against *P. penneri* strains isolated (Table 3).

*P. vulgaris* strains showed a high significant difference

( $p < 0.01$ ) between hospital wastewater and upstream river regarding the inhibition diameters of Meropenem, Imipenem, Gentamycin, Amikacin and Norfloxacin. The same observation was noted between from hospital wastewater and landing river; hospital wastewater and downstream river; upstream and landing river; and between landing and downstream river respectively of Meropenem; of Meropenem, Piperacillin, Amoxicillin + Clavulanic acid, Amikacin and Norfloxacin; of Piperacillin, Ceftriaxon, Amoxicillin + Clavulanic acid and Gentamycin; and finally of Piperacillin. In addition, a significant difference ( $p < 0.05$ ) was also obtained between hospital wastewater and landing river; hospital wastewater and downstream river; upstream and landing river; and between upstream and downstream river regarding the inhibition diameters respectively of Amikacin, Norfloxacin and Ofloxacin; of Ceftriaxon and Ofloxacin; of Amikacin and Ofloxacin; and finally of Imipenem and Ofloxacin tested against *P. vulgaris* strains (Table 3).

**Table 3:** P-values of the Mann-Whitney test comparing the antibiotic inhibition diameters between the different sampling sites taken 2 by two

Antibiotics (mcg)	Types of water taken 2 by two and bacterial species considered					
	Hospital wastewater and Upstream river	Hospital wastewater and Landing river	Hospital wastewater and Downstream river	Upstream and Landing river	Upstream and Downstream river	Landing and Downstream river
<i>P. mirabilis</i>						
MEM (10)	0.000**	0.000**	0.000**	0.577	0.195	0.538
CRO (5)	0.012*	0.884	0.541	0.018*	0.001**	0.398
CXM (5)	0.020*	0.282	0.332	0.748	0.001**	0.096
FOX (10)	0.005**	0.561	0.953	0.034*	0.003**	0.415
IMI (10)	0.005**	0.642	0.004**	0.210	0.641	0.180
CN (30)	0.008**	1.000	0.221	0.024*	0.080	0.431
AK (30)	0.000**	0.416	0.002**	0.005**	0.317	0.024*
NOR (10)	0.001**	0.435	0.000**	0.885	0.001**	0.051
OFX (5)	0.003**	0.560	0.081	0.052	0.116	0.400
<i>P. penneri</i>						
MEM (10)	0.015*	0.008**	0.026*	0.770	0.210	0.116
TIC (75)	0.088	0.001**	0.038*	0.009**	0.519	0.085
PRL (75)	0.165	0.464	0.002**	0.794	0.000**	0.006**
CRO (5)	0.018*	0.199	0.839	0.245	0.001**	0.046*
CXM (5)	0.002**	0.027*	0.109	0.559	0.139	0.116
CAZ (30)	0.001**	0.156	0.082	0.523	0.172	0.750
IMI (10)	0.001**	0.059	0.173	0.907	0.431	0.861
AMC (30)	0.006**	0.257	0.816	0.954	0.004**	0.212
CN (30)	0.008**	0.366	0.433	0.184	0.011*	0.244
AK (30)	0.000**	0.118	0.001**	0.145	0.520	0.146
NOR (10)	0.003**	0.013*	0.001**	0.153	0.116	0.839
OFX (5)	0.002**	0.661	0.233	0.010*	0.077	0.171
<i>P. vulgaris</i>						
MEM (10)	0.000**	0.000**	0.000**	0.320	0.396	0.768
PRL (75)	0.408	0.724	0.000**	0.334	0.001**	0.001**
CRO (5)	0.335	0.771	0.037*	0.194	0.000**	0.061
IMI (10)	0.009**	0.265	0.522	0.105	0.039*	0.790
AMC (30)	0.447	0.580	0.005**	0.266	0.000**	0.098
CN (30)	0.001**	0.054	0.399	0.107	0.004**	0.169
AK (30)	0.000**	0.036*	0.003**	0.010*	0.121	0.218
NOR (10)	0.000**	0.010*	0.001**	0.884	0.749	0.839
OFX (5)	0.400	0.015*	0.045*	0.011*	0.039*	0.434

\*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$ ; MEM: Meropenem; TIC: Ticarcillin; CRO: Ceftriaxon; NOR: Norfloxacin; PRL: Piperacillin; CN: Gentamycin; FOX: Cefoxitin; OFX: Ofloxacin; AMC: Amoxicillin + Clavulanic acid; AK: Amikacin; CXM: Cefuroxim; CAZ: Ceftazidim; IMI: Imipenem.

**3.2.4.4. Correlations amongst the considered parameters**

The Spearman correlation test showed an increase in temperature that led to a significant increase of the

abundance of *P. mirabilis* ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.58$ ) and *P. penneri* ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.62$ ) isolated from hospital wastewater (Table 4).

**Table 4:** Correlation coefficients between physicochemical and bacteriological parameters

Abiotic parameters	Hospital wastewater (Sw)			Upstream river (Ws1)			Landing river (Ws2)			Downstream river (Ws3)		
	<i>P. mi</i>	<i>P. pen</i>	<i>P. vul</i>	<i>P. mi</i>	<i>P. pen</i>	<i>P. vul</i>	<i>P. mi</i>	<i>P. pen</i>	<i>P. vul</i>	<i>P. mi</i>	<i>P. pen</i>	<i>P. vul</i>
Temp	<b>0.58*</b>	<b>0.62*</b>	0.45	0.35	0.46	0.47	0.00	-0.03	-0.06	-0.25	-0.09	-0.04
pH	-0.39	-0.48	-0.15	-0.12	-0.45	0.08	-0.11	-0.01	0.04	0.13	0.18	0.43
E. cond	0.13	0.03	0.24	-0.30	-0.48	-0.04	0.02	0.19	0.00	0.14	0.26	0.31
TDS	0.13	0.03	0.24	-0.08	-0.25	0.08	0.34	0.23	0.39	0.08	-0.08	-0.29

\*:  $p < 0.05$ ; *P. mi*: *Proteus mirabilis*; *P. pen*: *Proteus penneri*; *P. vul*: *Proteus vulgaris*; Temp: temperature; E. cond: electrical conductivity; TDS: total dissolved solids.

The Spearman correlation test was also carried out between the inhibition diameters of antibiotics and abiotics parameters of hospital wastewater and river. The results showed that in hospital wastewater, there is a positive and significant relationship ( $p < 0.05$ ) between the *P. mirabilis* susceptibility to Ceftazidim and temperature ( $r = 0.65$ ); Piperacillin + Tazobactam, Cefoxitin, Ofloxacin and electrical conductivity and TDS ( $r = 0.15$ ;  $r = 0.61$ ;  $r = 0.62$  respectively). A negative and significant relationship ( $p < 0.05$ ;  $r = -0.68$ ) is also observed between *P. mirabilis* susceptibility against Ceftazidim and pH (Table 5). On the contrary, a negative and high significant relationship ( $p < 0.01$ ) was observed between the susceptibility of the same species to Ofloxacin and temperature ( $r = -0.7$ ); Ceftriaxon and pH ( $r = -0.7$ ); Ciprofloxacin and electrical conductivity and TDS ( $r = -0.7$ ). Concerning the

relationship between the *P. penneri* susceptibility against antibiotics and water abiotics factors, a positive and high significant relationship ( $p < 0.01$ ) was noted between the susceptibility of this bacteria to Piperacillin + Tazobactam, Ceftriaxon, Amoxicillin + Clavulanic acid and temperature ( $r = 0.7$ ;  $r = 0.8$ ;  $r = 0.7$  respectively); and a negative and high significant relationship ( $p < 0.01$ ) between the susceptibility of the same bacteria to Ceftriaxon and pH ( $r = -0.7$ ). In contrast, a positive and significant relationship ( $p < 0.05$ ) was noted between the susceptibility against Ceftazidim and temperature ( $r = 0.59$ ). However, for *P. vulgaris*, there is a positive and significant relationship ( $p < 0.05$ ) between the susceptibility of this species to only Piperacillin and electrical conductivity and TDS ( $r = 0.58$ ) (Table 5).

**Table 5:** Correlation coefficients between inhibition diameters of each antibiotic and physicochemicals parameters of hospital wastewater

Antibiotics	Abiotics parameters of hospital wastewater (A)											
	Temp	pH	E.cond	TDS	Temp	pH	E.cond	TDS	Temp	pH	E.cond	TDS
	<i>P. mirabilis</i>				<i>P. penneri</i>				<i>P. vulgaris</i>			
AX	0.397	-0.28	-0.128	-0.13	0.025	-0.53	0.141	0.141	-0.29	0.351	0.493	0.493
MEM	0.296	-0.03	0.321	0.321	0.308	0.149	0.088	0.088	-0.37	0.224	0.540	0.540
TIC	-0.043	-0.210	-0.132	-0.13	-0.15	-0.02	-0.05	-0.05	0.339	-0.55	-0.47	-0.47
PRL	-0.187	-0.224	0.224	0.224	-0.35	0.260	0.119	0.119	-0.05	0.347	0.58*	0.58*
TPZ	0.195	-0.03	0.15*	0.15*	0.7**	-0.31	-0.18	-0.18	-0.42	0.203	-0.266	-0.26
CRO	0.222	-0.7**	-0.121	-0.12	0.8**	-0.7**	-0.487	-0.47	0.041	-0.27	0.169	0.169
FEP	0.246	-0.15	0.459	0.459	-0.17	-0.04	0.474	0.474	-0.45	0.199	0.285	0.285
CXM	0.526	-0.266	0.088	0.088	-0.01	0.419	-0.03	-0.03	-0.03	-0.92	-0.46	-0.46
FOX	-0.568	0.425	0.61*	0.61*	0.005	-0.13	0.239	0.239	0.265	0.167	0.394	0.394
CAZ	0.65*	-0.68*	-0.402	-0.40	0.59*	-0.52	-0.127	-0.12	0.197	-0.31	0.179	0.179
IMI	0.498	-0.218	0.018	0.018	0.564	-0.37	-0.021	-0.02	0.524	-0.25	0.088	0.088
AMC	-0.529	0.102	0.694	0.694	0.7**	-0.09	0.055	0.055	0.178	0.146	-0.335	-0.33
CN	-0.165	0.026	0.488	0.488	0.072	-0.35	-0.85	-0.85	0.248	-0.23	0.341	0.341
AK	-0.014	0.032	0.228	0.288	-0.04	-0.20	0.046	0.046	0.046	-0.19	-0.109	-0.11
CIP	0.283	-0.366	-0.7**	-0.7**	-0.16	-0.13	-0.481	-0.48	-0.45	0.387	-0.236	-0.24
NOR	0.258	0.058	0.232	0.232	0.165	-0.28	0.182	0.182	0.502	-0.89	-0.058	-0.06
OFX	-0.7**	0.542	0.62*	0.62*	-0.39	0.466	0.485	0.485	-0.38	0.460	-0.037	-0.04

\*:  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; Temp: temperature; E. cond: electrical conductivity; TDS: total dissolved solids; AX: Amoxicillin; MEM: Meropenem; TIC: Ticarcillin; PRL: Piperacillin; TPZ: Piperacillin + Tazobactam; CRO: Ceftriaxon; FEP: Cefepim; CXM: Cefuroxim; FOX: Cefoxitin; CAZ: Ceftazidim; IMI: Imipenem; AMC: Amoxicillin + Clavulanic acid; CN: Gentamycin; AK: Amikacin; CIP: Ciprofloxacin; NOR: Norfloxacin; OFX: Ofloxacin.

Considering the correlation coefficients between inhibition diameters of each antibiotic and physicochemical parameters of river, the results showed that there is a positive and high significant relationship ( $p < 0.01$ ) between the *P. mirabilis* susceptibility to Cefuroxim and electrical conductivity ( $r = 0.74$ ), and a negative and high significant relationship ( $p < 0.01$ ) between the susceptibility to Ceftriaxon, Cefuroxim and temperature ( $r = -0.72$  and  $r = -0.78$ ) on one hand; and Piperacillin + Tazobactam and electrical conductivity ( $r = -0.7$ ) on the other hand. A

positive and significant relationship ( $p < 0.05$ ) between the susceptibility to Ceftriaxon and electrical conductivity ( $r = 0.64$ ); and a negative and significant relationship ( $p < 0.05$ ) between the susceptibility to Ofloxacin and temperature ( $r = -0.60$ ) is noted (Table 6). Concerning *P. penneri*, there is a positive and high significant relationship ( $p < 0.01$ ) between the susceptibility of this specie to Ceftriaxon, Cefuroxim and electrical conductivity ( $r = 0.72$  and  $r = 0.88$ ); and a negative and high significant relationship ( $p < 0.01$ ) between the same bacteria susceptibility to Cefuroxim and

temperature ( $r = -0.7$ ). However, a positive and significant relationship ( $p < 0.05$ ) between the *P. penneri* susceptibility to Ofloxacin and electrical conductivity ( $r = 0.68$ ), and a negative and significant relationship ( $p < 0.05$ ) between the susceptibility of the same bacteria to Amoxicillin, Ceftriaxon, Ofloxacin and temperature ( $r = -0.6$ ;  $r = -0.7$  and  $r = -0.7$  respectively) on one hand; and Piperacillin + Tazobactam and electrical conductivity ( $r = -0.59$ ) on the other hand are noted. About *P. vulgaris*, a positive and high significant relationship ( $p < 0.01$ ) was obtained between their susceptibility to Cefuroxim and electrical conductivity ( $r =$

$0.7$ ). However, there is a positive and significant relationship ( $p < 0.05$ ) between the *P. vulgaris* susceptibility to Meropenem and pH ( $r = 0.59$ ) on one hand, and Ceftriaxon, Ofloxacin and electrical conductivity ( $r = 0.62$  and  $r = 0.68$ ) on the other hand. A negative and significant relationship ( $p < 0.05$ ) was noted between the susceptibility of the same bacteria to Ceftriaxon, Cefuroxim, Ofloxacin and temperature on one hand ( $r = -0.6$ ;  $r = -0.7$  and  $r = -0.6$  respectively); and Ticarcillin and electrical conductivity ( $r = -0.57$ ) on the other hand (Table 6).

**Table 6:** Correlation coefficients between inhibition diameters of each antibiotic and physicochemical parameters of surface water

Antibiotics	Abiotics parameters of surface water (B)											
	Temp	pH	E.cond	TDS	Temp	pH	E.cond	TDS	Temp	pH	E.cond	TDS
	<i>P. mirabilis</i>				<i>P. penneri</i>				<i>P. vulgaris</i>			
AX	-0.481	0.384	0.283	0.159	<b>-0.6*</b>	0.387	0.346	0.134	-0.38	0.457	0.280	0.037
MEM	-0.319	0.453	0.309	0.232	-0.42	0.495	0.465	0.255	-0.25	0.59*	0.250	0.014
TIC	0.030	-0.214	-0.246	0.229	0.223	-0.02	0.067	0.050	0.499	-0.02	-0.57*	-0.29
PRL	0.336	0.139	-0.294	-0.05	-0.34	0.165	0.379	0.333	0.067	0.402	0.113	0.051
TPZ	0.503	-0.113	-0.7**	0.016	0.445	-0.09	-0.59*	-0.02	0.470	0.197	-0.416	-0.06
CRO	-0.72**	0.057	0.604*	0.409	-0.7*	0.124	0.72**	0.234	-0.6*	0.114	0.62*	0.21
FEP	-0.322	0.481	0.405	0.242	-0.20	0.477	0.356	0.189	-0.15	0.473	0.306	0.137
CXM	-0.78**	0.042	0.74**	0.239	-0.7**	0.067	0.8**	0.055	-0.7*	-0.05	0.7**	0.12
FOX	-0.346	0.321	0.212	0.194	-0.36	0.511	0.366	0.114	-0.36	0.491	0.343	0.111
CAZ	-0.366	0.368	0.212	0.108	-0.38	0.390	0.238	0.086	0.075	0.431	-0.131	-0.22
IMI	-0.529	0.320	0.478	0.355	-0.15	0.404	0.165	0.047	-0.32	0.558	0.398	0.150
AMC	-0.364	0.469	0.366	0.201	-0.37	0.406	0.308	0.200	0.408	0.488	0.016	0.113
CN	-0.358	0.359	0.470	0.479	-0.12	0.218	0.08	0.229	0.073	0.341	0.084	0.138
AK	-0.216	0.2337	0.278	0.427	-0.08	0.395	0.304	0.292	-0.24	0.159	0.270	0.232
CIP	0.324	0.251	-0.246	0.034	-0.28	0.116	0.258	0.253	-0.17	0.430	0.180	-0.05
NOR	-0.224	0.292	0.183	0.194	-0.12	0.512	0.267	0.069	-0.67	0.327	0.608	0.242
OFX	-0.674*	0.134	0.490	0.355	-0.7*	0.240	0.68*	0.337	-0.6*	0.460	0.68*	0.04

\*:  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; Temp: temperature; E. cond: electrical conductivity; TDS: total dissolved solids; AX: Amoxicillin; MEM: Meropenem; TIC: Ticarcillin; PRL: Piperacillin; TPZ: Piperacillin + Tazobactam; CRO: Ceftriaxon; FEP: Cefepim; CXM: Cefuroxim; FOX: Cefoxitin; CAZ: Ceftazidim; IMI: Imipenem; AMC: Amoxicillin + Clavulanic acid; CN: Gentamycin; AK: Amikacin; CIP: Ciprofloxacin; NOR: Norfloxacin; OFX: Ofloxacin.

**4. Discussion**

The results of the physicochemical parameters obtained showed that the values fluctuated depending on the stations and sampling periods. Regarding temperature, it was observed that this fluctuation was much more pronounced in surface waters (19.2 - 31.5 °C) than in hospital wastewater (21 - 26.2 °C) and higher during the surveys carried out in the dry season. This could be explained by the variation of the ambient temperature of the environment and the time of sunshine as high values were obtained in the dry season and low values in the rainy season. These results are similar to those obtained by Tuekam [30] in the waters of the Mfoundi catchment. According to Merhabi *et al.* [31], surface water temperature is affected by fluctuating rainfall and seasonal temperatures. Temperature is an important abiotic factor as it governs almost all physicochemical and biological reactions.

The average values of electrical conductivity (700±1.09 µS/Cm) and total dissolved solids (200±1.06 mg/L) of the Mfoundi River showed that they are more mineralized and more charged with dissolved matter contrary to hospital wastewater whose average values of electrical conductivity and TDS were respectively (560±1.90 µS/Cm) and (140±1.79 mg/L). This could be justified by the fact that the Mfoundi receives water from neighbouring tributaries and waste from anthropogenic activities loaded with ion-rich dissolved matter as these two physicochemical parameters

describe the presence of inorganic salts in solution [32]. These results of high mineralization of the Mfoundi River are far from those obtained by Tuekam [30] who showed that rivers have low mineralization because they are less anthropized. According to Ajeegah *et al.* [33], the high values of electrical conductivity and total dissolved solids can be explained by the high degradation of organic matter present in the environment and could reflect the high pollution of surface waters.

The average pH value of surface water was (8.01±1.01 C.U) showing that this water is alkaline unlike that of hospital wastewater (6.13±1.98 C.U) which is slightly acidic. This difference may be due to the nature of each type of water, which would justify that surface water is alkaline because this water is by nature loaded with organic matter, which increases its basicity. These basic pH values obtained in the Mfoundi River are similar to those recorded by Noah *et al.* [34] in the Mefomo River in the Central Cameroon region. Indeed, the pH of water depends on its origin, the nature of the soil it flows through, the presence of microorganisms and the anthropic activities carried out there [21, 35].

The Shannon and Weaver diversity index showed that hospital wastewater has a more diversified microbiota (H'= 1.009) than surface water (H'=0.879). This could be explained by the fact that these waters receive many bacterial germs from patients. According to Olalemi *et al.* [36], hospital wastewater harbours various species of *Proteus*

because they are very abundant clinical germs in hospitals. Of the 3 *Proteus* species isolated in this study, *P. penneri* species is the most abundant in both hospital wastewater and surface water. Contrary to several works, *P. mirabilis* and *P. vulgaris* species are more abundant than *P. penneri* species especially in hospital waters [37, 38, 39]. The high prevalence of *P. penneri* could be due to the influence of abiotic factors on this species.

The relationship between bacterial abundances and physicochemical parameters shows that the increase in temperature is significantly correlated with the increase in abundances of *P. mirabilis* and *P. penneri* isolated from hospital wastewater; this would explain the high abundance of these 2 species recorded in this study. Studies conducted by Mohamed *et al.* [40] showed that bacterial loads correlate with environmental parameters measured periodically at any point of the site; and according to Merhabi *et al.* [30], temperature has a very significant influence on the abundance of *Enterobacteriaceae* and consequently that of *Proteus*.

The antibiotic susceptibility test shows that the *Proteus* species isolated from the different sampling sites were highly resistant to several antibiotics that were used. This multi-resistance was observed in the different families of antibiotics tested and this corroborate the work of Pierre [41] who showed that all *Enterobacteriaceae* species including genus *Proteus* expressed multi-resistant to antibiotics. According to Bonnet [42], this multi-resistance results from four mechanisms: impermeability, efflux, modification of the target of the antibiotic (PLP) and enzyme production.

Isolated *Proteus* species expressed a high resistance to  $\beta$ -lactams (95.10%) and Quinolones (81.09%). According to Bonnet [42], most *Proteus* species are naturally resistant to  $\beta$ -lactams due to the various  $\beta$ -lactamases they secrete; but on the other hand naturally sensitive to Quinolones. The resistance observed in *Proteus* species to Quinolones could be due to the acquired resistance mechanisms favoured by environmental factors. These results corroborate with those of Djombera [43] which reveal the high resistance of *Proteus* species to Quinolones. However, other previous work has shown that resistance to  $\beta$ -lactams depends on each type of *Proteus* species. *P. mirabilis* due to its wild phenotype is naturally susceptible to  $\beta$ -lactams unlike other *Proteus* species [44]; this does not corroborate with the results obtained and leads to the conclusion that the isolated *P. mirabilis* species are not wild strains.

With the Aminoglycoside's family, it was noted that *Proteus* species had a slight resistance to Gentamicin (41.8%) and a high sensitivity to Amikacin (87.5%). The approximate results were obtained by Djombera [43] showing that 47.83% of *Proteus* species resisted to Gentamicin and 68.6% were sensitive to Amikacin. According to Rajiv *et al.* [37], all *Proteus* species are highly susceptible to Gentamicin and Amikacin. However, resistance to Gentamicin is thought to be due to enzymatic inactivation which is the most common mechanism of acquired resistance in *Proteus* [42].

Although there was a high sensitivity to Gentamicin and Amikacin with *P. mirabilis* and *P. vulgaris* species isolated from the middle stream of Mfoundi, this was not the case when they were isolated from hospital wastewater as they were resistant to the 2 Aminoglycosides tested. Similar results were obtained by Chen *et al.* [45] showing a high resistance (80%) of *Proteus* species to Gentamicin and

Amikacin. This would mean that the environmental conditions leading in sampling site where *Proteus* species were isolated influence their susceptibility to antibiotics by facilitating the acquisition of resistance mechanisms. According to Amara [46], the antibiotic resistance of *Proteus* species is greater when isolated in hospital environments due to the various antibiotics residues present in these waters which lead to an increased level of resistance. The wide use of Aminoglycosides contributes to the emergence of resistant strains [47].

The correlation test performed showed significant relationship between antibiotic inhibition diameter measured in *P. mirabilis* strains and physicochemical parameters such as temperature, electrical conductivity, pH and Total Dissolved Solids. These results are similar to those of Signe *et al.* [48] who noted some significant correlations between some physicochemical water parameters and antibiotic inhibition diameters. This demonstrates that the susceptibility of some bacterial species may be regulated by a complex mechanism including some abiotic characteristics of the water [49, 50]. The lack of correlation between physicochemical parameters and Aminoglycosides (Gentamicin and Amikacin) justifies the sensitivity of *Proteus* to both antibiotics. These results are similar to those of Bentreki *et al.* [51] confirming the sensitivity of *Proteus* to Gentamicin and Amikacin.

The Mann-whitney comparison test showed that there was a significant difference of antibiotic inhibition diameters measured in *Proteus* species between hospital wastewater and Mfoundi River. This could be explained by the different features of the two types of water which can contain immense genetic variability, opportunities for mutation, rearrangement and horizontal gene transfer. Indeed, new resistance genes could relatively be due to a strong pressure to maintain them [52, 53]. In addition, significant differences of antibiotic inhibition diameters were also noted between upstream and downstream of the Mfoundi River. This could be justified by the diversity of the quality of water they receive as well as the anthropogenic activities that take place near the upstream and downstream of the river. The susceptibility of bacteria to antibiotics can be impacted by several environmental factors [49, 50].

## 5. Conclusion

Hospital wastewater and Mfoundi River harbour several *Proteus* species such as *P. mirabilis*, *P. penneri* and *P. vulgaris*. They are more represented in hospital wastewater, highly resistant to  $\beta$ -lactams and Quinolones and slightly sensitive to Aminoglycosides. The high prevalence of antibiotic resistance noted with *P. mirabilis* strains could be linked to environmental factors that can modify the wild phenotype of this species or due to the acquisition of resistant genes. The multi-resistance of *Proteus* species would be due to the multiple use of antibiotics both in hospitals and in the community. This represents a health risk for humans and the aquatic environment.

## 6. Compliance with ethical standards

### Acknowledgments

A Manouore Njoya, CS Metsopkeng and Y Poutoum carried out the water sampling in the field, physicochemical and bacteriological analysis as well as data analysis. S Chinche Belengfe improved the English language of the manuscript. CV Moldovan, JS Eheth, M Kamdem Simo, L Ngando, PA

Nana, EB Mouafo Tamnou, E Masseret and T Simé-Ngando were involved in the manuscript writing. All the study was supervised by M Nola.

### 7. Disclosure of conflict of interest

None conflict of interest to declare. The manuscript has not been previously submitted or published in other journal and is not being considered for publication elsewhere.

### 8. References

- Dai H, Chen A, Wang Y, Lu B, Wang Y, Chen J, *et al.* *Proteus faecis* sp. nov., and *Proteus cibi* sp. nov., two new species isolated from food and clinical samples in China. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2019;69(3):852-858. <https://DOI.10.1099/ijsem.0.003248>.
- Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, Mandell GL, Douglas RG. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Edn 8, Vol. II, Elsevier/Saunders, Philadelphia, PA; c2015.
- Armbruster CE, Mobley HL. Merging mythology and morphology: the multifaceted lifestyle of *Proteus mirabilis*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2012;10(11):743-754. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2890>
- Schaffer JN, Pearson MM. *Proteus mirabilis* and urinary tract infections. *Microbiol Spectr.* 2015;3(5):1-66. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.UTI-0017-2013>
- Le Minor L, Veron M. Medical Bacteriology. Edn 2. Vol. I, Edition Flammarion Medecine-Science, Paris; c1989.
- Bawa RA, Koffi AG, Yao PH, Eyabana M, Yaovi N, Isabelle AG. Bacteria and moulds associated with *Musca domestica* L. and *Chrysomya chloropyga* Wied collected at two sites with different environments in the city of Lomé. *J. Appl. Biosci.* 2017;120:12027-12035. <https://dx.doi.org/10.4314/jab.v120i1.5>
- Kishore J. Isolation, identification and characterization of *Proteus penneri* - a missed rare pathogen. *Indian J. Med. Res.* 2012;135(3):341-345. PMID: 22561620; PMCID: PMC3361870.
- Bruyère F, Cariou G, Boiteux JP, Hoznek A, Mignard JP, Escaravage L, *et al.* *Advances in Urology.* Elsevier Masson. 2008;18(1):5-6. [https://doi.org/10.1016/S1166-7087\(08\)70505-0](https://doi.org/10.1016/S1166-7087(08)70505-0)
- Ben Abdallah H, Sahnoun O, Ben Romdhane F, Loussaief S, Noomen M, Bouzouaia N, *et al.* Antibiotic susceptibility profile of uropathogenic enterobacteria isolated in the province of Monastir. *Rev. Tun. Infectiol.* 2008;2(2):5-8.
- Achille R. Antibiotypic profile of bacteria responsible for community urinary tract infections. [Doctorate in Pharmacie]. Mali: University of Bamako; c2006.
- Souna D. Epidemiology of antibiotic resistance in enterobacteria at the C.H.U of Sidi Bel Abbes. [Master in Biology]. Algeria: University of Abou Bekr Belkaid – Tlemcen; c2011.
- Pechère JC, Frottier J. A growing threat: antibiotic resistance. *Med. Hygiene.* 1995;53(2090):2107-2108.
- Wise R, Hart T, Cars O, Streulens M, Helmuth R, Huovinen P, *et al.* Antimicrobial resistance is a major threat to public health. *BMJ.* 1998;317(7159):609-610. <https://doi.org/10.1136/bmj.317.7159.609>.
- Goettsch W, Van Pelt W, Nagelkerke N, Hendrix MG, Buiting AG, Petit PL, *et al.* Increasing resistance to fluoroquinolones in *E. coli* from urinary tract infections in the Netherlands. *J. Antimicrob. Chemother.* 2000;46(2):223-228. <https://doi.org/10.1093/jac/46.2.223>.
- Goldstein FW. Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from patients with community-acquired urinary tract infections in France. Multicentre Study Group. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2000;19(2):112-7. <https://doi.org/10.1007/s100960050440>.
- Gupta K, Scholes D, Stamm W. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among uropathogens causing acute uncomplicated cystitis in women. *J. Am. Med. Ass.* 1999;281(8):736-8. <https://doi.org/10.1001/jama.281.8.736>.
- Coker C, Poore CA, Li X, Mobley HL. Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *Microb. Infect.* 2000;2(12):1497-1505. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)01304-6](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)01304-6)
- Esmail AN, Chahboun H, Abed Z, Mennane, Rachid IA, Khadmaoui H, *et al.* Isolation, identification and determination of antibiotic susceptibility profile of bacteria Gram-Negative bacilli isolated from Moorish baths water « Hammam ». *Int. J. Innov. App. S.* 2014;9(2):777-785. <http://www.ijias.issr-journals.org/>
- Abbott SL. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae.* In P. R. Murray EJ, Baron JH, Jorgensen MA Pfaller & ML Landry (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology.* Edn 9, ASM pres, Washington DC, 2007, 698-711.
- Ouguéné ELM. The city of Yaounde: an active linguistic volcano. *Sens-Dessous.* 2018;1(21):91-103.
- Rodier J, Legube B, Merlet N. Water analysis: natural water, waste water, sea water. Edn 9, Technical and engineering, Dunod, Paris; c2009.
- APHA (American Public Health Association). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.* Edn 22, Washington, DC; c2012.
- Kaiser G. Isolation and Identification of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas*, Part 1. <https://bio.libretext.org.> 24 September; c2021.
- Chouhan S. Recovery of *Salmonella* and *Shigella* isolates from drinking water. *Euro. J. Exp. Bio.* 2015;5(7):49-61. <https://www.pelagiaresearchlibrary.com>
- Mahagamage MGYL, Pathirage MVSC, Manage PM. Contamination status of *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* and *Campylobacter spp.* in surface and groundwater of the Kelani river basin, Sri Lanka. *Wat.* 2020;12(8):2187. <https://doi.org/10.3390/w12082187>
- Bergey DH, Holt JG, John G. *Bergey's Manual of determinative bacteriology.* Edn 9, Lippincott: Williams and Wilkins, Philadelphia, 2000, 786-788.
- Soussy CJ, Bonnet R, Caron F, Cavallo JD, Chardon H, Chidiac C, *et al.* Antibiogram Committee of the French Microbiology Society. 2000 Nov;48(9):832-71. [http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM\\_2012.pdf](http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM_2012.pdf) 25 August, 2021.
- Abulhamd A. Genetic diversity and antimicrobial susceptibility of motile aquatic Aeromonads. *Int. J. Chem. Eng. Appl.* 2010;1(1):90-95. [https://doi.org/10.7763/IJCEA.2010.V1.15\\_](https://doi.org/10.7763/IJCEA.2010.V1.15_)
- Jean-Pierre B, Caron F, Cattoen C, Cattoir V, Dubreuil

- L, Lina G, *et al.* Antibioqram Committee of the French Microbiology Society. <https://www.sfm-microbiologie.org/2020> 21st September; c2021.
30. Tuekam K. Stygofauna of two contiguous subterranean catchments in the Yaounde Region: influence of anthropic pressure. [Master in Animal Biology]. Cameroon: University of Yaounde I; c2007.
  31. Merhabi F, Amine H, Halwani J. Assessment of the surface water quality of the Kadicha River. *J. Librariansh Inf. Sci.* 2019;20(1):10-34. <https://doi.org/10.22453/LSJ-020.1.010-034>.
  32. Taffouo VD, Saya RAI, Mbeng LO, Eyango MT. Impacts of the physico-chemical characteristics of water on the distribution of phytoplankton and macrophytes in the Nkam River (Cameroon). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 2017;11(4):1766. [https://doi.org/10.4314/ijbcs.v11i4.28\\_](https://doi.org/10.4314/ijbcs.v11i4.28_)
  33. Ajeagah A, Mbainaissem M, Njawouo P, Ngakomo A. Physico-chemical and biological characterisation in peri-urban areas in Equatorial Africa: case of Ngoumou in the Center of Cameroon. *Int. J. Innov. App. S.* 2018;23(1):33-43. <http://www.ijias.issr-journals.org>.
  34. Noah OVE, Tamsa AA, Baleng SD, MOUNGANG LM, Metsopkeng CS, Tuekam KRP, *et al.* Microbiological and physicochemical quality of some water points in the Nkolafamba Subdivision (Center Region, Cameroon). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 2021;15(2):816-834. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v15i2.32>.
  35. Nola M, Njiné T, Djuikom E, Sikati F. Faecal coliforms and fecal streptococci community in the underground water in an equatorial area in Cameroon (Central Africa: the importance of some environmental chemical factors. *Wat. Res.* 2002;36(13):3289-3297. [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(02\)00024-6\\_](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(02)00024-6_)
  36. Olalemi A, Oladejo B, Bayode M. Correlation between faecal indicator bacteria in diarrheagenic stools and hospital wastewaters: implication on public health. *Afr. J. Cli. Exp. Microbiol.* 2021;22(2):234-243. [https://doi.org/10.4314/ajcem.v22i2.16\\_](https://doi.org/10.4314/ajcem.v22i2.16_)
  37. Mahmoud AM, Tarig MSA, Osama MS, Mariam MA. Prevalence and antimicrobial resistance Pattern of bacterial strains from patients with urinary tract infection in Messalata Central Hospital, Libya. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2016;9(8):771-776. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.06.011>.
  38. Dalia Azher Ahmed. Prevalence of *Proteus spp.* in some hospitals in Baghdad City. *Iraqi J. Sci.* 2015;56(1):665-672. <https://www.iasj.net/iasj/article/102911>.
  39. Pal N, Sharma N, Sharma R, Hooja S, Maheshwari RK. Prevalence of Multidrug (MDR) and Extensively Drug Resistant (XDR) *Proteus* species in a tertiary care hospital, India. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2014;3(10):243-252. <http://www.ijcmas.com>.
  40. Mohamed B, Hamid A, Abdelkhaled B, Hassan N, Mekki L, Mohamed A, *et al.* Influence of environmental factors on faecal bacteria loads in the Mediterranean coast of Morocco. *European J. Sci. Res.* 2012;71(1):24-35.
  41. Pierre P. Multiresistant bacteria in the environment: research in the effluents of the city of Toulouse. [Doctorate in Pharmacy]. France: University of Limoges; c2011.
  42. Bonnet R. Beta-lactams and Enterobacteria. In: Antibioqramme. Edn 3, ESKA, Paris; c2012.
  43. Djombera Z. Monitoring of antimicrobial resistance in *Proteus* strains isolated at the Rodolphe Merieux Laboratory. [Doctorate in Pharmacy]. Mali: University of Sciences, Techniques and Technologies of Bamako; c2018.
  44. Ouedraogo AS, Jean Pierre H, Banuls AL, Ouédraogo R, Godreuil S. Emergence and spread of antibiotic resistance in West Africa: drivers and threat assessment. *Med. Sante Trop.* 2017;27(2):147-154. <https://doi.org/10.1684/mst.2017.0678>.
  45. Chen CM, Lai CH, Wu HJ, Wu LT. Genetic characteristic of class 1 integrons in *Proteus mirabilis* isolates from urine samples. *Biomed.* 2017;7(2):12-7. <https://doi.org/10.1051/bmcdn/2017070202>.
  46. Amara I, Bakiri N. Antibiotic resistance study of enterobacterial strains isolated from polluted water and in hospitals. [Master in Biological Sciences]. Algeria: Frères Mentouri Constantin I University; c2009.
  47. Galimand M, Sabtcheva S, Courvalin P, Lambert T. Worldwide disseminated *armA* aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn1548. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(7):2949-2953. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.7.2949-2953.2005>.
  48. Signe JM, Lontsi CD, Njoya AM, Eheth JS, Tchakounté S, Tamsa AA, *et al.* Assessment of the potential effect of some streams properties on the isolated *Aeromonas hydrophila* strains susceptibility against some  $\beta$ -Lactams and Sulfamids. *Res. Biotech.* 2015;6(5):33-44. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01392607>.
  49. Chelkia H, Gueriani A. Abiotic factors and bacterial sensitivity/resistance to antibiotics: impact of pH and salinity. [Master in Biological Sciences]. Bouira: AkliMohand Oulhadj-Bouira University; c2019.
  50. Eheth JS, Lontsi DC, Nana PA, Tamsa AA, Noah OVE, MOUNGANG LM, *et al.* Less effect of well physicochemical properties on the antimicrobial susceptibility *Pseudomonas aeruginosa* isolated in equatorial region of Central Africa. *Appl. Water Sci.* 2019;9(2):30-38. <https://doi.org/10.1007/s13201-019-0909-9>.
  51. Bentreki AA, Gouri A, Yakhlef A, Gueroudj A, Bensouilah T. Antibiotic resistance of strains isolated from community acquired urinary tract infections between and 2011 in Guelma (Algeria). *Ann. Biol. Clin.* 2012;70(6):666-8. <https://doi.org/10.1684/abc.2012.0760>.
  52. Kallmeyer J, Pockalny R, Adhikari RR. Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012;109(40):16213-16216. <https://doi.org/10.1073/pnas.1203849109>.
  53. Bengtsson-Palme J, Kristiansson E, Larsson DGJ. Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol. Rev.* 2018;42(1):68-80. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux053>.